

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В. И. КУЛАКОВА»

На правах рукописи

ЛОЛОМАДЗЕ
Елена Анатольевна

**ВЕРТИКАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА И ДИНАМИКА ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ
TORQUE TENO VIRUS В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:
доктор биологических наук, профессор РАН
Ребриков Д. В.

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Оглавление.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Вертикально передаваемые вирусные инфекции.....	13
1.2 Роль плаценты в вертикальной передаче вирусных инфекций.....	25
1.3 Факторы, способствующие проникновению вирусов через плаценту.....	33
1.4 Значение диагностики вирусных инфекций в перинатальном периоде.....	36
1.5 Вирусный комменсализм	36
1.6 Структура генома и филогения Torque teno virus.....	37
1.7 Репликация TTV и функции белков.....	43
1.8 Распространенность TTV и ассоциация с заболеваниями.....	45
1.9 Методы обнаружения TTV	49
1.10 Пути передачи TTV	50
1.10.1 Вертикальные пути передачи TTV	51
1.10.2 Горизонтальные пути передачи TTV	53
1.11 TTV как элемент вирома.....	53
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	60
2.1 Объект и дизайн исследования. Критерии включения и исключения, формирование групп	60
2.2 Оборудование и расходные материалы.....	64
2.3 Методы исследования	65
2.3.1 Выделение ДНК.....	65
2.3.2 Количественная оценка TTV	65
2.3.3 Разработка праймеров, адаптированных к характеристикам TTV	66
2.3.4 Статистическая обработка	68
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	70
3.1 Оценка вирусной нагрузки TTV у беременных женщин и исследование трансплацентарной передачи вируса от матери плоду	70
3.2 Определение зависимости вирусной нагрузки TTV ребенка от вирусной нагрузки матери	72
3.3 Сравнение вирусной нагрузки TTV у недоношенных и доношенных младенцев в течение первых четырех месяцев после рождения	75

3.4 Определение динамики вирусной нагрузки TTV в течение первого года жизни здоровых детей.....	82
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	85
4.1 TTV у беременных.....	85
4.2 TTV образцов плазмы	86
4.3 Трансплацентарная передача TTV.....	86
4.4 Влияние способа родоразрешения на передачу TTV младенцам	87
4.5 Динамика вирусной нагрузки TTV у детей первого года жизни	88
4.6 Филогенетическая связь TTV матерей и их детей	89
4.7 Грудное вскармливание как один из путей передачи TTV младенцам.....	90
ВЫВОДЫ.....	92
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	93
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	94
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	98
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	101
ПРИЛОЖЕНИЕ А	126
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	132
ПРИЛОЖЕНИЕ В	134
ПРИЛОЖЕНИЕ Г	137

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Вирусы являются наиболее многочисленной биологической формой. Они считаются переходной формой между живой и неживой материей, способные заражать не только практически всех представителей флоры и фауны, но и микроорганизмы. Борьба со многими вирусами не имеет положительных результатов, так как они не только имеют природный резервуар в окружающей среде, но и постоянно изменяются (мутируют), в следствие чего снижается эффективность проведения вакцинопрофилактики (Sanjuan R. & Domingo-Calap P., 2016).

При некоторых обстоятельствах вирусы могут персистировать или становиться латентными в организме хозяина, при этом клинические проявления или реактивация вируса могут развиваться значительно позже момента заражения, или не развиваться вовсе (Boldogh I. et al., 1996).

Ранние годы жизни чрезвычайно важны для развития иммунитета и влияют на здоровье человека в зрелом возрасте (Lim E. S. et al., 2015). Многие факторы предрасполагают недоношенных детей к наибольшему риску развития инфекции и смерти от инфекции в сравнении со всеми другими возрастными группами по возрастному спектру. Известно, что иммунная система недоношенных детей проявляет совершенно иную, а не просто недостаточную функцию по сравнению с доношенными, и что иммунная функция у недоношенных детей повышает риск заражения. Врожденный иммунитет состоит из барьеров, элементов воспалительного ответа и клеток, пытающихся искоренить инфекцию или сдержать ее до тех пор, пока не будет сформирован антигенспецифичный адаптивный иммунный ответ. Множество факторов, включая преждевременные роды, искусственное вскармливание и антибиотикотерапия в неонатальном

периоде делают новорожденного (а особенно – недоношенного ребенка) более восприимчивым к бактериальным и вирусным инфекциям (Collins A. et al., 2018; Simon A. K. et al., 2015).

Исследования микробиоты человека показывают, что человеческий организм находится в симбиозе с большим количеством микроорганизмов (всего в микробиоте человека обнаружено более 1000 видов микроорганизмов). Каждая часть человеческого тела, подверженная воздействию внешней среды, населена микробиотой, при этом основная часть популяции микроорганизмов находится в пищеварительном тракте. Микробиом вовлечен в ряд физиологических процессов, жизненно важных для здоровья хозяина, таких как развитие иммунной системы, защита от патогенов, метаболизм, энергетический гомеостаз, нейроповеденческое развитие, а также развитие кишечного эпителия хозяина и поддержания гомеостаза тканей (Shulman L. M. & Davidson I., 2017; Yadav M. et al., 2018; Rowan-Nash A. D. et al., 2019).

Вирусный микробиом («виром» или «виробиота») состоит из бактериофагов и эукариотических РНК- и ДНК-вирусов. В целом виром человека гораздо менее изучен по сравнению с бактериальным сообществом микробиома, однако сегодня наблюдается интенсивное развитие исследований в этой области знаний. Вместе с этим накапливаются данные, укрепляющие мнение о том, что не все вирусы действуют как обязательные патогены и могут быть как симбиотическими, так и комменсальными членами микробиоты человека (Abeles S. R. & Pride D. T., 2014; Barton E. S. et al., 2007). Существование вирусов как стабильных членов вирома человека, может играть важную роль в здоровье хозяина, особенно в неонатальном периоде.

Основные группы вирусов у новорожденных – респираторные вирусы (риновирус, парэховирусы, энтеровирусы, вирусы гриппа и парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирус, коронавирус, аденовирус, бокавирус-1) (Luoto R. et al., 2016) и герпесвирусы (цитомегаловирус, вирус простого герпеса, вирус Эпштейна-Барр, вирус ветряной оспы) (Freij B. J. & Sever J. L., 1988; Tremolada S. et al., 2008). Среди них есть и присутствующие у плода и

новорожденного скрытым образом (без цитологических нарушений или даже обнаруживаемого вируса). При этом не всегда скрытая инфекция может быть безопасна для новорожденных в неонатальном и постнатальном периодах, некоторые из вирусов связаны с внутриутробной и неонатальной гибелью, повреждением органов и различными заболеваниями новорожденных (Euscher E. et al., 2001; Tomai X-H., 2011).

Открытый в 1997 году Torque teno virus (TTV) из семейства *Anelloviridae* является комменсальным вирусом (Simmonds P. et al., 1999; Mushahwar I. K., 2000; Kaczorowska J. & van der Hoek L., 2020), широко представленным в человеческой популяции. В этой связи встает вопрос о сроках и путях его проникновения в организм человека, возможности вертикальной передачи от матери к ребенку и динамике вирусной нагрузки у детей в постнатальном периоде. Интерес к данному вирусу обусловлен тем, что TTV, как известно, проявляет свойства маркера иммунной функции и связан с состоянием подавления иммунитета в ранние сроки после трансплантации солидных органов (Beland K. et al., 2014; Focosi D. et al., 2014; Gorzer I. et al., 2015). За прошедшие с момента открытия Torque teno virus 25 лет по запросу «TTV» в PubMed обнаруживается 1221 публикация (для сравнения, по запросу «CMV» за этот же период вышло 29567 публикаций), из них по вопросу вертикальной передачи и пролиферации у новорожденных – около 70 научных работ.

На сегодняшний день хорошо изучена распространенность и генетическая гетерогенность TTV как у здоровых людей, так и при различных патологиях. При этом ранние сообщения о возможном патогенном влиянии TTV, описывающие его связь с широким спектром заболеваний (от гепатита до рака), на данный момент не подтвердились (Charlton M. et al., 1998; Irshad M. et al., 2008). В дополнение к отсутствию ассоциации с заболеваниями, тот факт, что, высокая распространенность TTV замечена с самого раннего возраста (Ninomiya M. et al., 2008) и среди здорового населения достигает 95% (Hsiao K.-L. et al., 2016) затрудняет интерпретацию TTV в ключе возможной патогенности этой группы вирусов и подтверждает идею о том, что TTV является истинным комменсалом.

Пути передачи TTV от матери к ребенку, по-видимому, многообразны, при этом возможность трансплацентарной передачи TTV на момент начала нашего исследования оставалась спорной.

С целью изучения трансплацентарной передачи TTV и распространенности TTV в постнатальном периоде, возможных источниках заражения новорожденных этой группой вирусов, информативным могло стать обследование беременных, новорожденных и детей первого года жизни. В этой связи была сформулирована цель диссертационной работы.

Цель работы

Исследование вертикальной передачи и динамики вирусной нагрузки Torque teno virus в постнатальном периоде.

Задачи работы

1. Оценить вирусную нагрузку TTV у беременных.
2. Оценить возможность трансплацентарной передачи TTV от матери плоду.
3. Определить зависимость вирусной нагрузки TTV ребенка от вирусной нагрузки матери.
4. Сравнить вирусную нагрузку TTV в крови недоношенных и доношенных младенцев в течение первых четырех месяцев после рождения.
5. Определить динамику вирусной нагрузки TTV в течение первого года жизни здоровых детей.
6. Разработать тест-системы для дифференциальной количественной диагностики 3-х основных вирусных групп семейства *Anelloviridae* (TTV, TTMV и TTMDV).

Научная новизна исследования

Впервые продемонстрировано отсутствие трансплацентарной передачи TTV, вне зависимости от уровня вирусной нагрузки матери.

Впервые показано, что вирусная нагрузка TTV ребенка не зависит от вирусной нагрузки матери.

Новыми являются данные о том, что первые признаки пролиферации вируса можно обнаружить методом ПЦР через 1-2 недели от рождения.

Впервые продемонстрировано, что плато вирусной нагрузки TTV достигается через 3-6 месяцев с активной пролиферацией в течение первых 6-8 недель от рождения.

Установлено отсутствие статистически значимой разницы в вирусной нагрузке TTV для недоношенных и доношенных детей.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные результаты расширяют научные представления о механизмах репликации TTV и путях передачи этого вируса в постнатальном периоде. Показано, что TTV широко распространен среди здоровых грудных детей первого года жизни и присутствие вируса у детей не зависит от вирусной нагрузки матери.

Полученные результаты проливают свет на возможную взаимосвязь TTV с иммунитетом ребенка в постнатальном периоде.

Разработаны три тест-системы для дифференциальной количественной диагностики вирусов TTV, TTMV и TTMDV. Тест-системы внедрены в серийное производство на базе компании ООО «ДНК-Технология ТС» (Россия).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Трансплацентарной передачи TTV от матери плоду не выявлено.
2. Вирусная нагрузка TTV ребенка не зависит от вирусной нагрузки матери.

3. Вирусная нагрузка TTV у недоношенных и доношенных детей не отличается.

4. Вирусная нагрузка TTV не зависит от способа родоразрешения и веса ребенка при рождении.

5. ДНК TTV в крови новорожденного появляется через 1-2 недели после рождения. Титр вируса активно нарастает в течение первых 6-8 недель.

6. Вирусная нагрузка TTV увеличивается у детей первого года жизни с возрастом, достигая плато через 3-6 месяцев.

Методология и методы исследования

Всего в исследование были включены 363 младенца, рожденных или наблюдающихся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России в период с 2016 по 2019 гг., из них 137 младенцев составляли пару с матерями, поэтому общее количество участников исследования – 500. Для всех участников исследования проведен анализ вирусной нагрузки TTV в крови методом ПЦР «в реальном времени».

В 1-ю группу вошли 100 пар мать-ребенок с определением уровня вирусной нагрузки TTV в крови и плазме матери (до родов) и в пуповинной крови и плазме, собранных в момент родов.

Отдельную 2-ю группу составили 37 пар мать-ребенок для определения зависимости вирусной нагрузки TTV ребенка от вирусной нагрузки матери, из них 34 младенца дополнили 3-ю группу детей первых четырех месяцев жизни и 3 младенца дополнили 4-ю группу детей первого года жизни.

Всего 3-ю группу составили 200 младенцев: 92 недоношенных и 108 доношенных детей первых четырех месяцев жизни.

4-ю группу составили 98 клинически здоровых младенцев – дети первого года жизни (возраст детей от 1 месяца до 1 года, из них 35 младенцев также входили и в 3-ю группу).

В работе использованы следующие методы: экстракция ДНК, ПЦР «в реальном времени», электрофорез в агарозном геле, секвенирование, спектрофотометрия, биоинформатические методы анализа. Статистическая обработка результатов исследования была проведена с использованием методов непараметрического и параметрического анализа. Обработку полученных результатов проводили в программном пакете GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, USA).

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов исследования определяется достаточным (репрезентативным) объемом выборок обследованных пациентов и качеством исследований, проведенных с использованием арсенала современных молекулярно-генетических методов; достоверность результатов подтверждена методами статистической обработки данных, адекватных поставленным задачам.

Апробация работы проведена 24.10.2022 г. на заседании апробационной комиссии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции «Генетический и репродуктивный потенциал с позиций доказательной медицины» 2020 года.

Личный вклад автора

Личное участие соискателя в выполнении диссертационного исследования состоит в проведении анализа предшествующих исследований, сборе биологического материала от пациентов, непосредственном проведении основного экспериментального этапа работ и анализе полученных результатов исследования.

Самостоятельно проведены статистический анализ и интерпретация полученных данных, сделаны научные выводы. Личный вклад автора в исследование составляет 85%.

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанные тест-системы для дифференциальной количественной диагностики вирусов TTV, TTMV и TTMDV семейства *Anelloviridae* внедрены в серийное производство ООО «ДНК-технология ТС» (Россия) и могут быть использованы для выявления клинической значимости трех основных вирусных групп семейства вирусов *Anelloviridae* в любых когортах пациентов.

Научные положения и результаты диссертационной работы используются в лекционном элективном курсе «Молекулярная биология» кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России с 2020 по настоящее время и позволяют знакомить студентов с современными представлениями о диагностике, оценке динамики вирусной нагрузки и распространенности Torque teno virus.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.3.8 – «Клиническая лабораторная диагностика». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно – пунктам 5-7 паспорта специальности 3.3.8 – «Клиническая лабораторная диагностика».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых изданиях, входящих в международную базу Scopus, тезисы в сборнике материалов научной конференции, а также 3 патента на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы и списка литературы. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 20 рисунками, кроме этого, работа включает 4 приложения. Список литературы включает 210 источников, из них 1 – отечественный и 209 – зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Вертикально передаваемые вирусные инфекции

В настоящее время актуальной и нерешенной проблемой остается определение роли хронических и персистирующих инфекций матери в отношении здоровья новорожденного. Поскольку беременные женщины часто сталкиваются с осложнениями беременности, возникающими на фоне различных вирусных инфекций, важным моментом является изучение влияния тех или иных вирусов на состояние не только беременной, но и на плод, возможная передача вируса от матери ребенку, неотъемлемой составляющей является изучение перинатальной инфекции у самих новорожденных.

Вирусные инфекции могут передаваться вертикально от матери ребенку в разное время (рисунок 1), от внутриутробной передачи до постнатальной передачи через разнообразные пути трансмиссии (Tremolada S. et al. 2008). Термин «вертикальная передача» обычно используется для описания инфекции, передающейся от матери эмбриону, плоду или новорожденному до, в период родов или вскоре после родов, хотя некоторые исследователи предпочитают ограничивать этот термин ситуациями, когда инфекция происходит до рождения. Инфекции, передаваемые плоду во время беременности, называют пренатальными или врожденными, тогда как инфекции, передаваемые от матери к ребенку во время родов или в первые недели после рождения, называются перинатальными или неонатальными.

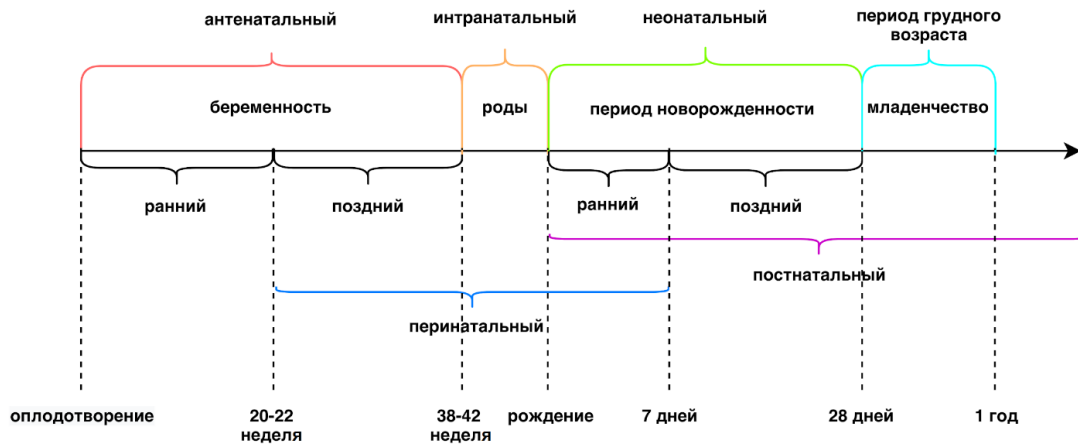


Рисунок 1 – Периоды развития плода и новорожденного (не в масштабе)

Считается, что на скорость передачи инфекции от матери ребенку влияет ряд факторов, таких как: тип инфекции (первичная или рецидивирующая), наличие других вирусных инфекций, материнская вирусная нагрузка, длительность разрыва плодных оболочек, способ родоразрешения и кормление грудью (Tremolada S. et al. 2008).

Некоторые врожденные вирусные инфекции являются тератогенными (краснуха (RuV), цитомегаловирус (CMV), вирус простого герпеса (HSV), вирус кори (MV), эпидемического паротита (MuV) и вирус ветряной оспы (VZV)), их внутриутробная передача способна вызвать серьезные пороки развития плода, тогда как другие, даже если передаются от матери ребенку, редко имеют клиническое значение. Периоды, когда плод наиболее подвержен повреждающему действию тератогенных факторов, в частности вирусов, связаны с наиболее интенсивным формированием органов в это время.

Вертикальная передача может происходить как во время первичной материнской инфекции, так и во время хронической или рецидивирующей инфекции с различными последствиями. Матери с первичной инфекцией во время беременности имеют высокую скорость передачи, а их дети, как правило, рождаются с тяжелыми инфекциями (Stagno S. et al, 1982; Silasi M. et al., 2015).

Известно, что развитие внутриутробной инфекции может способствовать потере беременности, поражению клеток эмбриона и плода, задержке внутриутробного развития, преждевременным родам. Внутриматочная передача инфекции может происходить по восходящему (вагинальному) пути или

трансплацентарно, через сосуды пуповины или после инфекции придатков матери и последующее загрязнение околоплодных вод. С другой стороны, перинатальная передача может быть спровоцирована пролонгированным разрывом оболочек, способным сопровождаться загрязнением околоплодных вод, плодных оболочек, плаценты или пуповины посредством восходящего пути. Также возможно, что новорожденный заражается при прохождении через родовый канал, после контакта с инфицированными влагалищными выделениями или повреждениями, присутствующими на генитальном уровне.

Перинатальные вирусные инфекции включают в себя TORCH инфекции (токсоплазмоз, «другие», RuV, CMV и HSV), гепатиты В, С (HBV, HCV), генитальные папилломавирусы человека и ретровирусы (вирус иммунодефицита 1, 2 типов (HIV-1, HIV-2), человеческие Т-клеточные лимфотропные вирусы 1, 2 типов (HTLV-1/2)) (Silasi M. et al., 2015; Smith E. M. et al., 2010; Carneiro-Proietti A. B. F. et al. 2014). Многие вирусные инфекции могут передаваться в неонатальном периоде, вызывая хронические инфекции у младенцев. Выделяют следующие неонатальные вирусы: респираторные вирусы (респираторно-синцитиальный вирус, вирусы парагриппа, коронавирус, адено-, рино-, парэхо-, энтеро-, пикорна-, метапневмо-, бокавирус-1) (Luoto R. et al., 2016) герпесвирусы (CMV, HSV, вирус Эпштейна-Барр (EBV), VZV) (Freij B. J. & Sever J. L., 1988; Tremolada S., et al. 2008).

Вероятность того, что материнская вирусная инфекция распространится на плод или новорожденного повышается с наличием виремии, выделением вируса из половых путей или с грудным молоком (вирусолактия).

Вирусные инфекции в перинатальном и неонатальном периодах могут сохраняться у плода и новорожденного скрытым образом без цитологических нарушений или обнаруживаемого вируса. Подобная скрытая инфекция может быть связана с внутриутробной и неонатальной смертью, повреждением органов и заболеванием новорожденных (Robb J. A. et al., 1986). Внутриматочная инфекция CMV, VZV, HIV-1, RuV и парвовирусом B19, может приводить к врожденным аномалиям развития. После заражения HSV у младенца может развиваться диссеминированная инфекция или локализованная инфекция, поражающая

центральную нервную систему и / или кожу, глаза и слизистую оболочку полости рта. Младенцы, приобретающие HBV посредством вертикальной передачи от антиген-положительных матерей HBeAg, имеют приблизительно 90% риск развития хронической инфекции, обычно протекающей бессимптомно, однако в некоторых случаях у самого ребенка может развиваться острый или молниеносный гепатит. Приобретенная посредством вертикальной передачи HCV у детей обычно также протекает бессимптомно, хотя у некоторых из них может развиваться умеренный гепатит в течение первых двух месяцев жизни (Tremolada S. et al., 2008).

Вертикально передаваемые вирусы с частыми клиническими проявлениями вместе с основными путями передачи перечислены в таблице 1. Несмотря на то, что человека заражают около 220 вирусов (Parker M. T., 2016), в разрезе вертикальной передачи исследована лишь часть из них, представленная в таблицах 1, 2.

Таблица 1 – Вирусы, часто передаваемые вертикальным путем с последующими клиническими проявлениями (на основе Mims C. A., 1981; Tremolada S. et al., 2008; Silasi M. et al., 2015; Leon-Juarez M. et al., 2017; Pereira L., 2018)

Семейство	Вирус	Клиническое проявление	Путь передачи*
<i>Herpesviridae</i>	цитомегаловирус человека	синдром врожденной инфекции	трансплацентарный
	вирус ветряной оспы	синдром врожденной ветряной оспы	трансплацентарный / интранатальный
	вирус простого герпеса 1, 2 типы	герпес новорожденных	трансплацентарный / интранатальный
<i>Retroviridae</i>	вирус иммунодефицита человека	перинатальный ВИЧ / СПИД	трансплацентарный / интранатальный / грудное молоко
	Т-клеточные лимфотропные вирусы	взрослый Т-клеточный лейкоз	грудное молоко
<i>Hepadnaviridae</i>	вирус гепатита В	хроническая болезнь печени	трансплацентарный / интранатальный / грудное молоко

Семейство	Вирус	Клиническое проявление	Путь передачи*
<i>Parvoviridae</i>	парвовирус В19	анемия, водянка	трансплацентарный
<i>Flaviviridae</i>	вирус гепатита С	хроническая болезнь печени	трансплацентарный / интранатальный / грудное молоко
	вирус денге	лихорадка, сыпь, гепатоспленомегалия, тромбоцитопения, плевральный выпот	трансплацентарный / интранатальный
	вирус Зика	врожденная микроцефалия	трансплацентарный / грудное молоко?
<i>Filoviridae</i>	вирус Эбола	геморрагическая лихорадка, смерть	трансплацентарный
<i>Togaviridae</i>	вирус краснухи	синдром врожденной краснухи	трансплацентарный
	вирус чикунгуния	лихорадка, сепсис, энцефалопатия	трансплацентарный / интранатальный
<i>Arenaviridae</i>	вирус лимфоцитарного хориоменингита	энцефалопатия, хориоретинит	трансплацентарный
	вирус Ласса	геморрагическая лихорадка и смерть	трансплацентарный?

*Основной путь, ответственный за клинические последствия

? – отсутствуют достоверные данные / данных недостаточно, чтобы сделать вывод о передаче

CMV является наиболее распространенной внутриутробной инфекцией, связанной с врожденными дефектами. Вирус CMV, выделяемый в телесных жидкостях, вызывает бессимптомные инфекции у здоровых лиц в разных популяциях. Риск вертикальной передачи вируса выше у женщин, приобретающих

первичную инфекцию, по сравнению с женщинами, проявляющими реактивирующий вирус после латентной фазы или повторного заражения другим штаммом CMV. Известно, что тяжесть заболевания плода обратно пропорциональна сроку беременности. Вертикально передаваемый CMV вызывает у детей симптоматическую врожденную инфекцию, проявляющуюся в неонатальном периоде рядом характерных клинических симптомов, таких как петехии, желтуха, гепатоспленомегалия и неврологические аномалии, такие как микроцефалия, эпилепсия, гипотония и летаргия. Однако есть случаи врожденной CMV инфекции, не имеющей клинических аномалий на момент рождения, при этом неврологические последствия могут развиваться по мере роста ребенка, хотя и с меньшей вероятностью, чем у детей, рожденных с симптоматической врожденной инфекцией (Silasi M. et al., 2015; Tremolada S. et al., 2008).

Что касается VZV, то в данном случае риск синдрома врожденной ветряной оспы незначителен, поскольку антитела в материнской крови препятствуют проникновению вируса через плаценту и заражению плода. Однако в редких случаях (от 0,4 до 2% при материнской инфекции ветряной оспы в течение первых 20 недель беременности) существует риск синдрома врожденной ветряной оспы в результате гематогенного распространения вируса через плаценту при отсутствии материнских антител. Этот синдром характеризуется гипоплазией конечностей, микроцефалией, гидроцефалией, катарактой, ограничением внутриутробного развития и умственной отсталостью. Считается, что развитие этого синдрома является результатом реактивации вируса ветряной оспы в утробе, в отличие от первичной инфекции плода (Silasi M. et al., 2015).

Текущие данные о вирусе Зика (ZIKV) показывают, что вертикальная передача этого вируса связана с серьезными врожденными дефектами, называемыми синдромом врожденного вируса Зика. Он включает не только микроцефалию, но и неврологические нарушения, церебральные кальцификации и повреждение сетчатки (Pereira L., 2018).

Сообщалось также о 2-х типах опасных эндемичных вирусных инфекций – Эбола и Ласса, встречающихся преимущественно на территории Африки и ставших

глобальной проблемой из-за потенциального воздействия на беременность и новорожденного (Silasi M. et al. 2015). Во время предыдущих эпидемий вируса Эбола было обнаружено, что смертность среди беременных женщин выше (93%), чем среди населения в целом или небеременных женщин (70%). Более того, при различных эпидемиях сообщалось о значительном увеличении числа преждевременных родов и аборт (67%) (Bwaka M. A. et al., 1999; Мурара K. et al., 1999).

В таблице 2 представлены несколько вирусов, редко вызывающих клинические проявления у новорожденных, а потому и менее изученных в разрезе вертикальной передачи.

Таблица 2 – Вирусы, передаваемые вертикальным путем и редко вызывающие клинические последствия (на основе Mims C. A., 1981; Ornoy A. & Tenenbaum A., 2006; Tremolada S. et al., 2008; Leon-Juarez M. et al., 2017; Pereira L., 2018)

Семейство	Вирус	Клиническое проявление	Путь передачи*
<i>Herpesviridae</i>	вирус Эпштейна-Барр	мертворождение и / или врожденные дефекты	трансплацентарный / интранатальный, грудное молоко
	герпесвирус 6	лихорадка, внезапная экзантема	трансплацентарный
<i>Papillomaviridae</i>	вирус папилломы человека	папилломатоз гортани	трансплацентарный / интранатальный
<i>Hepeviridae</i>	вирус гепатита Е	желтуха, гепатит, отказ печени	трансплацентарный / интранатальный?
<i>Parvoviridae</i>	адено-ассоциированный вирус	нет клинических проявлений	трансплацентарный
<i>Pneumoviridae</i>	респираторно-синцитиальный вирус	постнатальная дисфункция нижних дых. путей	трансплацентарный ?

Семейство	Вирус	Клиническое проявление	Путь передачи*
<i>Picornaviridae</i>	вирус гепатита А	полигидрамниоз и асцит плода, перитонит мекония, холестатическая желтуха	интранатальный
	вирус Коксаки	хроническая врожденная вирусная инфекция Коксаки, возможно учащение ранних самопроизвольных абортов и в редких случаях миокардит плода	трансплацентарный, грудное молоко
	эховирус (Tang J. W. et al., 2005)	возможны легкая желтуха с колебаниями температуры и рецидивирующей гипогликемией	трансплацентарный ? / интранатальный?
	полиовирус (вирус полиомиелита)	не актуально в настоящее время	трансплацентарный ? / интранатальный?
<i>Adenoviridae</i>	аденовирус	пневмония у новорожденного	трансплацентарный ? / интранатальный?
<i>Coronaviridae</i>	коронавирус (Yuan J., 2021)	легкие клинические симптомы без летального исхода	трансплацентарный ? / интранатальный?
<i>Orthomyxoviridae</i>	вирусы гриппа А, В, С	лихорадка, приводящая к неблагоприятным	трансплацентарный ?

Семейство	Вирус	Клиническое проявление	Путь передачи*
		исходам беременности или патологиям плода	
<i>Paramyxoviridae</i>	вирус эпидемического паротита	возможна ранняя и поздняя гибель плода, нет серьезных врожденных аномалий	трансплацентарный
	вирус кори (Charlier C., 2020)	возможна ранняя и поздняя гибель плода, врожденная корь	трансплацентарный

*Основной путь, ответственный за клинические последствия

? – отсутствуют достоверные данные / данных недостаточно, чтобы сделать вывод о передаче

Описанных случаев EBV во время беременности и его последствий для плода в литературе немного. Из них большая часть убедительно подтверждает возможность внутриутробной передачи этого вируса, что может приводить к мертворождению и / или врожденным дефектам. Первичная инфекция EBV во время беременности с явной трансплацентарной передачей встречается редко (было зарегистрировано лишь несколько случаев). Основное повреждение в таком случае было на сердце, глазах и печени. Следует отметить, что EBV, как и HSV, по-видимому, способны проникать через плаценту и вызывать, как описывают несколько исследователей, инфекцию плаценты, проявляющуюся в результате децидуита и воспалительного состояния, вовлекающего ворсинки хориона. Эти плацентарные патологические изменения могут усилить повреждение плода (Tomai X-H., 2011; Avgil M. & Ornoy A., 2006).

Метаанализ свыше 3 тысяч пар мать-ребенок (Merckx M. et al., 2013) показал, что дети от HPV-положительных матерей на 33% более склонны к инфекции HPV,

чем дети, рожденные от HPV-отрицательных матерей. При этом онкогенные папилломавирусы человека (HPV 16 и 18) демонстрируют вероятность вертикальной передачи в 45%. Высокий риск того, что дети, рожденные от HPV-положительных матерей, сами станут HPV-положительными обусловлен вертикальной передачей HPV во время беременности и/или родов или более высоким уровнем инфицирования в период раннего вскармливания от матери к ребенку. Точные пути передачи и клинические последствия этой инфекции для ребенка недостаточно изучены. Показана передача и HPV низкого риска (HPV 6 и 11) (Rombaldi R. L. et al., 2008), но нет данных о вероятности передачи. Однако папилломатоз гортани у новорожденных, являющийся следствием передачи HPV 6 и 11 от матери к ребенку при родах, явление нередкое (Alberico S. et al., 1996). И опасность его заключается в том, что он приводит к ограничению дыхания и потенциально опасен для жизни ребенка. В этом случае родоразрешение путем кесарева сечения – может быть одним из альтернативных путей, способных предотвратить инфицирование новорожденного этой группой вирусов.

Адено-ассоциированная вирусная инфекция хоть в большинстве случаев и не представляет опасности для людей и чаще протекает бессимптомно, включая также группу беременных и новорожденных, однако в литературе есть случай, описывающий неблагоприятные исходы беременности. Так, первичная или реактивированная инфекция AAV-2 (серопозитивность материнского IgM) на ранних сроках беременности была связана с неблагоприятными репродуктивными последствиями, связанными с дисфункцией плаценты, включая преэклампсию, мертворождение и самопроизвольные преждевременные роды (Arechavaleta-Velasco F. et al., 2008). Поэтому результаты данного исследования скорее указывают на пробелы в знаниях патогенности данного вируса.

Передача респираторно-синцитиального вируса (RSV) от матери плоду вызывает постнатальную гиперреактивность дыхательных путей во время первичной реинфекции в раннем возрасте. Также было отмечено, что материнская RSV инфекция может предрасполагать детей к постнатальной дисфункции нижних дыхательных путей, изменяя развитие иммунитета, передачу сигналов фактора

роста нервов (NGF) и сокращение гладких мышц дыхательных путей во время ранних реинфекций RSV (Manti S. et al., 2017). Ранее на животных моделях было показано, что RSV может распространяться трансплацентарно из дыхательных путей беременной в легкие плода, однако на человеке подобные исследования не проводились. Имеются лишь данные клинического отчета, описывающего вертикальную передачу RSV новорожденному (Brown P. M. et al., 2017). Новые данные ставят под сомнение парадигму, согласно которой заражение RSV происходит только после рождения, и переключают внимание на пренатальные эффекты вируса, что может привести к более серьезным и длительным последствиям, вмешиваясь в важнейшие процессы развития.

Вертикальная передача гепатита А во время беременности или послеродового периода встречается редко. Сообщалось о 4-х случаях обнаружения этого вируса у беременных ближе к родам, а затем и у новорожденных, однако тяжелых исходов у матерей и новорожденных не выявляли (Motte A. et al., 2009).

Энтеровирусные инфекции (в основном Коксаки) у новорожденных в основном вызваны вертикальной передачей энтеровирусов от матерей с постоянными формами инфекций. Практически все другие вирусы (вирусы гриппа, CMV, HSV, вирусы парагриппа, MV и RuV) обнаруживаются у новорожденных, включенных в группу с высоким риском вертикальной передачи энтеровирусных инфекций (Lozovskaia L. S. et al., 1999). Вирусная инфекция Коксаки плаценты связана с развитием тяжелой дыхательной недостаточности и осложнений центральной нервной системы у новорожденного (Euscher E. et al., 2001). Также авторы (Lozovskaia L S, et al., 1999) доказывают причастность врожденной вирусной инфекции Коксаки к этиологии аллергических заболеваний у детей. Вирус Коксаки В может вызывать увеличение числа ранних самопроизвольных абортов и реже миокардита плода, также данную группу вирусов связывают с неонатальным сепсисом (Chuang Y.-Y. & Huang Y-C., 2019).

Вирус полиомиелита может вызвать увеличение числа самопроизвольных абортов и мертворождений, а также паралич новорожденных (врожденный полиомиелит), однако данные проявления в настоящее время неактуальны

вследствие практического исчезновения болезни и применения иммунизации во время беременности, когда в рамках некоторых исследований изучались исходы беременности женщин и их детей, получивших живую и ослабленную полиомиелитную вакцины в любой срок беременности (Ornoy A. & Tenenbaum A., 2006).

Аденовирусная инфекция является редкой, но серьезной проблемой периода новорожденности. Аденовирус иногда является агентом при неонатальной пневмонии, всего известно о 6 случаях (Montone K. T. et al., 1995; Sun C. C. & Duara S., 1985). Авторы клинического наблюдения (Montone K. T. et al., 1995) предполагают, что инфекция передается от матери либо через плаценту, либо через контакт в родовом канале, поскольку в 2-х описанных случаях присутствовал тяжелый острый хориоамнионит, что означает воспаление оболочек плода (стенок плодного пузыря) и инфицирование амниотической жидкости. С другой стороны, авторы также не отрицают возможность послеродовой воздушной передачи вируса от матерей, испытывающих лихорадку при родах. В другом клиническом наблюдении (Sun C. C. & Duara S., 1985) мазок шейки матки / эндоцервикального канала у матери, взятый до родов, содержал эпителиальные клетки с изменениями, наводящими на мысль об аденовирусе, что также свидетельствует о том, что восходящая вирусная инфекция является фактором патогенеза неонатальной аденовирусной инфекции.

Вирус гриппа является недостаточно изученным в контексте вертикальной передачи. Считается, что вирус гриппа возникает редко при гриппе, и передача вируса через плаценту также, по-видимому, редка. Сообщалось о неблагоприятных исходах беременности после пандемий гриппа 1918 и 1957 гг., включая самопроизвольную потерю беременности, врожденные дефекты, смерти плода и преждевременные роды (Nuzum J. W. et al., 1918; Wilson M. G. & Stein A. M., 1969). При этом даже если вирус гриппа не имеет прямого воздействия на плод, лихорадка, которая часто сопровождает инфекцию, может иметь побочные эффекты. Эпидемиологические исследования на животных и людях предполагают, что гипертермия связана с повышенным риском неблагоприятных исходов,

особенно дефектов нервной трубки. Факторы, способные ослаблять этот риск, включают снижение продолжительности лихорадки через использование жаропонижающих препаратов и применение фолиевой кислоты. Также во избежание заражения может быть рекомендовано проведение вакцинации против гриппа для всех беременных женщин в любом триместре во время сезона гриппа (Silasi M. et al., 2015).

1.2 Роль плаценты в вертикальной передаче вирусных инфекций

Структура плаценты

Особый интерес в вопросе вертикальной передачи внутриутробных инфекций представляет плацента, выступающая в качестве возможного шлюза, а также защитника от инфекционных агентов. Чтобы понять механизмы вертикальной передачи, важно понимать структуру плаценты человека, формирующую основной барьер между материнским и эмбриональным отсеками на протяжении всей беременности. Плацента является высокоспециализированным органом беременности, поддерживающим наряду с эмбриональными мембранами и амниотической жидкостью нормальный рост и развитие плода. Плацента человека состоит из эмбриональных клеток и характеризуется тесной ассоциацией между трофобластами плода и тканями матери, с которыми они вступают в контакт. Термин плацентарная мембрана (иногда называемая плацентарным барьером) относится к слоям клеток, отделяющим материнскую кровь в межворсинчатом пространстве и плодную кровь в сосудистой сети в ядре ворсинок. Межворсинчатое пространство содержит основные функциональные единицы плаценты, широко разветвленные и тесно упакованные ворсинчатые структуры, содержащие эмбриональные кровеносные сосуды. Именно в концевых областях этих хорионических ворсинок наблюдается основная часть обмена между матерью и плодом (Arora N. et al., 2017). Граница между матерью и плодом состоит из полученных от плода клеток-предшественников трофобласта, дифференцирующихся в цитотрофобласты и обладающих пролиферативной

способностью, и синцитиотрофобластов, являющихся окончательно дифференцированными, слитыми, многоядерными клетками. Первоначально плацентарная мембрана состоит из четырех слоев: синцитиотрофобласта с материнской стороны, слоя клеток цитотрофобласта, соединительной ткани ворсинок и эндотелия, выстилающих капилляры плода (рисунок 2). Однако примерно через 20 недель клеточный слой цитотрофобласта многих ворсинок становится ослабленным и исчезает. Впоследствии в большинстве хорионных ворсинок мембрана состоит из трех слоев и в некоторых областях становится чрезвычайно тонкой, так что синцитиотрофобласт находится в непосредственном контакте с капиллярным эндотелием плода.

Таким образом, в этих структурах кровь матери и плода входят в тесный контакт (2-4 мкм).

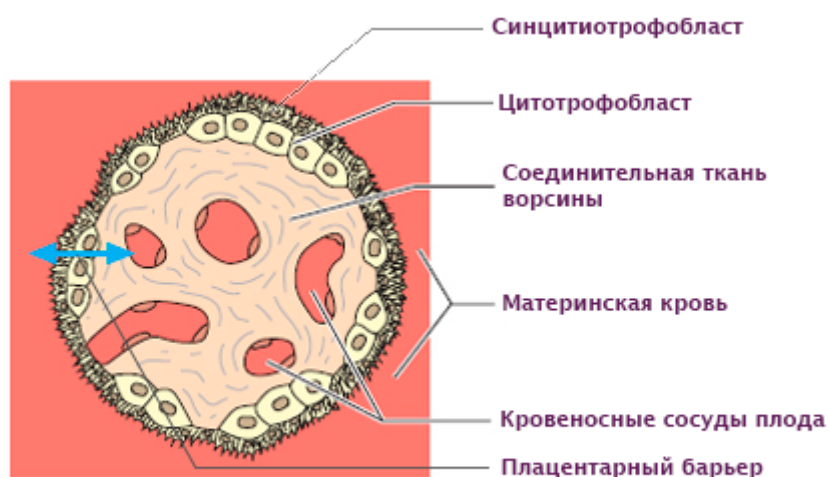


Рисунок 2 – Строение плацентарной мембраны

К 10-12 неделе беременности человеческая плацента становится гемохориальной, что указывает на прямой контакт между материнской кровью и плацентой вследствие нарушения целостности децидуальной оболочки матки со вскрытием ее сосудов. Гемохориальная плацента человека образована ворсинками, являющимися основным функциональным компонентом плаценты и квалифицированными на плавающие и якорные ворсинки. Плавающие ворсинки образованы внутренним слоем цитотрофобластов, покрытых слоем синцитиотрофобластов и омываемых материнской кровью, текущей в

межворсинчатое пространство. Межворсинчатое пространство может содержать до 500 мл материнской крови, подвергая ворсинчатые поверхности воздействию вирусов, присутствующих в материнской крови. Таким образом, плавающие ворсинки находятся в тесном контакте с материнской кровью, участвуя в транспортировке питательных веществ, газов и отходов между плодом и матерью (рисунок 3).

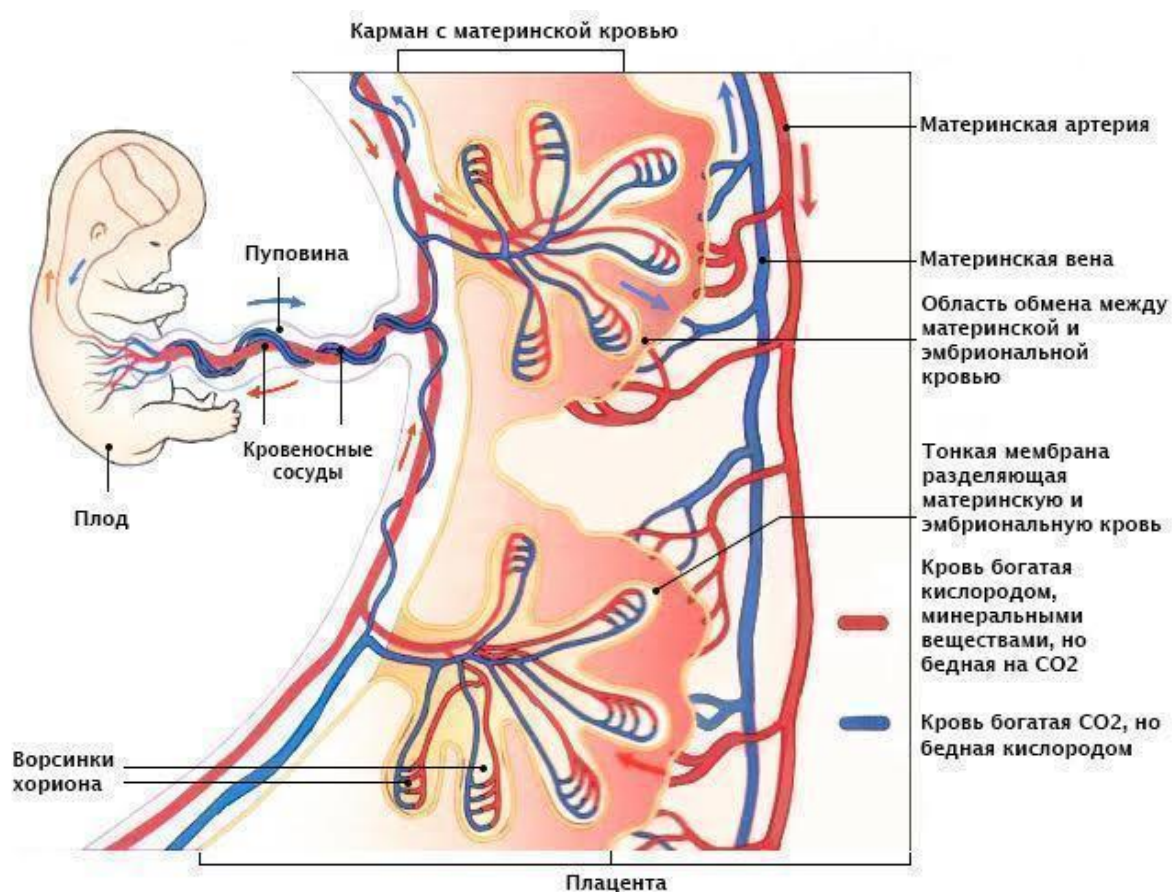


Рисунок 3 – Трансплацентарный обмен

В отличие от плавающих ворсинок, якорные ворсинки прикрепляются к материнской децидуальной ткани высокоинвазивными цитотрофобластами, называемыми вневорсинчатым трофобластом (англ. extravillous trophoblast), образующим клеточные столбики на дистальных концах якорных ворсинок. Таким образом, якорные ворсинки связаны со стенкой матки, образуя опорную структуру между матерью и плодом (Huppertz B., 2008).

Вневорсинчатый трофобласт, непосредственно проникающий в децидуальный слой и миометрий, называют внутритканевым вневорсинчатым трофобластом, тогда как вневорсинчатый трофобласт, проникающий в сосудистую

сеть матери (спиральные артерии), называют внутрисосудистым. Вневорсинчатый трофобласт, закрепляя плаценту в месте имплантации матки, непосредственно соседствует с материнскими иммунными клетками. Как на плавающих, так и на якорных ворсинах синцитиотрофобласты, образующиеся в результате слияния нижележащих цитотрофобластов, образуют внешний клеточный слой и, таким образом, формируют границу между кровью матери и плода.

Ядро ворсин хориона состоит из (1) макрофагов плода (называемых клетками Хофбауэра), (2) фибробластов плаценты и (3) эндотелиальных клеток плода, выстилающих ворсинчатые капилляры и связанные с ними базальные мембраны, защищенные слоями клеток трофобласта от микробов в материнской крови.

Материнский децидуальный слой – это специализированный эндометрий, представляющий место имплантации. Децидуальный слой на 40% состоит из иммунных клеток и 70% из них являются уникальными децидуальными естественными клетками-киллерами (dNK), от 20 до 25% являются макрофагами, и от 3 до 10% являются Т-клетками. Децидуальный слой помимо того, что является местом имплантации плаценты, также участвует в иммунологической толерантности к наполовину чужеродным трофобластам эмбрионального происхождения, находящимися в прямом контакте с этими материнскими клетками. Считается, что децидуальный слой сохраняет свои иммунные привилегии благодаря своему клеточному составу, характеризующемуся ограниченным доступом к лимфоцитам и контролем клеточного транспорта благодаря жесткой регуляции локальной экспрессии хемокинов (Nancy P. et al., 2012; Red-Horse K. et al., 2004), поддерживающейся адаптацией как эмбриональных, так и материнских клеток (Erlebacher A., 2013; Zenclussen A. C., 2013).

Функции плаценты как барьера для проникновения вирусов

Молекулярные механизмы, используемые патогенами для прохождения в эмбриональный компартмент, являются предметом широкого обсуждения.

Трансплацентарный перенос материнского иммуноглобулина G (IgG) имеет решающее значение для защиты от инфекционных заболеваний в первый год

жизни. Материнский защитный IgG переносится в эмбриональную систему кровообращения через плаценту, и этот процесс начинается в первом триместре беременности (Simister N. E., 2003). На 37-40 недель беременности пассивно приобретенная концентрация IgG у новорожденных может превышать уровни сыворотки материнского IgG (Malek A. et al., 1996; Englund J. A., 2007). Молекулярные механизмы трансплацентарного переноса IgG остаются недостаточно изученными. Достичь системы кровообращения плода материнский IgG может в случае пересечения трех различных плацентарных анатомических барьеров: клеточного барьера синцитиофобластов; стромы ворсинок, содержащих клетки Хофбауэра и плацентарные фибробласты; и эндотелиальных клеток плода. Хорошо известно, что IgG пересекает синцитиотрофобласт путем связывания с каноническим неонатальным Fc-рецептором (FcRn – неонатальный рецептор Fc-фрагмента для IgG) (Simister N. E. et al., 1996; Englund J. A., 2007]. Таким образом, синцитиотрофобласты обеспечивают мощную защиту как от вирусных, так и от бактериальных патогенов. Синцитиофобласты обладают уникальными физическими свойствами, представляя собой транспортный эпителий плаценты с двумя поляризованными мембранами: микроворсинчатой мембраной, обращенной к материнской циркуляции, и базальной плазматической мембраной, обращенной к капилляру плода. Лишь мелкие растворимые вещества являются высокопроницаемыми через эти мембраны. Синцитиофобласты представляют собой барьер и ограничивают скорость этапа переноса питательных веществ в кровотоки плода (Brett K. E. et al, 2014). Синцитиотрофобластный слой обладает высокой устойчивостью к многочисленным патогенам, таким как CMV, HSV-1 и ZIKV (Koi H. et al., 2002; Maidji E. et al., 2006; Bayer A. et al., 2015, Bayer A. et al., 2016). Авторы исследования (Fisher S. et al., 2000) обращают внимание, что синцитиотрофобластный слой ворсин хориона первого триместра в значительной степени устойчив к инфекции CMV, тогда как цитотрофобласт и другие клетки ворсинчатого ядра чувствительны. Имеются данные, что синцитиотрофобластный слой устойчив и к инфекции ZIKV, в отличие от амниотического эпителия и цитотрофобластов ворсин хориона, выделенных из плаценты на средних и поздних

сроках беременности, а также эксплантов из ворсин хориона первого триместра, чувствительных к инфекции ZIKV (Tabata T. et al., 2016). Интересно, что более высокие титры ZIKV наблюдаются в амниотических эпителиальных клетках в середине беременности по сравнению с плацентами на поздних сроках беременности, что указывает на большую подверженность инфекции на ранней стадии развития плаценты (Sheridan M. A. et al., 2017). Эффекты могут зависеть от времени беременности, так как слой подсинцитиальных цитотрофобластов становится тоньше и частично прерывистым после первого триместра (Mori M. et al., 2007; Jones C. J. et al., 2008).

Однако механизмы, с помощью которых синцитиотрофобласты ограничивают рост различных патогенов, пока неясны. В значительной степени это обусловлено трудностями в работе с трофобластами на разных сроках беременности и моделированием плаценты человека с использованием животных моделей. Также не полностью понятен механизм пересечения материнским IgG последующих плацентарных барьеров, так как они не экспрессируют FcRn. Недавние анализы транскриптома показали, что большинство рецепторов и, в частности, лиганды, активированные в ходе децидуализации, имеют свой лиганд или рецептор, экспрессируемый в плацентарных клетках (Pavlicev M. et al., 2017). Было отмечено (Fouda G.G. et al., 2018), что помимо FcRn, несколько других рецепторов Fcγ (FcγRs) экспрессируются в плаценте, но их физиологическая значимость не выяснена. Плацента человека вырабатывает высокие уровни других антимикробных защитных компонентов, таких как антимикробные пептиды дефензины (Svinarich D. M. et al., 1997; King A. E. et al., 2007), толл-подобные рецепторы (TLRs) (Pudney J. et al., 2016), и нуклеотидсвязывающие белки домена олигомеризации (NOD) (Costello M. J. et al., 2007). Однако неясно, играют ли эти компоненты активную роль в защите плаценты человека от микробных инфекций *in vivo*. Некоторые ученые утверждают, что антиген-презентирующие клетки, макрофаги и естественные клетки-киллеры (NK) в нижних отделах половых путей могут использовать свои рецепторы распознавания образов (такие как TLR, рецепторы лектина С-типа и NOD-подобные рецепторы) для объединения с

различными бактериальными продуктами и передачи воспалительных сигналов в клетку, активируя многие виды Т-клеток и увеличивая уровни антител IgA в плазматических В-клетках. В конечном итоге, иммунитет слизистой оболочки влагалища образует барьер против проникновения микроорганизмов (Genc M. R. & Onderdonk A., 2011).

Неясно, как вирусы могут нарушать слой синцитиотрофобластов и достигать нижележащего ворсинчатого ядра. Воспаление ворсин плаценты, связанное с множественными патогенами, индуцирует синцитиальную экспрессию молекулы клеточной адгезии (ICAM-1) и последующее связывание моноцитов с синцитиальной поверхностью, что может привести к воспалительному синцитиальному повреждению (Juliano P. B. et al., 2006). Повышенная экспрессия ICAM-1 возникает в ответ на инфекцию, а не в качестве причины. Следовательно, заражение одним патогеном может predispose к инфицированию другим через иммуноопосредованный распад синцития (Mor G & Cardenas I., 2010).

Считается, что некоторые вирусы, в том числе CMV и ZIKV, получают доступ к ворсинкам после репликации во вневорсинчатом трофобласте (Arora N. et al., 2017).

Было показано, что экспрессия человеческого лейкоцитарного антигена (HLA-G) исключительно во вневорсинчатых трофобластах (Chumbley G. et al., 1993; Proll J. et al., 1999) играет роль в материнской толерантности к наполовину чужеродному плоду. Экспрессия HLA-G на стромальных клетках децидуального слоя также может играть непосредственную роль в поддержании толерантности плода (Blanco O. et al., 2008). Поскольку материнский децидуальный слой обладает многоклеточным фенотипом, состоящим из вневорсинчатого трофобласта, эпителия матки, стромы, эндотелиальных клеток и множества иммунных клеток, ряд типов клеток, составляющих децидуальный слой, могут служить сайтами репликации для вертикально передаваемых патогенов (Arora N. et al., 2017).

Вирусы могут проникать в плод различными путями на разных стадиях беременности (рисунок 4). Синеккер (Sinnecker H. 1971) выделяет несколько путей проникновения вирусов от матери к ребенку: герминативный путь (через половые

клетки) – от зачатия до появления у плода кровообращения, так способны проникать CMV и RuV; гематогенно-трансплацентарный путь – с момента появления у плода кровообращения до конца 4-го месяца (плацентарный двухслойный барьер), так способны проникать VZV, HBV, HCV, MV, MuV. Фетальный период гематогенно-трансплацентарного пути начинается с 5-го месяца внутриутробного развития при заглатывании или аспирации плодом контаминированных возбудителем околоплодных вод (плацентарный однослойный барьер) и его может дополнительно преодолевать HSV-2, в этот период также характерно поступление антител беременной через плаценту. CMV и HSV-2 способны также проникать через интранатальный путь передачи. Список вирусов, указанных на рисунке 4 может быть дополнен, поскольку некоторые вирусы не были достаточно изучены в разрезе взаимодействия между матерью и плодом.

В другом исследовании (Delorme-Axford E. et al., 2014) описано, что передача патогенов в ткани плода и плаценты может происходить четырьмя различными путями: (1) через эндотелий сосудов матери к внутрисосудистым вневорсинчатым трофобластам; (2) через инфицированные макрофаги материнской крови, передающих инфекцию плацентарным трофобластам; (3) через восходящую инфекцию мочеполовой системы, что приводит к вертикальной инфекции; (4) через параклеточные пути (переносу веществ через эпителий, проходя через межклеточное пространство между клетками) от материнской крови к фетальным капиллярам (Delorme-Axford E. et al., 2014).



Рисунок 4 – Типы вертикальной передачи вирусных инфекций человека (на основе Sinnecker H. 1971)

1.3 Факторы, способствующие проникновению вирусов через плаценту

На способность вирусов проникать через плаценту влияют несколько факторов, таких как экспрессия рецептора проникновения вируса в децидуальной и плацентарной тканях, иммунный ответ матери на вирус, а также различные повреждения плаценты, например, вследствие фетоплацентарной недостаточности или при отслойке плаценты (Delorme-Axford E. et al., 2014). Играть роль такие факторы как незрелость плода и новорожденного, клеточная и гуморальная иммунная функция.

Для проникновения в клетку вирус использует молекулы поверхности клетки-хозяина в качестве рецепторов. Это взаимодействие между вирусом и клеткой-хозяином вызывает конформационные изменения вирусных белков, способствующих проникновению вируса двумя основными механизмами: (1) путем прямого слияния с клеточной плазматической мембраной или (2) посредством процесса интернализации в эндосомах с последующим высвобождением в цитоплазму (Leon-Juarez M. et al., 2017).

Несколько групп исследователей продемонстрировали наличие специфичных рецепторов (таких как BeWo, JAR и JEGIII) к вирусам на плазматической мембране трофобластов плаценты и клеточных линий хориокарциномы (Halwachs-Baumann G. et al., 2006; Delorme-Axford E. et al., 2013). Инфицирование цитомегаловирусом опосредовано рецептором эпидермального фактора роста (EGFR) (Wang X. et al., 2003). Этот рецептор экспрессируется синцитиотрофобластами и цитотрофобластами на децидуальных клетках и в ворсинах плаценты, тем самым увеличивая восприимчивость плода к инфекции. Взаимодействие вирионов с цитотрофобластами, экспрессирующими рецепторы в плаценте, изменяются по мере дифференцировки клеток и коррелируют с участками репликации CMV в материнских и эмбриональных компартментах (Maidji E. et al., 2007). Кроме того, рецептороподобные интегрины $\alpha 5\beta 3$, $\alpha 2\beta 1$ и $\alpha 6\beta 1$ также могут выступать в качестве рецепторов проникновения CMV. Однако проникновение вируса может быть заблокировано специфичными антителами и, в таком случае, возможно избежать проникновения CMV в плаценту (Feire A. L. et al., 2004). Сообщалось о нескольких закрепляющих и высокоаффинных рецепторах для других вирусных агентов, таких как ZIKV, HPV, вирус гриппа А (H1N1) и HSV-1, опосредующих взаимодействие между матерью и плодом (Koi H. et al. 2002; You H. et al., 2003; Komine-Aizawa S. et al., 2012; Tabata T. et al., 2016). Однако не было установлено, как именно регулируются эти рецепторы в процессе инфицирования. Не показана взаимосвязь этих рецепторов с дифференцировкой трофобластов.

Иммунная система состоит из гемопоэтических клеток: лимфоцитов, мононуклеарных фагоцитов, миелоидных и лимфоидных дендритных клеток, и гранулоцитов; некоторых негематопоэтических клеток: фолликулярных дендритных клеток и эпителиальных клеток тимуса; и гуморальных факторов: цитокинов и компонентов комплемента. Зрелые гемопоэтические клетки млекопитающих происходят от плюрипотентных гемопоэтических стволовых клеток (HSCs). HSCs образуются во время онтогенеза из эмбриональной парааортальной ткани, печени плода и костного мозга. HSCs обнаруживаются в области парааортальной ткани на 27-й день беременности человека. Желточный

мешок является основным местом нелимфоидного кроветворения, начинающегося примерно на 3-й неделе эмбрионального развития, и вытесняется печенью плода на 8-й неделе беременности и, наконец, костным мозгом после 5-и месяцев беременности. Гемопоз печени и костного мозга плода устанавливается путем засева этих участков циркулирующими HSCs, полученными из парааортальной ткани. Таким образом, уже к началу второго триместра у плода присутствуют все основные линии кроветворных клеток (Lewis D. B. & Wilson C. B., 2006).

При вирусной инфекции продукция интерферона- γ Т-лимфоцитами у новорожденного снижается, задерживаются антиген-специфические ответы CD4⁺ Т-лимфоцитов (по сравнению со взрослыми) и уменьшается помощь Т-клеток для дифференцировки В-клеток. Кроме того, клетки естественных киллеров у новорожденных имеют незрелый фенотип и сниженную цитотоксичность по отношению к клеткам, инфицированным вирусом. Вирусы, заражающие плод на ранних сроках беременности, обычно приводят к большему повреждению, чем заражающие плод на поздних сроках беременности (Miller E. et al., 1982; Liesnard C. et al, 2000; Pass R. F. et al., 2006). Инфекция плода до третьего триместра происходит в отсутствие значительных концентраций антител, полученных от матери. Инфекции на ранних сроках беременности встречают незрелую иммунную систему и развивающиеся органы плода. Поэтому повреждение тканей, дисфункция органов, тератогенность и гибель плода являются возможными последствиями этих инфекций.

Антитела матери приобретаются трансплацентарно, а иммунокомпетентные клетки, присутствующие в молозиве и материнском молоке, являются важными компонентами защиты новорожденного от вирусной инфекции. Новорожденный, зараженный вирусом, к которому у матери отсутствует иммунитет, подвержен тяжелой инфекции. Неонатальные инфекции, вызванные герпесвирусами, являются ярким примером. Так, приобретенный при переливании крови CMV редко клинически проявляется у доношенных детей сероположительных матерей, но может вызывать тяжелые заболевания у недоношенных детей с отрицательным тестом на антитела. HSV и VZV с большей вероятностью вызывают тяжелые

заболевания у новорожденных с отсутствующими или низкими концентрациями материнских антител.

1.4 Значение диагностики вирусных инфекций в перинатальном периоде

Ранняя диагностика вирусных инфекций имеет важное значение для вынашивания и рождения здорового потомства. Когда беременная женщина имеет подтвержденную инфекцию RuV или CMV, может потребоваться выявление фетальной инфекции, чтобы помочь оценить риск врожденных пороков развития. Пренатальная диагностика парвовируса B19 рекомендуется при водянке плода. Для пренатальной диагностики могут быть получены образцы хорионических ворсинок, амниотической жидкости и эмбриональной крови, но методы получения этих образцов несут риск для плода. Для обнаружения вируса в таких образцах необходимы чувствительные и быстрые методы, такие как ПЦР.

В отношении некоторых вирусов, передаваемых вертикально, в настоящее время доступны меры для предотвращения передачи инфекции от матери ребенку, такие как вакцинирование, пассивная иммунизация, противовирусные препараты. Кроме того, перинатальные и постнатальные инфекции могут быть предотвращены путем использования планового кесарева сечения и предотвращения грудного вскармливания (Ornoy A. & Tenenbaum A., 2006; Tremolada S. et al., 2008). Так, например, HTLV-1/2 рекомендуют диагностировать у беременных женщин, чтобы предотвратить передачу, избегая грудное вскармливание. Также желательно тестировать беременных женщин на антитела к HIV для предотвращения передачи вируса путем введения зидовудина (AZT) и родами кесаревым сечением.

1.5 Вирусный комменсализм

Представление о том, что все вирусы человека являются патогенными, оспаривается наличием таких вирусов как гепатит G (GBV-C) и Torque Teno Virus (TTV), первоначально связанный с посттрансфузионным гепатитом (Mushahwar I.

К., 2000). Мнение о том, что вирусы действуют как обязательные патогены, постепенно начинает уступать место понятию, что некоторые вирусы могут быть частью нормофлоры человеческого организма. Комменсальные вирусы, встречающиеся в различных областях тела, включая кишечник, кожу, ротовую полость, дыхательные пути, слюну, мочу и кровь, возможно, имеют некоторую адаптивную ценность для хозяина, что является вероятным объяснением их повсеместного присутствия (Haynes M. & Rohwer F., 2010; Rowan-Nash A. D. et al., 2019).

До настоящего времени этиология одного из ключевых комменсальных вирусов человека – TTV – неизвестна. Не установлена распространенность TTV в популяции новорожденных, не определено диагностическое и прогностическое значение этого вируса для состояния плода и новорожденного. Остается спорной и трансплацентарная передача TTV. Существуют данные о высокой распространенности TTV среди людей независимо от возраста, пола и других параметров. Особый интерес представляет его комменсальная природа. В литературе имеются данные об обнаружении TTV у здоровых детей в раннем возрасте (Peng Y. H. et al., 2002; Lin H.-H. et al., 2002), TTV был обнаружен даже в образцах пуповинной крови (Morrica A. et al. 2000; Matsubara H. et al., 2001).

1.6 Структура генома и филогения Torque teno virus

TTV относится к анелловирусам и представляет собой небольшой вирус с одноцепочечной кольцевой молекулой ДНК. Этот вирус был обнаружен в Японии в 1997 году у пациента с посттрансфузионным гепатитом неизвестной этиологии (Nishizawa T. et al., 1997). Первоначально он был так назван по инициалам пациента, позже, не меняя аббревиатуры его стали называть Torque teno virus (в виде «тонкого ожерелья», лат.) или Transfusion transmitted virus (вирус, передающийся при переливании крови). TTV, изначально отнесенный к семейству *Circoviridae*, роду *Anellovirus* (Fauquet C. M. et. al., 2005), в настоящее время состоит в не так давно открытом семействе *Anelloviridae* (от латинского *anello*,

«кольцо») и обладает геномом 3,6 – 3,9 т.п.н., варьирующимся в зависимости от изолятов (King A. M. Q. et al., 2012). Геном TTV содержит перекрывающиеся открытые рамки считывания, из них две большие (ORF1 и ORF2) и несколько малых и нетранслируемый регион (рисунок 5).

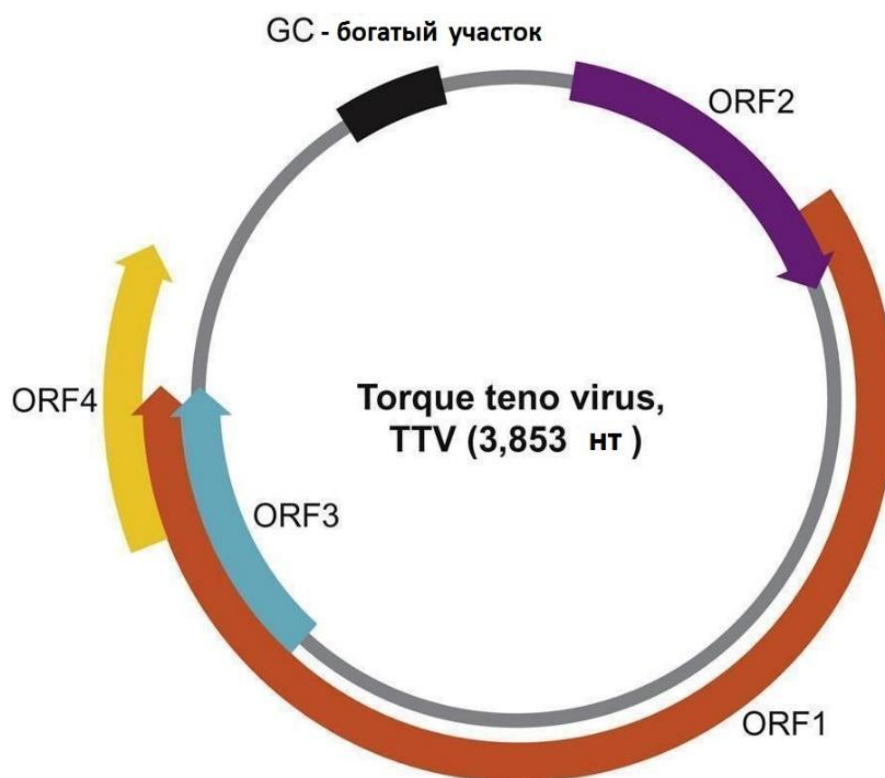


Рисунок 5 – Геномная организация TTV (из King A. M. Q. et al., 2012)

Усовершенствование методов детекции ДНК TTV в последние годы, а также более глубокое изучение его биологии и строения привело к открытию в рамках изучения TTV таких самостоятельных TTV-подобных вирусов как Torque teno midi virus (TTMDV), Torque teno mini virus (TTMV) и Small anellovirus (SAV) (рисунок 6).

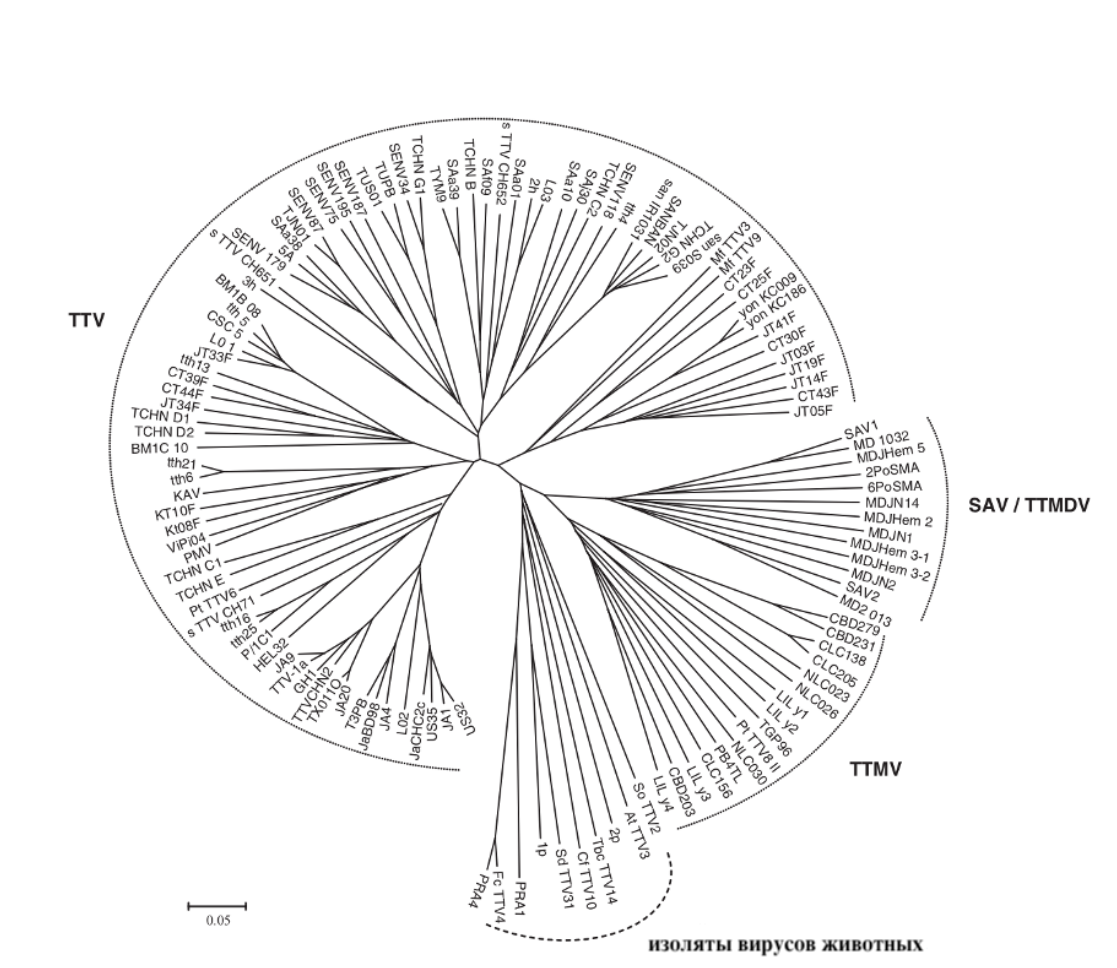


Рисунок 6 – Филогенетическое древо изолятов TTV человека и животных на основе ORF1 из (Biagini P., 2009)

Кроме того, изоляты TTV демонстрируют «высокий уровень гетерогенности» – наличие более 30 генотипов, классифицированных в 5 основных геногрупп (Haramoto E. et al., 2008; Hussain T. et al., 2012; Mi Z. et al. 2014). Недавно было сообщено о дополнительных двух группах (рисунок 7) (Hsiao K.-L. et al., 2016).

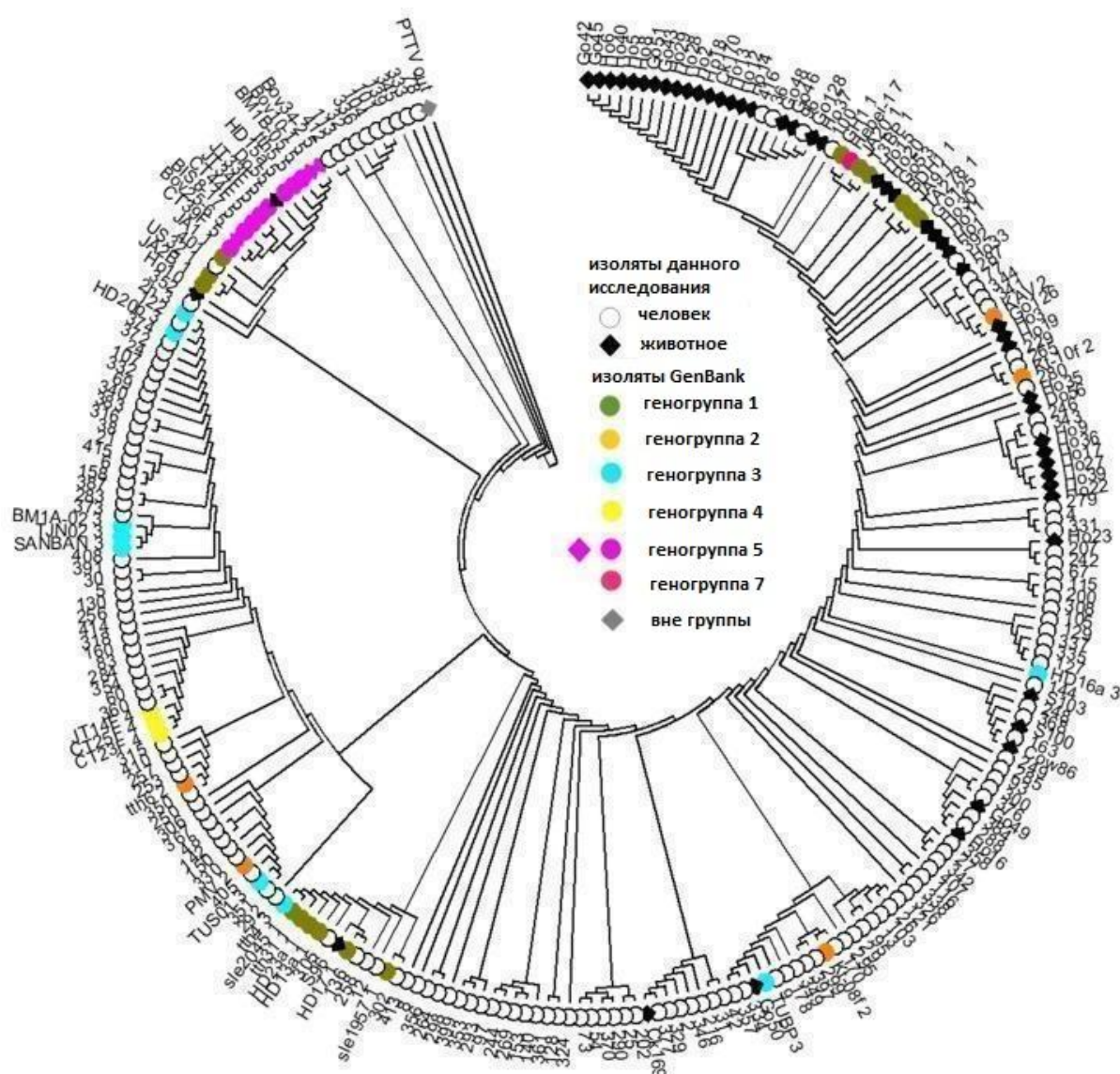


Рисунок 7 – Филогенетическое дерево изолятов TTV человека и животных на основе 5'-UTR из (Sarairah H. et al., 2020)

Вирусы с кольцевым одноцепочечным геномом ДНК были охарактеризованы у животных, растений и бактерий, задолго до открытия анелловирозов. Исходя из молекулярных и структурных соображений, они сгруппированы в несколько таксономических семейств (таблица 3), как это определено действующей официальной классификацией Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV):

Таблица 3 – Место *Anelloviridae* среди родственных вирусов с кольцевым одноцепочечным геномом ДНК (оцДНК) (King A. M. Q. et al., 2012)

Семейство	Роды	Хозяин
<i>Inoviridae</i>	Inovirus Plectrovirus	Бактерии
<i>Microviridae</i>	Bdellomicrovirus Chlamydiamicrovirus Microvirus Spiromicrovirus	Бактерии
<i>Geminiviridae</i>	Begomovirus Curtovirus Mastrevirus Topocuvirus	Растения
<i>Nanoviridae</i>	Babuvirus Nanovirus	Растения
<i>Circoviridae</i>	Circovirus Gyrovirus	Птицы Млекопитающие
<i>Parvoviridae</i>	Parvovirus Erythrovirus Dependovirus Amdovirus Bocavirus	Позвоночные
	Iteravirus Brevidensovirus Densovirus Pefudensovirus	Беспозвоночные
<i>Anelloviridae</i>	Alpatorquevirus Betatorquevirus Gammatorquevirus	Человек
	Deltatorquevirus Epsilontorquevirus Zetatorquevirus Etatorquevirus Thetatorquevirus Iotatorquevirus	Млекопитающие

Как видно из таблицы 3 разные семейства вирусов инфицируют различных хозяев. Так, например, члены семейства *Circoviridae* заражают животных-хозяев (виды птиц и свиней), где *Circovirus* является типовым видом свиного цирковируса 1 типа, а *Gyrovirus* – типовой вид вируса куриной анемии (CAV).

Семейство *Anelloviridae* включает TTV и родственные ему небольшие вирусы без оболочки с кольцевыми одноцепочечными ДНК геномами. Вирусы этого семейства согласно предыдущей доступной классификации (Таксономия вирусов: выпуск 2009 г.) подразделяли на девять родов: *Alpatorquevirus*, *Betatorquevirus*, *Gammatorquevirus*, заражающих человека и *Deltatorquevirus*, *Epsilontorquevirus*, *Zetatorquevirus*, *Etatorquevirus*, *Thetatorquevirus*, *Iotatorquevirus*, заражающих ряд видов млекопитающих (таблица 3). Текущая классификация ICTV (Таксономия вирусов: выпуск 2021 г.) семейство *Anelloviridae* выделяет 30 родов, включающих в общей сложности 156 видов, в том числе 40 видов TTV, заражающих человека.

Представители семейства *Anelloviridae* имеют общие черты с вирусом куриной анемии, типовым видом рода *Gyrovirus* семейства *Circoviridae*. А именно:

- Все вирусы обладают отрицательным смыслом, кольцевыми геномами одноцепочечной ДНК.
- Геномные организации аналогичны.
- Наличие в ORF1 обоих вирусов консервативных мотивов аминокислотной последовательности, которые встречаются в белках Rep, предполагает, что репликация ДНК анелловируса может использовать механизм репликации по катящемуся кольцу, как и CAV. Белки, кодируемые ORF2 в CAV, TTV и TTMV, содержат аминокислотные последовательности, характерные для протеинтирозинфосфатаз (PTPase). ORF2 у анелловирусов и CAV имеет общий мотив, $WX_7HX_3CXCX_5H$.
- Некодирующая область генома CAV и большинство геномов анелловирусов содержат G+C-богатые последовательности.
- Сплайсированные транскрипты были обнаружены для CAV и TTV.

- Пептиды, идентифицированные в CAV и TTV, способны индуцировать апоптоз в клеточных линиях гепатоцеллюлярной карциномы человека.

Члены семейств *Circoviridae*, *Geminiviridae* и *Nanoviridae*, несмотря на их классификацию на отдельные семейства, содержат высококонсервативные области в своих геномах, совпадающие с высококонсервативными функциями, такими как репликация (белок Rep) (Biagini P., 2009).

Важной особенностью вирусов, поражающих животных, является то, что CAV не проявляет тесной филогенетической связи с другими видами рода *Circovirus*, что выявлено сравнением белков Rep среди всех представителей семейства *Circoviridae*. Результаты электронно-микроскопических исследований демонстрируют, что вирусы родов *Gyrovirus* и *Circovirus* не связаны структурно (Crowther R. A. et al. 2003).

Сравнение последовательностей TTV с другими вирусами, имеющими оцДНК, не продемонстрировало сходства, за исключением наличия некоторых консервативных последовательностей, связанных с белком Rep (ORF1).

1.7 Репликация TTV и функции белков

TTV представляют собой небольшие вирусы без оболочки (около 25 нм в диаметре) с икосаэдрическими капсидами. Их геномы передаются в виде одноцепочечной кольцевой ДНК. Эти вирусы заражают только митотически активные клетки.

Большинство известных кольцевых ДНК-вирусов как прокариотического, так и эукариотического происхождения, используют так называемый механизм «катящегося кольца» для репликации своей ДНК (Rosario K. et al., 2012), и есть отдельные подтверждения того, что TTV использует этот же механизм. Прежде всего, нетранслируемая область TTV содержит последовательности, способные образовывать шпильки для облегчения репликации по механизму «катящегося кольца» (Peng Y. H. et al. 2002; de Villiers E.-M. et al., 2011). Геномы TTV кодируют консервативные мотивы, напоминающие мотивы белков, ассоциированных с

репликацией по механизму «катящегося кольца» (белки Rep), принадлежащих к семейству *Circoviridae* (Bendinelli M. et al., 2001). Кроме того, геномы TTV были обнаружены в костном мозге и печени человека в виде двухцепочечной кольцевой ДНК, типичного репликативного промежуточного звена репликации по механизму «катящегося кольца» (Okamoto H. et al. 2000a; Okamoto H. et al. 2000b; Wawrzyniak P. et al., 2017). TTV не кодирует свою собственную ДНК-полимеразу, поэтому репликация генома полностью зависит от механизма клетки-хозяина (Kakkola L. et al., 2007). Следовательно, репликация генома и превращение оцДНК в дцДНК происходит в ядре.

В геноме TTV были идентифицированы четыре мРНК, кодирующие семь белков ORF1, ORF1/1, ORF1/2, ORF2, ORF2/2, ORF3 и ORF4. Анализ N-концевых меченых белков, кодируемых профилем транскрипции Р / 1С1 (геногруппа 1) показал, что ORF1, ORF1/1 и ORF1/2 локализованы в ядрышках, ORF3 и ORF4 находятся в нуклеоплазме (Mueller B. et al., 2008).

Белок ORF1 – самый крупный белок, кодируемый TTV. Было показано, что он также локализован в цитоплазме клетки, трансфицированной TTV, что указывает на структурную роль этого белка (Qiu J. et al. 2005). На N-конце белок ORF1 содержит участок аргининовых повторов (Erker J. C. et al. 1999). Эта богатая аргинином область очень похожа на мотив ARM (обнаруженный в белках Сар цирковирусов), обладающий способностью связывать ДНК (Erker J. C. et al. 1999; Sarker S. et al. 2016). Данная особенность демонстрирует, что белок ORF1, подобный белкам Сар цирковирусов, играет решающую роль в упаковке оцДНК (Sarker S. et al. 2016).

Белок ORF2, скорее всего, является регуляторным белком, помогающим вирусу нарушать иммунные ответы хозяина (Zheng H. et al. 2007; Kakkola L. et al., 2009). Интересно, что, как и белок ORF1, этот белок локализован исключительно в цитоплазме, что предполагает, что он также является структурным компонентом (Qiu J. et al. 2005). Белки ORF2/2 и ORF 2/3 локализованы в ядре, тогда как белки ORF1/1 и ORF1/2 в равной степени присутствуют в цитоплазме и ядре трансфицированных клеток (Qiu J. et al. 2005). Фосфорилированный белок ORF2/2

предположительно обладает способностью связывать матрицу ДНК, поскольку он содержит характерные богатые серином домены на С-конце (Asabe S. et al. 2001). Эта особенность предполагает роль данного белка в регуляции репликации генома TTV и экспрессии генов (Kakkola L. et al., 2009).

Финские ученые в 2008 г. продемонстрировали, что репликация TTV может быть блокирована препаратом афидиколина, указывая, что TTV использует для репликации клеточные ДНК-полимеразы (Kakkola L. et al., 2007).

1.8 Распространенность TTV и ассоциация с заболеваниями

В литературе представлены данные о комменсальной природе TTV (Simmonds P. et al., 1999; Mushahwar I. K., 2000; Kaczorowska J. & van der Hoek L., 2020], поскольку он вызывает пожизненную вирусемию у большинства людей независимо от возраста, пола, состояния здоровья и иных параметров (Abe K. et al., 1999; AbuOdeh R. et al., 2015). Ранние сообщения о TTV демонстрировали низкую представленность этого вируса как у здоровых людей, так и у пациентов с различными заболеваниями, частота обнаружения не достигала 90% (Charlton M. et al., 1998; Irshad M. et al., 2008). Такая недооценка, вероятно, связана с изменчивостью генотипов TTV и исключением некоторых вариантов TTV, ускользнувших от обнаружения из-за использования недостаточно универсальных праймеров для ПЦР. Согласно исследованиям, проведенным в 2009 году (Vasilyev E. V. et al., 2009) около 94% здоровых россиян, имеют более 1000 копий генома TTV на 1 мл крови. По другим данным распространенность ДНК TTV в крови достигает 95% (Hsiao K.-L. et al., 2016). Сообщения о распространенности TTMDV и TTMV неоднородны и данные об их распространенности в крови здоровых людей немногочисленны. Для TTMDV распространенность колеблется от 14,5% в Иране (Fatholahi M. et al., 2015) до 75% в Японии (Ninomiya M. et al., 2008), в то время как распространенность TTMV варьирует от 29% в Корее (Han T. H. & Chung J. Y., 2006) до 84,8% в Японии (Spandole S. et al., 2015).

Недавно в рамках проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx) была проведена комплексная тканеспецифичная характеристика вирома человека с использованием 8991 набора данных секвенирования РНК, соответствующих соматическим тканям 547 здоровых людей (Kumata R. et al., 2020). Вопреки ожиданиям (основанным на одноцепочечной природе его генома), нагрузки TTV не показали связи со стимулируемой интерфероном экспрессией генов (наблюдаемой для HSV-1 и некоторых других вирусов). Транскрипция и репликация, наблюдаемые в широком диапазоне тканей человека (кровь, печень, миокард, яичники, легкие и др.), по-видимому, контролируются иммунной системой интерферон-независимым образом.

Данных о распространенности и генетической гетерогенности TTV у здоровых лиц и при различных патологиях предостаточно. Существует ряд исследований TTV, изучающих его распространение в сочетании с заболеваниями печени (Hafez M. M. et al., 2007), раком (Jelicic I. et al., 2004), талассемией (Hassuna N. A. et al 2017), не малярийными лихорадочными заболеваниями (Hsu J. et al., 2018), респираторными заболеваниями (Maggi F. et al., 2003). Вестман и др. сообщили о значительных корреляциях плазменных нагрузок TTV с возрастом, уровнями CMV IgG и типом HLA у пациентов с болезнью Альцгеймера (но не корреляции со статусом заболевания) (Westman G. et al., 2020). Повышенный уровень виремии TTV был обнаружен у людей с ВИЧ-инфекцией (Thom K. & Petrik J., 2007), раком (De Villiers E.-M. et al., 2007), у детей с воспалительными заболеваниями органов дыхательной системы (Pifferi M. et al., 2006), а также у людей с подавленным иммунитетом, при трансплантации стволовых клеток и трансплантации солидных органов (Albert E. et al., 2017; Abbas A. A. et al., 2017). TTV демонстрирует повышенную виремию у пациентов с ослабленным иммунитетом. Наблюдались максимумы репликации TTV во время сепсиса (Davila S. et al., 2018). Пиффери с коллегами (Pifferi M. et al., 2005) при исследовании нагрузки TTV в носовой жидкости у здоровых детей и детей с астмой не обнаружили корреляции между показателями TTV и самим заболеванием, однако, выявили зависимость между назальной нагрузкой TTV и спирометрическими

показателями, а также уровнем эозинофильного катионного белка в мокроте. Снижение вирусной нагрузки TTV в плазме крови было предложено в качестве предикторов опосредованного антителами отторжения почечного трансплантата и в качестве маркера индивидуального состояния иммуносупрессии у пациентов педиатрического отделения с почечными трансплантатами (Schiemann M. et al., 2017; Uhl P. et al., 2020). Вирусная нагрузка TTV может снижаться у пациентов с отторжением трансплантата или хроническим гепатитом. Беланд К. с коллегами обнаружили более низкую вирусную нагрузку у пациентов с хроническим гепатитом после ортотопической трансплантации печени (по сравнению с больными с неизменной гистологией), по-видимому, за счет воспалительного поражения печени как одного из мест репликации TTV (Beland K. et al., 2014).

Инфекция TTV довольно распространена среди здоровых детей дошкольного и школьного возраста (Toyoda H. et al., 1999). Убедительных доказательств, подтверждающих патогенное влияние TTV у детей не выявлено. Например, TTV обнаружен как у детей с заболеваниями печени, так и у здоровых детей (Odemis E. et al., 2004). Результаты другого исследования (Учайкин В. Ф. и др., 2010) также не показали прямой связи между обнаружением TTV у пациентов с поражением печени и без. Частота идентификации трех представителей TTV оказалась практически одинаковой у здоровых детей, у детей больных острым гепатитом неустановленной этиологии и носителей HBV или HCV. Прочие сообщения о положительных значениях TTV, обнаруженных у здоровых детей в различном возрасте, свидетельствуют о том, что инфекция TTV распространена у здоровых детей даже в раннем детстве (Peng Y. H. et al., 2002; Lin H.-H. et al., 2002).

В отдельных исследованиях сообщалось, что только некоторые подтипы TTV были связаны с патологией (например, TTMDV и TTMV были связаны с респираторными заболеваниями (Ninomiya M. et al., 2008) и периодонтитом (Zhang Y. et al., 2016)).

Хотя патологические механизмы TTV до конца не изучены, последние исследования указывают на несколько механизмов, с помощью которых эти вирусы могут уклоняться и формировать иммунный ответ (активация продукции

провоспалительных цитокинов TLR-9 (Rocchi J. et al., 2009), что делает инфицированные лимфоциты устойчивыми к иммуномодуляции интерфероном (Kincaid R. P. et al., 2013) и приводит к ухудшению состояния.

Таким образом, мнения ученых о том, что репликация TTV отражает нарушение иммунной системы, привело к тому, что группу этих вирусов считают маркером иммунодефицита (Wohlfarth P. et al., 2018). Тем не менее, вездесущность TTV, как было описано выше, затрудняет интерпретацию этих данных в ключе возможной патогенности этой группы вирусов и не позволяет связывать эти наблюдения с развитием какого-либо заболевания. Автор (Mushahwar I. K., 2000) призывает не ссылаться на эти вирусы как на новые или потенциальные вирусы гепатита, поскольку они не соответствуют критериям возбудителей гепатита, необходимым для классификации. Эти критерии включают репликацию в гепатоцитах и последующее повреждение печени инфицированных хозяев, одновременное повышение уровня аланинаминотрансферазы в сыворотке и аномальную патологию печени, а также доказательство развития острого и / или хронического гепатита.

Повсеместное распространение TTV-инфекций у людей вряд ли совместимо с концепцией патогенности, если только мы не укажем связь вирусной нагрузки или генетических вариантов с конкретными состояниями. Систематические исследования в этом направлении оправданы, поскольку многие анелловирусы, переносимые другими видами животных, демонстрируют отчетливое поведение, связанное с заболеванием. В этом контексте обязательно следует упомянуть вирус инфекционной анемии кур (род Gyrovirus) – самодостаточный патоген, вызывающий иммуносупрессию путем системной атрофии кроветворных тканей у молодых цыплят (Fenner's Veterinary Virology). Свиной TTV, вирус Torque teno sus 1b (TTSuV 1b, род Iotatorquevirus), был связан с заболеваниями, вызванными цирковирусом свиней типа 2, при этом вирусная нагрузка TTSuV 1b в сыворотке была значительно выше у пораженных животных (Aramouni M. et al., 2011). Этот вывод согласуется с повышенной вирусной нагрузкой TTSuV 1b при воспалительных поражениях легких на вирусном фоне, включая

интерстициальную и бронхоинтерстициальную пневмонию (Aramouni M. et al., 2013).

1.9 Методы обнаружения TTV

TTV был обнаружен с помощью анализа репрезентативных различий (RDA), основанного на дифференциальном представлении специфических последовательностей нуклеотидов в биоматериале. Методика основана на субтрактивной гибридизации двух образцов ДНК, предварительно расщепленных эндонуклеазой рестрикции. Мечение концов ДНК-фрагментов искусственными адапторными последовательностями в одном из образцов (обеспечивая тем самым сайты отжига для универсальных праймеров) позволяет проводить селективную экспоненциальную амплификацию регибридизованных видов и, в конечном счете, идентифицировать дифференциально экспрессирующиеся последовательности (Nishizawa T. et al., 1997).

Большинство протоколов рутинного обнаружения TTV основаны на ПЦР. Позиционирование праймеров для ПЦР имеет решающее значение, учитывая наличие гипервариабельных и консервативных областей в вирусных геномах. Нетранслируемая область с регуляторной GC-богатой последовательностью из 113 нуклеотидов является консервативной (Hsiao K.-L. et al., 2016).

ORF1, самая длинная ORF в геноме TTV, содержит гипервариабельные области (отвечающие за диверсификацию интерфейса вирус-хозяин и функциональные возможности вирусных белков) (Jelcic I. et al., 2004). Степень специфичности мишени для того или иного ПЦР-теста (и, соответственно, его объем) во многом определяется выбором сайтов отжига. Стратегия «гнездовой» ПЦР позволяет проводить филогенетическую стратификацию смешанных амплифицированных образцов путем последовательной модуляции специфичности мишени (Ninomiya M. et al., 2008). Интересный протокол анализа плавления с высоким разрешением, предложенный Спандолом с другими учеными

позволяет различать ампликоны, производные от TTV, TTMV и TTMDV на уровне после амплификации (Spandole S. et al., 2013).

Высокопроизводительное секвенирование и метагеномные исследования виромов плазмы крови вызывают все больший интерес. В недавнем ретроспективном описательном исследовании динамики TTV после трансплантации почки приняли участие 15 пар донор-реципиент, у которых были собраны образцы плазмы крови и проанализированы с помощью секвенирования следующего поколения (Kulifaj D. et al., 2020). Исследование выявило сильную разницу в преобладающих штаммах TTV у реципиентов и доноров, сопровождающуюся значительно повышенным разнообразием видов TTV у реципиентов. Более дешевая альтернатива секвенированию, позволяющая учитывать разнообразие изолятов TTV, представляет собой ПЦР-анализ распределения полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (Tanaka T. et al., 2001).

Протокол иммунодетекции для измерения TTV в сыворотке крови человека, разработанный в Индии (Mankotia D. S. & Irshad M., 2014), основан на использовании пептида, соответствующего области N22 ORF1 (nt 1847–2346, GenBank № AF122916.1). Этот протокол представляет собой эффективную альтернативу подходам на основе ПЦР, особенно с большими образцами, поскольку он не требует дорогостоящего оборудования и может быть легко выполнен в небольших лабораториях. Иммунодиагностика чувствительна к элиминированным TTV-инфекциям, которые не поддаются обнаружению методами, основанными на нуклеиновых кислотах.

1.10 Пути передачи TTV

Известно, что TTV обнаруживается в крови, грудном молоке (Iso K. et al., 2001; Matsubara H. et al., 2001), в амниотической жидкости (Matsubara H. et al., 2001), в сперме (Inami T. et al., 2000), в цервикальных мазках (Fornai C. et al., 2001), в носовой жидкости и слезах (Maggi F. et al., 2003; Emre S. et al., 2007), в фекалиях

(Pinho-Nascimento C. A. et al., 2011), желчных соках (Itoh M. et al., 2001), в слюне (Gallian P. et al., 2000; Deng X. et al., 2000). ДНК TTV была обнаружена в печени, в мононуклеарных клетках периферической крови и в костном мозге (Lopez-Alcorocho J. M. et al., 2000; Zhong S. et al., 2002), указывая на лимфоциты как основной сайт репликации TTV. Присутствие TTV во всех этих материалах позволяет предполагать, что эти анелловирусы не проявляют устойчивого тропизма к конкретному типу клеток или типам тканей.

В одном из исследований приведены доказательства возможной передачи TTV между видами, поскольку продемонстрировано обнаружение свиного TTV в образцах сыворотки человека и наоборот – обнаружение человеческого TTV в образцах сыворотки свиней (Ssemadaali M. A. et al., 2016). Кроме того, около 1,5% здоровых японцев и около 10,5% японских пациентов с заболеваниями печени были инфицированы обезьяньим TTV (геномная организация обезьяньего TTV и TTV человека имеет 85% сходство) (Iwaki Y. et al., 2003). Согласно недавнему исследованию (Sarairah H. et al., 2020) TTV животных в Иордании исторически происходит от человеческих вариантов, но текущий обмен TTV между человеком и животными хоть и возможен, скорее всего незначителен.

1.10.1 Вертикальные пути передачи TTV

В 2009 г. была обнаружена эффективная трансплацентарная передача анелловирусов у свиней. Поццучо и др. наблюдали высокую частоту внутриутробного инфицирования TTSuV (род *Iotatorquevirus*), обнаруженного в 22% образцов сыворотки гнотобиотических поросят, родившихся с помощью кесарева сечения (Pozzuto T. et al., 2009). Мартинес-Гино и др. сообщили о до 50% распространенности инфекций TTSuV среди мертворожденных свиней (Martinez-Guino L. et al., 2009) и позднее об отсутствии корреляции между вертикально передаваемой инфекцией этими вирусами и спонтанными абортами у свиней (Martinez-Guino L. et al., 2010). Эти результаты не отрицают возможного влияния передачи TTV цервикальным путем во время родов или орально-фекальным путем

вскоре после рождения, поскольку та же группа исследователей выявила высокую распространенность TTV как в молочной сыворотке, так и в клеточных фракциях молозива (Martinez-Guino L. et al., 2009).

Вертикальная передача TTV у людей до настоящего времени однозначно не подтверждена. Исследования, демонстрирующие наличие TTV в пуповинной крови неоднородны. Так, в работах Matsubara H. и Morrica A. вирусная нагрузка TTV в пуповинной крови была 48% и 66,7%, соответственно (Morrica A. et al. 2000; Matsubara H. et al., 2001), однако в большинстве случаев концентрация вируса очень мала (1 – 19%) (Saback F. L. et al., 1999; Gerner P. et al., 2000; Goto K. et al., 2000; Kazi A. et al., 2000; Zhong M. et al., 2001; Xin X. et al., 2004; Mutlu D. et al., 2007). Ряд исследований демонстрирует отсутствие TTV в образцах пуповинной крови (Fang F. et al., 2001; Iso K. et al., 2001; Ohto H. et al., 2002).

Известно, что TTV обнаруживается у детей первого года жизни независимо от их клинических данных (Yokozaki S. et al., 1999; Gerner P. et al., 2000; Bagaglio S. et al., 2002; Komatsu H. et al., 2004). В исследовании (Yokozaki S. et al., 1999) показано, что, в то время как новорожденные полностью отрицательны, большинство младенцев в течение 1 года уже после рождения положительны по ДНК TTV. Gerner P. с коллегами также демонстрируют увеличение TTV в образцах крови новорожденных старше 1 недели, где 9 из 33 сывороток были TTV-положительными (Gerner P. et al., 2000). Результаты исследования (Bagaglio S. et al., 2002), где за детьми следили в течение 30 месяцев после рождения, показывают увеличение распространенности TTV у детей с возрастом – из 22 детей 13 стали положительными по ДНК TTV в течение 30 месяцев. Показано, что дети с вирусемией TTV не развивали никаких тяжелых заболеваний печени, что подтверждает не связанность наличия TTV с заболеваниями печени.

Кондили утверждает, что наличие TTV, по-видимому, не имеет клинического значения, поскольку TTV был обнаружен в разном возрасте как у здоровых детей, так и у детей с талассемией, получавших регулярные переливания крови (Kondili L. A. et al., 2001). Интересно также, что авторы в исследовании (Indolfi G. et al., 2007) предполагают отсутствие синергетического эффекта от вирусных

взаимодействий к передаче множественных инфекций от матери к ребенку и подтверждают гипотезу о том, что передача от инфицированных матерей является результатом специфичного взаимодействия между каждым вирусом и хозяином.

1.10.2 Горизонтальные пути передачи TTV

Заражение через горизонтальную инфекцию в младенческом возрасте может быть существенным (или ключевым) путем постнатальной инфекции. В исследовании (Ninomiya M. et al., 2008) хотя ни один из образцов пуповинной крови не имел геномной ДНК любого из TTV, TTMV и TTMDV, в последующие месяцы были отмечены быстро растущие показатели распространенности TTV, TTMV и TTMDV, достигая уровня 100% в течение первых 2 лет жизни. Этот вывод подтвердил более ранние исследования, сообщающие, что инфекция TTV преобладает в детстве.

Кроме того, вирусный титр в пробах слюны был в 100-1000 раз выше, чем в соответствующей сыворотке (Gallian P. et al., 2000). Gallian P. утверждает, что помимо возможной передачи TTV родительскими и перорально-фекальными путями, высокий титр ДНК TTV, наблюдаемый в слюне, поднимает гипотезу о передаче вируса каплями слюны. Этот путь передачи может объяснить высокую степень заражения, наблюдаемую у населения в целом и преимущественно по горизонтальным путям.

1.11 TTV как элемент вирома

С недавних пор, помимо всем известного «микробиома» (рисунок 8) и его важного значения для созревания иммунной системы, было обнаружено, что «виром» также играет немаловажную роль в формировании врожденного и адаптивного иммунитета хозяина (Shulman L. M. & Davidson I., 2017).

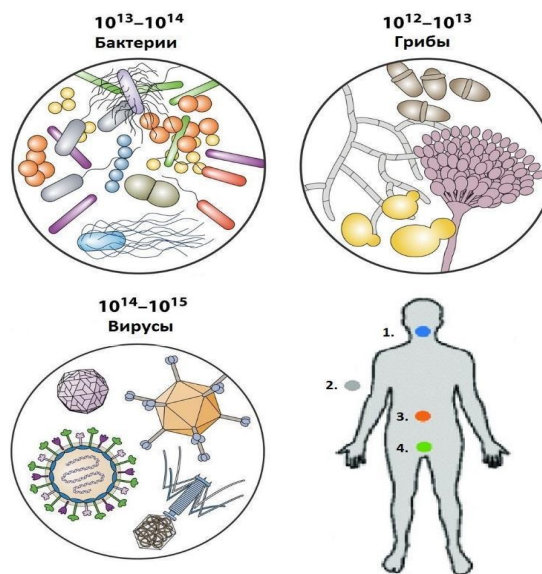


Рисунок 8 – Состав основных компонентов микробиоты человека, обобщенных по всем участкам тела, включая (1) ротовую полость, (2) кожу, (3) желудочно-кишечный тракт и (4) слизистую оболочку влагалища (на основе Rowan-Nash A. D. et al., 2019)

Вирусный микробиом («виром» или «вириобиота») состоит из бактериофагов, эукариотических РНК- и ДНК-вирусов, вирусов архей (Gregory A. C. et al., 2019). Бактериофагам (или «фагобиому») уделено особое внимание как доминантному члену вирома (рисунок 9). Вирусы в микробиоте, вероятно, превосходят численность бактерий по крайней мере в 10 раз. В целом виром человека гораздо менее изучен по сравнению с бактериальным сообществом микробиома. Изучение вирома в основном сосредоточено на кишечнике и фагах (Rowan-Nash A. D. et al., 2019).



Рисунок 9 – Состав вирома кишечника (на основе Gregory A. C. et al., 2019)

Виром человека можно разделить на три основные группы: паразитическая, комменсальная и мутуалистическая. Не все вирусы влияют на физиологию хозяина,

вызывая болезненное состояние. Примерами комменсальных вирусов являются фаги, заражающие бактерий. Некоторые комменсальные вирусы могут инфицировать клетки человека и использовать человека в качестве сосуда для передачи. Эти вирусы вызывают бессимптомные инфекции, не приводящие к изменению здоровья или поведения хозяина. Наиболее хорошо документированными примерами бессимптомного заражения человека комменсальными вирусами являются риновирусы и другие инфекции носоглотки и верхних дыхательных путей (Parker M. T., 2016).

Поддерживая хроническое воспаление, некоторые вирусы могут увеличить риск вторичной инфекции с похожим, но более вирулентным генотипом или другими микробными / вирусными агентами и / или способствовать вирусному канцерогенезу у людей со специфическим иммунным расстройством. Так, например, некоторые представители семейств *Papillomaviridae* (например, HPV5, HPV8, HPV16, HPV18), *Herpesviridae* (например, EBV, HHV8) и *Polyomaviridae* (например, MCPyV) связаны с развитием онкологических заболеваний (McLaughlin-Drubin M. E. & Munger K., 2008). По своей природе вирусы в основном паразитируют и почти все мутуалистические взаимодействия, возможно, в какой-то момент были формой паразитизма, затем проходили через стадию комменсала и, наконец, приспосабливались к взаимной гармонии посредством коэволюции. Это рассуждение основано на том, что число эволюционных изменений, необходимых для вируса и / или хозяина для переключения типов взаимодействия, требует значительной адаптации и, таким образом, с большей вероятностью будет происходить поэтапно (Parker M. T., 2016).

Большинство вирусов за счет своей патогенности, а также способности к антагонистическим и симбиотическим отношениям и участия в горизонтальном переносе генов, влияют на эволюцию организмов. TTV здесь не исключение, как и все вирусы он, вероятно, играет важную эволюционную роль. Однако главной движущей силой эволюции иммунной системы является именно патогенность вирусов. С учетом вездесущности комменсального TTV возникает вопрос о его роли для человеческого организма.

Связь TTV с иммунитетом

TTV является наиболее распространенным компонентом вириоты крови и при этом не вызывает заболеваний человека. Каждое новое исследование комменсальной природы TTV в организме человека вызывает все больше вопросов.

Обнаружение TTV у лиц с подавленной иммунной системой и у субъектов с воспалительными заболеваниями (Focosi D. et al., 2014; Pifferi M. et al., 2006) позволяет предположить, что вирус обычно находится под контролем иммунной системы, но может способствовать поддержанию хронически повышенного фонового уровня воспаления (Freer G. et al., 2018). Состояние постоянного носительства TTV может являться и частью укрепления иммунной системы против входящих патогенов. Авторы одного из недавних исследований обнаружили, что низкий уровень TTV на самом деле связан с отторжением трансплантата и гибелью детей-реципиентов легких (Blatter J.A. et al., 2018). Кроме того, в одном исследовании было обнаружено, что ВИЧ-1-положительные пациенты демонстрируют повышенные уровни TTV и TTMV с максимальной нагрузкой на фоне развития СПИДа (Thom K. & Petrik J., 2007), но в более широком исследовании эта связь не была обнаружена (Nasser T. F. et al., 2009). Два независимых исследования показали, что вирусная нагрузка TTV достигала пика в возрасте 15-18 (Reyes A. et al., 2015) и 6-12 (Lim E. S. et al., 2015) месяцев, после чего нагрузка TTV постепенно уменьшалась. Предполагается, что этот пик коррелирует с интервалом между защитой материнскими IgG и развитием собственной иммунной системы младенца (Lim E. S. et al., 2015).

Механизм, с помощью которого иммунитет реагирует на инфекцию TTV, неизвестен. Несколько исследований показали, что вирионы TTV в кровотоке распознаются иммуноглобулинами с образованием комплексов антитело-вирус, что позволяет предположить, что вирусы вызывают гуморальный иммунный ответ (Tsuda F. et al. 2001; Mankotia D. S. & Irshad M., 2014). Наиболее логичной мишенью для иммунного распознавания является белок ORF1, вероятно, являющийся частью капсидной структуры вируса. Исследование (Kakkola L. et al., 2009) показало, что

белок ORF1, а также белок ORF2 распознаются антителами, присутствующими в сыворотке TTV-положительных людей.

В случае, если TTV сохраняется в организме хозяина, вполне вероятно, что он выработал механизм, позволяющий ему уходить от атаки иммунитета. Вероятно, в это вовлечен вирусный белок ORF2, так как он обладает способностью ингибировать путь NF κ B (Zheng H. et al. 2007). Кроме того, кодируемые TTV микроРНК могут нацеливаться на мРНК хозяина, кодирующие белки N-тис и СТАТ-интерактор, отвечающие за модулирование сигнальных путей интерферона и цитокинов (Kincaid et al. 2013). Не так давно было обнаружено, что частицы TTV могут циркулировать в организме в составе экзосом (Martelli F. et al., 2018). Присутствие вируса внутри везикул может повысить инфекционность, позволяя проникать TTV в другие клетки, и вирус внутри экзосом может быть менее подвержен воздействию нейтрализующих антител (Martelli F. et al., 2018).

Роль TTV для беременных женщин и новорожденных детей

В литературе имеются данные об обнаружении TTV у беременных женщин (Bzhalava D. et al., 2012; Shah A. A. et al., 2020; Sloan P. et al., 2020). Зачастую такие исследования проводятся не только для того, чтоб выяснить последующую вертикальную передачу этого вируса, но и для того, чтоб раскрыть взаимосвязь всего виroma с определенными патологическими состояниями как у беременной, так и возможное влияние на плод, включая преждевременные роды, хориоамнионит, преэклампсию и недоношенность. Методы, основанные на высокопроизводительном секвенировании нуклеиновых кислот и / или амплификации, играют важную роль для описания известных или неизвестных субклинических вирусов, присутствующих в образцах сыворотки беременных женщин. В частности, Бжалава и др. подчеркивают филогенетическое разнообразие TTV в образцах сыворотки беременных женщин, определенное высокопроизводительным секвенированием; команда идентифицировала 40 различных изолятов TTV, в том числе 29 ранее неизвестных (Bzhalava D. et al., 2012).

Недавнее исследование (Shah A. A. et al., 2020) показывает, что обнаружение TTV у беременных женщин может играть роль в определении сроков предстоящих родов. В данном исследовании показано, что беременные женщины с по крайней мере одним типом TTV были более подвержены преждевременным родам, чем женщины без TTV. Также TTV с большей вероятностью присутствовал в сыворотке женщин с преждевременными родами, чем у женщин с доношенной беременностью.

Изучение взаимосвязи вирусной нагрузки TTV и других вирусов с гистологическим хориоамнионитом, самопроизвольными преждевременными родами и преэклампсией было также показано в исследовании (Sloan P. et al., 2020). Среди различных вирусов, таких как аденовирус, анелловир (TTV и TTMV), CMV, EBV, HHV6, энтеровирус, парэховирус и парвовирус B19, исследуемых в когорте матери и недоношенного ребенка, TTV был наиболее распространенным вирусом, идентифицированным в крови. При этом обнаружение TTV в данной когорте матерей с недоношенной беременностью (46%) было ниже, чем в когорте матерей с доношенной беременностью (77%) (Matsubara H. et al., 2001). Корреляции между вирусной нагрузкой TTV и различными болезненными состояниями при беременности в исследовании (Sloan P. et al., 2020) обнаружено не было. Эти результаты могут быть обусловлены малым размером выборки и ее неоднородностью и требуют дальнейших исследований.

Существует также ряд исследований состава виroma кишечника младенцев после рождения. В исследовании (McCann A. et al., 2018) показано, что способ родоразрешения приводит к различным вирусным сообществам. При этом у детей, рожденных путем физиологических родов через естественные родовые пути показано большее разнообразие вирусов и бактериофагов, чем у детей, рожденных путем кесарева сечения и большее различие между способами родоразрешения было отмечено именно на семействе *Anelloviridae*, где учитывалось количество ДНК TTV в каждом образце в зависимости от способа родоразрешения. Однако результаты исследования также показывают, что по способу кормления (с грудным вскармливанием и без него) различий в количестве ДНК TTV выявлено не было.

Результаты исследования (Reyes A. et al., 2015) свидетельствуют о том, что ДНК из фекалий здоровых пар близнецов и близнецов с тяжелым острым недоеданием в Малави различались по 3-м основным вирусам TTV (alphatorquevirus, betatorquevirus и gammatorquevirus).

Ранние годы жизни чрезвычайно важны для развития иммунитета и влияют на здоровье человека в зрелом возрасте (Lim E. S. et al., 2015). Иммунная система недоношенных детей проявляет другую, а не просто недостаточную функцию по сравнению с доношенными, иммунная функция у недоношенных детей повышает риск заражения. Врожденный иммунитет состоит из барьеров, элементов воспалительного ответа и клеток, пытающихся искоренить инфекцию или сдержать ее до тех пор, пока не будет сформирован антигенспецифичный адаптивный иммунный ответ. Множество факторов, включая преждевременные роды, искусственное вскармливание и антибиотикотерапия в неонатальном периоде делают новорожденного, особенно недоношенного ребенка более восприимчивым к бактериальным и вирусным инфекциям из-за своей незрелой и неопытной врожденной и адаптивной иммунной системы (Simon A. K. et al., 2015; Collins A. et al., 2018).

Таким образом, исследование TTV в группах беременных женщин и новорожденных детей может играть роль в потенциальной диагностике различных патологических состояний.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объект и дизайн исследования. Критерии включения и исключения, формирование групп

Протокол исследования рассмотрен и одобрен этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова в 2016 году (Протокол № 2016/64), дополнительно исследование было одобрено также комитетом по этике биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России (Протокол № 2 от 07.02.19).

Сбор клинического материала и молекулярно-генетическое исследование проводились на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России.

Всего в исследование были включены 363 младенца, рожденных или наблюдающихся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России в период с 2016 по 2019 гг., из них 137 младенцев составляли пару с матерями, поэтому общее количество участников исследования – 500.

В 1-ю группу вошли 100 пар мать-ребенок с определением уровня вирусной нагрузки TTV в крови и плазме матери (до родов) и в пуповинной крови и плазме, собранных в момент родов (рисунок 10). Возраст матерей варьировался от 20 до 47 лет, средний возраст – 31 год.

Две отдельные аликвоты каждого образца, собранные из периферической вены матери и пуповины, помещали в 4 мл ЭДТА вакуумные пробирки. Все образцы хранили при + 4 °С не более трех часов, после чего их центрифугировали для отделения плазмы сначала при 800 g в течение 5 минут, а затем при 3000 g в течение 5 минут. Образцы крови и плазмы хранили при -20 °С в течение 1-7 дней до выделения ДНК.

Отдельную группу составили 37 пар мать-ребенок с определением в постнатальном периоде уровня вирусной нагрузки TTV в крови матери и ребенка – 2-я группа исследования, из них 34 младенца дополнили 3-ю группу детей первых

четырёх месяцев жизни и 3 младенца дополнили 4-ю группу детей первого года жизни.

Всего 3-ю группу составили 200 младенцев: 92 недоношенных и 108 доношенных детей первых четырех месяцев жизни. Из 200 младенцев 55 младенцев были протестированы повторно и 14 из них показали TTV-положительный результат от 2-х до 11 раз, поэтому общее количество образцов в 3-й группе составило 306.

4-ю группу составили 98 клинически здоровых младенцев – дети первого года жизни (возраст детей от 1 месяца до 1 года, число детей по возрастам – 9; 6; 13; 8; 11; 14; 6; 9; 10; 6; 4; 2 соответственно), из них 35 младенцев также входили и в 3-ю группу. 10 младенцев были протестированы повторно (2 или 3 раза), поэтому общее количество образцов в этой группе составило 109.

Все дети находились на грудном вскармливании с рождения, за исключением недоношенных детей, получавших смесь первые несколько суток и затем переведенных на грудное вскармливание в разном возрасте, в зависимости от физиологического состояния и назначений врача в течение всего периода забора крови.

Две отдельные аликвоты каждого образца капиллярной крови от ребенка и венозной крови от матери были собраны в Microvette 200 мкл К3 ЭДТА (Sarstedt, Германия) и в 4 мл ЭДТА вакуумные пробирки соответственно. Образцы хранили при -20 °C в течение 1-7 дней до выделения ДНК.

В работе использованы следующие методы: экстракция ДНК, ПЦР «в реальном времени», электрофорез в агарозном геле, секвенирование, спектрофотометрия, биоинформатические методы анализа. Статистическая обработка результатов исследования была проведена с использованием методов непараметрического и параметрического анализа. Обработку полученных результатов проводили в программном пакете GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, USA).

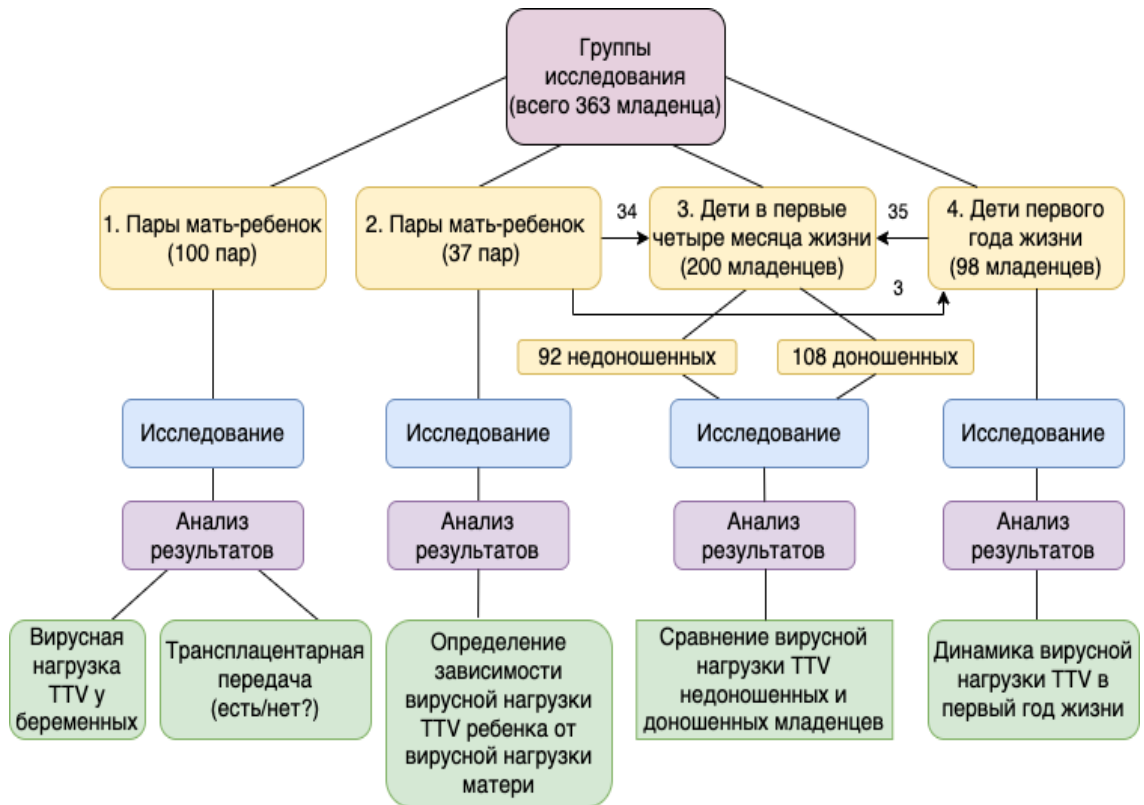


Рисунок 10 – Дизайн исследования

Описание групп исследования:

1) Оценка вирусной нагрузки TTV у беременных женщин и исследование трансплацентарной передачи вируса от матери плоду

Объект: Беременные при госпитализации на роды, новорожденные (первых суток жизни).

Образцы: материнская кровь, плазма и пуповинная кровь, и плазма.

Объем выборки: 100 пар

Критерии включения для всех участников исследования:

- здоровые беременные женщины;
- новорожденные доношенные дети;
- нормальная одноплодная беременность.

Критерии исключения для всех участников исследования:

- недоношенность;
- любое инфекционное или генетическое заболевание у матери или ребенка;
- любые иммунологические отклонения у матери или ребенка;

- способ родоразрешения кесаревым сечением;
- осложнения беременности любого типа;
- преждевременные роды;
- многоплодная беременность;
- добровольный отказ от исследования.

2) Определение зависимости вирусной нагрузки TTV ребенка от вирусной нагрузки матери.

Объект: пары мать-ребенок

Образцы: периферическая кровь матери и ребенка

Объем выборки: 37 пар

Критерии включения для всех участников исследования:

- недоношенные и доношенные младенцы первого года жизни;
- любой способ родоразрешения;
- любой тип вскармливания.

Критерии исключения для всех участников исследования:

- признаки патологии (инфекционной или генетической);
- иммунологические отклонения по данным анализа крови;
- добровольный отказ от исследования.

3) Сравнение вирусной нагрузки TTV у недоношенных и доношенных младенцев в течение первых четырех месяцев после рождения

Объект: младенцы

Образцы: периферическая кровь

Объем выборки: 200 младенцев

Критерии включения для всех участников исследования:

- недоношенные и доношенные младенцы от 1 до 4-х месяцев;
- любой способ родоразрешения.

Критерии исключения для всех участников исследования:

- любые генетические заболевания;
- добровольный отказ от исследования.

4) Определение динамики вирусной нагрузки TTV в течение первого года жизни здоровых грудных детей

Объект: младенцы

Образцы: периферическая кровь

Объем выборки: 98 младенцев

Критерии включения для всех участников исследования:

- клинически здоровые грудные дети, возрастом от 1 до 12 мес.

Критерии исключения для всех участников исследования:

- любое инфекционное или генетическое заболевание;
- любые иммунологические отклонения;
- добровольный отказ от исследования.

2.2 Оборудование и расходные материалы

Оборудование:

1. Ламинарный бокс Safe Fast Elite (Faster, Италия);
2. Амплификатор DTprime 4 (ДНК-Технология, Россия);
3. Вортекс Microspin FV-2400 (Biosan, Латвия);
4. Микроцентрифуга 5424 (Eppendorf, Германия);
5. Твердотельный термостат «Гном» (ДНК-Технология, Россия);
6. Спектрофотометр Implen NanoPhotometr P-360 (Implen, Германия);
7. Автоматические одноканальные дозаторы переменного объема (Eppendorf, Германия);
8. Холодильник-морозильник ХМ 6025-031 (Atlant, Белоруссия);
9. Аспиратор с колбой-ловушкой FTA-1 (Biosan, Латвия).
10. Электрофорезная горизонтальная камера SE-2 (Helicon, Россия)

Реактивы:

1. Набор для выделения ДНК «ПРОБА-ГС» (ДНК-Технология, Россия);
2. Набор праймеров (ДНК-Технология, Россия);
3. PCR-Буфер (ДНК-Технология, Россия);

4. dNTPs (ДНК-Технология, Россия);
5. Taq-полимераза (ДНК-Технология, Россия).
6. Порошок агарозы (Евроген, Россия);
7. Маркеры длин фрагментов ДНК (Евроген, Россия);
8. Краситель интеркалирующий для визуализации НК (Евроген, Россия);
9. Краситель для нанесения образцов на гель (Евроген, Россия);
10. Буфер для электрофореза нуклеиновых кислот (Евроген, Россия).

2.3 Методы исследования

2.3.1 Выделение ДНК

ДНК экстрагировали из 50 мкл аликвот размороженной цельной крови или плазмы с использованием стандартного сорбентного коммерческого набора для экстракции ДНК из биологических жидкостей (набор для выделения ДНК «ПРОБА-ГС», ДНК-технология, Россия). Чтобы предотвратить экзогенное загрязнение, выделение ДНК проводили в отдельном помещении для выделения ДНК. Чтобы предотвратить перекрестное загрязнение образцов, все процедуры проводились в УФ-оборудованном ПЦР-боксе с использованием стерильных одноразовых пробирок и аэрозольных наконечников.

2.3.2 Количественная оценка TTV

Количественную оценку TTV выполняли с использованием ПЦР в «реальном времени» с помощью амплификатора DTprime 4 (ДНК-Технология, Россия), с чувствительностью методики около 1000 вирусных геномов на миллилитр крови, используя геометрический метод (C_p), основанный на математическом анализе формы кривой накопления ДНК в ходе ПЦР.

В качестве контроля эффективности экстракции ДНК и для выравнивания образцов по концентрации ДНК (в отдельной ПЦР-пробирке) использовали

количественную оценку уникального фрагмента генома человека. Чтобы предотвратить загрязнение ПЦР предыдущими реакциями или биологическими образцами, реакции готовили с использованием аэрозольных одноразовых наконечников в УФ-оборудованном ПЦР-боксе в отдельной комнате для приготовления ПЦР.

В лабораторной комнате не проводили электрофорез продуктов ПЦР TTV или других процедур, требующих открытия ПЦР-пробирки. Все отрицательные контроли и смывы с поверхностей были отрицательными.

Для постановки ПЦР применяли реактивы фирмы ООО «ДНК-Технология». ДНК-зонды, использовавшиеся для детекции продуктов амплификации исследуемых и нормировочных генов, были помечены FAM. Амплификацию осуществляли в режиме «реального времени» в объеме 35 мкл по следующей программе: 50 циклов – 94 °C 10 сек, 64 °C 20 сек, 72 °C 10 сек. Измерение уровня флуоресценции проводили на каждом цикле при температуре 64 °C.

2.3.3 Разработка праймеров, адаптированных к характеристикам TTV

Набор праймеров, ранее разработанных и используемых в этом исследовании: TTV_s, TTV_as, TTV-tqm (таблица 4), детектирует одновременно все известные роды вирусов человека семейства *Anelloviridae*.

Для анализа вирусной нагрузки TTV данным методом не используется реакция обратной транскрипции, применяемая для анализа вирусной нагрузки вирусов, представленных РНК геномом.

В ходе этого исследования с использованием программного обеспечения Oligo Primer Analysis v6.31 (Molecular Biology Insights Inc., США) и mfold v3.1 (Zuker M., 2003) на основе выравнивания различных последовательностей генома TTV (NCBI GenBank URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>) были разработаны праймеры и зонды для ПЦР, детектирующие отдельно каждый род вирусов человека: Alphatorquevirus (TTV), Betatorquevirus (TTMV) и Gammatorquevirus (TTMDV) семейства *Anelloviridae* (таблица 4).

Таблица 4 – Последовательности праймеров, использованных и разработанных в работе

Роды детектируемых вирусов	Название	Последовательность
Alphatorquevirus, betatorquevirus, gammatorquevirus	TTV_s	5'-CCT GCA CTT CCG AAT GGC TGA GTT-3'
	TTV_as	5'-CTT GAC TGC GGT GTG TAA ACT CAC-3'
	TTV-tqm	5'-FAM-CCT CCG GCA CCC GCC CTC GGG ACG-BHQ1-3'
Alphatorquevirus	aTTV_s	5'-TGA GTT TTC CAC GCC CGT CCG C-3'
	aTTV_as	5'-CCG AGC CCG AAT TGC CCC TTG A-3'
	aTTV-tqm	5'-P-GCG TCC CGA GGG CGG G(FAMdT)G CCG AAG GTG AGT TT-BHQ1-3'
Betatorquevirus	bTTV_s	5'-CGA ATG GCT GAG TTT ATS MCG C-3'
	bTTV_as	5'-TTT AAG TTT CTT GCC CRK TCC G-3'
	bTTV-tqm	5'-FAM-GGG CGG GWG CYG AAG GTG AGT G-BHQ1 -3'

Роды детектируемых вирусов	Название	Последовательность
Gammatorquevirus	gTTV_s	5'-ACG GTG CAG GGA CCG GAT CGA-3'
	gTTV_as	5'-CGC TAG ACT GCC CTA GCC CGA-3'
	gTTV-tqm	5'-P-GGG CGG GAG CCC GAG G(FAMdT)G AGT G-BHQ1-3'

FAM – флуоресцентный краситель FAM, присоединенный к 5'- концевому нуклеотиду, либо к нуклеотиду Т в середине последовательности.

BHQ1 (Black Hole Quencher 1) – присоединенный к 3'-концевому нуклеотиду темновой гаситель флуоресценции.

P – остаток фосфорной кислоты.

2.3.4 Статистическая обработка

Статистическая обработка результатов исследования была проведена с использованием методов непараметрического и параметрического анализа. Исследованные количественные показатели представляли в виде Me (L-H), где Me – медиана, L – нижний квартиль, H – верхний квартиль. Поскольку для некоторых совокупностей данных невозможно было вычислить медиану и квартили, то количественные показатели представляли в виде среднего с диапазонами.

Для сопоставления двух групп по количественным признакам использованы методы: U-критерий Манна-Уитни и критерий Уилкоксона; для проверки данных на нормальность распределения использованы: тест на нормальность Д'Агостино и Пирсона и тест на нормальность Шапиро-Уилка; для выявления и оценки тесноты связи между двумя рядами сопоставляемых количественных показателей

использованы: тест Спирмена и тест Пирсона. Различие групп полагали статистически значимым при $p < 0,05$. Обработку полученных результатов проводили в программном пакете GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, USA).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Оценка вирусной нагрузки TTV у беременных женщин и исследование трансплацентарной передачи вируса от матери плоду

В рамках исследования трансплацентарной передачи TTV путем количественного определения вируса в венозной крови и плазме беременных женщин, а также в пуповинной крови и плазме, собранных после родов, было установлено, что у 84 (84%) беременных женщин вирусная нагрузка TTV превышает чувствительность методики в 10^3 коп/мл (рисунок 11); значения вирусной нагрузки TTV в материнских образцах крови приведены в таблице А.1 (Приложение А).

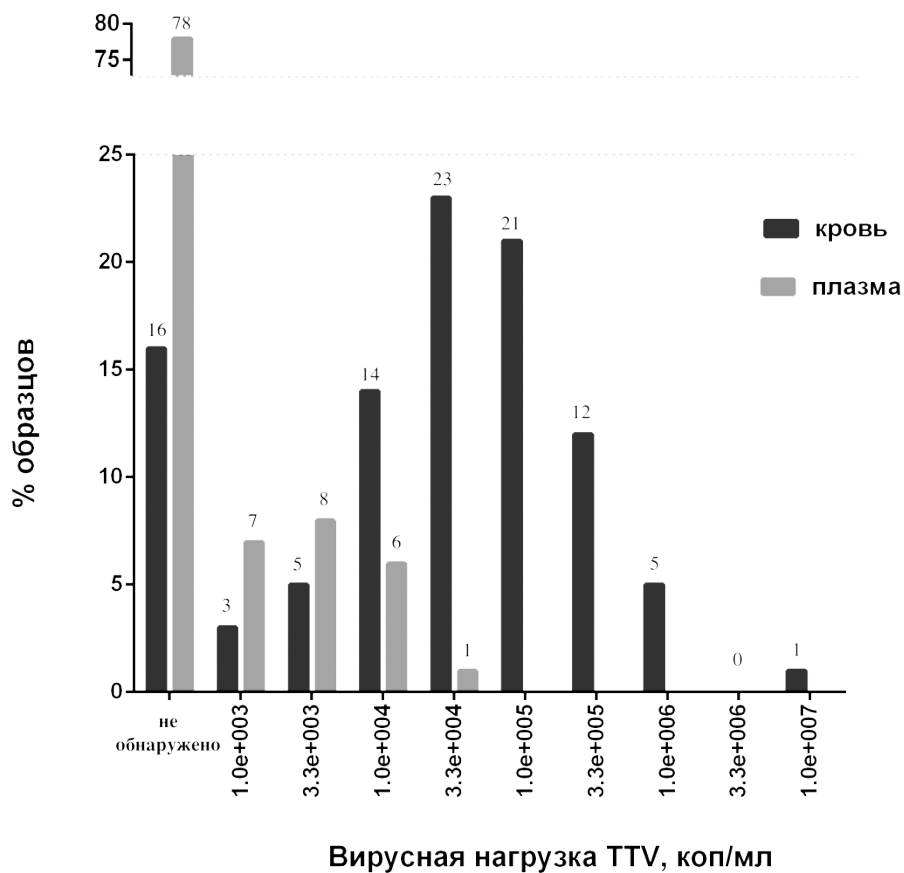


Рисунок 11 – Вирусная нагрузка TTV в образцах матери. Числа над столбцами означают количество образцов

Вирусная нагрузка TTV в плазме была приблизительно в 100 раз ниже, чем в цельной крови (рисунок 12), 22 (22%) образца плазмы были TTV-положительными; значения вирусной нагрузки TTV в материнских образцах плазмы приведены в таблице А.2 (Приложение А).

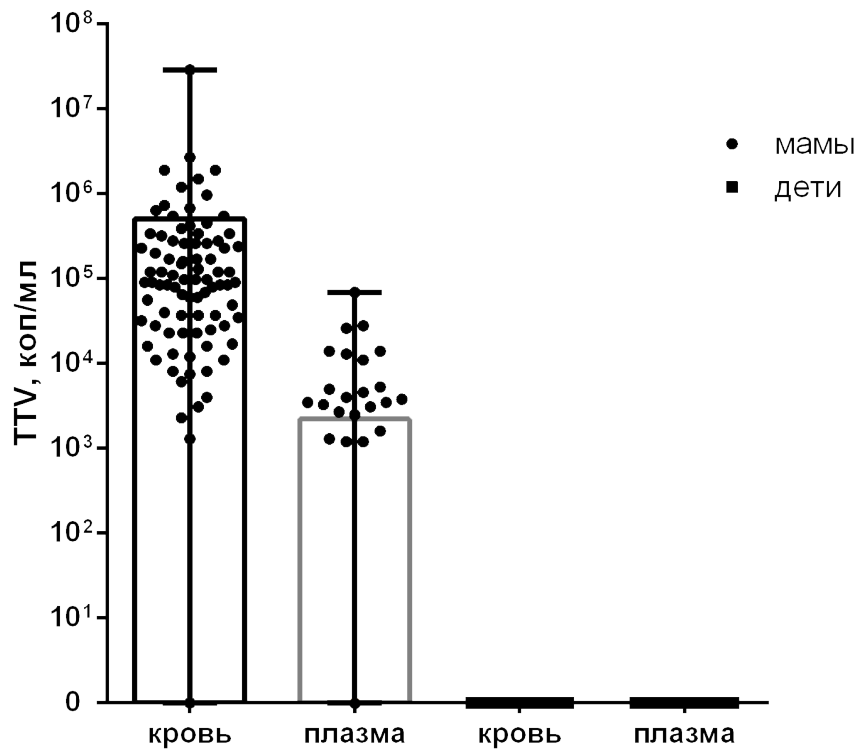


Рисунок 12 – Вирусная нагрузка TTV в образцах крови и плазмы 100 пар мать-ребенок

TTV не был обнаружен ни в одном из 100 образцов пуповинной крови и ни в одном из 100 образцов плазмы. При этом уровни геномной ДНК человека были сопоставимы в образцах материнской и пуповинной крови (в среднем $4,1 \times 10^8$ и $4,2 \times 10^8$ коп/мл соответственно). Полученные данные свидетельствуют в пользу отсутствия трансплацентарной передачи TTV.

В таблице 5 приведены статистические показатели вирусной нагрузки TTV в материнских образцах крови и плазмы с максимумами вирусной нагрузки TTV в крови $2,9 \times 10^7$ коп/мл и $6,9 \times 10^4$ коп/мл в плазме, медианой $8,0 \times 10^4$ вирусных геномов на 1 мл крови и средними значениями $5,0 \times 10^5$ коп/мл и $2,2 \times 10^3$ коп/мл в крови и плазме соответственно.

Для того чтобы определить, насколько сильна взаимосвязь между вирусной нагрузкой TTV в крови и плазме, для двух наборов данных с вирусной нагрузкой

TTV в крови и плазме матери был определен коэффициент корреляции: $r = 0,48$, демонстрирующий слабую корреляционную связь, при этом

Таблица 5 – Статистические показатели 2-х совокупностей данных по вирусной нагрузке TTV в крови и плазме матери

Вид анализируемого биологического материала	кровь	плазма
Объем выборки (n)	100	100
Минимум	0	0
Медиана (Me)	$8,0 \times 10^4$	-
Максимум	$2,9 \times 10^7$	$6,9 \times 10^4$
Среднее	$5,0 \times 10^5$	$2,2 \times 10^3$
Стандартное отклонение	$2,9 \times 10^6$	$8,2 \times 10^3$
Стандартная ошибка среднего	$2,9 \times 10^5$	$8,2 \times 10^2$
Относится ли совокупность данных к распределению Гаусса (нормальное распределение)?	Нет (совокупный тест на нормальность Д'Агостино и Пирсона)	Нет (совокупный тест на нормальность Д'Агостино и Пирсона)

коэффициент корреляции был незначим (тест Спирмена, $p > 0,05$). Эти данные свидетельствуют о том, что вирусная нагрузка TTV в плазме не всегда напрямую коррелирует с вирусной нагрузкой TTV в крови.

3.2 Определение зависимости вирусной нагрузки TTV ребенка от вирусной нагрузки матери

В ходе определения зависимости вирусной нагрузки TTV ребенка от вирусной нагрузки матери из 37 исследованных парных образцов (возраст детей от 17 до 186 дней, средний возраст младенцев – 62 дня) 24 (65%) материнских образца

были TTV-положительными (рисунок 13), а среди их детей были 17 TTV-отрицательных (средний возраст 44 дня) и 7 TTV-положительных образцов крови младенцев (средний возраст 111 дней); значения вирусной нагрузки TTV в крови парных образцов приведены в таблице Б.1 (Приложение Б).

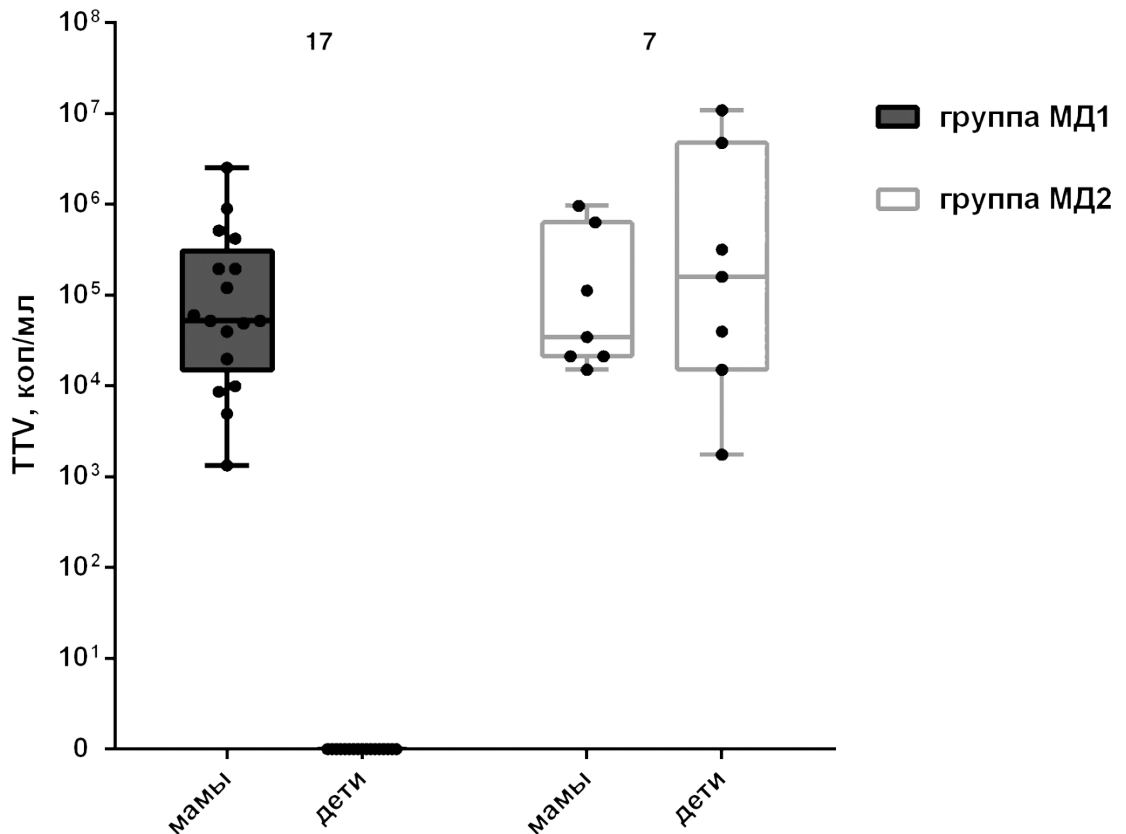


Рисунок 13 – Вирусная нагрузка TTV в парах мать-ребенок. Числа над диаграммами представляют общее количество пар (мать-ребенок) в каждой группе, где МД1 обозначает группу, где мамы TTV-положительны, а их дети TTV-отрицательны; МД2 обозначает группу, где мамы и их дети TTV-положительны

При сравнении 7-ми TTV-положительных парных образцов мать-ребенок не выявлено статистически значимой разницы между вирусной нагрузкой TTV младенцев и вирусной нагрузкой TTV их матерей (тест Уилкоксона, $p < 0,05$), коэффициент корреляции: $r = -0,11$ (тест Спирмена, $p > 0,05$), что свидетельствует о наличии очень слабой отрицательной корреляции. Такие результаты демонстрируют, что передача TTV ребенку не зависит от вирусной нагрузки матери.

В таблице 6 приведены статистические показатели вирусной нагрузки TTV в парных образцах крови матери и ребенка. Статистически значимых различий в вирусной нагрузке TTV у матерей из двух групп (TTV-положительных матерей с TTV-отрицательными и TTV-положительными младенцами) не выявлено (тест Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Таблица 6 – Статистические показатели по вирусной нагрузке TTV в парах мать-ребенок

Анализируемые группы	МД1	МД2	
	Мамы	Мамы	Дети
Объем выборки (n)	17	7	7
Минимум	$1,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^3$
25% процентиль (L)	$1,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$
Медиана (Me)	$5,3 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$
75% процентиль (H)	$3,1 \times 10^5$	$6,4 \times 10^5$	$4,8 \times 10^6$
Максимум	$2,5 \times 10^6$	$9,7 \times 10^5$	$1,1 \times 10^7$
Среднее	$3,1 \times 10^5$	$2,6 \times 10^5$	$2,3 \times 10^6$
Стандартное отклонение	$6,3 \times 10^5$	$3,8 \times 10^5$	$4,2 \times 10^6$
Стандартная ошибка среднего	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,6 \times 10^6$
Относится ли совокупность данных к распределению Гаусса (нормальное распределение)?	Нет (тест нормальности Шапиро-Уилка)	Нет (тест нормальности Шапиро-Уилка)	Нет (тест нормальности Шапиро-Уилка)

13 матерей (35%) были TTV-отрицательными, среди их детей (средний возраст 59 дней) лишь один младенец в возрасте 3,5 месяцев (на рисунке 13 не представлен) показал наличие TTV с вирусной нагрузкой $2,6 \times 10^4$ в образце крови, несмотря на то, что TTV не был обнаружен в крови его матери. Этот факт также свидетельствует о том, что TTV, обнаруженный у ребенка может являться

следствием других горизонтальных путей передачи вируса, не зависящих от вирусной нагрузки матери.

3.3 Сравнение вирусной нагрузки TTV у недоношенных и доношенных младенцев в течение первых четырех месяцев после рождения

В ходе исследования вирусной нагрузки среди 200 младенцев в течение первых 4-х месяцев после рождения лишь 42 (21%) младенца были TTV-положительными, в том числе 10 недоношенных младенцев (средний возраст 2 месяца) и 32 доношенных младенца (средний возраст 3 месяца) представлены в таблице 7. Один из детей (среди недоношенных) показал наличие TTV уже с 13-го дня после рождения, в то время как остальные дети стали TTV-положительны спустя месяц и более после рождения.

Таблица 7 – Возраст первого обнаружения TTV у недоношенных и доношенных детей в период наблюдения до 4-х месяцев

	№ п/п	Идентификатор образца	Роды (срок гестации)	Вес при рождении, г	Возраст, дни	TTV, коп/ мл
Недоношенные дети	1	BW64_12546	О (27)	1100	13	$2,2 \times 10^3$
	2	BW123_25037	О (29)	1490	31	$1,5 \times 10^4$
	3	BW61_12130	О (31)	996	42	$4,3 \times 10^4$
	4	BW58_11567	О (28,2)	880	56	$4,6 \times 10^3$
	5	BM10_79578	Ф (33)	1950	60	$4,2 \times 10^5$
	6	BW84_247	О (30)	1360	76	$1,5 \times 10^5$
	7	BW38_4819	О (27,6)	810	89	$9,8 \times 10^4$
	8	BW47_4817	О (27,6)	930	89	$5,2 \times 10^5$
	9	BW62_84329	О (25)	854	96	$5,7 \times 10^3$
	10	BW44_9083	О (27)	995	105	$1,2 \times 10^5$
Доношенные дети	11	BM2_44937	Ф (39)	3728	30	$1,5 \times 10^4$
	12	BW141_6277	Ф (39)	4122	42	$1,8 \times 10^3$
	13	BW149_11193	Ф (40)	3185	45	$1,5 \times 10^4$
	14	BM44_76660	Ф (39)	3862	60	$2,5 \times 10^4$
	15	BM12_82074	Ф (37,3)	3510	60	$1,0 \times 10^4$
	16	BM13_355	Ф (40)	3300	60	$7,5 \times 10^3$
	17	BW30_17783	Ф (38)	3200	64	$2,7 \times 10^3$
	18	BW32_18247	О (38)	2900	67	$8,4 \times 10^5$
	19	BM18_33987	Ф (40)	3848	90	$1,7 \times 10^4$

Доношенные дети	№ п/п	Идентификатор образца	Роды (срок гестации)	Вес при рождении, г	Возраст, дни	TTV, коп/ мл
	20	BM23_70715	Ф (40)	3515	90	$6,1 \times 10^3$
	21	BM24_74687	О (41)	3390	90	$4,0 \times 10^4$
	22	BM25_6781	О (39)	4854	90	$6,6 \times 10^3$
	23	BN27_140	Ф (37)	2880	90	$1,5 \times 10^4$
	24	BN28_1784	О (39,5)	3196	90	$1,6 \times 10^4$
	25	BN29_18377	О (39)	3570	90	$7,5 \times 10^3$
	26	BN31_16332	О (39)	3080	90	$4,9 \times 10^4$
	27	BM54_73710	О (38)	3380	90	$4,0 \times 10^4$
	28	BM46_77837	Ф (39)	3860	90	$2,9 \times 10^3$
	29	BM64_74835	О (39)	3130	95	$3,7 \times 10^4$
	30	BM65_11999	Ф (39)	3746	108	$7,5 \times 10^3$
	31	BW155_6414	Ф (38)	3968	111	$2,6 \times 10^4$
	32	BW127_59695	Ф (39)	3970	114	$4,0 \times 10^4$
	33	BM18_58605	О (40)	3980	115	$3,8 \times 10^2$
	34	BW140_76040	Ф (38)	3300	119	$3,2 \times 10^5$
	35	BM32_57922	Ф (39)	3290	120	$8,5 \times 10^4$
	36	BM33_58582	Ф (39)	3010	120	$1,2 \times 10^4$
	37	BM35_61356	Ф (39)	2925	120	$5,6 \times 10^4$
	38	BN36_529	Ф (41)	3452	120	$2,1 \times 10^6$
	39	BN37_1737	О (39,5)	3070	120	$8,1 \times 10^3$
	40	BN39_23306	О (40)	2590	120	$4,2 \times 10^5$
	41	BN40_24829	Ф (40)	3800	120	$1,5 \times 10^4$
	42	BN44_2499	Ф (40)	3920	120	$4,2 \times 10^5$

О – оперативные роды (родоразрешение путем кесарева сечения), Ф – физиологические роды (через естественные родовые пути).

Количество недоношенных младенцев было в 3 раза меньше, чем доношенных (10 и 32 соответственно). Среднее значение вирусной нагрузки TTV было почти одинаково ($1,4 \times 10^5$ и $1,5 \times 10^5$ коп/мл) в этих двух группах, несколько дополнительных статистических показателей приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Статистические показатели по вирусной нагрузке TTV у недоношенных и доношенных младенцев

Группы	Недоношенные	Доношенные
Объем выборки (n)	10	32
Минимум	$2,2 \times 10^3$	$3,8 \times 10^2$

Группы	Недоношенные	Доношенные
25% процентиль (L)	$5,4 \times 10^3$	$7,5 \times 10^3$
Медиана (Me)	$7,0 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$
75% процентиль (H)	$2,2 \times 10^5$	$4,7 \times 10^4$
Максимум	$5,2 \times 10^5$	$2,1 \times 10^6$
Среднее	$1,4 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
Стандартное отклонение	$1,8 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$
Стандартная ошибка среднего	$5,8 \times 10^4$	$7,0 \times 10^4$
Относится ли совокупность данных к распределению Гаусса (нормальное распределение)?	Нет (тест нормальности Шапиро-Уилка)	Нет (тест нормальности Шапиро-Уилка)

На рисунке 14 показана вирусная нагрузка TTV у недоношенных и доношенных младенцев.

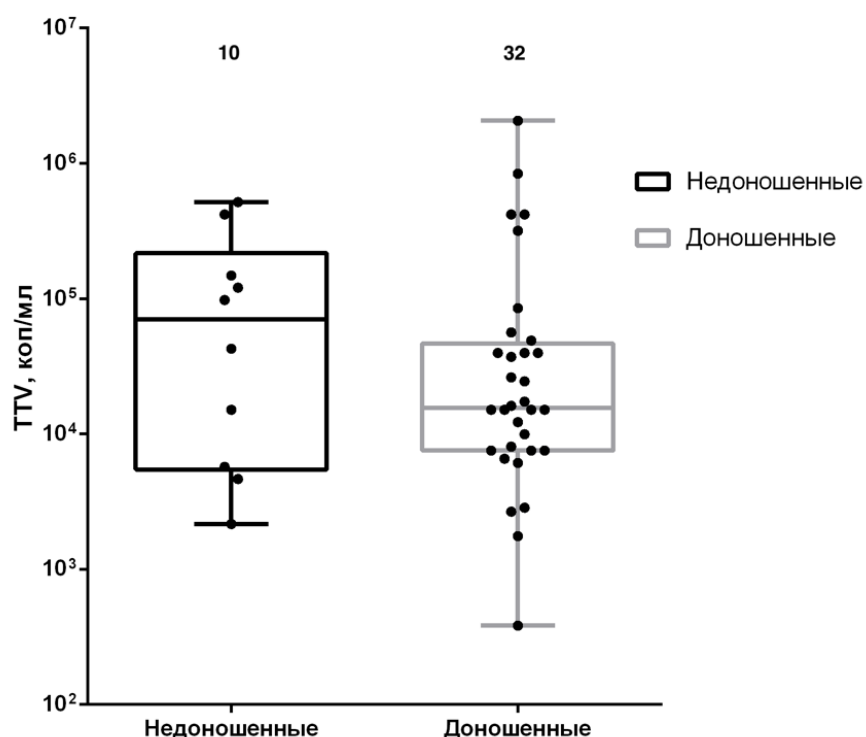


Рисунок 14 – Вирусная нагрузка TTV у недоношенных и доношенных младенцев. Числа над диаграммами представляют общее количество младенцев в каждой группе

Статистически значимой разницы между группами недоношенных и доношенных младенцев не выявлено (тест Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Количество детей, рожденных через естественные родовые пути и путем кесарева сечения было приблизительно одинаковым в этих двух группах (22 и 20 соответственно). При этом максимумы вирусной нагрузки в группах физиологических и оперативных родов были $2,1 \times 10^6$ коп/мл и $8,4 \times 10^5$ коп/мл соответственно (таблица 9).

Таблица 9 – Статистические показатели по вирусной нагрузке TTV в группах по способу родоразрешения

Группы	Физиологические роды	Оперативные роды
Объем выборки (n)	22	20
Минимум	$1,8 \times 10^3$	$3,8 \times 10^2$
25% процентиль (L)	$7,5 \times 10^3$	$6,8 \times 10^3$
Медиана (Me)	$1,5 \times 10^4$	$3,8 \times 10^4$
75% процентиль (H)	$6,4 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$
Максимум	$2,1 \times 10^6$	$8,4 \times 10^5$
Среднее	$1,6 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$
Стандартное отклонение	$4,5 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$
Стандартная ошибка среднего	$9,5 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
Относится ли совокупность данных к распределению Гаусса (нормальное распределение)?	Нет (тест нормальности Шапиро-Уилка)	Нет (тест нормальности Шапиро-Уилка)

На рисунке 15 показана вирусная нагрузка TTV по способу родоразрешения, демонстрирующая отсутствие каких-либо различий в этих двух группах.

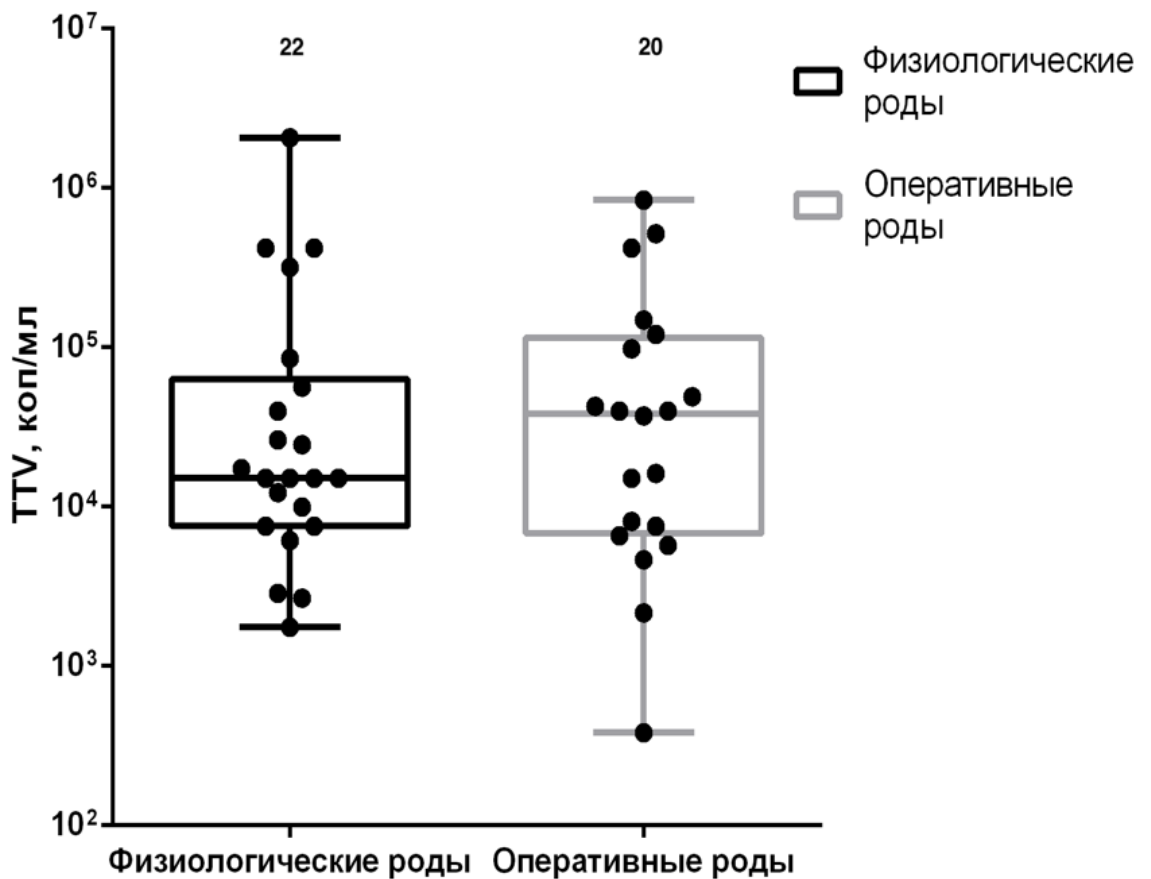


Рисунок 15 – Вирусная нагрузка TTV по способу родоразрешения. Числа над диаграммами представляют общее количество младенцев в каждой группе

Не выявлено статистически значимой разницы в вирусной нагрузке TTV по способу родоразрешения (тест Манна-Уитни, $p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют, что вирусная нагрузка TTV не зависит от способа родоразрешения.

На рисунке 16 показаны первоначальная вирусная нагрузка TTV и вес ребенка при рождении. Для определения зависимости двух групп переменных – вирусной нагрузки TTV и веса ребенка при рождении был определен коэффициент корреляции: $r = -0,29$ (тест Спирмена, $p > 0,05$), демонстрирующий очень слабую отрицательную корреляцию. Таким образом, вирусная нагрузка TTV не зависит от веса ребенка при рождении.

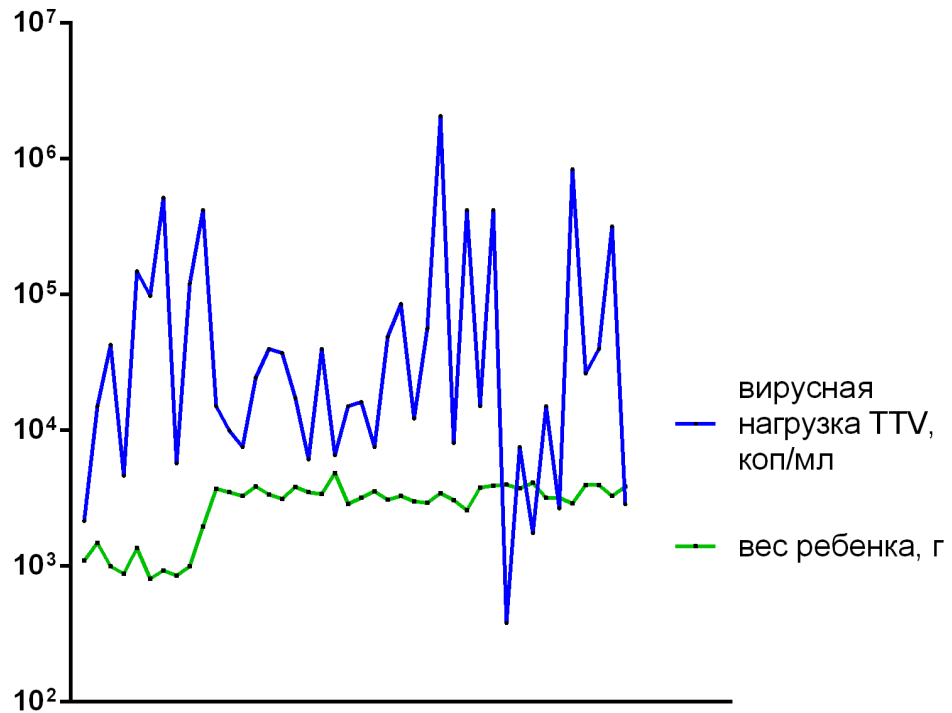


Рисунок 16 – Сравнение зависимости вирусной нагрузки 42 TTV-положительных младенцев с весом при рождении

Из 42 TTV-положительных младенцев 14 были протестированы по меньшей мере 2 раза и показали наличие TTV в повторном исследовании. В таблице В.1 (Приложение В) представлена вирусная нагрузка TTV с течением времени у 14 повторно тестируемых детей. Ребенок, показавший вирусную нагрузку TTV с 13 дня после рождения, был тестирован 11 раз через различные промежутки времени.

Для четырнадцати повторно тестированных младенцев, представленных в таблице В.1, показана индивидуальная динамика вирусной нагрузки TTV (рисунок 17). Кривые на рисунке 17 показывают быстрый рост TTV в образцах ДНК, выделенных из крови в течение первых недель жизни.

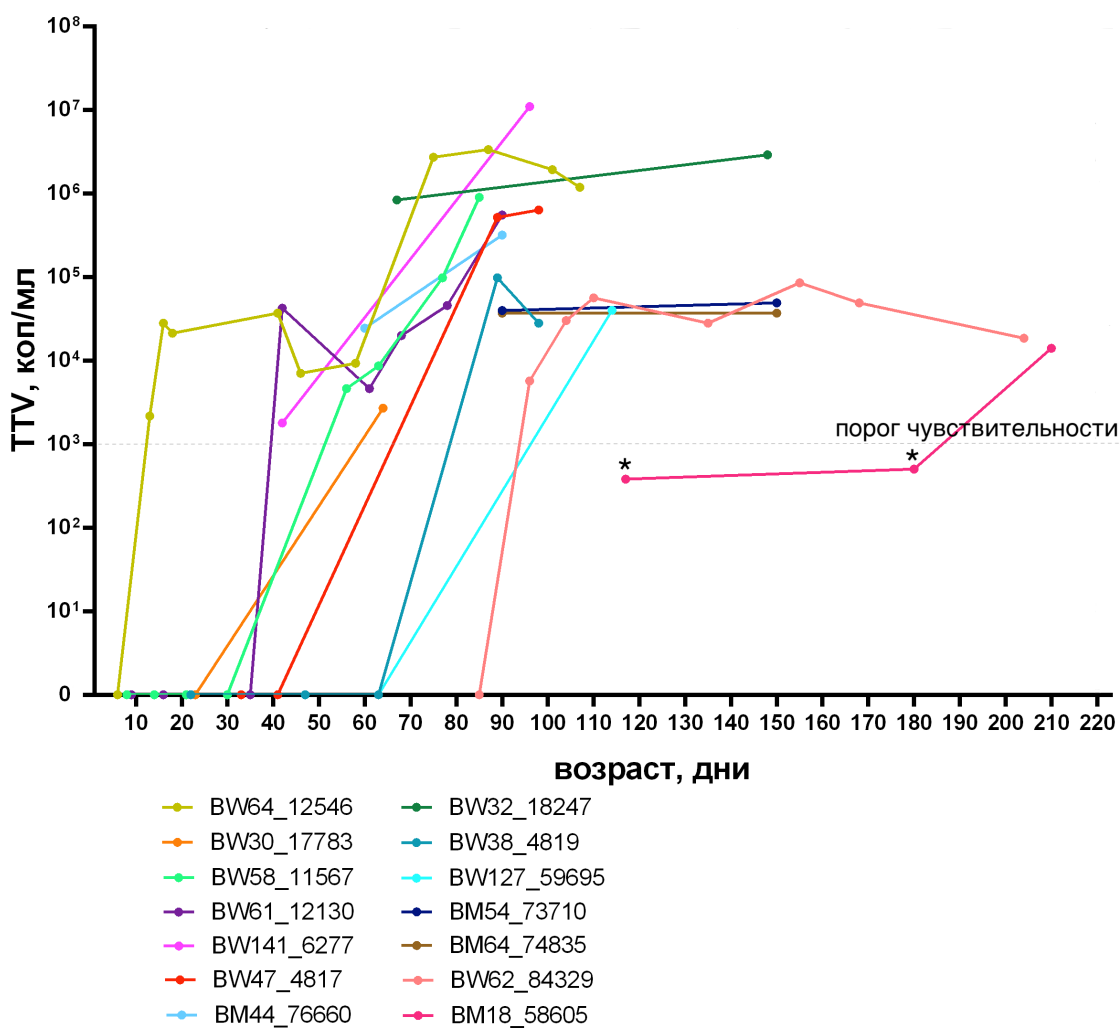


Рисунок 17 – Индивидуальная динамика вирусной нагрузки ТТВ для 14 ТТВ-положительных детей с несколькими временными точками

* – значения ниже порога чувствительности возможны вследствие небольшой вариативности параметров теста.

Активная пролиферация ТТВ у младенцев регистрировалась через 6-8 недель (рисунок 18). Только у двух детей ТТВ был обнаружен до 4 недель (с чувствительностью методики 1000 коп/мл). Доля ТТВ-положительных образцов растет с 18% через 6 недель до 67% через 16 недель.

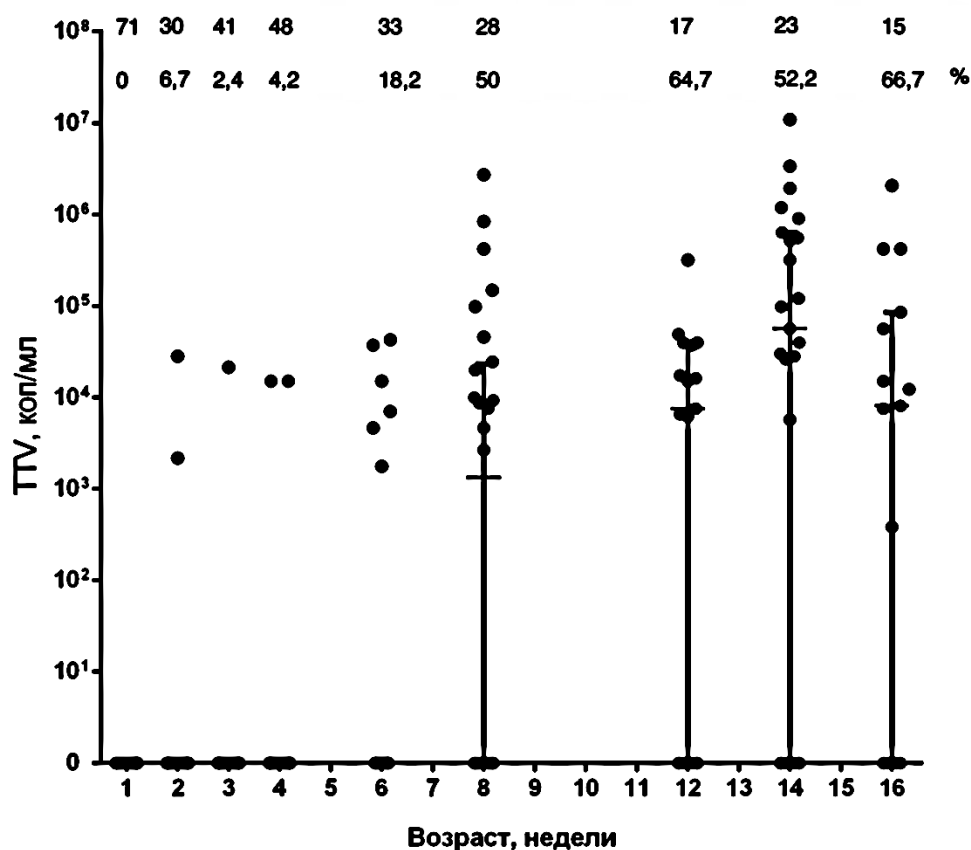


Рисунок 18 – Динамика вирусной нагрузки TTV в первые недели жизни (числа над каждой группой представляют общее количество протестированных образцов и процент положительных образцов TTV)

3.4 Определение динамики вирусной нагрузки TTV в течение первого года жизни здоровых детей

В рамках определения динамики вирусной нагрузки TTV в течение первого года жизни здоровых грудных детей вирусная нагрузка TTV цельной крови была определена для 98 детей в возрасте от 1 до 12 месяцев, данные вирусной нагрузки приведены в таблице Г.1 (Приложение Г).

67% всех проанализированных образцов были TTV-положительными (более 10^3 коп/мл на основе порога чувствительности) со средним значением 5×10^4 вирусных геномов на 1 мл крови (диапазон значений: 0 – 6×10^6 коп/мл).

В таблице 10 показано распределение вирусной нагрузки TTV по возрасту. Обнаружена достоверная положительная корреляция между возрастом и медианой вирусной нагрузки TTV, коэффициент корреляции: $r = 0,81$ (тест Пирсона, $p > 0,05$).

Таблица 10 – Распределение вирусной нагрузки TTV по возрасту

Возраст, месяцы	Среднее	Медиана	% TTV- положительных образцов
1	$1,7 \times 10^3$	0	11
2	$7,7 \times 10^4$	$8,7 \times 10^3$	67
3	$3,1 \times 10^4$	$2,9 \times 10^3$	53
4	$2,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^3$	63
5	$4,3 \times 10^5$	$4,9 \times 10^4$	77
6	$9,0 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$	61
7	$1,6 \times 10^5$	$9,8 \times 10^4$	100
8	$1,3 \times 10^5$	$4,4 \times 10^4$	70
9	$6,3 \times 10^5$	$3,1 \times 10^4$	90
10	$3,0 \times 10^5$	$5,6 \times 10^4$	83
11	$3,1 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	80
12	$1,4 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$	100

Показанная на рисунке 19 динамика вирусной нагрузки TTV в течение первого года жизни согласуется с динамикой вирусной нагрузки TTV в первые

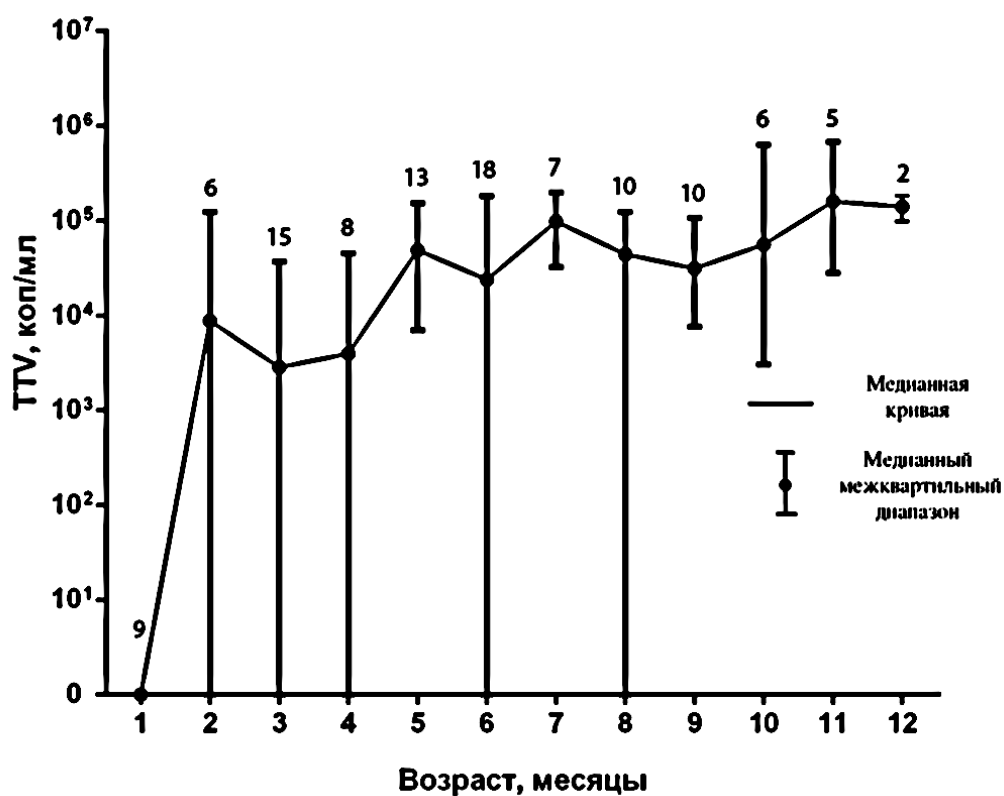


Рисунок 19 – Динамика вирусной нагрузки TTV в течение первого года жизни (числа над каждой группой представляют общее количество протестированных образцов).

недели жизни (рисунок 18), где вирусная нагрузка TTV увеличивается в течение первых месяцев жизни младенцев, достигая плато через 3-6 месяцев с активной пролиферацией в первые 2 месяца после рождения.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 TTV у беременных

Несмотря на более чем двадцатилетний период исследований TTV, пути передачи этого вируса от матери ребенку так и не выяснены, а возможность трансплацентарной передачи TTV остается спорной.

Показанное в данной работе присутствие TTV в крови у 84% беременных женщин хорошо коррелирует с ранее опубликованными исследованиями здоровых индивидов (Vasilyev E. V. et al., 2009; Haloschan M. et al., 2014). Однако данные более ранних исследований вирусной нагрузки TTV в группах беременных или матерей с младенцами – неоднозначны. Так, в исследовании (Kazi A. et al., 2000) приблизительно одинаковая и невысокая (около 30%) распространенность TTV была выявлена у матерей и младенцев в течение первых 2 лет жизни, независимо от статуса инфицирования TTV матерей. Это связано с тем, что 99% образцов пуповинной крови были отрицательными, и все матери воздерживались от грудного вскармливания. Также в исследовании (Iso K. 2001) TTV был обнаружен у 20% беременных женщин. Положительная и невысокая доля (11,3 и 40%) ДНК TTV в сыворотке крови беременных составила в двух других исследованиях соответственно (Fang F. et al., 2001; Zhang Z. et al., 2001). Невысокой (17,8%) также была распространенность ДНК TTV среди беременных в исследовании (Xin X. et al., 2004). Однако есть и данные, демонстрирующие более высокий уровень распространенности TTV среди беременных – 72% (Goto K. et al., 2000; Bagaglio S. et al., 2002), что согласуется с данными, приведенными в этой работе. При этом во всех упомянутых исследованиях для анализа были использованы образцы сыворотки от беременных. Вдобавок, авторы (Goto K. et al., 2000) выявили низкую распространенность (11,9%) ДНК TTV у беременных, используя праймеры из транскрибируемой области N22, в отличие от праймеров из нетранскрибируемой области

UTR, при использовании которых распространенность ДНК TTV в этой же группе была гораздо выше (72,4%), что согласуется с данными, полученными в нашем исследовании.

4.2 TTV образцов плазмы

Следует также отметить, что в данной работе была выявлена невысокая доля TTV-положительных образцов плазмы (22%). При этом в исследовании (Haloschan M. et al., 2014) авторы обнаружили более высокую долю TTV-положительных образцов плазмы (76%). Эта разница, в первую очередь, может быть объяснена тем, что тестовая чувствительность в исследовании (Haloschan M. et al., 2014) составляла 10^2 коп/мл, что на порядок выше чувствительности методики данной работы (10^3 коп/мл). Соответственно все образцы с вирусной нагрузкой TTV ниже порога чувствительности считались отрицательными. Разница в доле положительных образцов плазмы может быть объяснена изменениями в методике выделения ДНК, алгоритме анализа данных ПЦР или первоначальной биологической разницей в анализируемых группах.

В данном исследовании показано, что вирусная нагрузка TTV в плазме была примерно в 100 раз ниже, чем в цельной крови, что свидетельствует о преимущественно внутриклеточной локализации вируса; это согласуется с исследованием, отражающим высокую скорость репликации TTV в лимфоцитах (Zhong S. et al., 2002). Исходя из этого, можно предположить, что вирус, обнаруживаемый в плазме, в основном происходит из разрушенных клеток или выделяется в составе секрета.

4.3 Трансплацентарная передача TTV

Было установлено, что TTV не передается трансплацентарно, поскольку все образцы пуповинной крови были отрицательными независимо от вирусной нагрузки матерей. Ряд исследований противоречат данным этой работы,

демонстрируя наличие ДНК TTV у 1 – 66% образцов пуповинной крови при сопоставимой чувствительностью методики данной работы (Saback F. L. et al., 1999; Gerner P. et al., 2000; Goto K. et al., 2000; Kazi A. et al., 2000; Morrica A. et al., 2000; Matsubara H. et al., 2001; Zhong M. et al., 2001; Xin X. et al., 2004; Mutlu D. et al., 2007), при этом большая часть этих исследований все же указывает невысокую долю (1 – 19%) TTV-положительных образцов пуповинной крови. Такие различия в приведенных исследованиях с результатами данной работы могут быть объяснены использованием других методов обнаружения, и при этом вероятно малоэффективных, поскольку имеют определенные недостатки, такие как контаминация образцов продуктами ПЦР (поскольку TTV пуповинной крови обычно выявляли с помощью метода «вложенной» ПЦР, загрязняющего лабораторию), небольшие выборки, анализ преимущественно сывороток крови, менее богатых по своему компонентному составу в сравнении с кровью или плазмой крови за счет отсутствия клеток крови и некоторых белков, а также использованием недостаточно совершенных праймеров, в силу того, что все эти исследования проводились более 20 лет назад.

4.4 Влияние способа родоразрешения на передачу TTV младенцам

В данном исследовании не была выявлена зависимость вирусной нагрузки TTV от способа родоразрешения. Однако, авторами исследования (McCann A. et al., 2018) была обнаружена связь вирусной нагрузки TTV и способа родоразрешения, при этом они не наблюдали значимых различий в зависимости от типа вскармливания. Стоит отметить, что выявленная McCann разница вирусной нагрузки TTV по способу родоразрешения была обнаружена для образцов ДНК, выделенных из фекалий младенцев. Соответственно, можно предположить, что вирусная нагрузка TTV у младенцев, выявляемая в крови с возрастом и не зависящая от уровня вирусной нагрузки их матерей, может являться следствием распространения раннее приобретенного TTV, локализующегося в других типах клеток, отличных от клеток крови, по всему кровотоку либо результатом

воздействия окружающей среды, контакта с другими детьми или контакта с родителями.

4.5 Динамика вирусной нагрузки TTV у детей первого года жизни

Вместе с тем есть исследования, указывающие на отсутствие TTV в пуповинной или детской крови после родов (Fang F. et al., 2001; Iso K. et al., 2001; Ohto H. et al., 2002), что согласуется с данными этой работы. При этом авторы (Iso K. et al., 2001) также демонстрируют, что все младенцы от TTV-положительных женщин были TTV-отрицательными как через 5 дней, так и через 3 месяца после рождения независимо от способа родоразрешения (естественные роды или кесарево сечение). В данном исследовании напротив выявлен рост вирусной нагрузки TTV у младенцев начиная с 2-х недель после рождения с последующей активной пролиферацией вируса у младенцев в возрасте 6-8 недель независимо от способа родоразрешения. В двух похожих исследованиях продемонстрировано увеличение процента TTV-положительных детей в первые месяцы жизни с помощью анализа сыворотки (Bagaglio S. et al., 2002; Komatsu H. et al., 2004). Результаты данного исследования по цельной крови коррелируют с результатами по сыворотке, но с большим процентом положительных образцов (рисунок 20), что

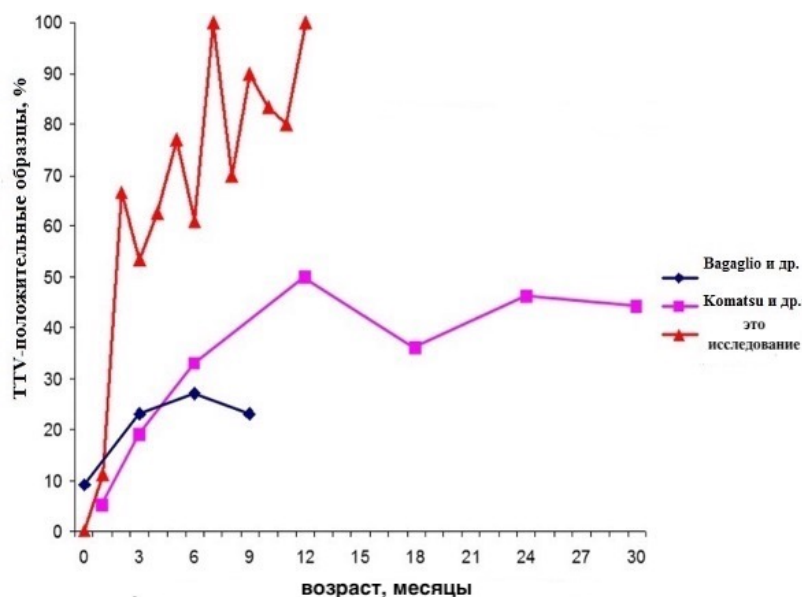


Рисунок 20 – Процент TTV-положительных детей в первые месяцы жизни. Данные из Bagaglio S. et al., 2002 и Komatsu H. et al., 2004, основаны на анализе сыворотки

можно объяснить тем, что сыворотка содержит меньшее число клеточных элементов.

По динамике вирусной нагрузки TTV у детей первого года жизни результаты данной работы также согласуются с результатами (Ohto H. et al., 2002), где минимальный уровень инфицирования наблюдался в самом раннем возрасте и с возрастом (в 6 месяцев и 2 года) наблюдался рост распространенности TTV.

4.6 Филогенетическая связь TTV матерей и их детей

В данном исследовании был выявлен один TTV-положительный ребенок в возрасте 3,5 месяцев, тогда как его мать была TTV-отрицательна. Это можно объяснить двумя гипотезами: 1) мать могла быть положительна к нескольким типам TTV и передала своему ребенку вариант TTV, ставший доминирующим у него, 2) не исключен вариант того, что мать к моменту родов имела низкий уровень вирусной нагрузки TTV и соответственно вирус, обнаруженный у ребенка может иметь происхождение из других источников (от других людей). Подобные варианты встречаются в литературе. Так, например, в исследовании (Bagaglio S. et al., 2002) один ребенок был TTV-положительным при рождении и оставался таким в течение 9 месяцев, однако у его матери при родах доминирующий генотип TTV был отличным от генотипа TTV ребенка; при этом автор указывает на возможность эволюции TTV у плода. В исследовании (Biagini P. et al., 2003) показали, что штамм TTV, обнаруженный у новорожденного, был приобретен от матери во время родов или в послеродовом периоде, но отличался от доминирующего штамма TTV, обнаруженного у матери. Можно предположить, что штаммы TTV обладают разным потенциалом передачи между людьми. В статье (Biagini P. et al., 2003) приводятся доказательства того, что симптомы доброкачественного «вирусного» ринита включая четкие выделения из носа у новорожденного в определенный момент времени, связаны с выявлением TTV в слюне новорожденного.

В литературе имеются данные о генетической идентичности TTV матерей и их детей. Были исследованы парные образцы мать-ребенок и показано (Zhong M. et

al., 2001), что анализ последовательностей TTV от 2 из 5 TTV-положительных пар мать-ребенок подтвердил генетическую связь между TTV матерей и их младенцев. Вместе с тем, в исследовании (Bagaglio S. et al., 2002) показано, что послеродовое приобретение TTV младенцами в течение первых нескольких месяцев жизни примерно в половине случаев отличалось от материнских изолятов, выявленных во время родов. Также в исследовании (Ohto H. et al., 2002) из 13 TTV-положительных пар мать-ребенок 6 показали высокую степень сходства нуклеотидных последовательностей, тогда как для остальных 7-ми пар штаммы матери и ребенка отличались. Еще в одном исследовании филогенетический анализ 7-ми пар мать-ребенок показал, что близкое генетическое родство штаммов было обнаружено лишь в 2-х парах мать-ребенок (Lin H.-H. et al., 2002). Все упомянутые исследования свидетельствуют о том, что вирусная нагрузка TTV материнской крови не была вероятным фактором риска передачи, позволяя предположить, что младенцы могут быть инфицированы TTV из других источников, не связанных с TTV их матерей.

В данной работе не был проведен филогенетический анализ штаммов TTV для пар мать-ребенок, однако показано, что не выявлена связь между уровнем вирусной нагрузки TTV матери и наличием TTV у ребенка. Это согласуется с исследованием (Mutlu D. et al., 2007), демонстрирующим отсутствие статистически значимой разницы в вирусной нагрузке TTV между матерями, передававшими и не передававшими TTV своим детям. Вертикальная передача TTV от матери (трансплацентарно или при родах) может играть лишь частичную роль в раннем приобретении TTV у младенцев. В любом случае можно утверждать, что даже если вирус проходит трансплацентарный барьер, концентрация вируса в пуповинной крови очень низкая и не зависит от вирусной нагрузки TTV у матерей.

4.7 Грудное вскармливание как один из путей передачи TTV младенцам

По данным литературы грудное молоко часто TTV-положительно (23,3 и 67%) (Iso K. et al., 2001; Matsubara H. et al., 2001), вследствие чего грудное

вскармливание может быть одним из путей передачи TTV младенцам. Результаты исследования (Kazi A. et al., 2000) демонстрируют отсутствие корреляции вирусной нагрузки TTV матерей с вирусной нагрузкой их детей, поскольку дети в возрасте 6-8 месяцев, рожденные как от TTV-положительных, так и от TTV-отрицательных матерей, выявили вирусную нагрузку 24% и 8% соответственно и это не может быть внутриутробно или передаваться через грудное молоко, т.к. 99% образцов пуповинной крови были отрицательными и все матери воздерживались от грудного вскармливания.

Обнаруженное в данной работе быстрое увеличение вирусной нагрузки коррелирует с предыдущими данными о распространенности ДНК TTV. Динамика вирусной нагрузки TTV у младенцев сходна с пролиферацией TTV у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, демонстрируя возможное сходство внутриклеточных механизмов вирусной прогрессии (Albert E. et al., 2017; Wohlfarth P. et al., 2018).

Проанализировав динамику TTV в течение первых недель жизни у недоношенных и доношенных детей в зависимости от способа родоразрешения и веса ребенка при рождении, были получены первые признаки активной вирусной пролиферации уже через 6-8 недель. Статистически значимой разницы в вирусной нагрузке TTV для недоношенных и доношенных детей не было обнаружено. Также не выявлено статистически значимых различий по вирусной нагрузке у матери. Определить зависимость вирусной нагрузки TTV по способу кормления в данном исследовании не представлялось возможным, поскольку все дети находились на грудном вскармливании с рождения, за исключением недоношенных детей, получавших смесь первые несколько суток и затем переведенных на грудное вскармливание в разном возрасте, в зависимости от физиологического состояния и назначений врача в течение всего периода забора крови.

ВЫВОДЫ

1) TTV выявлен у 84% беременных женщин (максимум 3×10^7 , медиана 8×10^4 коп/мл) при чувствительности методики 10^3 коп/мл. Вирусная нагрузка TTV в плазме была примерно в 100 раз ниже, чем в цельной крови, что указывает на преимущественно внутриклеточную локализацию вируса.

2) Продemonстрировано отсутствие трансплацентарной передачи TTV от матери плоду.

3) Вирусная нагрузка TTV у ребенка не зависит от вирусной нагрузки матери.

4) Не обнаружено статистически значимой разницы в вирусной нагрузке TTV у доношенных и недоношенных детей, а также по способу родоразрешения и весу ребенка при рождении.

5) Вирусная нагрузка TTV увеличивается в течение первых месяцев жизни здоровых грудных детей, достигая плато через 3-6 месяцев с сильной пролиферацией в течение первых 6-8 недель от рождения. При этом первые признаки активной пролиферации вируса можно обнаружить через 1-2 недели от рождения.

6) Разработаны три тест-системы для дифференциальной количественной диагностики вирусов TTV, TTMV и TTMDV семейства *Anelloviridae*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанные и внедренные в серийное производство тест-системы для дифференциальной количественной диагностики вирусов TTV, TTMV и TTMDV семейства *Anelloviridae* могут быть использованы для выявления клинической значимости трех основных вирусных групп семейства *Anelloviridae* в любых когортах пациентов. Рекомендуется сравнение вирусной нагрузки TTV у здоровых пациентов (контрольная группа) и у пациентов с различными заболеваниями/осложнениями, а также исследование вирусной нагрузки TTV у беременных женщин в динамике по триместрам.

2. Рекомендуется создание клинико-диагностической базы данных пациентов, включающих результаты клинико-лабораторного обследования пар мать-ребенок на три различных генетических варианта TTV (TTV, TTMV и TTMDV). Диагностика различных видов TTV в образцах крови, слюны и грудного молока в парах мать-ребенок позволит выявить штаммы, обладающие более высоким потенциалом трансмиссии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Дальнейшее изучение TTV может углубить понимание механизмов репликации вируса и роли TTV в вирусе человека. Особый интерес представляет исследование вируса беременных женщин и новорожденных. В ходе анализа вируса беременных женщин и детей грудного возраста могут быть получены новые данные о взаимосвязи TTV с иммунитетом, что в перспективе может позволить использовать этот вирус в качестве маркера состояния иммунитета и / или маркера какого-либо патологического состояния при беременности.

2. Целесообразным представляется изучение генома TTV матерей и их детей с целью выявления различий вирусных изолятов. Это позволит уточнить данные о влиянии материнского TTV на приобретение TTV младенцами в постнатальном периоде. Можно рекомендовать сравнение генотипов TTV, обнаруженных в различных биологических образцах (крови, слюны, грудного молока).

3. В последнее время активно развиваются вирусные системы доставки лекарств. Это крайне актуально при лечении рака и при генотерапии наследственных заболеваний. Белок TTV TAIP можно использовать в качестве целевой системы доставки лекарств, поскольку он обладает свойством индуцировать апоптоз в раковых клетках (Kooistra K. Et al., 2004). К тому же локализация генома TTV во всех типах клеток, в особенности в кроветворных клетках, будет способствовать продолжительности экспрессии трансгенов в активно делящихся клетках. Доставка исправленных генов с помощью TTV может осуществляться в различные места организма в зависимости от клеток-мишеней определенных заболеваний. Так, например, локализация TTV преимущественно в лимфоцитах и гепатоцитах открывает широкие возможности для доставки терапевтических генов в эти ткани с целью лечения таких моногенных заболеваний как иммунодефициты (дефектные гены, требующие исправления: аденозиндезаминаза, пуриноклеозидфосфорилаза), эмфизема легких (альфа-1-

антитрипсин); в гепатоциты для лечения: семейной гиперхолестеринемии (рецептор липопротеинов низкой плотности), фенилкетонурии (фенилаланингидроксилаза), гипераммонения (орнитинтранскарбамилаза), цитрулинемии (аргиносукцинатсинтетаза) и другие.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Щербакова С. М., Тыщик Е. А. Исследование вирусной нагрузки Torque teno virus у рожениц и трансплацентарной передачи вируса // Сборник тезисов XII Международной (XXI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых. – 2017. – С. 143 – 144.
2. Tyschik E. A., Shcherbakova S. M., Ibragimov R. R., Rebrikov D. V. Transplacental transmission of torque teno virus // Virology Journal, 2017 Vol 14: 92. doi: 10.1186/s12985-017-0762-0
3. Tyschik E. A., Rasskazova A. S., Degtyareva A. V., Rebrikov D. V., Sukhikh G. T. Torque teno virus dynamics during the first year of life // Virology Journal, 2018 Vol 15: 96. doi: 10.1186/s12985-018-1007-6
4. Лоломадзе Е. А. Способ выявления ДНК Torque teno virus рода Alphatorquevirus семейства Anelloviridae в крови и других биоматериалах методом ПЦР-РВ / Е. А. Лоломадзе, Д. В. Ребриков // Патент на изобретение № 2715315. Зарегистрировано в Роспатенте 26.02.2020.
5. Лоломадзе Е. А. Способ выявления ДНК Torque teno midi virus рода Gammatorquevirus семейства Anelloviridae в крови и других биоматериалах методом ПЦР-РВ / Е. А. Лоломадзе, Д. В. Ребриков // Патент на изобретение № 2715860. Зарегистрировано в Роспатенте 03.03.2020.
6. Лоломадзе Е. А. Способ выявления ДНК Torque teno mini virus рода Betatorquevirus семейства Anelloviridae в крови и других биоматериалах методом ПЦР-РВ / Е. А. Лоломадзе, Д. В. Ребриков // Патент на изобретение № 2717336. Зарегистрировано в Роспатенте 23.03.2020.
7. Lolomadze E. A., Rebrikov D. V. Constant companion: clinical and developmental aspects of torque teno virus infections // Archives of Virology. – 2020, Vol 165, № 12. – P. 2749 – 2757. doi: 10.1007/s00705-020-04841-x.

8. Lolomadze E. A., Degtyareva A. V., Rebrikov D. V. The newborns Torque teno virus dynamics depending on the term, feeding type and maternal viral load // *Acta Virologica*. – 2021, Vol 65, № 3. – P. 307 – 312. doi: 10.4149/av_2021_306.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- дцДНК – двуцепочечная ДНК
- микроРНК – малые некодирующие молекулы РНК длиной 18 – 25 нуклеотидов
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- оцДНК – одноцепочечная ДНК
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита
- т.п.н. – тысячи пар нуклеотидов
- УФ – ультрафиолет
- ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
- AAV – аденоассоциированный вирус (adeno-associated virus)
- AZT – зидовудин или азидотимидин, антиретровирусный препарат для лечения ВИЧ-инфекции (azidothymidine)
- Cap – белок-активатор катаболита (catabolite activator protein)
- CAV – вирус куриной анемии (chicken anemia virus)
- dNK – децидуальные естественные клетки-киллеры (decidual natural killer cells)
- EBV – вирус Эпштейна-Барр (Epstein-Barr virus)
- EGFR – рецептор эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor)
- FcRn – неонатальный рецептор кристаллизующегося фрагмента (crystallized fragment receptor)
- H1N1 – серотип вируса гриппа А

HBeAg – маркер вирусного гепатита В или антиген е вируса гепатита В (Hepatitis Be Antigen)

HBV – вирус гепатита В (hepatitis B virus)

HCV – вирус гепатита С (hepatitis C virus)

HHV-6 – вирусы герпеса человека 6 типа (Human herpesvirus 6)

HIV-1 – вирус иммунодефицита человека типа 1 (human immunodeficiency virus type 1)

HLA-G – человеческий лейкоцитарный антиген G (human leukocyte antigen G)

HPV – папилломавирус человека (human papillomavirus)

HSCs – гемопоэтические стволовые клетки (hematopoietic stem cells)

HSV – вирус простого герпеса (herpes simplex virus)

HTLV – Т-лимфотропный вирус человека (human T-lymphotropic virus)

ICAM-1 – молекула клеточной адгезии, присутствующая в низкой концентрации на мембранах лейкоцитов и эндотелиальных клеток (inter-cellular adhesion molecule 1)

ICTV – Международный комитет по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses)

IgG, IgA – иммуноглобулин G, A соответственно

MuV – вирус эпидемического паротита (mumps virus)

MV – вирус кори (measles virus)

NFκB – транскрипционный фактор или ядерный фактор «каппа-би» (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) является универсальным фактором транскрипции, контролирующим экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла

NGF – фактор роста нервов (nerve growth factor)

NK – естественные клетки-киллеры (natural killer cells)

NOD – домен олигомеризации нуклеотидов (nucleotide oligomerization domain)

ORF – открытая рамка считывания (open reading frame)

Rep – белок, расплетающий двойную спираль молекулы ДНК E.coli во время репликации (replication)

RSV – респираторно-синцитиальный вирус (respiratory syncytial virus)

RuV – вирус краснухи (rubella virus)

SAV – маленький анелловир (small anellovirus)

TAIP – TTV-производный белок, вызывающий апоптоз (TTV-derived apoptosis-inducing protein)

TLRs – толл-подобные рецепторы (Toll-like receptor)

TORCH инфекции – аббревиатура наиболее опасных для плода инфекций (токсоплазмоз (toxoplasmosis), «другие инфекции» («other»), краснуха (rubella), цитомегаловирус (CMV), герпес (HSV))

TTMDV – торктено мидивирус (Torque teno midivirus)

TTMV – торктено минивирус (Torque teno minivirus)

TTV – торктено вирус (TT-virus, Torque teno virus)

UTR – нетранслируемый регион (untranslated region)

VZV – вирус ветряной оспы (varicella zoster virus)

ZIKV – вирус Зика (Zika virus)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Учайкин В. Ф., Чередниченко Т. В., Самохвалов Е. И., Филипова Е. В., Чаплыгина Г. В., Ковалев О. Б., Конев В. А. Современные представления о ТТ-вирусной инфекции у детей. // Детские инфекции. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 15 – 18
2. Abbas A. A., Diamond J. M., Chehoud C., Chang B., Kotzin J. J., Young J. C. et al. The perioperative lung transplant virome: torque teno viruses are elevated in donor lungs and show divergent dynamics in primary graft dysfunction. // Am. J. Transplant. – 2017. – Vol 17, № 5. – P. 1313 – 1324. doi: 10.1111/ajt.14076.
3. Abe K. Inami T., Asano K., Miyoshi C., Masaki N., Hayashi S. et al. TT virus infection is widespread in the general populations from different geographic regions. // J Clin Microbiol. – 1999. – Vol 37, № 8. – P. 2703 – 2705.
4. Abeles S. R. & Pride D. T. Molecular bases and role of viruses in the human microbiome // J Mol Biol. – 2014. – Vol 426, № 23. – P. 3892 – 3906. doi: 10.1016/j.jmb.2014.07.002.
5. AbuOdeh R., Al-Mawlawi N., Al-Qahtani A. A., Bohol M. F., Al-Ahdal M. N., Hasan H. A., et al. Detection and genotyping of torque teno virus (TTV) in healthy blood donors and patients infected with HBV or HCV in Qatar. // J. Med. Virol. – 2015. – Vol 87, № 7. – P. 1184 – 1191. doi: 10.1002/jmv.24146.
6. Alberico S., Pinzano R., Comar M., Toffoletti F., Maso G., Ricci G., Guaschino S. Maternal-fetal transmission of human papillomavirus. // Minerva Ginecol. – 1996. – Vol 48, № 5. – P. 199 – 204.
7. Albert E., Solano C., Gimenez E., Focosi D., Perez A., Macera L. et al. The kinetics of torque teno virus plasma DNA load shortly after engraftment predicts the risk of high-level CMV DNAemia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. // Bone Marrow Transplantation. – 2017. – Vol 53, № 2. – P. 180 – 187. doi: 10.1038/bmt.2017.235.

8. Aramouni M, Martínez J, Nieto D, Kekarainen T, Segalés J (2013) Exploratory study of Torque teno sus viruses in pulmonary inflammatory lesions in pigs. *Vet Microbiol* 162:338–344. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.09.011>
9. Aramouni M, Segalés J, Sibila M, Martin-Valls GE, Nieto D, Kekarainen T (2011) Torque teno sus virus 1 and 2 viral loads in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) and porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) affected pigs. *Vet Microbiol* 153:377–381. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.05.046>
10. Arechavaleta-Velasco F., Gomez L., Ma Y., Zhao J., McGrath C. M., Sammel M. D. et al. Adverse reproductive outcomes in urban women with adeno-associated virus-2 infections in early pregnancy. // *Hum Reprod.* – 2008. – Vol 23, № 1. – P. 29 – 36. doi: 10.1093/humrep/dem360.
11. Arora N., Sadovsky Y., Dermody T. S., Coyne C. B. Microbial vertical transmission during human pregnancy. // *Cell Host Microbe.* – 2017. – Vol 21, № 5. – P. 561 – 567. doi: 10.1016/j.chom.2017.04.007.
12. Asabe S., Nishizawa T., Iwanari H., Okamoto H. Phosphorylation of serine-rich protein encoded by open reading frame 3 of the TT virus genome. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2001. – Vol 286, № 2. – P. 298 – 304. doi: 10.1006/bbrc.2001.5385.
13. Avgil M. & Ornoy A. Herpes simplex virus and Epstein-Barr virus infections in pregnancy: consequences of neonatal or intrauterine infection. // *Reprod Toxicol.* – 2006. – Vol 21, № 4. – P. 436 – 445. doi: 10.1016/j.reprotox.2004.11.014.
14. Bagaglio S., Sitia G., Prati D., Cella D., Hasson H., Novati R. et al. Mother-to-child transmission of TT virus: sequence analysis of the non-coding region of TT virus in infected mother-infant pairs. // *Arch Virol.* – 2002. – Vol 147, № 4. – P. 803 – 812. doi: 10.1007/s007050200027.
15. Barton E. S., White D. W., Cathelyn J. S., Brett-McClellan K. A., Engle M., Diamond M. S. et al. Herpesvirus latency confers symbiotic protection from bacterial infection. // *Nature.* – 2007. – Vol 447, № 7142. – P. 326 – 329. doi: 10.1038/nature05762
16. Bayer A., Delorme-Axford E., Sleighter C., Frey T. K., Trobaugh D. W., Klimstra W. B. et al. Human trophoblasts confer resistance to viruses implicated in

perinatal infection. // *Am J Obstet Gynecol.* – 2015. – Vol 212, № 1. – P. 71 – 78. doi: 10.1016/j.ajog.2014.07.060.

17. Bayer A., Lennemann N. J., Ouyang Y., Bramley J. C., Morosky S., Marques E. T. et al. Type III interferons produced by human placental trophoblasts confer protection against Zika virus infection. // *Cell Host Microbe.* – 2016. – Vol 19, № 5. – P. 705 – 712. doi: 10.1016/j.chom.2016.03.008.

18. Bendinelli M., Pistello M., Maggi F., Fornai C., Freer G., Vatteroni M. L. Molecular properties, biology, and clinical implications of TT virus, a recently identified widespread infectious agent of humans. // *Clin Microbiol Rev.* – 2001. – Vol 14, № 1. – P. 98 – 113. doi: 10.1128/CMR.14.1.98-113.2001.

19. Biagini P. Classification of TTV and related viruses (anelloviruses). // *Curr Top Microbiol Immunol.* – 2009. – Vol 331. – P. 21 – 33. doi: 10.1007/978-3-540-70972-5_2.

20. Biagini P., Charrel R. N., de Micco P., de Lamballerie X. Association of TT virus primary infection with rhinitis in a newborn. // *Clin Infect Dis.* – 2003. – Vol 36, № 1. – P. 128 – 129. doi: 10.1086/345552.

21. Blanco O., Tirado I., Munoz-Fernandez R., Abadia-Molina A. C., Garcia-Pacheco J. M., Pena J., Olivares E. G. Human decidual stromal cells express HLA-G: Effects of cytokines and decidualization. // *Hum Reprod.* – 2008. – Vol 23, № 1. – P. 144 – 152. doi: 10.1093/humrep/dem326.

22. Blatter J. A., Sweet S. C., Conrad C., Danziger-Isakov L. A., Faro A., Goldfarb S. B. et al. Anellovirus loads are associated with outcomes in pediatric lung transplantation. // *Pediatr Transplant.* – 2018. – Vol 22, № 1. doi: 10.1111/petr.13069.

23. Boldogh I., Albrecht T., Porter D. D., Baron S. Persistent viral infections. // *Medical Microbiology.* 4th edition. Chapter 46. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.

24. Brett K. E., Ferraro Z. M., Yockell-Lelievre J., Gruslin A., Adamo K. B. Maternal-fetal nutrient transport in pregnancy pathologies: the role of the placenta. // *Int. J. of Mol. Sci.* – 2014. – Vol 15, № 9. – P. 16153 – 16185. doi: 10.3390/ijms150916153.

25. Brown P. M., Harford T. J., Agrawal V., Yen-Lieberman B., Rezaee F., Piedimonte G. Prenatal exposure to respiratory syncytial virus alters postnatal immunity and airway smooth muscle contractility during early-life reinfections. // *PLoS One*. – 2017. – Vol 12, № 2. doi: 10.1371/journal.pone.0168786.
26. Bwaka M. A., Bonnet M. J., Calain P., Colebunders R., de Roo A., Guimard Y. et al. Ebola hemorrhagic fever in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: clinical observations in 103 patients. // *J Infect Dis*. – 1999. – Vol 179 (Suppl 1). – P. S1 – S7. doi: 10.1086/514308.
27. Bzhalava D., Ekström J., Lysholm F., Hultin E., Faust H., Persson B. et al. Phylogenetically diverse TT virus viremia among pregnant women. // *Virology*. – 2012. – Vol 432, № 2. – P. 427 – 434. doi: 10.1016/j.virol.2012.06.022.
28. Beland K., Dore-Nguyen M., Gagne M. J., Patey N., Brassard J., Alvarez F. et al. Torque teno virus in children who underwent orthotopic liver transplantation: new insights about a common pathogen. // *J Infect Dis*. – 2014. – Vol 209, № 2. – P. 247 – 254. doi: 10.1093/infdis/jit423.
29. Carneiro-Proietti A. B. F., Amaranto-Damasio M. S., Leal-Horiguchi C. F., Bastos R. H. C., Seabra-Freitas G., Borowiak D. R. et al. Mother-to-Child transmission of human T-cell lymphotropic viruses-1/2: what we know, and what are the gaps in understanding and preventing this route of infection. // *J Pediatric Infect Dis Soc*. – 2014. – Vol 3 (Suppl 1). – P. S24 – S29. doi: 10.1093/jpids/piu070.
30. Charlier C., J. Dina, F. Freymuth, A. Vabret, O. Lortholary, D. Antona, Lecuit M. Prolonged maternal shedding and maternal-fetal transmission of measles virus. // *Clinical Infectious Diseases*, c1aa915, doi: 10.1093/cid/c1aa915.
31. Charlton M., Adjei P., Poterucha J., Zein N., Moore B., Therneau T. et al. TT-virus infection in north american blood donors, patients with fulminant hepatic failure, and cryptogenic cirrhosis. // *Hepatology*. – 1998. – Vol 28, № 3. – P. 839 – 842. doi: 10.1002/hep.510280335.
32. Chuang Y.-Y. & Huang Y-C. Enteroviral infection in neonates. // *J Microbiol Immunol Infect*. – 2019. – Vol 52, № 6. – P. 851 – 857. doi: 10.1016/j.jmii.2019.08.018.

33. Chumbley G., King A., Holmes N., Loke Y. W. In situ hybridization and northern blot demonstration of HLA-G mRNA in human trophoblast populations by locus-specific oligonucleotide. // *Hum Immunol.* – 1993. – Vol 37, № 1. – P. 17 – 22. doi: 10.1016/0198-8859(93)90138-Q.
34. Collins A., Weitkamp J.-H. & Wynn J. L. Why are preterm newborns at increased risk of infection? // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* – 2018. – Vol 103, № 4. – P. F391 – F394. doi: 10.1136 / archdischild-2017-313595.
35. Costello M. J., Joyce S. K., Abrahams V. M. NOD protein expression and function in first trimester trophoblast cells. // *Am J Reprod Immunol.* – 2007. – Vol 57, № 1. – P. 67 – 80. doi: 10.1111/j.1600-0897.2006.00447.x.
36. Crowther R. A., Berriman J. A., Curran W. L., Allan G. M., Todd D. Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. // *J Virol.* – 2003. – Vol 77, № 24. – P. 13036 – 13041. doi: 10.1128/jvi.77.24.13036-13041.2003.
37. Davila S., Halstead E. S., Hall M. W., Doctor A., Telford R., Holubkov R. et al. A viral DNAemia and immune suppression in pediatric sepsis. // *Pediatric critical care medicine.* – 2018. – Vol 19, № 1. – P. 14 – 22. doi: 10.1097/PCC.0000000000001376.
38. De Villiers E.-M., Borkosky S. S., Kimmel R., Gunst K., Fei J.-W. The diversity of torque teno viruses: in vitro replication leads to the formation of additional replication-competent subviral molecules. // *J Virol.* – 2011. – Vol 85, № 14. – P. 7284 – 7295. doi: 10.1128/JVI.02472-10.
39. De Villiers E.-M., Bulajic M., Nitsch C., Kecmanovic D., Pavlov M., Kopp-Schneider A. et al. TTV infection in colorectal cancer tissues and normal mucosa. // *Int. J. Cancer.* – 2007. – Vol 121, № 9. – P. 2109 – 2112. doi: 10.1002/ijc.22931.
40. Delorme-Axford E., Donker R. B., Mouillet J. F., Chu T., Bayer A., Ouyang Y. et al. Human placental trophoblasts confer viral resistance to recipient cells. // *P Natl Acad Sci USA.* – 2013. – Vol 110, № 29. – P. 12048 – 12053. doi: 10.1073/pnas.1304718110.

41. Delorme-Axford E., Sadovsky Y., Coyne C. B. The placenta as a barrier to viral infections. // *Annu Rev Virol.* – 2014. – Vol 1, № 1 – P. 133 – 146. doi: 10.1146/annurev-virology-031413-085524.
42. Deng X., Terunuma H., Handema R., Sakamoto M., Kitamura T., Ito M., et al. Higher prevalence and viral load of TT virus in saliva than in the corresponding serum: another possible transmission route and replication site of TT virus. // *J Med Virol.* – 2000. – Vol 62, № 4. – P. 531 – 537.
43. Emre S., Otlu B., Cankaya C., Doganay S., Durmaz R. Transfusion-transmitted virus DNA in serum, tear and aqueous humour of patients undergoing cataract operation. // *Clin Exp Ophthalmol.* – 2007. – Vol 35, № 8. – P. 759 – 762. doi: 10.1111/j.1442-9071.2007.01575.x.
44. Englund J. A. The influence of maternal immunization on infant immune responses. // *J Comp Pathol.* – 2007. – Vol 137 (Suppl 1). – P. S16–S19 10.1016 / j.jcpa.2007.04.006.
45. Erker J. C., Leary T. P., Desai S. M., Chalmers M. L., Mushahwar I. K. Analyses of TT virus full-length genomic sequences. // *J Gen Virol.* – 1999. – Vol 80 (Pt 7). – P. 1743 – 1750. doi: 10.1099/0022-1317-80-7-1743.
46. Erlebacher A. Immunology of the maternal-fetal interface. // *Annu Rev Immunol.* – 2013. – Vol 31. – P. 387 – 411. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-100003.
47. Euscher E., Davis J., Holzman I., Nuovo G. J. Coxsackie virus infection of the placenta associated with neurodevelopmental delays in the newborn. // *Obstet Gynecol.* – 2001. – Vol 98, № 6. – P. 1019 – 1026. doi: 10.1016/s0029-7844(01)01625-8.
48. Fang F., Zhong W., Wang H. Study on infection of transfusion transmitted virus in serum, breast milk of pregnant women and umbilical venous blood from their newborns. // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2001. – Vol 36, № 6. – P. 330 – 332.
49. Fatholahi M. & Bouzari M. Torque Teno midi virus/small Anellovirus in sera of healthy, HIV/HCV and HIV infected individuals in Lorestan Province, Iran. // *Jundishapur J Microbiol.* – 2015. – Vol 8, № 11. doi: 10.5812/jjm.25368.

50. Fauquet C. M. et. al. Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. // Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – 2005. – P. 335 – 341.
51. Feire A. L., Koss H., Compton T. Cellular integrins function as entry receptors for human cytomegalovirus via a highly conserved disintegrin-like domain. // P Natl Acad Sci USA. – 2004. – Vol 101, № 43. – P. 15470 – 15475. doi: 10.1073/pnas.0406821101.
52. Fenner's Veterinary Virology [book, 5th Edition] (2016) Chapter 13—
circoviridae and anelloviridae, pp 259–268. <https://www.sciencedirect.com/book/9780128009468/fenners-veterinary-virology>
53. Fisher S., Genbacev O., Maidji E., Pereira L. Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in vitro and in utero: implications for transmission and pathogenesis. // J Virol. – 2000. – Vol 74, № 15. – P. 6808 – 6820. doi: 10.1128/jvi.74.15.6808-6820.2000.
54. Focosi D., Macera L., Pistello M. & Maggi F. Torque teno virus viremia correlates with intensity of maintenance immunosuppression in adult orthotopic liver transplant. // J Infect Dis. – 2014. – Vol 210, № 4. – P. 667 – 668. doi:10.1093/infdis/jiu209.
55. Fornai C., Maggi F., Vatteroni M. L., Pistello M., Bendinelli M. High prevalence of TT virus (TTV) and TTV-like minivirus in cervical swabs. // J Clin Microbiol. – 2001. – Vol 39, № 5. – P. 2022 – 2024. doi: 10.1128/JCM.39.5.2022-2024.2001.
56. Fouda G.G., Martinez D. R, Swamy G. K., Permar S. R. The Impact of IgG transplacental transfer on early life immunity. // Immunohorizons. – 2018. – Vol 2, № 1. – P. 14 – 25. doi: 10.4049/immunohorizons.1700057.
57. Freer G., Maggi F., Pifferi M., Di Cicco M. E., Peroni D. G., Pistello M. The virome and its major component, anellovirus, a convoluted system molding human immune defenses and possibly affecting the development of asthma and respiratory diseases in childhood. // Front Microbiol. – 2018. – Vol 9. doi:10.3389/fmicb.2018.00686.

58. Freij B. J. & Sever J. L. Herpesvirus infections in pregnancy: risks to embryo, fetus, and neonate. // *Clin Perinatol.* – 1988. – Vol 15, № 2. – P. 203 – 231.
59. Gallian P., Biagini P., Zhong S., Touinssi M., Yeo W., Cantaloube J. F. et al. TT virus: a study of molecular epidemiology and transmission of genotypes 1, 2 and 3. // *J Clin Virol.* – 2000. – Vol 17, № 1. – P. 43 – 49.
60. Genc M. R. & Onderdonk A. Endogenous bacterial flora in pregnant women and the influence of maternal genetic variation // *BJOG.* – 2011. – Vol 118, № 2. – P. 154 – 163. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02772.x.
61. Gerner P., Oettinger R., Gerner W., Falbrede J., Wirth S. Mother-to-infant transmission of TT virus: prevalence, extent, and mechanism of vertical transmission. // *Pediatr Infect Dis J.* – 2000. – Vol 19, № 11. – P. 1074 – 1078. doi: 10.1097/00006454-200011000-00009.
62. Gorzer I., Jaksch P., Kundi M., Seitz T., Klepetko W., Puchhammer-Stöckl E. Pretransplant plasma torque teno virus load and increase dynamics after lung transplantation. // *PLoS One.* – 2015. – Vol 10, № 3: e0122975. doi: 10.1371/journal.pone.0122975.
63. Goto K., Sugiyama K., Ando T., Mizutani F., Terabe K., Tanaka K. et al. Detection rates of TT virus DNA in serum of umbilical cord blood, breast milk and saliva. // *Tohoku J Exp Med.* – 2000. – Vol 191, № 4. – P. 203 – 207. doi: 10.1620/tjem.191.203.
64. Gregory A. C., Zablocki O., Howell A., Bolduc B., Sullivan M. B. The human gut virome database. // *bioRxiv.* – 2019: 655910. doi: 10.1101/655910.
65. Hafez M. M., Shaarawy S. M., Hassan A. A. Salim R. F., Abd El Salam F. M., Ali A. E. Prevalence of transfusion transmitted virus (TTV) genotypes among HCC patients in Qalubia governorate. // *Virol J.* – 2007. – Vol 4: 135. doi:10.1186/1743-422X-4-135.
66. Haloschan M., Bettesch R., Görzer I., Weseslindtner L., Kundi M., Puchhammer-Stöckl E. TTV DNA plasma load and its association with age, gender, and HCMV IgG serostatus in healthy adults. // *Age (Dordr).* – 2014. Vol 36, № 5:9716. doi:10.1007/s11357-014-9716-2.

67. Halwachs-Baumann G., Weihrauch G., Gruber H. J., Desoye G., Sinzger C. hCMV induced IL-6 release in trophoblast and trophoblast like cells. // J Clin Virol. – 2006. – Vol 37, № 2. – P. 91 – 97. doi: 10.1016/j.jcv.2006.06.006.
68. Han T. H. & Chung J. Y. Detection of small Anellovirus DNA from blood products. // Korean J Blood Transfus. – 2006. – Vol 17, № 2. – P. 126 – 134.
69. Haramoto E., Katayama H., Ohgaki S. Quantification and genotyping of torque teno virus at a wastewater treatment plant in Japan. // Appl. Environ. Microbiol. – 2008. – Vol 74, № 23. – P. 7434 – 7436. doi: 10.1128/AEM.01605-08.
70. Hassuna N. A., Naguib E., Abdel-Fatah M., Mousa S. M. O. Phylogenetic analysis of torque teno virus in thalassemic children in Egypt. // Intervirology. – 2017. – Vol 60, № 3. – P. 102 – 108. doi: 10.1159/000480507.
71. Haynes M. & Rohwer F. The Human Virome. In: Metagenomics of the Human Body. New York: Springer. – 2010. – P. 63 – 77.
72. Hsiao K.-L., Wang L.-Y., Lin C.-L., Liu H.-F. New phylogenetic groups of Torque teno virus identified in eastern taiwan indigenes. // PloS one. – 2016. – Vol 11, № 2. doi: 10.1371/journal.pone.0149901.
73. Hsu J., Rosenthal P., Ruel T., Kyohere M., Nakielny S., Byaruhanga O. et al. Etiology of non-malarial febrile illnesses in ugandan children. // Pediatrics. – 2018. – Vol 141, № 1. doi: 10.1542/peds.141.1_MeetingAbstract.463.
74. Huppertz B. The anatomy of the normal placenta. // J Clin Pathol. – 2008. – Vol 61, № 12. – P. 1296 – 1302. doi: 10.1136/jcp.2008.055277.
75. Hussain T., Manzoor S., Waheed Y., Tariq H., Hanif K. Phylogenetic analysis of torque teno virus genome from Pakistani isolate and incidence of co-infection among HBV/HCV infected patients. // Virology journal. – 2012. – Vol 9, № 1. – P. 1 – 10. doi: 10.1186/1743-422X-9-320.
76. Inami T., Konomi N., Arakawa Y., Abe K. High prevalence of TT virus DNA in human saliva and semen. // J. Clin. Microbiol. – 2000. – Vol. 38, № 6. – P. 2407 – 2408. doi: 10.1128/JCM.38.6.2407-2408.2000
77. Indolfi G., Moriondo M., Galli L., Azzari C., Poggi G. M., Resti M. et al. Mother-to-infant transmission of multiple blood-borne viral infections from multi-

infected mothers. // *Journal of medical virology*. – 2007. – Vol 79, № 6. – P. 743 – 747. doi: 10.1002/jmv.20885.

78. Irshad M., Singh S., Irshad K., Agarwal S.-K., Joshi Y.-K. Torque teno virus: Its prevalence and isotypes in North India. // *World J. Gastroenterol*. – 2008. – Vol 14, № 39. – P. 6044 – 6051. doi: 10.3748/wjg.14.6044.

79. Iso K., Suzuki Y., Takayama M. Mother-to-infant transmission of TT virus in Japan. // *Int J Gynaecol Obstet*. – 2001. – Vol 75, № 1. – P. 11 – 19. doi: 10.1016/s0020-7292(01)00450-7.

80. Itoh M., Shimomura H., Fujioka S.- I., Miyake M., Tsuji H., Ikeda F. et. al. High prevalence of TT virus in human bile juice samples. // *Dig Dis Sci*. – 2001. – Vol 46, № 3. – P. 457 – 462. doi: 10.1023/a:1005618308943.

81. Iwaki Y., Aiba N., Tran H. T., Ding X., Hayashi S., Arakawa Y. et al. Simian TT virus (s-TTV) infection in patients with liver diseases. // *Hepatol Res*. – 2003. – Vol 25, № 2. – P. 135 – 142. doi: 10.1016/s1386-6346(02)00250-4.

82. Jelcic I., Hotz-Wagenblatt A., Hunziker A., zur Hausen H., de Villiers E.-M. Isolation of multiple TT virus genotypes from spleen biopsy tissue from a Hodgkin's disease patient: genome reorganization and diversity in the hypervariable region. // *J. Virol*. – 2004. – Vol 78, № 14. – P. 7498 – 7507. doi: 10.1128/JVI.78.14.7498-7507.2004.

83. Jones C. J., Harris L. K., Whittingham J., Aplin J. D., Mayhew T. M. A re-appraisal of the morphophenotype and basal lamina coverage of cytotrophoblasts in human term placenta. // *Placenta*. – 2008. – Vol 29, № 2. – P. 215 – 219. doi: 10.1016/j.placenta.2007.11.004.

84. Juliano P. B., Blotta M. H., Altemani A. M. ICAM-1 is overexpressed by villous trophoblasts in placentitis. // *Placenta*. – 2006. – Vol 27, № 6 – 7. – P. 750 – 757. doi: 10.1016/j.placenta.2005.07.008.

85. Kaczorowska J. & van der Hoek L. Human anelloviruses: diverse, omnipresent and commensal members of the virome. // *FEMS Microbiol Rev*. – 2020. – Vol 44, № 3. – P. 305 – 313. doi: 10.1093/femsre/fuaa007.

86. Kakkola L., Hedman K., Qiu J., Pintel D., Söderlund-Venermo M. Replication of and protein synthesis by TT viruses. // *Curr Top Microbiol Immunol.* – 2009. – Vol 331. – P. 53 – 64. doi: 10.1007/978-3-540-70972-5_4.
87. Kakkola L., Tommiska J., Boele L. C. L., Miettinen S., Blom T., Kekarainen T. et al. Construction and biological activity of a full-length molecular clone of human Torque teno virus (TTV) genotype 6. // *FEBS J.* – 2007. – Vol 274, № 18. – P. 4719 – 4730. doi: 10.1111/j.1742-4658.2007.06020.x.
88. Kazi A., Miyata H., Kurokawa K., Khan M. A., Kamahora T., Katamine S., Hino S. High frequency of postnatal transmission of TT virus in infancy. // *Arch Virol.* – 2000. – Vol 145, № 3. – P. 535 – 40. doi: 10.1007/s007050050044.
89. Kincaid R. P., Burke J. M., Cox J. C., de Villiers E.-M., Sullivan C. S. A human torque teno virus encodes a microRNA that inhibits interferon signaling. // *PLoS Pathog.* – 2013. – Vol 9, № 12. doi: 10.1371/journal.ppat.1003818.
90. King A. E., Paltoo A., Kelly R. W., Sallenave J. M., Bocking A. D., Challis J. R. Expression of natural antimicrobials by human placenta and fetal membranes. // *Placenta.* – 2007. – Vol 28, № 2 – 3. – P. 161 – 169. doi: 10.1016/j.placenta.2006.01.006.
91. King A. M. Q., Adams M. J., Carstens E. B., Lefkowitz E. J. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. // Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – 2012. – P. 331 – 341.
92. Koi H., Zhang J., Makrigiannakis A., Getsios S., MacCalman C. D., Jerome F. et al. Syncytiotrophoblast is a barrier to maternal-fetal transmission of herpes simplex virus. // *Biol Reprod.* – 2002. – Vol 67, № 5. – P. 1572 – 1579. doi: 10.1095/biolreprod.102.004325.
93. Komatsu H., Inui A., Sogo T., Kuroda K., Tanaka T., Fujisawa T. TTV infection in children born to mothers infected with TTV but not with HBV, HCV, or HIV. // *J Med Virol.* – 2004. – Vol 74, № 3. – P. 499 – 506. doi: 10.1002/jmv.20204.
94. Komine-Aizawa S., Suzaki A., Trinh Q. D., Izumi Y., Shibata T., Kuroda K. et al. H1N1/09 influenza A virus infection of immortalized first trimester human trophoblast cell lines. // *Am J Reprod Immunol.* – 2012. – Vol 68, № 3. – P. 226 – 232. doi: 10.1111/j.1600-0897.2012.01172.x.

95. Kondili L. A., Pisani G., Beneduce F., Morace G., Gentili G., Ballati G. et al. Prevalence of TT virus in healthy children and thalassemic pediatric and young adult patients. // *JPGN*. – 2001. – Vol 33, № 5. – P. 629 – 632. doi: 10.1097/00005176-200111000-00025.
96. Kooistra K., Zhang Y. H., Henriquez N. V., Weiss B., Mumberg D., Noteborn M. H. M. TT virus-derived apoptosis-inducing protein induces apoptosis preferentially in hepatocellular carcinoma-derived cells. // *J Gen Virol*. – 2004. – Vol 85 (Pt 6). – P. 1445 – 1450. doi: 10.1099/vir.0.79790-0.
97. Kulifaj D, Tilloy V, Scaon E, Guerin E, Essig M, Pichon N, Hantz S, De Bernardi A, Joannes M, Barranger C, Alain S (2020) Viral metagenomics analysis of kidney donors and recipients: torque teno virus genotyping and prevalence. *J Med Virol*. <https://doi.org/10.1002/jmv.26298>
98. Kumata R, Ito J, Takahashi K, Suzuki T, Sato K (2020) A tissue level atlas of the healthy human virome. *BMC Biol* 18:55. <https://doi.org/10.1186/s12915-020-00785-5>
99. Leon-Juarez M., Martinez-Castillo M., Gonzalez-Garcia L. D., Helguera-Repetto A. C., Zaga-Clavellina V., Garcia-Cordero J. Cellular and molecular mechanisms of viral infection in the human placenta. // *Pathog Dis*. – 2017. – Vol 75, № 7: ftx093. doi: 10.1093/femspd/ftx093.
100. Lewis D. B. Developmental immunology and role host defenses in fetal and neonatal susceptibility to infection (Chapter 4) / D. B. Lewis, C. B. Wilson // *Infectious diseases of the fetus and newborn infants*. Saunders. – Philadelphia, 2006. – P. 87 – 210. doi: 10.1016/B0-72-160537-0/50006-2.
101. Liesnard C., Donner C., Brancart F., Gosselin F., Delforge M. L., Rodeschet F. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: prospective study of 237 pregnancies at risk. // *Obstet Gynecol*. – 2000. – Vol 95, № (6 Pt 1). – P. 881 – 888. doi: 10.1016/s0029-7844(99)00657-2.
102. Lim E. S., Zhou Y., Zhao G., Bauer I. K., Droit L., Ndao I. M. et al. Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants. // *Nat Med*. – 2015. – Vol 21, № 10. – P. 1228 – 1234. doi: 10.1038/nm.3950.

103. Lin H.-H., Kao J.-H., Lee P.-I. & Chen D.-S. Early acquisition of TT virus in infants: possible minor role of maternal transmission. // J. Med. Virol. – 2002. – Vol 66, № 2. – P. 285 – 290. doi: 10.1002/jmv.2143.
104. Lopez-Alcorocho J. M., Mariscal L. F., de Lucas S., Rodríguez-Iñigo E., Casqueiro M., Castillo I. et al. Presence of TTV DNA in serum, liver and peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis. // J Viral Hepat. – 2000. – Vol 7, № 6. – P. 440 – 447. doi: 10.1046/j.1365-2893.2000.00252.x.
105. Lozovskaia L. S., Ermakova M. K., Menemchiadis G. I., Konopleva T. N., Khellenova E. A. Chronic congenital Coxsackie virus infection in the etiology of allergic disease in children. // Vopr Virusol. – 1999. – Vol 44, № 6. – P. 268 – 272.
106. Luoto R., Jartti T., Ruuskanen O., Waris M., Lehtonen L., Heikkinen T. Review of the clinical significance of respiratory virus infections in newborn infants. // Acta Paediatr. – 2016. – Vol 105, № 10. – P. 1132 – 1139. doi: 10.1111/apa.13519.
107. Maggi F., Pifferi M., Fornai C., Andreoli E., Tempestini E., Vatteroni M. et al. TT virus in the nasal secretions of children with acute respiratory diseases: relations to viremia and disease severity. // J Virol. – 2003. – Vol 77, № 4. – P. 2418 – 2425. doi: 10.1128/jvi.77.4.2418-2425.2003.
108. Maidji E., Genbacev O., Chang H.-T., Pereira L. Developmental regulation of human cytomegalovirus receptors in cytotrophoblasts correlates with distinct replication sites in the placenta. // J Virol. – 2007. – Vol 81, № 9. – P. 4701 – 4712. doi: 10.1128/JVI.02748-06.
109. Maidji E., McDonagh S., Genbacev O., Tabata T., Pereira L. Maternal antibodies enhance or prevent cytomegalovirus infection in the placenta by neonatal Fc receptor-mediated transcytosis. // Am J Pathol. – 2006. – Vol 168, № 4. – P. 1210 – 1226. doi: 10.2353/ajpath.2006.050482.
110. Malek A., Sager R., Kuhn P., Nicolaides K. H., Schneider H. Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. // Am J Reprod Immunol. – 1996. – Vol 36, № 5. – P. 248 – 255. doi: 10.1111 / j.1600-0897.1996.tb00172.x

111. Mankotia D. S. & Irshad M. Cloning and expression of N22 region of Torque teno virus (TTV) genome and use of peptide in developing immunoassay for TTV antibodies. // *Virol J.* – 2014. – Vol 11: 96. doi: 10.1186/1743-422X-11-96.
112. Manti S., Cuppari C., Lanzafame A., Salpietro C., Betta P., Leonardi S., et al. Detection of respiratory syncytial virus (RSV) at birth in a newborn with respiratory distress. // *Pediatr Pulmonol.* – 2017. – Vol 52, № 10. – P. E81 – E84. doi: 10.1002/ppul.23775.
113. Martelli F., Macera L., Spezia P. G., Medici C., Pistello M., Guasti D. et al. Torquetenovirus detection in exosomes enriched vesicles circulating in human plasma samples. // *Virol J.* – 2018. – Vol 15, № 1: 145. doi: 10.1186/s12985-018-1055-y.
114. Martinez-Guino L, Kekarainen T, Maldonado J, Aramouni M, Llorens A, Segalés J (2010) Torque teno sus virus (TTV) detection in aborted and slaughterhouse collected fetuses. *Theriogenology* 74:277–281. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.011>
115. Martinez-Guino L, Kekarainen T, Segalés J (2009) Evidence of torque teno virus (TTV) vertical transmission in swine. *Theriogenology* 71:1390–1395. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.01.010>
116. Matsubara H., Michitaka K., Horiike N., Kihana T., Yano M., Mori T., Onji M. Existence of TT virus DNA and TTV-like mini virus DNA in infant cord blood: mother-to-neonatal transmission. // *Hepatol Res.* – 2001. – Vol 21, № 3. – P. 280 – 287. doi: 10.1016/s1386-6346(01)00115-2.
117. McCann A., Ryan F. J., Stockdale S. R., Dalmaso M., Blake T., Ryan C. A. et al. Viromes of one year old infants reveal the impact of birth mode on microbiome diversity // *Peer J.* – 2018. – Vol 6: e4694. doi: 10.7717/peerj.4694.
118. McLaughlin-Drubin M. E. & Munger K. Viruses associated with human cancer. // *Biochim. Biophys. Acta* – 2008. – Vol 1782, № 3. – P. 127 – 150. doi: 10.1016/j.bbadis.2007.12.005.
119. Merckx M., Liesbeth W.-V. W., Arbyn M., Meys J., Weyers S., Temmerman M. et al. Transmission of carcinogenic human papillomavirus types from mother to child:

a meta-analysis of published studies. // *Eur J Cancer Prev.* – 2013. – Vol 22, № 3. – P. 277 – 285. doi: 10.1097/CEJ.0b013e3283592c46.

120. Mi Z., Yuan X., Pei G., Wang W., An X., Zhang Z. et. al. High-throughput sequencing exclusively identified a novel Torque teno virus genotype in serum of a patient with fatal fever. // *Virol Sin.* – 2014. – Vol 29, № 2. – P. 112 – 118. doi: 10.1007/s12250-014-3424-z.

121. Miller E., Cradock-Watson J. E., Pollock T. M. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stages of pregnancy. // *Lancet.* – 1982. – Vol 2, № 8302. – P. 781 – 784. doi: 10.1016/s0140-6736(82)92677-0.

122. Mims C. A. Vertical transmission of viruses. // *Microbiological reviews.* – 1981. – Vol. 45, № 2 – P. 267 – 286.

123. Montone K. T., Furth E. E., Pietra G. G., Gupta P. K. Neonatal adenovirus infection: a case report with in situ hybridization confirmation of ascending intrauterine infection. // *Diagn Cytopathol.* – 1995. – Vol 12, № 4. – P. 341 – 344. doi: 10.1002/dc.2840120411.

124. Mor G. & Cardenas I. The immune system in pregnancy: a unique complexity. // *Am J Reprod Immunol.* – 2010. – Vol 63, № 6. – P. 425 – 433. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00836.x.

125. Mori M., Ishikawa G., Luo S. S., Mishima T., Goto T., Robinson J. M. et al. The cytotrophoblast layer of human chorionic villi becomes thinner but maintains its structural integrity during gestation. // *Biol Reprod.* – 2007. – Vol 76, № 1. – P. 164 – 172. doi: 10.1095/biolreprod.106.056127.

126. Morrica A., Maggi F., Vatteroni M. L., Fornai C., Pistello M., Ciccorossi P. et al. TT Virus: evidence for transplacental transmission. // *J. Infect. Dis.* – 2000. – Vol 181, № 2. – P. 803 – 804. doi: 10.1086/315296.

127. Motte A., Blanc J., Minodier P., Colson P. Acute hepatitis A in a pregnant woman at delivery. // *Int J Infect Dis.* – 2009. – Vol 13, № 2. – P. e49 – 51. doi: 10.1016/j.ijid.2008.06.009.

128. Mueller B., Maerz A., Doberstein K., Finsterbusch T., Mankertz A. Gene expression of the human Torque teno virus isolate P/1C1. // *Virology*. – 2008. – Vol 381, № 1. – P. 36 – 45. doi: 10.1016/j.virol.2008.08.017.

129. Mupapa K., Mukundu W., Bwaka M. A., Kipasa M., de Roo A., Kuvula K. et. al. Ebola hemorrhagic fever and pregnancy. // *J Infect Dis*. – 1999. – 179 (Suppl 1). – P. S11 – S12. doi: 10.1086/514289.

130. Mushahwar I. K. Recently discovered blood-borne viruses: are they hepatitis viruses or merely endosymbionts? // *J Med Virol*. – 2000. – Vol 62, № 4. – P. 399 – 404. doi:10.1002/1096-9071(200012)62:4<399::aid-jmv1>3.0.co;2-u.

131. Mutlu D., Abacioğlu H., Altunyurt S. Investigation of transplacental transmission of TT virus in mother-newborn pairs. // *Mikrobiyol Bul*. – 2007. – Vol 41, № 1. – P. 71 – 77.

132. Nancy P., Tagliani E., Tay C. S., Asp P., Levy D. E., Erlebacher A. Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. // *Science*. – 2012. – Vol 336, № 6086. – P. 1317 – 1321. doi: 10.1126/science.1220030.

133. Nasser T. F., Brajão de Oliveira K., Reiche E. M., Amarante M. K., Pelegrinelli-Fungaro M. H., Watanabe M. A. Detection of TT virus in HIV-1 exposed but uninfected individuals and in HIV-1 infected patients and its influence on CD4+ lymphocytes and viral load. // *Microb Pathog*. – 2009. – Vol 47, № 1. – P. 33 – 37. doi: 10.1016/j.micpath.2009.04.010.

134. NCBI GenBank [Интернет]. Доступно по адресу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>

135. Ninomiya M., Takahashi M., Nishizawa T., Shimosegawa T., Okamoto H. Development of PCR assays with nested primers specific for differential detection of three human anelloviruses and early acquisition of dual or triple infection during infancy. // *J Clin Microbiol*. – 2008. – Vol 46, № 2. – P. 507 – 514. doi: 10.1128/JCM.01703-07.

136. Nishizawa T., Okamoto H., Konishi K., Yoshizawa H., Miyakawa Y., Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in

posttransfusion hepatitis of unknown etiology. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – Vol 241, № 1. – P. 92 – 97. doi: 10.1006/bbrc.1997.7765.

137. Nuzum J. W., Pilot I., Stangl F. H., Bonar B. E. Pandemic influenza and pneumonia in a large civilian hospital. // *JAMA.* – 1918. – Vol 71. – P. 1562 – 1567.

138. Odemis E., Gurakan F., Ergunay K., Yuce A., Ozen H., Kocak N. TTV infection in children with and without liver disease. // *Indian J Gastroenterol.* – 2004. – Vol 23, № 4. – P. 135 – 137.

139. Ohto H., Ujiie N., Takeuchi C., Sato A., Hayashi A., Ishiko H. et al. TT virus infection during childhood. // *Transfusion.* – 2002. – Vol 42, № 7. – P. 892 – 898. doi: 10.1046/j.1537-2995.2002.00150.x.

140. Okamoto H., Takahashi M., Nishizawa T., Tawara A., Sugai Y., Sai T. et al. Replicative forms of TT virus DNA in bone marrow cells. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2000a. – Vol 270, № 2. – P. 657 – 662. doi: 10.1006/bbrc.2000.2481.

141. Okamoto H., Ukita M., Nishizawa T., Kishimoto J., Hoshi Y., Mizuo H. et al. Circular double-stranded forms of TT virus DNA in the liver. // *J Virol.* – 2000b. – Vol 74, № 11. – P. 5161 – 5167. doi: 10.1128/jvi.74.11.5161-5167.2000.

142. Ornoy A. & Tenenbaum A. Pregnancy outcome following infections by coxsackie, echo, measles, mumps, hepatitis, polio and encephalitis viruses. // *Reprod Toxicol.* – 2006. – Vol 21, № 4. – P. 446 – 457. doi:10.1016/j.reprotox.2005.12.007.

143. Parker M. T. An ecological framework of the human virome provides classification of current knowledge and identifies areas of forthcoming discovery. // *Yale J Biol Med.* – 2016. – Vol 89, № 3. – P. 339 – 351.

144. Pass R. F., Fowler K. B., Boppana S. B., Britt W. J., Stagno S. Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome. // *J Clin Virol.* – 2006. – Vol 35, № 2. – P. 216 – 220. doi: 10.1016/j.jcv.2005.09.015.

145. Pavlicev M., Wagner G. P., Chavan A. R., Owens K., Maziarz J., Dunn-Fletcher C. et al. Single-cell transcriptomics of the human placenta: inferring the cell communication network of the maternal-fetal interface. // *Genome Res.* – 2017. – Vol 27, № 3. – P. 349 – 361. doi: 10.1101/gr.207597.116.

146. Peng Y. H., Nishizawa T., Takahashi M., Ishikawa T., Yoshikawa A., Okamoto H. Analysis of the entire genomes of thirteen TT virus variants classifiable into the fourth and fifth genetic groups, isolated from viremic infants. // *Arch. Virol.* – 2002. – Vol 147, № 1. – P. 21 – 41. doi: 10.1007/s705-002-8301-7.

147. Pereira L. Congenital viral infection: traversing the uterine-placental interface. // *Annu. Rev. Virol.* – 2018. – Vol 5, № 1. – P. 273 – 299. doi: 10.1146/annurev-virology-092917-043236.

148. Pifferi M., Maggi F., Andreoli E., Lanini L., Marco E. D., Fornai C. et al. Associations between nasal torquetenovirus load and spirometric indices in children with asthma. // *J. Infect. Dis.* – 2005. – Vol 192, № 7. – P. 1141–1148. doi: 10.1086/444389.

149. Pifferi M., Maggi F., Caramella D., de Marco E., Andreoli E., Meschi S. et al. High torquetenovirus loads are correlated with bronchiectasis and peripheral airflow limitation in children. // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2006. – Vol 25, № 9. – P. 804 – 808. doi: 10.1097/01.inf.0000232723.58355.f4.

150. Pinho-Nascimento C. A., Leite J. P., Niel C., Diniz-Mendes L. Torque teno virus in fecal samples of patients with gastroenteritis: prevalence, genogroups distribution, and viral load. // *J Med Virol.* – 2011. – Vol 83, № 6. – P. 1107 – 1111. doi: 10.1002/jmv.22024.

151. Pozzuto T, Mueller B, Meehan B, Ringler SS, McIntosh KA, Ellis JA, Mankertz A, Krakowka S (2009) In utero transmission of porcine torque teno viruses. *Vet Microbiol* 137:375–379. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.02.001>

152. Prohl J., Blaschitz A., Hutter H., Dohr G. First trimester human endovascular trophoblast cells express both HLA-C and HLA-G. // *Am J Reprod Immunol.* – 1999. – Vol 42, № 1. – P. 30 – 36. doi: 10.1111/j.1600-0897.1999.tb00462.x.

153. Pudney J., He X., Masheeb Z., Kindelberger D. W., Kuohung W., Ingalls R. R. Differential expression of toll-like receptors in the human placenta across early gestation. // *Placenta.* – 2016. – Vol 46. – P. 1 – 10. doi: 10.1016/j.placenta.2016.07.005.

154. Qiu J., Kakkola L., Cheng F. Ye C., Söderlund-Venermo M., Hedman K., Pintel D. J. Human circovirus TT virus genotype 6 expresses six proteins following

transfection of a full-length clone. // *J Virol.* – 2005. – Vol 79, № 10. – P. 6505 – 6510. doi: 10.1128/JVI.79.10.6505-6510.2005.

155. Red-Horse K., Drake P. M., Fisher S. J. Human pregnancy: the role of chemokine networks at the fetal-maternal interface. // *Expert Rev Mol Med.* – 2004. – Vol 6, № 11. – P. 1 – 14. doi: 10.1017/S1462399404007720.

156. Reyes A., Blanton L. V., Cao S., Zhao G., Manary M., Trehan I. et al. Gut DNA viromes of Malawian twins discordant for severe acute malnutrition. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2015. – Vol 112, № 38 – P. 11941 – 11946. doi: 10.1073/pnas.1514285112.

157. Robb J. A., Benirschke K., Mannino F., Volland I. J. Intrauterine latent herpes simplex virus infection: II. Latent neonatal infection. // *Hum Pathol.* – 1986. – Vol 17, № 12. – P. 1210 – 1217. doi: 10.1016/s0046-8177(86)80562-7.

158. Rocchi J., Ricci V., Albani M., Lanini L., Andreoli E., Macera L. et al. Torquetenovirus DNA drives proinflammatory cytokines production and secretion by immune cells via toll-like receptor 9. // *Virology.* – 2009. – Vol 394, № 2. – P. 235 – 242. doi: 10.1016/j.virol.2009.08.036.

159. Rombaldi R. L., Serafini E. P., Mandelli J., Zimmermann E., Losquiavo K. P. Transplacental transmission of human papillomavirus. // *Virol J.* – 2008. – Vol 5: 106. doi: 10.1186/1743-422X-5-106.

160. Rosario K., Duffy S., Breitbart M. A field guide to eukaryotic circular single-stranded DNA viruses: insights gained from metagenomics. // *Arch Virol.* – 2012. – Vol 157, № 10. – P. 1851 – 1871. doi: 10.1007/s00705-012-1391-y.

161. Rowan-Nash A. D., Korry B. J., Mylonakis E., Belenky P. Cross-domain and viral interactions in the microbiome. // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2019. – Vol 83, № 1: e00044-18. doi: 10.1128/MMBR.00044-18.

162. Saback F. L., Gomes S. A., de Paula V. S., da Silva R. R., Lewis-Ximenez L. L., Niel C. Age-specific prevalence and transmission of TT virus. // *J Med Virol.* – 1999. – Vol 59, № 3. – P. 318 – 322.

163. Sanjuan R. & Domingo-Calap P. Mechanisms of viral mutation // *Cell Mol Life Sci.* – 2016. – Vol 73, № 23. – P. 4433 – 4448. doi: 10.1007/s00018-016-2299-6.

164. Sarairah H., Bdour S., Gharaibeh W. The molecular epidemiology and phylogeny of Torque teno virus (TTV) in Jordan. // *Viruses*. – 2020. – Vol 12, № 2: 165. doi: 10.3390/v12020165.
165. Sarker S., Terron M. C., Khandokar Y., Aragão D., Hardy J. M., Radjainia M. et al. Structural insights into the assembly and regulation of distinct viral capsid complexes. // *Nat Commun*. – 2016. – Vol 7: 13014. doi: 10.1038/ncomms13014.
166. Schiemann M, Puchhammer-Stöckl E, Eskandary F, Kohlbeck P, Rasoul-Rockenschaub S, Heilos A, Kozakowski N, Görzer I, Kikić Ž, Herkner H, Böhmig GA, Bond G (2017) Torque teno virus load-inverse association with antibody-mediated rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 101:360–367. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001455>
167. Shah A. A., Wang D., Hirsch E. Nucleic acid-based screening of maternal serum to detect viruses in women with labor or PROM. // *Reprod Sci*. – 2020. – Vol 27, № 2. – P. 537 – 544. doi: 10.1007/s43032-019-00051-2.
168. Sheridan M. A., Yunusov D., Balaraman V., Alexenko A. P., Yabe S., Verjovski-Almeida S. et al. Vulnerability of primitive human placental trophoblast to Zika virus. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2017. – Vol 114, № 9. – P. E1587 – E1596. doi: 10.1073/pnas.1616097114.
169. Shulman L. M. & Davidson I. Viruses with circular single-stranded genomes are everywhere! // *Annu. Rev. Virol*. – 2017. – Vol 4, № 1. – P. 159 – 180. doi: 10.1146/annurev-virology-101416-041953.
170. Silasi M., Cardenas I., Racicot K., Kwon J.Y., Aldo P., Mor G. Viral infections during pregnancy. // *Am J Reprod Immunol*. – 2015. – Vol 73, № 3. – P. 199 – 213. doi: 10.1111/aji.12355.
171. Simister N. E. Placental transport of immunoglobulin G. // *Vaccine*. 2003. – Vol 21, № 24. – P. 3365 – 3369. doi: 10.1016/s0264-410x(03)00334-7.
172. Simister N. E., Story C. M., Chen H. L., Hunt J. S. An IgG-transporting Fc receptor expressed in the syncytiotrophoblast of human placenta. // *European journal of immunology*. – 1996. – Vol 26, № 7. – P. 1527–1531. doi: 10.1002/eji.1830260718.

173. Simmonds P., Prescott L. E., Logue C., Davidson F., Thomas A. E., Ludlam C. A. TT virus – part of the normal human flora? // *J. Infect. Dis.* – 1999. – Vol 180, № 5. – P. 1748 – 1750. doi: 10.1086/315103.
174. Simon A. K., Hollander G. A., McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. // *Proc Biol Sci.* – 2015. – Vol 282, № 1821: 20143085. doi: 10.1098/rspb.2014.3085.
175. Sinnecker H. 1971, *Allgemeine Epidemiologie*, Fischer, Jena 253 p.
176. Sloan P., Rodriguez C., Bedell B. A., Murray J., Dagle J., Ryckman K., Holtz L. Alphatorquevirus is the most prevalent virus identified in blood from a matched maternal-infant preterm cohort. // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2020. – Vol 13. – P. 1 – 7. doi:10.1080/14767058.2020.1763298.
177. Smith E. M., Parker M.A., Rubenstein L. M., Haugen T. H., Hamsikova E., Turek L. P. Evidence for vertical transmission of HPV from mothers to infants. // *Infect Dis Obstet Gynecol.* – 2010. – Vol 2010: 326369. doi: 10.1155/2010/326369.
178. Spandole S, Cimponeriu D, Toma M, Radu I, Ion DA (2013) Rapid detection of human torque teno viruses using high-resolution melting analysis. *Balkan J Med Genet* 16:55–62. [https:// doi.org/10.2478/bjmg-2013-0018](https://doi.org/10.2478/bjmg-2013-0018)
179. Spandole S., Cimponeriu D., Berca L. M., Mihaescu G. Human anelloviruses: an update of molecular, epidemiological and clinical aspects. // *Arch Virol.* – 2015. – Vol 160, № 4. – P. 893 – 908. doi: 10.1007/s00705-015-2363-9.
180. Ssemadaali M. A., Effertz K., Singh P., Kolyvushko O., Ramamoorthy S. Identification of heterologous Torque Teno Viruses in humans and swine. // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol 6: 26655. doi: 10.1038/srep26655.
181. Stagno S., Pass R. F., Dworsky M. E., Henderson R. E., Moore E. G., Walton P. D., Alford C. A. Congenital cytomegalovirus infection: The relative importance of primary and recurrent maternal infection. // *N Engl J Med.* – 1982. – Vol 306, № 16. – P. 945 – 949. doi: 10.1056/NEJM198204223061601.
182. Sun C. C. & Duara S. Fatal adenovirus pneumonia in two newborn infants, one case caused by adenovirus type 30. // *Pediatr Pathol.* – 1985. – Vol 4, № (3-4). – P. 247 – 255. doi: 10.3109/15513818509026898.

183. Svinarich D. M., Gomez R., Romero R. Detection of human defensins in the placenta. // *Am J Reprod Immunol.* – 1997. – Vol 38, № 4. – P. 252 – 255. doi: 10.1111/j.1600-0897.1997.tb00511.x.
184. Tabata T., Petitt M., Puerta-Guardo H., Michlmayr D., Wang C., Fang-Hoover J. et al. Zika virus targets different primary human placental cells, suggesting two routes for vertical transmission. // *Cell Host Microbe.* – 2016. – Vol 20, № 2. – P. 155 – 166. doi: 10.1016/j.chom.2016.07.002.
185. Tanaka T, Kuroda K, Kobayashi M, Sato K (2001) Detection and typing of TT virus DNA genotype by the PCR-RFLP method. *Mol Cell Probes* 15:195–200. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2001.0358>
186. Tang J. W., Bendig J. W. A., Ossuetta I. Vertical transmission of human echovirus 11 at the time of Bornholm disease in late pregnancy. // *Pediatr Infect Dis J.* – 2005. – Vol 24, № 1. – P. 88 – 89. doi: 10.1097/01.inf.0000148931.05186.99.
187. Thom K. & Petrik J. Progression towards AIDS leads to increased torque teno virus and torque teno minivirus titers in tissues of HIV infected individuals. // *J Med Virol.* – 2007. – Vol 79, № 1. – P. 1 – 7. doi: 10.1002/jmv.20756.
188. Tomai X-H. Stillbirth following severe symmetric fetal growth restriction due to reactivation of Epstein-Barr virus infection in pregnancy. // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2011. – Vol 37, № 12. – P. 1877 – 1882. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01662.x.
189. Toyoda H., Naruse M., Yokozaki S., Morita K., Nakano I., Itakura A. et al. Prevalence of infection with TT virus (TTV), a novel DNA virus, in healthy Japanese subjects, newborn infants, cord blood and breast milk. // *J Infect.* – 1999. – Vol 38, № 3. – P. 198 – 199. doi: 10.1016/s0163-4453(99)90254-2.
190. Tremolada S., Delbue S. & Ferrante P. Viral infections of the fetus and newborn infant. // *Pediatr Med Chir.* – 2008. – Vol 30, № 4. – P. 177 – 191.
191. Tsuda F., Takahashi M., Nishizawa T., Akahane Y., Konishi K., Yoshizawa H., Okamoto H. IgM-class antibodies to TT virus (TTV) in patients with acute TTV infection. // *Hepatol Res.* – 2001. – Vol 19, № 1. – P. 1 – 11. doi: 10.1016/s1386-6346(00)00086-3.

192. Uhl P, Heilos A, Bond G, Meyer E, Böhm M, Puchhammer- Stöckl E, Arbeiter K, Müller-Sacherer T, Csaicsich D, Aufricht C, Rusai K (2020) Torque teno viral load reflects immunosuppression in paediatric kidney-transplanted patients-a pilot study. *Pediatr Nephrol.* <https://doi.org/10.1007/s00467-020-04606-3>
193. Vasilyev E. V., Trofimov D. Y., Tonevitsky A. G., Ilinsky V. V., Korostin D. O., Rebrikov D. V. Torque teno virus (TTV) distribution in healthy Russian population. // *Virol J.* – 2009. – Vol 6: 134. doi: 10.1186/1743-422X-6-134.
194. Wang X., Huong S. M., Chiu M. L., Raab-Traub N., Huang E.-S. Epidermal growth factor receptor is a cellular receptor for human cytomegalovirus. // *Nature.* – 2003. – Vol 424, № 6947. – P. 456 – 461. doi: 10.1038/nature01818.
195. Wawrzyniak P., Plucienniczak G., Bartosik D. The different faces of rolling-circle replication and its multifunctional initiator proteins. // *Front Microbiol.* – 2017. – Vol 8: 2353. doi: 10.3389/fmicb.2017.02353.
196. Westman G, Schoofs C, Ingelsson M, Järhult JD, Muradrasoli S (2020) Torque teno virus viral load is related to age, CMV infection and HLA type but not to Alzheimer's disease. *PLoS ONE* 15:e0227670. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227670>
197. Wilson M. G. & Stein A. M. Teratogenic effects of Asian influenza. An extended study. // *JAMA.* – 1969. – Vol 210, № 2. – P. 336 – 337.
198. Wohlfarth P., Leiner M., Schoergenhofer C., Hopfinger G., Goerzer I., Puchhammer-Stoeckl E. et al. Torquetenovirus dynamics and immune marker properties in patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective longitudinal study. // *Biol Blood Marrow Transplant.* – 2018. – Vol 24, № 1. – P. 194 – 199, doi: 10.1016/j.bbmt.2017.09.020.
199. Xin X., Xiaoguang Z., Ninghu Z., Youtong L., Liumei X., Boping Z. Mother-to-infant vertical transmission of the transfusion-transmitted virus in South China. // *J Perinat Med.* – 2004. – Vol 32, № 5. – P. 404 – 406. doi: 10.1515/JPM.2004.136.

200. Yadav M., Verma M. K., Chauhan N. S. A review of metabolic potential of human gut microbiome in human nutrition. // *Arch Microbiol.* – 2018. – Vol 200, № 2. – P. 203 – 217, doi: 10.1007/s00203-017-1459-x.
201. Yokozaki S., Fukuda Y., Nakano I., Katano Y. TT virus: a mother to child transmitted rather than blood borne virus. // *Blood.* – 1999. – Vol 93, № 10. – P. 3569 – 3570.
202. You H., Liu Y., Agrawal N., Prasad C. K., Chiriva-Internati M., Lowery C. L. et al. Infection, replication, and cytopathology of human papillomavirus type 31 in trophoblasts. // *Virology.* – 2003. – Vol 316, № 2. – P. 281 – 290. doi: 10.1016/j.virol.2003.08.020.
203. Yuan J., Qian H., Cao S., Dong B., Yan X., Luo S. et al. Is there possibility of vertical transmission of COVID-19: a systematic review // *Transl Pediatr.* 2021; 10(2): 423–434. doi: 10.21037/tp-20-144
204. Zenclussen A. C. Adaptive immune responses during pregnancy. // *Am J Reprod Immunol.* – 2013. – Vol 69, № 4. – P. 291 – 303. doi: 10.1111 / aji.12097.
205. Zhang Y., Li F., Shan T. L., Deng X., Delwart E., Feng X. P. A novel species of torque Teno mini virus (TTMV) in gingival tissue from chronic periodontitis patients. // *Sci Rep.* – 2016. – Vol 6: 26739. doi: 10.1038/srep26739.
206. Zhang Z., Zhang Z. Detection of transfusion transmitted virus infection and genotypes in pregnant women. // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2001. – Vol 36, № 6. –P. 325 – 327.
207. Zheng H., Ye L., Fang X., Li B., Wang Y., Xiang X. et al. Torque teno virus (SANBAN isolate) ORF2 protein suppresses NF-kappaB pathways via interaction with IkappaB kinases. // *J Virol.* – 2007. – Vol 81, № 21. – P. 11917 – 11924. doi: 10.1128/JVI.01101-07.
208. Zhong M., Wen S., Zhou F. Transfusion transmitted virus infection in mother-to-infant transmission. // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2001. – Vol 36, № 6. – P. 328 – 329.
209. Zhong S., Yeo W., Tang M., Liu C., Lin X.-R., Ho W. M. et al. Frequent detection of the replicative form of TT virus DNA in peripheral blood mononuclear cells

and bone marrow cells in cancer patients. // J Med Virol. – 2002. – Vol 66, № 3. – P. 428 – 434. doi: 10.1002/jmv.2163.

210. Zuker M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. // Nucleic Acids Res. – 2003. Vol 31, № 13. – P. 3406 – 3415. doi: 10.1093/nar/gkg595.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Вирусная нагрузка TTV в образцах крови матери

№ п/п	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл
1	11mc	38,3	$3,5 \times 10^4$
2	21mc	36,0	$1,7 \times 10^5$
3	31mc	32,5	$1,9 \times 10^6$
4	41mc	38,6	$2,8 \times 10^4$
5	51mc	41,4	$4,0 \times 10^3$
6	61mc	38,2	$3,7 \times 10^4$
7	71mc	34,0	$6,8 \times 10^5$
8	81mc	34,6	$4,5 \times 10^5$
9	91mc	37,5	$6,0 \times 10^4$
10	101mc	40,5	$7,5 \times 10^3$
11	111mc	38,1	$4,0 \times 10^4$
12	121mc	34,7	$4,2 \times 10^5$
13	131mc	43,0	$1,3 \times 10^3$
14	141mc	35,0	$3,4 \times 10^5$
15	151mc	28,6	$2,9 \times 10^7$
16	161mc	33,9	$7,3 \times 10^5$
17	171mc	38,2	$3,7 \times 10^4$
18	181mc	35,3	$2,8 \times 10^5$
19	191mc	36,5	$1,2 \times 10^5$
20	201mc	37,1	$8,0 \times 10^4$
21	211mc	34,8	$3,9 \times 10^5$
22	221mc	35,0	$3,4 \times 10^5$
23	231mc	40,0	$1,1 \times 10^4$
24	241mc	40,4	$8,1 \times 10^3$
25	251mc	-	0
26	261mc	37	$8,5 \times 10^4$
27	271mc	33,2	$1,2 \times 10^6$
28	281mc	38,9	$2,3 \times 10^4$
29	291mc	32,5	$1,9 \times 10^6$
30	301mc	35,8	$2,0 \times 10^5$
31	311mc	37,3	$6,9 \times 10^4$
32	321mc	-	0
33	331mc	35,3	$2,8 \times 10^5$
34	341mc	35,4	$2,6 \times 10^5$

№ п/п	Идентификатор образца	ТТV (Ср)	ТТV, коп/мл
35	351mc	35,1	$3,2 \times 10^5$
36	361mc	36,9	$9,1 \times 10^4$
37	371mc	35,5	$2,4 \times 10^5$
38	381mc	34,3	$5,5 \times 10^5$
39	391mc	36,8	$9,8 \times 10^4$
40	401mc	36,9	$9,1 \times 10^4$
41	411mc	37,1	$8,0 \times 10^4$
42	421mc	37,6	$5,6 \times 10^4$
43	431mc	38,9	$2,3 \times 10^4$
44	441mc	36,5	$1,2 \times 10^5$
45	451mc	36,0	$1,7 \times 10^5$
46	461mc	35,4	$2,6 \times 10^5$
47	471mc	35,0	$3,4 \times 10^5$
48	481mc	40,0	$1,1 \times 10^4$
49	491mc	32,9	$1,5 \times 10^6$
50	501mc	39	$2,3 \times 10^4$
51	511mc	-	0
52	521mc	42,2	$2,3 \times 10^3$
53	531mc	41,8	$3,1 \times 10^3$
54	541mc	46,0	0
55	551mc	36,5	$1,2 \times 10^5$
56	561mc	36	$1,7 \times 10^5$
57	571mc	-	0
58	581mc	39,7	$1,3 \times 10^4$
59	591mc	40,8	$6,1 \times 10^3$
60	601mc	-	0
61	611mc	38,4	$3,2 \times 10^4$
62	621mc	38,6	$2,8 \times 10^4$
63	631mc	37	$8,5 \times 10^4$
64	641mc	37,5	$6,0 \times 10^4$
65	651mc	-	0
66	661mc	36,4	$1,3 \times 10^5$
67	671mc	33,5	$9,7 \times 10^5$
68	681mc	36,5	$1,2 \times 10^5$
69	691mc	37,8	$4,9 \times 10^4$
70	701mc	35,6	$2,3 \times 10^5$
71	711mc	36,9	$9,1 \times 10^4$
72	721mc	-	0
73	731mc	32	$2,7 \times 10^6$
74	741mc	36,7	$1,1 \times 10^5$

№ п/п	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл
75	751mc	36,1	$1,6 \times 10^5$
76	761mc	46,0	0
77	771mc	38,2	$3,7 \times 10^4$
78	781mc	39,4	$1,6 \times 10^4$
79	791mc	-	0
80	801mc	-	0
81	811mc	39,8	$1,2 \times 10^4$
82	821mc	35,6	$2,3 \times 10^5$
83	831mc	39,3	$1,7 \times 10^4$
84	841mc	34,3	$5,5 \times 10^5$
85	851mc	36,8	$9,8 \times 10^4$
86	861mc	-	0
87	871mc	37	$8,5 \times 10^4$
88	881mc	36,2	$1,5 \times 10^5$
89	891mc	46,0	0
90	901mc	38,8	$2,5 \times 10^4$
91	911mc	-	0
92	921mc	40,4	$8,1 \times 10^3$
93	931mc	34,1	$6,4 \times 10^5$
94	941mc	37,4	$6,5 \times 10^4$
95	951mc	39,4	$1,6 \times 10^4$
96	961mc	36,8	$9,8 \times 10^4$
97	971mc	35,4	$2,6 \times 10^5$
98	981mc	-	0
99	991mc	-	0
100	1001mc	37	$8,5 \times 10^4$

Таблица А.2 – Вирусная нагрузка TTV в образцах плазмы матери

№ п/п	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл
1	12mp	42,7	$1,6 \times 10^3$
2	22mp	-	0
3	32mp	39,6	$1,4 \times 10^4$
4	42mp	-	0
5	52mp	-	0
6	62mp	-	0
7	72mp	-	0
8	82mp	41,4	$4,0 \times 10^3$
9	92mp	-	0

№ п/п	Идентификатор образца	ТТV (Ср)	ТТV, коп/мл
10	102mp	-	0
11	112mp	-	0
12	122mp	-	0
13	132mp	-	0
14	142mp	41,6	$3,5 \times 10^3$
15	152mp	37,3	$6,9 \times 10^4$
16	162mp	40	$1,1 \times 10^4$
17	172mp	-	0
18	182mp	-	0
19	192mp	-	0
20	202mp	-	0
21	212mp	-	0
22	222mp	-	0
23	232mp	-	0
24	242mp	-	0
25	252mp	-	0
26	262mp	-	0
27	272mp	-	0
28	282mp	-	0
29	292mp	43	$1,3 \times 10^3$
30	302mp	-	0
31	312mp	-	0
32	322mp	-	0
33	332mp	-	0
34	342mp	41	$5,3 \times 10^3$
35	352mp	-	0
36	362mp	-	0
37	372mc	38,6	$2,8 \times 10^4$
38	382mp	41,1	$5,0 \times 10^3$
39	392mp	-	0
40	402mp	-	0
41	412mp	-	0
42	422mp	38,7	$2,6 \times 10^4$
43	432mp	-	0
44	442mp	41,8	$3,1 \times 10^3$
45	452mp	41,7	$3,3 \times 10^3$
46	462mp	41,6	$3,5 \times 10^3$
47	472mp	39,6	$1,4 \times 10^4$
48	482mp	-	0
49	492mp	42	$2,7 \times 10^3$

№ п/п	Идентификатор образца	ТТV (Ср)	ТТV, коп/мл
50	502mp	-	0
51	512mp	-	0
52	522mp	-	0
53	532mp	43,2	$1,2 \times 10^3$
54	542mp	-	0
55	552mp	41,2	$4,6 \times 10^3$
56	562mp	-	0
57	572mp	-	0
58	582mp	-	0
59	592mp	-	0
60	602mp	-	0
61	612mp	-	0
62	622mp	-	0
63	632mp	-	0
64	642mp	-	0
65	652mp	-	0
66	662mp	-	0
67	672mp	-	0
68	682mp	-	0
69	692mp	-	0
70	702mp	41,5	$3,8 \times 10^3$
71	712mp	43,2	$1,2 \times 10^3$
72	722mp	-	0
73	732mp	42,1	$2,5 \times 10^3$
74	742mp	-	0
75	752mp	-	0
76	762mp	-	0
77	772mp	-	0
78	782mp	-	0
79	792mp	-	0
80	802mp	-	0
81	812mp	-	0
82	822mp	39,7	$1,3 \times 10^4$
83	832mp	-	0
84	842mp	-	0
85	852mp	-	0
86	862mp	-	0
87	872mp	-	0
88	882mp	-	0
89	892mp	-	0

Продолжение таблицы А.2

№ п/п	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл
90	902mp	-	0
91	912mp	-	0
92	922mp	-	0
93	932mp	-	0
94	942mp	-	0
95	952mp	-	0
96	962mp	-	0
97	972mp	-	0
98	982mp	-	0
99	992mp	-	0
100	1002mp	-	0

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Вирусная нагрузка TTV в парных образцах мать-ребенок

№ п/п	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл	Возраст ребенка, дни
1	PM_13308M	-	0	PM_13308	-	0	49
2	PW_74489M	43	1,3× 10 ³	PW_74489	-	0	38
3	PW_66941M	-	0	PW_66941	-	0	34
4	BW127_59695M	34,4	5,2 × 10 ⁵	BW127_59695	-	0	63
5	PW_65968M	-	0	PW_65968	-	0	38
6	PW_74739M	33,6	9,0 × 10 ⁵	PW_74739	-	0	32
7	PW_70196M	-	0	PW_70196	-	0	21
8	PW_68499M	35,8	2,0 × 10 ⁵	PW_68499	-	0	37
9	PW_62494M	38,1	4,0 × 10 ⁴	PW_62494	-	0	32
10	PW_72310M	39,1	2,0 × 10 ⁴	PW_72310	-	0	26
11	PW_64839M	-	0	PW_64839	-	0	62
12	PW_70733M	-	0	PW_70733	-	0	64
13	PW_76708M	40,1	1,0 × 10 ⁴	PW_76708	-	0	126
14	PW_5428M	-	0	PW_5428	-	0	45
15	PW_9845M	-	0	PW_9845	-	0	24
16	PW_6408M	37,7	5,3 × 10 ⁴	PW_6408	-	0	31
17	BW140_76040M	39	2,1 × 10 ⁴	BW140_76040	35,1	3,2 × 10 ⁵	119
18	BW141_6277M	39	2,1 × 10 ⁴	BW141_6277	42,6	1,8 × 10 ³	42
19	PW_77472M	-	0	PW_77472	-	0	134
20	PW_5822M	35,8	2,0 × 10 ⁵	PW_5822	-	0	30
21	PW_79330M	-	0	PW_79330	-	0	128
22	PW_10843M	-	0	PW_10843	-	0	31
23	PW_10618M	-	0	PW_10618	-	0	22
24	PW_1981M	37,5	6,0 × 10 ⁴	PW_1981	-	0	63
25	PW_11010M	37,8	4,9 × 10 ⁴	PW_11010	-	0	17
26	PW_12420M	32,1	2,5 × 10 ⁶	PW_12420	-	0	63
27	PW_11193M	33,5	9,7 × 10 ⁵	PW_11193	39,5	1,5 × 10 ⁴	45
28	PW_14524M	34,7	4,2 × 10 ⁵	PW_14524	-	0	31
29	PW_9963M	40,3	8,7× 10 ³	PW_9963	-	0	57
30	PW_16083M	36,5	1,2 × 10 ⁵	PW_16083	-	0	34
31	PW_17365M	41,1	5,0 × 10 ³	PW_17365	-	0	29
32	PW_17355M	37,7	5,3 × 10 ⁴	PW_17355	-	0	36
33	PM_7321M	39,5	1,5 × 10 ⁴	PM_7321	36,1	1,6 × 10 ⁵	187

№ п/п	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл	Идентификатор образца	TTV (Ср)	TTV, коп/мл	Возраст ребенка, дни
	мамы			дети			
34	PM_15354M	36,6	$1,1 \times 10^5$	PM_15354	31,2	$4,8 \times 10^6$	176
35	BW141_6277M	38,3	$3,5 \times 10^4$	BW141_6277	30	$1,1 \times 10^7$	96
36	BW127_59695M	34,1	$6,4 \times 10^5$	BW127_59695	38,1	$4,0 \times 10^4$	114
37	BW155_6414M	-	0	BW155_6414	38,7	$2,6 \times 10^4$	111

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 – Вирусная нагрузка TTV с течением времени у 14 повторно тестируемых детей

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Идентификатор образца	BW64_12546	BW62_84329	BW58_11567	BW61_12130	BW47_4817	BW38_4819	BM18_58605	BW32_18247	BW30_17783	BW141_6277	BM44_76660	BM54_73710	BM64_74835	BW127_59695
Тест 1, дни	6	85	8	9	22	22	115	67	23	42	60	90	95	63
TTV, коп/ мл	0	0	0	0	0	0	$3,8 \times 10^2$	$8,4 \times 10^5$	0	$1,8 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$	$3,7 \times 10^4$	0
Тест 2, дни	13	96	14	16	33	47	180	148	64	96	90	150	156	114
TTV, коп/ мл	$2,2 \times 10^3$	$5,7 \times 10^3$	0	0	0	0	$5,1 \times 10^2$	$2,9 \times 10^6$	$2,7 \times 10^3$	$1,1 \times 10^7$	$3,2 \times 10^5$	$4,9 \times 10^4$	$3,7 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$
Тест 3, дни	16	104	21	35	41	63	210							
TTV, коп/ мл	$2,8 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	0	0	0	0	$1,4 \times 10^4$							
Тест 4, дни	18	110	30	42	89	89								
TTV, коп/ мл	$2,1 \times 10^4$	$5,6 \times 10^4$	0	$4,3 \times 10^4$	$5,2 \times 10^5$	$9,8 \times 10^4$								

[illegible]

[illegible]

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица Г.1 – Вирусная нагрузка TTV в образцах крови детей первого года жизни

№ п/п	Идентификатор образца	Возраст, месяцы	TTV (Ср)	TTV, коп/мл
1	BM_54197	1	-	0
2	BM2_44937		39,5	$1,5 \times 10^4$
3	BM_53585		-	0
4	BZ_17836		-	0
5	BM_54904		-	0
6	BZ_23038		-	0
7	BM_73481		-	0
8	BM_80766		-	0
9	PM_13308		-	0
10	BN_45671	2	-	0
11	BM44_76660		38,8	$2,5 \times 10^4$
12	BM10_79578		34,7	$4,2 \times 10^5$
13	BM_77901		-	0
14	BM12_82074		40,1	$1,0 \times 10^4$
15	BM13_355		40,5	$7,5 \times 10^3$
16	BM18_33987	3	39,3	$1,7 \times 10^4$
17	BM_39354		-	0
18	BN_44759		-	0
19	BM_59910		-	0
20	BM_68721		-	0
21	BM_71174		-	0
22	BM23_70715		40,8	$6,1 \times 10^3$
23	BM54_73710		38,1	$4,0 \times 10^4$
24	BM24_74687		38,1	$4,0 \times 10^4$
25	BM64_74835		38,2	$3,7 \times 10^4$
26	BM44_76660		35,1	$3,2 \times 10^5$
27	BM46_77837		41,9	$2,9 \times 10^3$
28	BM25_6781		40,7	$6,6 \times 10^3$
29	BM_8288		-	0
30	BZ_9259	4	-	0
31	BZ_31899		-	0
32	BM18_58605		44,8	$3,8 \times 10^2$
33	BM32_57922		37,0	$8,5 \times 10^4$
34	BM33_58582		39,8	$1,2 \times 10^4$
35	BM_59514		-	0
36	BM35_61356		37,6	$5,6 \times 10^4$
37	BN_65877		-	0
38	BM65_11999	4	40,5	$7,5 \times 10^3$

№ п/п	Идентификатор образца	Возраст, месяцы	ТТВ (Ср)	ТТВ, коп/мл
39	BM 82678	5	-	0
40	BM 55576		38,0	$4,3 \times 10^4$
41	BM 60287		37,4	$6,5 \times 10^4$
42	BM 63823		37,1	$8,0 \times 10^4$
43	BM 65020		35,6	$2,3 \times 10^5$
44	BM 64014		-	0
45	BM 65201		-	0
46	BM 65552		37,4	$6,5 \times 10^4$
47	BM 69012		39,6	$1,4 \times 10^4$
48	BM54 73710		37,8	$4,9 \times 10^4$
49	BM64 74835		38,2	$3,7 \times 10^4$
50	BM 84696		35,2	$3,0 \times 10^5$
51	PM 15354		31,2	$4,8 \times 10^6$
52	BM 45571	6	39,7	$1,3 \times 10^4$
53	BM 45606		-	0
54	BM 50665		38,0	$4,3 \times 10^4$
55	BM 52097		35,1	$3,2 \times 10^5$
56	BM 53479		38,3	$3,5 \times 10^4$
57	BM 85299		-	0
58	BM 56689		35,5	$2,4 \times 10^5$
59	BM 94351		37,5	$6,0 \times 10^4$
60	BM18 58605		44,4	$5,1 \times 10^2$
61	BM 59514		-	0
62	BM 60724		36,1	$1,6 \times 10^5$
63	BM 61344		-	0
64	BM 1501		35,3	$2,8 \times 10^5$
65	BM 18810		-	0
66	BM 4050		-	0
67	BM 64014		-	0
68	BM 65020		35,1	$3,2 \times 10^5$
69	PM 7321		36,1	$1,6 \times 10^5$
70	BM 38314	7	36,8	$9,8 \times 10^4$
71	BM 52016		35,8	$2,0 \times 10^5$
72	BM 52760		38,4	$3,2 \times 10^4$
73	BM 52809		37,4	$6,5 \times 10^4$
74	BM2 44937		36,7	$1,1 \times 10^5$
75	BM 2142		34,1	$6,4 \times 10^5$
76	BM18 58605		39,6	$1,4 \times 10^4$
77	BM 28830	8	-	0
78	BM 41307		38,0	$4,3 \times 10^4$
79	BM 20386		-	0
80	BM 37887		36,5	$1,2 \times 10^5$

№ п/п	Идентификатор образца	Возраст, месяцы	ТТВ (Ср)	ТТВ, коп/мл
81	BM 90074	8	36,4	$1,3 \times 10^5$
82	BM 36309		33,6	$9,0 \times 10^5$
83	BM 35316		38,6	$2,8 \times 10^4$
84	BM 45908		37,7	$5,3 \times 10^4$
85	BM 1930		37,9	$4,6 \times 10^4$
86	BM 11010		-	0
87	BM 25988	9	38,3	$3,5 \times 10^4$
88	BM 23010		38,6	$2,8 \times 10^4$
89	BM 26682		40,4	$8,1 \times 10^3$
90	BM 31168		-	0
91	BM 21987		38,6	$2,8 \times 10^4$
92	BM 30479		36,8	$9,8 \times 10^4$
93	BM 25234		36,6	$1,1 \times 10^5$
94	BM 43290		30,9	$5,9 \times 10^6$
95	BM 41263		36,7	$1,1 \times 10^5$
96	BM 41362		40,8	$6,1 \times 10^3$
97	BM 28659	10	-	0
98	BM 31733		41,4	$4,0 \times 10^3$
99	BM 18232		33,1	$1,3 \times 10^6$
100	BM 57373		34,7	$4,2 \times 10^5$
101	BM 37945		36,8	$9,8 \times 10^4$
102	BM 41362		39,6	$1,4 \times 10^4$
103	BM 20973	11	37,6	$5,6 \times 10^4$
104	BM 20974		33,7	$8,4 \times 10^5$
105	BM 27613		34,4	$5,2 \times 10^5$
106	BM 28659		-	0
107	BM 69790		36,1	$1,6 \times 10^5$
108	BM 19355	12	36,8	$9,8 \times 10^4$
109	BM 20582		35,9	$1,8 \times 10^5$