

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**ОБНАРУЖЕНИЕ N-БЕЛКА SARS-COV-2 В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ВАРТОНОВА СТУДНЯ ПУПОВИНЫ У ЖЕНЩИН С COVID-19****Н.В. Низяева^{1,2}, Н.А. Ломова¹, Е.Л. Долгополова¹, Т.Э. Карапетян¹, У.Л. Петрова¹, Р.Г. Шмаков¹, В.Е. Франкевич^{1*}**¹Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова, 117977, Москва, ул. Академика Опарина, 4, стр. 2; *e-mail: vfrankevich@gmail.com²Научно-исследовательский Институт морфологии человека им. академика А.П. Авцына, 117418 Москва

Несмотря на большое количество исследований, посвященных новой коронавирусной инфекции SARS-Cov-2, для которой характерно поражение сосудов, вопрос о влиянии вируса на систему «мать-плацента-плод» остается открытым. Пуповина по своему функциональному назначению представляет комплекс сосудов, защищенных от внешнего воздействия эмбриональной соединительной тканью – Вартоновым студнем. Цель исследования – выявить N-белок вируса SARS-Cov-2 в структурах пупочного канатика у женщин, заболевших COVID-19. В основную группу были включены 40 беременных женщин, проходивших лечение в Национальном медицинском исследовательском центре акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова (март-апрель 2020 г.) с наличием подтвержденного диагноза COVID-19 (по данным ПЦР-теста мазка, взятого из носоглотки), и 40 беременных группы сравнения без клинических и лабораторных признаков вирусной инфекции (с отрицательным тестом ПЦР). В результате иммуногистохимического исследования пуповины с первичными антителами к N-белку SARS-Cov-2 в группе COVID-19 выявлено окрашивание цитоплазмы фибробластоподобных клеток и единичных макрофагов Вартонова студня ($p < 0.05$), которое отсутствовало у женщин без коронавирусной инфекции. Представленные данные о вероятном персистировании вирусных белков в мезенхимальных клетках, а также в макрофагах Вартонова студня пуповины могут иметь значение в установлении новых патогенетических механизмов влияния COVID-19 на систему «мать-плацента-плод», а также раскрытии новых патогенетических механизмов защиты плода от вирусных агентов.

Ключевые слова: SARS-Cov-2; Вартонов студень; плацента; пуповина; фибробластоподобные клетки**DOI:** 10.18097/BMCRM00165**ВВЕДЕНИЕ**

Несмотря на большое количество исследований, посвященных новой коронавирусной инфекции SARS-Cov-2, вопрос о влиянии вируса на систему «мать-плацента-плод» остается открытым, а патогенетические особенности данного заболевания изучены не полностью.

На сегодняшний день подробно исследованы и описаны в литературе особенности поражения сосудов различных органов при COVID-19 [1-6]. Изучение плаценты (ворсинчатого дерева плаценты, плодных оболочек, пупочного канатика) представляет особый интерес ввиду того, что данные эмбриональные структуры выступают в качестве барьера на пути проникновения вирусных и микробных агентов. Плаценту и плод соединяет пуповина, которая содержит две артерии и одну вену, окруженные студенистым веществом, представляющую эмбриональную соединительную ткань, которое получило название Вартонов студень (Wharton's jelly) по имени английского анатома Томаса Вартона, впервые описавшего строение пуповины в 1656 г. Данное желеобразное вещество обеспечивает механическую защиту сосудов от пережатия на протяжении формирования плода и во время акта родов. Однако на сегодняшний день существует мнение, что Вартонов студень играет роль в процессе не только механической, но и иммунологической защиты плода, также механизмах формирования адаптивного иммунитета [7-9].

Учитывая, что патогенез настоящего заболевания до конца не изучен, особенно при передаче вируса от матери

к плоду, не исключена возможность вовлечения в данный процесс структур пупочного канатика [10-17].

Целью исследования было выявить N-белок вируса SARS-Cov-2 в структурах пупочного канатика у женщин, заболевших COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 40 беременных с подтвержденным диагнозом COVID-19 (выявленным методом ПЦР в мазке из носоглотки). Пациентки, включенные в основную группу, проходили лечение в 2020 г. в ковидном госпитале, сформированном на базе Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова (НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова). Группу сравнения составили 40 беременных женщин с негативным результатом ПЦР-теста на COVID-19. После родоразрешения у всех родильниц проведено гистологическое исследование плаценты. С целью исключения перенесенного COVID-19 в стертой форме дополнительно была сформирована группа контроля из 10 женщин с неосложненной беременностью, родоразрешенных в период с 2017 по 2018 гг. (архивный материал – парафиновые блоки).

Критериями исключения были: тяжелая экстрагенитальная патология, пороки развития плода, многоплодная беременность.

Был проведен анализ образцов пупочного канатика толщиной 0.3 см (по 2 образца от каждой женщины)



Таблица 1. Клиническая характеристика беременных женщин, включенных в исследование и новорожденных

	COVID-19 (n=40)	Сравнение (n=40)	p
Возраст	29.8 (±5.13)	30.8 (±5.03)	0.82
Рост	166.6 (±7.37)	165.7 (±7.34)	0.71
Вес	77.6 (±11.58)	71.8 (±9.75)	0.10
ИМТ	27.8 (±4.52)	26.1 (±3.16)	0.18
Срок родоразрешения	37.83 (±1.52)	39.35 (±1.14)	0.001
Масса новорожденного	3332 (±484)	3585 (±424)	0.08
Рост новорожденного	52.4 (±2.66)	53.1 (±2.29)	0.35
Апгар 1 минута	8 (8; 8)*	9 (9; 9)*	0.69
Апгар 5 минута	8 (8; 8)*	9 (9; 9)*	0.83

Примечание: *статистические данные представлены в виде медианы в первом и третьем квартилях.

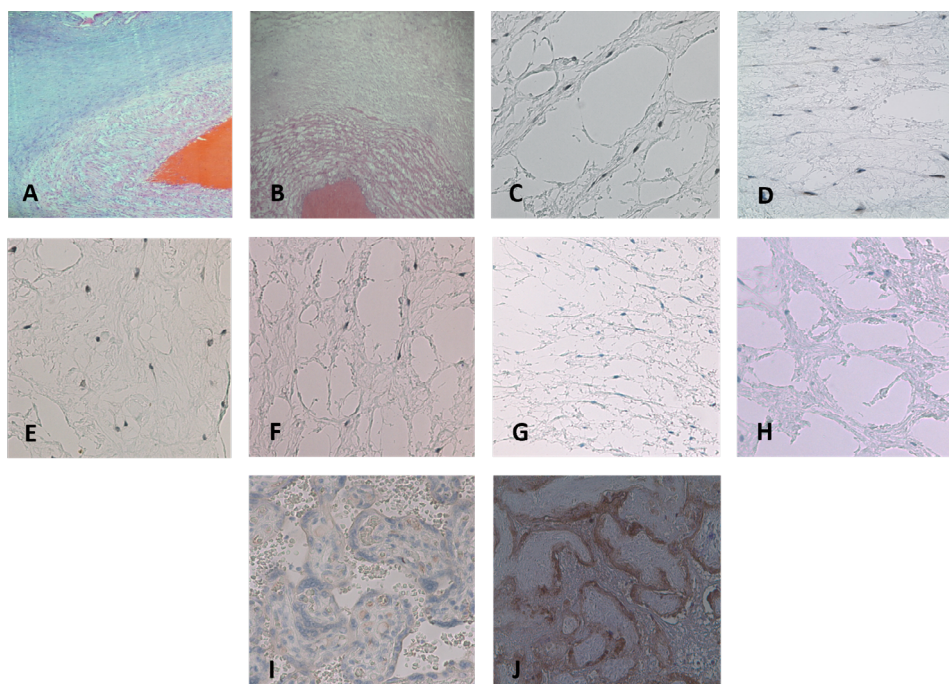


Рисунок 1. Гистологические и иммуногистохимические особенности пуповины у женщин, заболевших COVID-19. **А, В** – окраска гематоксилином и эозином; гистологическое строение пуповины при неосложнённой беременности (**А**) и у женщин, заболевших COVID-19 (**В**) (Ах20, Вх40). **С-И** – Иммуногистохимическое исследование с первичными антителами к N-белку вируса SARS-Cov-2, положительно окрашенные фибробластоподобные клетки Вартонова студия и макрофаги (**Е**); присутствует выраженный отёк Вартонова студия (х400). **Г** – группа сравнения: образцы пуповины от женщин при неосложненной беременности, без COVID-19 (х200). **Н** – отрицательный контроль (х400). **И, J** – ворсинчатое дерево плаценты: **И** – слабое окрашивание в мембране синцитиотрофобласта и эндотелия ворсин плаценты (при тяжелом течении COVID-19 и рождении живого ребенка с отрицательным тестом на COVID-19); **J** – образец плаценты, полученной от женщины с тяжелым течением COVID-19 (положительный контроль) (Iх200; Jх200).

плацент родильниц, включенных в исследование. Полученные фрагменты были фиксированы в 10%-м растворе нейтрального формалина (рН 7.4) («Biovitrum», Россия) в течение 24 ч с дальнейшим заключением в парафин. На серийных парафиновых срезах было проведено гистологическое (окраска гематоксилином и эозином) и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с помощью иммуностейнера Ventana («Roche», Великобритания). Протокол автоматизированного окрашивания образцов включал все этапы стандартной процедуры иммуногистохимии: депарафинацию срезов, демаскировку, блокирование эндогенной пероксидазы, инкубацию с первичными и вторичными антителами. Была использована система визуализации Ultra View Universal DAB, Detection Kit («Roche»). Исследование проводили при температуре 37°C. Для выявления вирусных частиц в ткани плаценты использовали первичные моноклональные

антитела SARS-Cov-2 (N-белок, NP, клон 1518, разведение 1:800, «Bialexa», Россия). Предварительно антитела к SARS-Cov-2 были проверены методом иммуноблоттинга с использованием рекомбинантного таргетного белка. Кроме того, для идентификации мезенхимальных клеток были использованы первичные антитела к виментину (SP20, готов к использованию, «Spring Bioscience», США), CD105 (клон 3A9, разведение 1:500, «Abcam», Великобритания), CD117 (клон YR145, разведение 1:300, «Cell Marque», США, готов к использованию), CD34 (клон QBE nb/10, готов к использованию с дополнительным разведением 1:5, «Spring Bioscience»), SMA (smooth muscle actin-a, гладкомышечный актин, клон 1A4, «Cell Marque»). Продукты положительной иммуногистохимической реакции визуализировались в виде коричневого окрашивания мембраны и цитоплазмы клеток. Для проведения отрицательного контроля образцы исследуемых срезов подвергали стандартной ИГХ процедуре

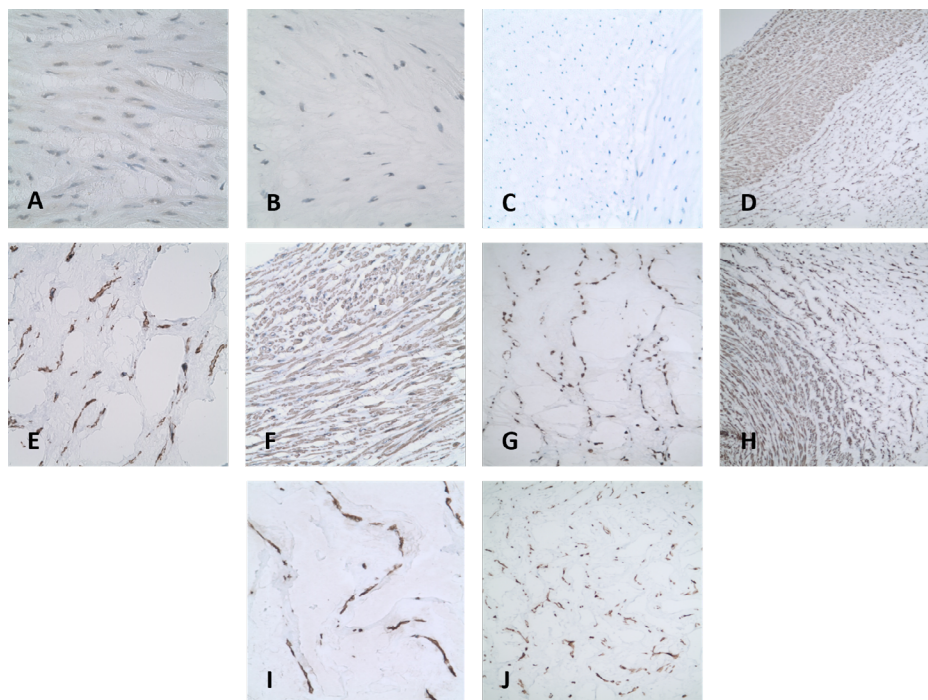


Рисунок 2. Экспрессия N-белка SARS-Cov-2, виментина и гладкомышечного актина (SMA) в образцах пуповины у женщин, заболевших COVID. **A-C** – экспрессия N-белка SARS-Cov-2 в фибробластоподобных и гладкомышечных клетках стенки пупочной вены: **A** – присутствие слабого окрашивания N-белка в фибробластоподобных и гладкомышечных клетках пупочной вены) у пациенток с подтвержденным COVID-19; **B** – отсутствие экспрессии N-белка у женщин без признаков COVID-19 (**A, B** x400); **C** – отрицательный контроль (x100). **D-F** – экспрессия SMA (маркера гладкомышечных клеток) в структурах пуповины: в фибробластоподобных клетках Вартонова студня (**E, F**), в гладкомышечных клетках стенки пупочной вены (**D**) (**D**x100, **E**x400, **F**x200). **G-J** – экспрессия виментина (маркера клеток мезенхимального происхождения) в структурах пуповины: в фибробластоподобных клетках Вартонова студня (**G, I**), а также в гладкомышечных клетках стенки пупочной вены (**J**) (**G**x200, **H**x100, **I**x400, **J**x100).

без инкубации с первичными антителами. В качестве положительного контроля был взят образец ворсинчатого дерева плаценты, полученной от женщины с тяжелым течением COVID-19 и внутриутробной гибелью плода.

Статистическая обработка полученных данных была проведена в пакете программ «Statistica 8.0». При сравнении средних величин использовали t-критерий Стьюдента и дисперсионный анализ, проводили проверку равенства дисперсий тестом Бартлетта. Различия оценивали как статистически значимые при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе клинических данных средний возраст пациенток составил (30.3 ± 6.2) года. Основные клинические симптомы, выявленные у пациенток, были: кашель ($n=34$, 85%), потеря обоняния ($n=23$, 57.5%) и гипертермия ($n=22$, 55%). В 6 (15%) случаях зарегистрировано бессимптомное течение COVID-19. В 19 случаях (47.5%) – легкое; в 12 (30%) – средне-тяжелое; в 3 (7.5%) – тяжелое течение заболевания. Случаев COVID-19 у новорожденных зарегистрировано не было. Новорожденные сразу после рождения были изолированы от матерей, до момента получения матерью двух отрицательных результатов теста на SARS-Cov-2. Клиническая характеристика беременных женщин, включенных в исследование, и новорожденных представлена в таблице 1.

На первом этапе исследования для всех образцов пуповин обеих групп было проведено гистологическое исследование с окрашиванием гематоксилином и эозином. Пуповины в группе родильниц с COVID-19 имели

умеренно выраженный отёк Вартонова студня, в части пуповин отмечено присутствие единичных макрофагов.

Вторым этапом было выполнено ИГХ исследование пуповин в обеих группах (рис. 1, 2). В результате исследования пуповин было обнаружено неравномерное окрашивание цитоплазмы фибробластоподобных клеток и единичных макрофагов Вартонова студня в группе пациенток, инфицированных COVID-19 ($p < 0.05$). В микропрепаратах пуповин от женщин легкой формой заболевания, а также в группе контроля с отрицательным тестом на COVID-19, включая дополнительную группу 2017-2018 гг., продукты ИГХ окрашивания к N-белку отсутствовали (рис.1 E, F).

При этом единичные положительно окрашенные клетки N-белком отмечены как при умеренном клиническом течении, так и при тяжелом течении заболевания ($p < 0.05$) (рис. 1 A-I, рис. 2 A, B).

Для характеристики мезенхимальных клеток Вартонова студня было выполнено ИГХ исследование с первичными антителами к vimentin, SMA, CD117, CD105, CD34. Кроме того, CD117 и CD105 относятся к маркерам мезенхимальных стволовых клеток (рис.2 C-J).

В результате исследования фибробластоподобные мезенхимальные клетки были интенсивно окрашены к vimentin+ и SMA+ и слабо позитивны для CD117, CD105. Гладкомышечные клетки пуповины были SMA+ и vimentin+ позитивны. Эндотелий сосудов пуповины экспрессировал CD34 и CD105 (рис. 3 A-F).

Важно отметить, что у пациенток с тяжелым течением COVID-19 отмечена тенденция ослабления ИГХ окрашивания CD117 в мезенхимальных клетках Вартонова студня (менее 3-5 полей из 10, при x400) ($p=0.06$). Экспрессия CD105

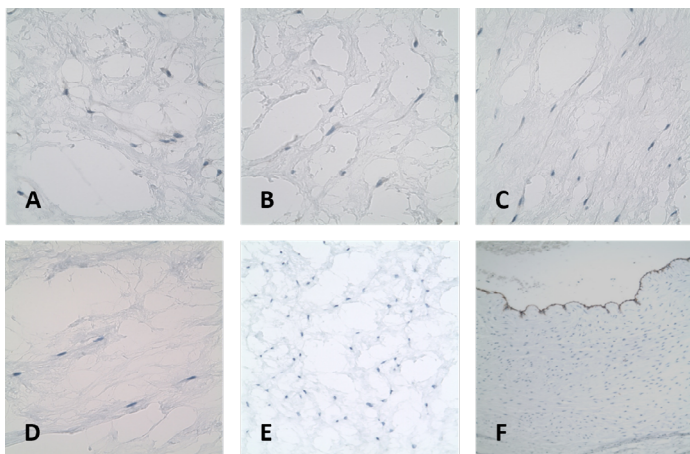


Рисунок 3. Экспрессия CD105, CD117, CD34 в образцах пуповины у женщин, заболевших Covid-19. **A, B** – экспрессия CD105 в фибробластоподобных клетках Вартонова студия у женщин при неосложненной беременности (**A**) и с тяжелым течением Covid-19 (**B**) (x400). **C, D** – экспрессия CD117 в фибробластоподобных клетках Вартонова студия у женщин при неосложненной беременности (**C**) и с тяжелым течением Covid-19 (**D**) (x400). **E, F** – экспрессия CD34 в гистологических структурах пуповины у женщин, инфицированных Covid-19: **E** – отрицательное окрашивание в фибробластоподобных клетках, **F** – CD34+ позитивное окрашивание в эндотелии пупочной вены (Ex200, Fx25).

слабо положительна в мезенхимальных клетках Вартонова студия пуповины в обеих группах исследования, значимых отличий в экспрессии не было ($p > 0.05$).

Ранее нами было показано, что у пациенток с легкими формами COVID-19 отсутствовало окрашивание в большинстве ворсин плаценты. У женщин с умеренным и тяжелым течением заболевания и выявлено очаговое окрашивание мембраны и цитоплазмы отдельных ворсин синцитиотрофобласта, синцитиальных узелков, мелких участков базальной мембраны, эндотелия отдельных сосудов ворсин, макрофагов (рис. 1 I, J) [18-21].

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на большое количество проведенных в мире исследований, патогенез заболевания COVID-19 не до конца изучен. Макрофаги, наряду с естественными киллерами (NK-клетки), являются наиболее многочисленной популяцией иммунокомпетентных клеток в маточно-плацентарном комплексе. Цитокины, вырабатываемые местными макрофагами, выступают посредниками в развитии воспалительных и иммунных реакций в системе «мать-плацента-плод» с нарушением морфологических и функциональных свойств и энергетического обмена клеток, приводя к истощению их защитного резерва. Однако при наступлении беременности макрофаги, находящиеся в базальной децидуальной оболочке, а также ворсинах плаценты (клетки Гофбауэра) [7], приобретают специфический фенотип, который участвует в поддержании местного гомеостаза, развитии плаценты, и обеспечении толерантности материнского организма к полуаллогенному плоду [14, 22, 23].

При наличии инфекции, в условиях сниженной общей иммунореактивности беременной клетки Гофбауэра и децидуальные макрофаги участвуют в клеточном иммунном ответе, реализуют иммунные реакции, располагаясь в непосредственной близости к «объекту реакции» [24].

Тканевые макрофаги могут проникать в Вартонов студень, в том числе и из кровотока, защищая плод от патогенного воздействия, способствуя формированию иммунного ответа. Однако, несмотря на защитную роль макрофагов, по аналогии с некоторыми другими возбудителями нельзя исключить, что в макрофагах (или в клетках другого типа) могут сохраняться не только вирусы, но и вирусные белки, обладающие способностью влиять на иммунный статус организма. При этом, микроорганизм может сохранять свою жизнеспособность внутри клетки, защищаясь таким образом от иммунной системы хозяина. Данное явление получило название незавершенный фагоцитоз и его нельзя исключить и при инфицировании SARS-Cov-2. Как правило, причины незавершенного фагоцитоза нередко связаны с самим патогеном или обусловлены дефектами иммунной системы [25-27]. Ввиду наличия рецептора ACE2, который присутствует на многих клетках, и прежде всего на клетках мезенхимального ряда [9, 28, 29], проникновение вируса SARS-Cov-2 в эти клетки вполне вероятно. Персистенция вирусных частиц и белков в клетках фибробластоподобного ряда и миофибробластах описана ранее при поражении лёгких при COVID-19 [30-33] (учитывая, что способностью к фагоцитозу могут обладать не только клетки иммунного ряда, но мезенхимального происхождения) [30]. Описанные ранее изменения, обусловленные SARS-Cov-2, характеризовались поражением артерий среднего и мелкого калибра (микроскопический полиангиит, узелковый полиартериит [3, 5, 34], поэтому патоморфологические изменения со стороны пуповины, представляющей сосудистый комплекс, вполне вероятны.

Таким образом, в настоящем исследовании впервые описаны патоморфологические изменения Вартонова студия и структур пуповины. Нельзя исключить, что представленные данные вероятного персистирования вирусных частиц COVID-19 в мезенхимальных клетках пуповины могут иметь значение при формировании иммунной защиты плода от вирусных агентов, хотя данный вопрос еще требует дальнейшего изучения.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование одобрено этическим комитетом НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова (протокол №13 от 10 декабря 2020 г.). Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование соответствовало требованиям Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики, Международной конференции по гармонизации (ICF), Стандартов надлежащей клинической практики (GCP), ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» № 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем благодарность с.н.с. лаборатории протеомики и метаболомики репродукции человека НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова А.В. Бугровой.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ грант №20-04-60093.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kovrigina, A.M., Shalamova, E.A., Berezovskij, Iy. S. (2020) Patomorfologicheskaya i immunogistoximicheskaya karakteristika izmenenij limfaticeskix uzlov u umersnix ot Covid-19 po dannym autopsij. Klinicheskaya i eksperimental'naya Morfologiya., 9(4), 12–23. DOI: 10.31088/CEM2020.9.4.12-23
2. Atala, A., Henn, A., Lundberg, M. (2020) Regen med therapeutic opportunities for fighting COVID-19. Stem Cells Translational Med., 1, 5–13. DOI: 10.1002/sctm.20-0245
3. Becker, R.C. (2020) COVID-19-associated vasculitis and vasculopathy. J. Thromb Thrombolysis., 50(3), 499-511. DOI: 10.1007/s11239-020-02230-4
4. Lang, M., Som, A., Carey, D., et al. (2020) Pulmonary vascular manifestations of COVID-19 pneumonia. Radiol Cardiothorac Imaging., 2(3), e200277. DOI: 10.1148/ryct.2020200277
5. McGonagle, D., Bridgewood, C., Ramanan A.V., et al. (2021) COVID-19 vasculitis and novel vasculitis mimics. Lancet Rheumatol., 3(3), e224-e233. DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30420-3
6. Morris, D., Patel, K., Rahimi, O., et al. (2021) ANCA vasculitis: A manifestation of Post-Covid-19 Syndrome. Respir Med. Case Rep., 34, 101549. DOI: 10.1016/j.rmcr.2021.101549
7. Baergen, R. N. (2022) Benirschke's Pathology of the Human Placenta. Springer Nature, 954 p.
8. Lanzoni, G., Linetsky, E., Correa, D., et al. (2020). Umbilical Cord-derived Mesenchymal Stem Cells for COVID-19 Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). Cell R4 Repair Replace Regen Reprogram., 8, e2839. DOI: 10.32113/cellr4_20204_2839
9. Paladino, F.V., Rodrigues, J.M., Silva, A., Goldberg, A. C. (2019) The immunomodulatory potential of wharton's jelly mesenchymal stem/stromal cells. Stem Cells Int., 3548917. DOI: 10.1155/2019/3548917
10. Alanazi, A. (2021) COVID-19 and the role of stem cells. Regen Ther., 18, 334- 338. DOI: 10.1016/j.reth.2021.08.008
11. Babal, P., Krivosikova, L., Sarvaicova, L., et al. (2021) Intrauterine fetal demise after uncomplicated COVID-19: What can we learn from the case? Viruses, 13(12), 2545. DOI: 10.3390/v13122545
12. Biringer, K., Sivakova, J., Marcinek, J., et al. (2021) Placental pathology concerning sudden fetal demise in SARS-CoV-2 positive asymptomatic pregnant female. Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub., 165, 328-331. DOI: 10.5507/bp.2021.044
13. Lesieur, E., Torrents, J., Fina, F., et al. (2021). Congenital infection of SARS-CoV-2 with intrauterine foetal death: a clinicopathological study with molecular analysis. Clin. Infect. Dis., ciab840. DOI: 10.1093/cid/ciab840 639
14. Libbrecht, S., Van Cleemput, J., Vandekerckhove, L., et al. (2021) A rare but devastating cause of twin loss in a near-term pregnancy highlighting the features of severe SARS-CoV-2 placentitis. Histopathology, 79(4), 674-676. DOI: 10.1111/his.14402
15. Marinho, P.S., Cunha, A., Chimelli, L., et al. (2021) SARS-CoV-2 mother-to-child transmission and fetal death associated with severe placental thromboembolism. Front Med (Lausanne), 16(8), 677001. DOI: 10.3389/fmed.2021.677001
16. Schwartz, D.A., Graham, A.L. (2020) Potential maternal and infant outcomes from coronavirus 2019-nCoV (SARS-CoV-2) infecting pregnant women: Lessons from SARS, MERS, and other human coronavirus infections. Viruses, 12(2), 194. DOI: 10.3390/v12020194
17. Vacchi, C., Meschiari, M., Milic, J., et al. (2020) COVID-19-associated vasculitis and thrombotic complications: from pathological findings to multidisciplinary discussion. Rheumatology (Oxford), 59(12), e147-e150. DOI: 10.1093/rheumatology/keaa581
18. Nizyaeva, N.V., Lomova, N.A., Dolgopolova, E.L., i dr. (2021) Vliyanie novej koronavirusnoj infekcii COVID-19 na sistemu «mat'-placenta-plod». Vestnik RGMU, 2021(2), 27–34. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.020
19. Gioia, C., Zullo, F., Vecchio, R. C., et al. (2022) Stillbirth and fetal capillary infection by SARS-CoV-2 632 Am. J. Obstet. Gynecol. MFM, 4(1), 100523. DOI: 10.1016/j.ajogmf.2021.100523
20. Garrido-Pontnou, M., Navarro, A., Camacho, J., et al. (2021) Diffuse trophoblast damage is the hallmark of SARS-CoV-2-associated fetal demise. Mod. Pathol., 34, 1704-1709. DOI: 10.1038/s41379-021-00827-5
21. Marton, T., Hargitai, B., et al. (2021) Massive perivillous fibrin deposition and chronic histiocytic intervillitis a complication of SARS-CoV-2 Infection. Pediatr. Dev. Pathol., 24, 450-454. DOI: 10.1177/10935266211020723
22. Hosier, H., Farhadian, S. F., Morotti, R. A., et al. (2020) SARS-CoV-2 infection of the placenta. J. Clin. Invest., 130(9), 4947-4953. DOI: 10.1172/JCI139569
23. Nagamatsu, T., Schust D. J. (2010) The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal-fetal interface. Reprod. Sci., 17(3), 209-218. DOI: 10.1177/1933719109349962
24. Gurevich P.S. (2011) Immunopatologiya zarodyshevogo, `embrional`nogo i rannego fetal`nogo periodov cheloveka. Allogennyje konflikty, Izrail', 182 p.
25. Liu, W., Li, J. (2021) The SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and its role in viral structure, biological functions, and a potential target for drug or vaccine mitigation. Viruses, 13(6), 1115. DOI: 10.3390/v13061115
26. Singh, D., Yi, S.V. (2021) On the origin and evolution of SARS-CoV-2. Exp. Mol. Med., 53, 537-547. DOI:10.1038/s12276-021-00604-z
27. Uribe-Querol, E., Rosales, C. (2020) Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. Front Immunol., 11, 1066. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01066
28. Beyerstedt, S., Casaro, E. B., Rangel, É. B. (2021) COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 40(5), 905-919. DOI: 10.1007/s10096-020-04138-6
29. Yang, J., Petitjean, S. J. L., Koehler, M., et al. (2021) Molecular interaction and inhibition of SARS-CoV-2 binding to the ACE2 receptor. Nat. Commun., 11(1), 4541. DOI: 10.1038/s41467-020-18319-6
30. Sukhacheva, T.V., Nizyaeva, N.V., Samsonova, M.V., et al. (2021) Morphofunctional changes of cardiac telocytes in isolated atrial amyloidosis in patients with atrial fibrillation. Sci Rep., 11, 3563. DOI: 10.1038/s41598-021-82554-0
31. Adukia, S. A., Ruhatiya, R. S., Maheshwarappa, H. M., et al. (2020) Extrapulmonary features of COVID-19: A Concise Review. Indian J. Crit. Care Med., 24(7), 575-580. DOI:10.5005/jp-journals-10071-23476
32. Elrobaal, I. H., New, K. J. (2021) COVID-19: Pulmonary and extra pulmonary manifestations. Front. Public Health, 9, 711616. DOI: 10.3389/fpubh.2021.711616
33. Gupta, A., Madhavan, M.V., Sehgal, K., et al. (2020) Extrapulmonary manifestations of COVID-19. Nat. Med., 26, 1017-1032. DOI: 10.1038/s41591-020-0968-3
34. Nasonov, E.L., Lila, A.M., Mazurov, V.I., et al. (2021) Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and immune-mediated rheumatic diseases. recommendations of the association of rheumatologists of russia. rheumatology Science and Practice., 59(3), 239-254. DOI: 10.47360/1995-4484-2021-239-254

Поступила: 20.03.2022
 После доработки: 12.04.2022
 Принята к публикации: 16.04.2022

DETECTION OF SARS-COV-2 N-PROTEIN IN MESENCHYMAL CELLS OF UMBILICAL WARTON'S JELLY IN WOMEN WITH COVID-19

N.V. Nizyaeva^{1,2}, N.A. Lomova¹, E.L. Dolgoplova¹, T.E. Karapetyan¹, U.L. Petrova¹, R.G. Shmakov¹, V.E. Frankevich^{1}*

¹Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, 4 bld. 2 Oparina str., Moscow, 117997 Russia; *email: vfrankevich@gmail.com

²Academician A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, 117418 Russia

Despite the large number of studies on the new coronavirus infection SARS-Cov-2 characterized by vascular damage on the impact of the virus on the mother-placenta-fetus system remains unknown. The umbilical cord, according to its functional purpose, is a complex of vessels protected from external influences by the embryonic connective tissue –Wharton's jelly. The aim of the study was to detect the structural components of SARS-Cov-2 in the histological structures of umbilical cord in patients with COVID-19 in the tissues of the umbilical cord of women with COVID-19. The main group included 40 pregnant women who were treated at the academician V. I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (March-April 2020) with a confirmed diagnosis of COVID-19 (according to the positive PCR test of a nasopharyngeal swab) and 40 pregnant women of the comparison group, without clinical symptoms and laboratory tests, including the negative PCR test. As a result of the immunohistochemical study of the umbilical cord with primary antibodies to the SARS-Cov-2 N-protein in the COVID-19 group, staining of the cytoplasm of fibroblast-like cells and single macrophages Wharton's jelly was detected ($p < 0.05$). In the group of women without coronavirus infection no staining in Wharton's jelly cells was detected. The probable persistence of viral particles in mesenchymal cells and macrophages of the Wharton's jelly in the umbilical cord can be important for establishment new aspects of influence COVID-19 on the mother-placenta-fetus system. Our results suggesting persistence of COVID-19 viral proteins in mesenchymal cells of the umbilical cord could be an important in establishing new pathogenic mechanisms for the fetal protection against viruses.

Key words: SARS-Cov-2; placenta; umbilical cord; fibroblast-like cells; Wharton's jelly

FUNDING

The reported study was funded by RFBR according to the research project №20-04-60093.

Received: 20.03.2022, revised: 12.04.2022, accepted: 16.04.2022