



Ассоциация доброкачественных эпителиальных неоплазий с вирусом папилломы человека рода *beta*

Молочков В.А. • Корнева Л.В. • Снарская Е.С. • Щербакова Е.О. • Полянская А.А. • Нодельман Е.К.

Молочков Владимир Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения дерматовенерологии и дерматоонкологии¹

Корнева Любовь Вячеславовна – канд. мед. наук, ассистент кафедры дерматовенерологии и дерматоонкологии¹
✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–2, Российская Федерация.
Тел.: +7 (495) 631 46 54.
E-mail: lvkorneva@mail.ru

Снарская Елена Сергеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры кожных и венерических болезней Института профессионального образования²

Щербакова Евгения Оттовна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отделения хронического гемодиализа и трансплантации почки¹

Полянская Альбина Александровна – врач-дерматовенеролог, косметолог³

Нодельман Екатерина Константиновна – канд. биол. наук, мл. науч. сотр. отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии⁴

Цель – изучить ассоциацию акрохордона с вирусом папилломы человека (ВПЧ) на основе количественного анализа дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) ВПЧ, а также выявить разные генотипы ВПЧ рода *beta*.

Материал и методы. На базе отделений дерматовенерологии и дерматоонкологии и хронического диализа и трансплантации почки МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского обследованы 52 пациента, из которых 22 были иммуносупрессивными и 30 – иммунокомпетентными. В группу контроля вошли 49 здоровых доноров.

Забор материала из акрохордона (микробиоптат) осуществляли борами в стерильных условиях, брали также образец видимо здоровой кожи из области плеча. После пробоподготовки с использованием набора для выделения ДНК из клинического материала ДНК-сорб-С производства ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» (ЦНИИЭ) методом полимеразной цепной реакции проводилось определение ВПЧ с гибридационно-флюоресцентной детекцией в режиме реального времени. Амплификация и детекция выполнялись на приборе Rotor-Gene 3000 (Corbett Research, Австралия). Для количественного определения ВПЧ рода *beta* использовались рекомбинантные плазмидные положительные контроли, а также контрольные плазмиды фрагмента β -глобинового гена

человека (ЦНИИЭ). Для выявления ДНК ВПЧ рода *beta* применялись 4 системы олигонуклеотидов (группспецифических праймеров и зондов).

Результаты. Анализ предварительных данных показал, что у реципиентов почечного трансплантата акрохордоны появляются как на открытых, так и на закрытых участках кожи. В акрохордонах и видимо здоровой коже реципиентов почечного трансплантата с высокой частотой (в 64 и 54% соответственно) по сравнению с кожей здоровых доноров (в 47%) выявляли ДНК ВПЧ рода *beta*. У 57% реципиентов почечного трансплантата в акрохордонах преобладала микст-инфекция.

Заключение. Исследование показало высокую выявляемость ДНК ВПЧ у реципиентов почечного трансплантата как в акрохордонах, так и в видимо здоровой коже. У иммунокомпетентных пациентов выявляемость ДНК ВПЧ в акрохордонах намного превышает таковую в видимо здоровой коже.

Ключевые слова: доброкачественные эпителиальные образования кожи, акрохордон, вирус папилломы человека рода *beta*, реципиенты почечного трансплантата, иммуносупрессивные пациенты, иммунокомпетентные пациенты, детекция ДНК ВПЧ рода *beta* в режиме реального времени.

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

² ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России; 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Российская Федерация

³ Клиника эстетической медицины Premium Aesthetics; 109028, г. Москва, Казарменный переулок, 3–6, Российская Федерация

⁴ ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора; 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а, Российская Федерация

Вирус папилломы человека (ВПЧ) – один из самых распространенных в мире. В настоящее время охарактеризовано около 200 генотипов вирусов папиллом, инфицирующих человека, млекопитающих и птиц; из них к родам, инфицирующих человека, относятся *alpha*-, *beta*-, *gamma*-, *mu*- и *nu*- [1]. Эпидемиологические и молекулярно-биологические данные позволяют предполагать, что ВПЧ рода *beta* способны вызывать развитие ряда эпителиальных опухолей кожи (ЭОК), однако данная взаимосвязь в настоящее время до конца не изучена. Среди здоровых людей чаще наблюдается латентное инфицирование ВПЧ рода *beta* кожи, при котором вирус может выступать компонентом нормальной микрофлоры, обитая в волосяных фолликулах [2]. Геном ВПЧ обычно персистирует в эписомальной форме.

Иммуносупрессия – важный кофактор развития ЭОК, который может служить моделью для изучения роли вирусов в развитии доброкачественных и злокачественных ЭОК. Известно, например, что частота возникновения ВПЧ-ассоциированных бородавок и кератотических кожных высыпаний неуклонно повышается после трансплантации [3]. Выявление ВПЧ рода *beta* в ЭОК может быть результатом как активной вирусной инфекции, так и независимой бессимптомной персистенции, характерной для факторов естественной резистентности [4]. Именно поэтому кроме обнаружения ВПЧ рода *beta* необходимо количественно измерять вирусную нагрузку (ее определение является сравнительно новым подходом в диагностике ВПЧ-инфекции).

Акрохордоны (фиброэпителиальные полипы, мягкие фибромы) – распространенная доброкачественная опухоль кожи в виде круглых мягких выростов диаметром от 0,5 до 5 мм, сжатых у основания. Обычно они пигментированы и локализуются на боковой поверхности шеи, в крупных складках, иногда на лице, спине и груди. Акрохордоны обычно наблюдаются у лиц среднего и пожилого возраста, чаще у женщин, преимущественно в постменопаузальный период и у беременных. Количество акрохордонов с возрастом увеличивается [5]. Факторами риска их развития выступают трение, травмирование кожи (об этом свидетельствует появление опухолей в области кожных складок, в местах трения одеждой), а также ожирение и сахарный диабет 2-го типа. Среди иммуносупрессивных пациентов, перенесших трансплантацию почек, акрохордоны выявляются довольно часто (по данным зарубежных исследований – у 33–37% пациентов), особенно при больших сроках иммуносупрессии [6].

Попытки обнаружить ВПЧ в акрохордо-нах предпринимались давно. В исследовании С. Dianzani и соавт. (1998) методами дот- и блот-гибридизации ДНК ВПЧ 6-го и 11-го типов были обнаружены в 88% акрохордонов (из 49 образцов) [7]. В работе М. Sallam и соавт. ДНК ВПЧ 6-го и 11-го типов обнаружены в 77% акрохордонов, то есть чаще, чем в коже вокруг очагов (53%) и у лиц контрольной группы (20%) [8]. В одном из последних исследований, проведенном в Индии S. Gupta и соавт. с использованием высокочувствительной модификации полимеразной цепной реакции (ПЦР), ДНК ВПЧ 6-го и 11-го типов содержались в 18 из 37 акрохордонов (48,6%). В другой работе с участием 50 человек ни в одном образце акрохордонов слизистых типов ВПЧ обнаружить не удалось [9]. Согласно данным литературы, исследователи не предпринимали попыток выявить ассоциацию акрохордонов с ВПЧ рода *beta* и определить в очагах вирусную нагрузку.

Цель исследования – изучить ассоциацию акрохордонов с ВПЧ на основе количественного анализа ДНК ВПЧ рода *beta*. При этом были поставлены задачи:

а) исследовать встречаемость ДНК ВПЧ рода *beta* в акрохордо-нах и в видимо здоровой коже иммуносупрессивных (реципиенты почечного трансплантата (РПТ)) и иммунокомпетентных пациентов;

б) выявить генотипы ВПЧ рода *beta* в акрохордо-нах и в видимо здоровой коже иммуносупрессивных (РПТ) и иммунокомпетентных лиц.

Материал и методы

В «Московском областном научно-исследовательском клиническом институте им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ) были обследованы 52 пациента: 22 иммуносупрессивных и 30 иммунокомпетентных. У каждого из них были изучены акрохордоны и образцы видимо здоровой кожи из области плеча. В качестве группы контроля обследованы 49 здоровых доноров, у которых кожные заболевания, в том числе ассоциированные с кожными типами ВПЧ, отсутствовали. Основную группу иммуносупрессивных пациентов составляли 8 мужчин и 14 женщин в возрасте 48 ± 6 лет, иммунокомпетентных – 12 мужчин и 18 женщин в возрасте 52 ± 11 лет. Длительность иммуносупрессии варьировала от полугода до 17 лет (медиана – 3 года). В группе контроля было 29 мужчин и 20 женщин в возрасте 39 ± 13 лет.

Все иммуносупрессивные пациенты (18 человек) получали микофенолата мофетил, такролимус и преднизолон, 4 человека – циклоспорин А



Таблица 1. Выявляемость ДНК ВПЧ рода *beta* в эпителиальных опухолях и образцах видимо здоровой кожи иммуносупрессивных (РПТ) и иммунокомпетентных пациентов

Пациенты	Исследуемые образцы	Количество образцов	ВПЧ (-), n (%)	ВПЧ (+), n (%)
Иммуносупрессивные (РПТ)	Акрохордоны	22	8 (36)	14 (64)
	Видимо здоровая кожа	22	10 (45)	12 (54)
Иммунокомпетентные (с ЭОК)	Акрохордоны	30	12 (40)	18 (60)
	Видимо здоровая кожа	30	18 (60)	12 (40)
Здоровые доноры	Здоровая кожа	49	26 (53)	23 (47)

РПТ – реципиенты почечного трансплантата, ЭОК – эпителиальные опухоли кожи, ВПЧ – вирус папилломы человека, ВПЧ (-) – ВПЧ-негативные образцы, ВПЧ (+) – ВПЧ-позитивные образцы

Таблица 2. Сравнительная частота обнаружения разных видов ВПЧ рода *beta* в эпителиальных опухолях и образцах видимо здоровой кожи иммуносупрессивных (РПТ) и иммунокомпетентных пациентов

Пациенты	Исследуемые образцы	Количество ВПЧ (+) образцов	Виды ВПЧ, n (%)*			
			<i>beta-1</i>	<i>beta-2</i>	<i>beta-3</i>	<i>beta-4, -5</i>
Иммуносупрессивные (РПТ)	Акрохордоны	14	8 (57)	10 (71)	4 (29)	8 (57)
	Видимо здоровая кожа	12	6 (50)	8 (67)	2 (17)	4 (33)
Иммунокомпетентные (с ЭОК)	Акрохордоны	18	8 (44)	10 (56)	8 (44)	6 (33)
	Видимо здоровая кожа	12	10 (83)	4 (33)	4 (33)	2 (17)
Здоровые доноры	Здоровая кожа	23	9 (39)	8 (35)	4 (17)	8 (35)

РПТ – реципиенты почечного трансплантата, ЭОК – эпителиальные опухоли кожи, ВПЧ – вирус папилломы человека, ВПЧ (+) – ВПЧ-позитивные образцы

* В том числе в ассоциации с другими видами

в комбинации с другими иммуносупрессивными препаратами.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 10.0, достоверность различий определяли при помощи критерия χ^2 . Для анализа характерных вирусных нагрузок рассчитывали десятичный логарифм количества вирусов; сравнение несвязанных выборок осуществляли с применением критерия Манна – Уитни, связанных – с помощью критерия Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Генодиагностика ВПЧ-инфекции проводилась на базе ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора [10].

Забор материала осуществляли в стерильных условиях борами (микробиоптаты), помещали в пробирки с транспортной средой и хранили при температуре -70°C .

Пробоподготовка проводилась методом обработки ткани протеиназой К с последующим выделением методом аффинной сорбции на силикагеле с использованием набора для выделения ДНК из клинического материала ДНК-сорб-С производства ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора.

Определение ВПЧ в соскобах выполняли методом ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией в режиме реального времени,

который позволяет вычислить в пробе абсолютное количество геномов ВПЧ рода *beta* и ДНК человека. Амплификация и детекция проводились на приборе Rotor-Gene 3000 (Corbett Research, Австралия).

Для количественного определения ВПЧ рода *beta* использовались рекомбинантные плазмидные положительные контроли, содержащие последовательность полных геномов ВПЧ кожных типов рода *alpha*, *gamma*, *mu*, *nu* и *beta*, – 1, 3, 4, 5, 7, 8, 15, 20, 24, 27, 37, 38, 49, 50, 65 (M. Favre Institut Pasteur, Unite Postulante Genetique, Papillomavirus et Cancer Humain (Франция); E.M. de Villiers, Abteilung tumorvirus-Charakterisierung Referenzzentrum fur Humanpathogene Papillomviren (Германия)), а также контрольные плазмиды фрагмента β -глобинового гена человека (ФБУН «ЦНИИЭ»).

Для выявления ДНК ВПЧ рода *beta* применялись 4 системы олигонуклеотидов (группоспецифических праймеров и зондов):

1-я – для выявления генотипов вида $\beta 1$ (типы 5, 8, 12, 14, 19, 21, 25, 36, 47);

2-я – для выявления генотипов вида $\beta 2$ (типы 9, 15, 17, 22, 23, 37, 38, 80);

3-я – для выявления генотипов вида $\beta 3$ (типы 49, 75, 76);

**Таблица 3.** Встречаемость одного или нескольких видов ВПЧ рода *beta* в образцах эпителиальных опухолей и видимо здоровой коже иммуносупрессивных (РПТ) и иммунокомпетентных пациентов

Пациенты	Исследуемые образцы	Количество ВПЧ (+) образцов	Количество видов ВПЧ в образце, n (%)	
			1	2 и более
Иммуносупрессивные (РПТ)	Акрохордоны	14	6 (43)	8 (57)
	Видимо здоровая кожа	12	8 (67)	4 (33)
Иммунокомпетентные (с ЭОК)	Акрохордоны	18	12 (67)	6 (33)
	Видимо здоровая кожа	12	8 (67)	4 (33)
Здоровые доноры	Здоровая кожа	23	17 (74)	6 (26)

РПТ – реципиенты почечного трансплантата, ЭОК – эпителиальные опухоли кожи, ВПЧ – вирус папилломы человека, ВПЧ (+) – ВПЧ-позитивные образцы

4-я – для выявления генотипов видов $\beta 1$ (типы 20, 24 и 93), $\beta 4$ (тип 92) и $\beta 5$ (тип 96).

Во все 4 системы введены олигонуклеотиды для выявления и количественного определения ДНК человека по β -глобиновому гену, что позволяло проводить оценку адекватности забора, хранения и обработки образцов (внутренний контроль).

С учетом того, что при взятии клинического материала из акрохордонов и здоровой кожи количество эпителиальных клеток (а соответственно, и копий вируса), попадающих в образец, существенно варьировало, использовалась методика нормирования количества вируса на количество клеток человека, что позволило получить надежные и достоверные данные о вирусной нагрузке ВПЧ в клетках кожи. Расчет нормализованной вирусной нагрузки (ВН) производился по формуле:

$$\text{ВН} = \lg\left(\frac{\text{кол-во ДНК ВПЧ}}{\text{кол-во ДНК чел.}} \times 10^5\right).$$

Результаты и обсуждение

Полученные данные представлены в виде таблиц 1–3. Как видно из табл. 1, ВПЧ рода *beta* с высокой

частотой выявлялся как в акрохордомах, так и в здоровой коже, что согласуется с ранее полученными данными [4]. ВПЧ чаще обнаруживали в акрохордах РПТ и иммунокомпетентных пациентов (64 и 60% соответственно), чем в образцах видимо здоровой кожи. В целом у РПТ частота обнаружения ВПЧ как в опухолях, так и в видимо здоровой коже была значимо выше, чем у иммунокомпетентных лиц (см. табл. 2). Аналогичная ситуация отмечена в отношении других эпителиальных образований кожи в ранее проведенных исследованиях [8].

Как в акрохордах, так и в здоровой коже выявлен широкий спектр генотипов ВПЧ рода *beta*, принадлежащих к разным видам ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, $\beta 5$). В целом представители разных видов ВПЧ ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, $\beta 5$) встречались приблизительно с одинаковой частотой (см. табл. 3).

У РПТ в акрохордах преобладала ассоциация нескольких видов ВПЧ (в 57% случаев), тогда как у иммунокомпетентных пациентов отмечалось инфицирование преимущественно одним видом ВПЧ (в 67% случаев).

Высокая частота обнаружения ВПЧ, в том числе в здоровой коже, показанная в зарубежных исследованиях и подтвержденная нами, делает возможными более глубокое исследование и количественный анализ с определением вирусной нагрузки ДНК ВПЧ в ВПЧ-положительных образцах акрохордонов и здоровой кожи с нормированием числа ДНК ВПЧ на число клеток.

Анализ предварительных данных показал, что у РПТ акрохордоны появляются как на открытых, так и на закрытых участках кожи. В акрохордах и видимо здоровой коже РПТ с высокой частотой обнаруживали ВПЧ рода *beta* (в 64 и 54% случаев соответственно) по сравнению с кожей доноров (47%). В акрохордах у РПТ выявлялось несколько видов ВПЧ рода *beta*: 1, 2, 3 и 4–5 (57, 71, 29 и 57% соответственно). В единичных образцах акрохордонов (от 3 до 5) у РПТ в 43% случаев обнаружен ВПЧ рода *beta*. В множественных образцах (от 5 и более) акрохордонов у РПТ ВПЧ рода *beta* обнаружен в 87% случаев. В акрохордах у РПТ преобладала микст-инфекция (57%).

Литература (References)

- World Health Organization International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. V. 90. Human Papillomaviruses. Lyon; 2007. 674 p.
- Harwood CA, Suretheran T, McGregor JM, Spink PJ, Leigh IM, Breuer J, Proby CM. Human papillomavirus infection and non-melanoma skin cancer in immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J Med Virol.* 2000;61(3):289–97.
- de Jong-Tieben LM, Berkhout RJ, ter Schegget J, Vermeer BJ, de Fijter JW, Bruijn JA, Westendorp RG, Bouwes Bavinck JN. The prevalence of human papillomavirus DNA in benign keratotic skin lesions of renal transplant recipients with and without a history of skin cancer is equally high: a clinical study to assess risk factors for keratotic skin lesions and skin cancer. *Transplantation.* 2000;69(1):44–9.



4. Кладова АЮ, Кувва ДА, Молочков ВА, Шипулина ОЮ, Киселев ВИ, Хлебникова АН, Козлова ЕС. Встречаемость кожных типов вируса папилломы человека в патологиях кожи. Альманах клинической медицины. 2006;9:44–50.
(Kladova AYU, Kuevda DA, Molochkov VA, Shipulina OYu, Kiselev VI, Khlebnikova AN, Kozlova ES. [Prevalence of skin types of human papilloma virus in skin lesions]. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2006;9:44–50. Russian).
5. Галил-Оглы ГА, Молочков ВА, Сергеев ЮВ. Дерматоонкология. М.: Медицина; 2005. 865 с.
(Galil-Ogly GA, Molochkov VA, Sergeev YuV. *Dermato-Oncology*. Moscow: Meditsina; 2005. 865 p. Russian).
6. Chen QP, Aw DC. Epidemiology of skin diseases in renal transplant recipients in a tertiary hospital. *Ann Acad Med Singapore*. 2010;39(12):904–5.
7. Dianzani C, Calvieri S, Pierangeli A, Imperi M, Bucci M, Degener AM. The detection of human papillomavirus DNA in skin tags. *Br J Dermatol*. 1998;138(4):649–51.
8. Sallam MA, Kamel MM, Missiry AGE, Helal MF. Detection of some types of human papillomaviruses in skin tags. *Sci J Al-Azhar Med*. 2003;24:311–7.
9. Pezeshkpoor F, Jafarian AH, Ghazvini K, Yazdanpanah MJ, Sadeghian A, Esmaili H, Karrabi M, Rohani F, Joushan B. An association of human papillomaviruses low risk and high risk subtypes with skin tag. *Iran J Basic Med Sci*. 2012;15(3):840–4.
10. Кувва ДА, Кладова АЮ, Шипулина ОЮ, Молочков ВА. Разработка методики количественного определения папилломавируса рода бета. В: Материалы VI научно-практической конференции «Социально значимые заболевания в дерматовенерологии. Диагностика, терапия, профилактика». М.; 2006. с. 97–8.
(Kuevda DA, Kladova AYU, Shipulina OYu, Molochkov VA. Development of *beta*-papilloma virus assay. In: Proceedings of the VI Research-to-Practice Conference “Socially Significant Diseases in Dermatovenereology. Diagnosis, Therapy, Prevention”. Moscow; 2006. p. 97–8. Russian).

Benign epithelial neoplasia associated with *beta*-human papilloma virus

Molochkov V.A. • Korneva L.V. • Snarskaya E.S. • Shcherbakova E.O. • Polyanskaya A.A. • Nodel'man E.K.

Molochkov Vladimir Alekseevich – MD, PhD, Professor, Head of the Dermato-venereology and Dermato-Oncology Department¹

Korneva Lyubov' Vyacheslavovna – MD, PhD, Assistant Professor, Dermato-venereology and Dermato-Oncology Department¹
✉ 61/2–1 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation.
Tel.: +7 (495) 631 46 54.
E-mail: lvkorneva@mail.ru

Snarskaya Elena Sergeevna – MD, PhD, Professor, Department of Skin and Venereal Diseases, Institute for Professional Education²

Shcherbakova Evgeniya Ottovna – MD, PhD, Senior Research Associate, Chronic Dialysis and Kidney Transplantation Department¹

Polyanskaya Al'bina Aleksandrovna – Dermatovenereologist, Cosmetologist³

Nodel'man Ekaterina Konstantinovna – PhD, Junior Research Associate, Molecular Diagnosis and Epidemiology Department⁴

Aim: To study an association between acrochordon and human papilloma virus (HPV) using quantitative analysis of viral desoxyribonucleic acid (DNA); to detect different phenotypes of *beta*-HPV.

Materials and methods: We examined 52 patients (22 immuno-suppressed patients and 30 immunocompetent subjects) in the Dermato-venereology and Dermato-Oncology Department and Chronic Dialysis and Kidney Transplantation Department of the Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI). Control group included 49 healthy donors.

Burr biopsy samples (micro-samples) of acrochordon and intact skin (upper arm) were collected in sterile conditions. After sample procession and DNA isolation using DNK-sorb-C kit (Central Research Institute for Epidemiology – CRIE), polymerase chain reaction for HPV was performed with real-time fluorescent hybridization detection. For DNA amplification and detection we used Rotor-Gene 3000 analyzer (Corbett Research, Australia). In the *beta*-HPV assay, recombinant plasmids were

used as positive controls and control human *beta*-globin gene fragments (CRIE). 4 oligo-nucleotide systems (group-specific primers and probes) were used for the detection of *beta*-HPV DNA.

Results: Preliminary data indicated that acrochordons of open and covered skin regions were common in renal transplant recipients. *Beta*-HPV DNA was more frequent in acrochordons and intact skin (64% and 54%) of renal transplant recipients compared to healthy donors (47%). 57% of renal transplant recipients demonstrated mixed infection in acrochordons.

Conclusion: HPV DNA was frequently detected in acrochordons and intact skin of renal transplant recipients. In immunocompetent patients prevalence of HPV DNA in acrochordons was significantly higher compared to intact skin.

Key words: benign epithelial skin lesions, acrochordon, *beta*-human papilloma virus, renal transplant recipients, immune-suppressed patients, immunocompetent patients, real-time detection of *beta*-HPV DNA.

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8/2 Trubetskaya ul., Moscow, 119991, Russian Federation

³ Medical Aesthetics Clinic “Premium Aesthetics”; 3–6 Kazarmenny pereulok, Moscow, 109028, Russian Federation

⁴ Central Research Institute for Epidemiology; 3a Novogireevskaya ul., Moscow, 111123, Russian Federation