

ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У БЕРЕМЕННЫХ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

FEATURES OF LOCAL IMMUNITY IN PREGNANT WOMEN WITH A NEW CORONAVIRUS INFECTION COVID-19

**I. Sakhautdinova
A. Khaibullina
I. Tayupova
I. Zasyadkin**

Summary. Coronavirus infection (COVID-19) is an acute viral disease caused by a new strain of RNA — genomic coronavirus SARS-CoV-2 with predominant upper respiratory tract damage. The infection, established by the UN in February 2020, remains relevant and spreading at lightning speed to this day. COVID-19 covered all continents in a matter of weeks and received the status of a particularly dangerous pandemic due to its contagiousness to humans. Coronavirus infection remains a polyethological disease with multisystem organ damage, which is based on hypoxia, vascular endothelial dysfunction, coagulopathy, hyperactivation of the immune response, as well as thrombosis. The particular interest of the COVID-19 pathogenesis in this work is focused on the local (local) immuno-inflammatory process, namely, the increase in pro- and anti-inflammatory mediators-cytokines in pregnant women infected with a new coronavirus infection. Due to the high risk of complications during pregnancy with COVID-19, the risk of maternal and perinatal mortality increases, making diagnosis and monitoring of pregnant women in the hospital a necessity. [6–8].

Keywords: interleukins, immunoglobulins, cytokines, coronavirus infection, pregnancy.

Сахаутдинова Индира Венеровна

Д.м.н., профессор, Башкирский государственный медицинский университет; Главный врач, ЧУЗ «КБ «РЖД-Медицина» г. Уфа

Хайбуллина Альфия Рашитовна

*К.м.н., доцент, Башкирский государственный медицинский университет
alfiyahabullina@mail.ru*

Таяупова Ирина Маратовна

К.м.н., доцент, Башкирский государственный медицинский университет

Засядкин Игорь Сергеевич

Ассистент, Башкирский государственный медицинский университет

Аннотация. Коронавирусная инфекция (COVID-19) — острое вирусное заболевание, вызываемое новым штаммом РНК-геномного коронавируса SARS-CoV-2 с преимущественным поражением верхних дыхательных путей. Инфекция, установленная ООН в феврале 2020 года, и по сей день остаётся актуальной и молниеносно распространяющейся. COVID-19 за считанные недели охватил все материки и получил статус особо опасной пандемии из-за своей контагиозности для человека. Коронавирусная инфекция остаётся полиэтиологическим заболеванием с мультисистемным поражением органов, в основе которого гипоксия, васкулярная эндотелиальная дисфункция, коагулопатия, гиперактивация иммунного ответа, а также тромбозы. Особый интерес патогенеза COVID-19 в данной работе сфокусирован на локальном (местном) иммуновоспалительном процессе, а именно на повышении про- и противовоспалительных медиаторов-цитокинов у беременных женщин, инфицированных новой коронавирусной инфекцией. Из-за высокого риска осложнений при беременности с COVID-19 возрастает риск материнской и перинатальной смертности, делая диагностику и наблюдение за беременными в стационаре необходимостью [6–8].

Ключевые слова: интерлейкины, иммуноглобулины, цитокины, коронавирусная инфекция, беременность.

Беременные женщины с коронавирусной инфекцией составляют не малую долю пациентов, поступающих в ковидные госпитали с особой формой течения. Также данная группа пациентов требует тщательного стационарного наблюдения из-за риска осложнений беременности как со стороны ребенка, так и матери. Завершившиеся на сегодняшний день многочисленные исследования ученых Англии, Китая, США по форме течения клинической картины COVID-19 у беременных женщин, выявили закономерность особого течения и ряда отличий в симптомах коронавируса. Другим выявленным аспектом считается — высокая контагиозность (заражаемость) беременных, что подтвержда-

ется научными статьями, опубликованными на сайте ВОЗ. Основными факторами риска в первую очередь считается возраст женщины и ее состояние здоровья. Особой группой риска беременные женщины наделяются и требуют особого контроля, если имеют какие-либо хронические заболевания в ремиссии или же с осложнениями, к примеру, сахарный диабет, артериальная гипертония, бронхиальная астма, хроническая почечная недостаточность и другие [2, 15, 17].

Коронавирусная инфекция у беременных протекает заметно в более тяжелой степени и лишь отрицательно может сказаться на их состоянии.

Иммunosupрессия и другие физиологические изменения во время беременности вызывают высокую восприимчивость к респираторным патогенам и повышают риск развития тяжелой пневмонии у беременных женщин, что может привести к госпитализации в отделения интенсивной терапии с последующей искусственной вентиляции легких (Alfaraj S.H., Al-Tawfiq J.A., 2019), что несёт риск развития бактериальных осложнений. Функционирование и состояние иммунной системы женщины во многом определяет направление развития патологических процессов в хроническом воспалении. На сегодняшний день первичными важными звеньями в патогенезе хронического иммунологического воспаления является либо локальное нарушение системы крови, либо малые аномалии на системном уровне — вопрос остаётся открытым, является достаточно сложным, неоднозначным и до сих пор бурно дискутируемым как с иммунологических позиций, так и позиций общей патологии функционирования гомеостатических систем организма у беременных [3,10,15].

В настоящее время особое внимание исследователей и целого ряда авторских групп сфокусировано на детальном выяснении роли цитокинов как «новая самостоятельная система саморегуляции» у беременных с COVID-19. Основываясь на анализе современной отечественной и зарубежной литературы только подтверждается вышеуказанное высказывание, ведь периферическая кровь в норме находится в состоянии «контролируемого» воспаления, и регулирует этот сложный баланс система воспалительных и противовоспалительных цитокинов в специфическом соотношении. Цитокины представляют собой группу эндогенных пептидных медиаторов межклеточного взаимодействия, участвующую, главным образом, в формировании и регуляции защитно-приспособительных реакций организма на внедрение чужеродных для нашей иммунной системы патогенов различного генеза и нарушение целостности тканей, а также на регуляцию ряда нормальных физиологических функций [1]. Цитокины становятся пуском для комплекса интегративно-адаптивных реакций, вовлекают все разновидности клеток-эффекторов в элиминацию патогена из живого организма для полного его выздоровления. Если воспалительный процесс начинается с химических или же иных поводом, то реакция сопровождается бурным высвобождением провоспалительных цитокинов. Выявленная закономерность адаптивно-компенсаторного увеличения продукции цитокинов в ответ на патоген с целью купирования воспалительных процессов в организме определяет фазность данного процесса [2,23,27,29]. При генерализации инфекционного агента и сопутствующей воспалительной реакции в системе гемостаза, уровень провоспалительных цитокинов как маркер данного процесса — в большинстве случаев взаимосвязано возрастает [3,28]. Кроме

того, особый интерес представляет данный аспект — при вирусной инфекции в крови активную роль играют биологические среды такие как индикатор интегральной оценки состояния, довольно мало изученные в свете цитокинового гомеостаза, требующие детального освящения вопроса [4,5].

Система цитокинов, представляющая для нас особый интерес как важнейший первоначальный комплекс защитных факторов первой линии при внедрении патогенов различной этиологии, играющая роль формирования и регуляции общих защитных механизмов, в том числе токсических в отношении целостности тканей, позволяет с разных сторон охарактеризовать патогенетические механизмы, приводящие к началу и развитию каскада воспалительной реакции, и даёт возможность рассмотрения и определения лечения, направленного на данный механизм.

Клиническими и экспериментальными исследованиями доказано, что ведущей ролью в развитии иммунного ответа является активация системы цитокинов типа Th₂, а продуцируемые Th₂ интерлейкины как IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, в свою очередь, усиливают образование иммуноглобулина E (IgE) [1]. Это первоначальное функциональное звено иммунитета ведёт к общему иммунному воспалению, деструкции тканей с одновременным вовлечением эффекторных клеток иммунной системы, развитием непредсказуемой реакции организма. Вместе с тем, несмотря на обилие данных, касающихся вопросов воспаления тканей, в научном мире до сих пор нет единого мнения о направленности, взаимной детерминированности и глубине иммунных нарушений в период беременности. В то же время большинство исследователей характеризуют состояние иммунной системы у беременных как вторичный иммунодефицит. По определению В.С. Ширинского «вторичный иммунодефицит представляет собой клинико-иммунологический синдром, основу которого составляют количественные и функциональные нарушения различных популяций и субпопуляций клеток моноцитарно-макрофагальной системы, неспецифических факторов защиты, ассоциированных с развитием аутоиммунных, аллергических, инфекционных и опухолевых заболеваний» [2,8,9]. Из данного определения следует вывод о том, что состояние местных барьеров однозначно определяется уровнем пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток в центральных органах иммуногенеза [3,10,11]. Не подлежит сомнению и тот факт, что индивидуальные особенности функционирования иммунной системы слизистых, во многом определяет направление развития патологических процессов в хроническом иммунологическом воспалении. При этом, чему отдана «пальма первенства» в патогенезе хронического иммунного воспаления — локальное нарушение на уровне

Таблица 1. Содержание цитокинов в периферической крови у беременных с коронавирусной инфекцией (медиана, интерквартильный размах)

Показатель (пг/мл)	Контрольная группа (беременные без коронавирусной инфекции) n=23	Беременные с коронавирусной инфекцией n=38
IL-1 β	30,5 [8,8–36,7]	17,4*** [5,5–26,1]
IL-6	60,8 [24,3–75,5]	28,6*** [21,1–40,5]
IL-8	16,0 [12,0–21,0]	11,1*** [7,0–13,1]
IL-4	8,5 [3,4–12,1]	42,2*** [35,3–57,9]
IL-10	5,3 [2,1–9,2]	1,3*** [0,9–2,1]
TGF-1 β	93,3 [36,2–129,2]	29,3*** [21,2; 52,1]
TNF α	24,4 [17,3–33,1]	102,2*** [27,3–156,3]

Примечание. Данные представлены в виде медиана (25-й, 75-й процентиль), статистическая значимость различий оценена критерием Манна-Уитни.

p*** — вероятность различий между данными беременных без и с COVID-19 (p \leq 0,001);

иммунной системы слизистых или же малые аномалии на системном уровне — неизвестно. Однако этот вопрос станет возможно основой для дальнейших исследований [4,5,6].

Цель исследования

Целью исследования послужило изучение изменений иммунологического статуса и механизмов цитокиновой регуляции у беременных с коронавирусной инфекцией, анализ сдвигов иммуноглобулинов и цитокинов в крови для выяснения сопряженности и направленности их нарушений, а также выявление возможных закономерностей в фазовом выделении цитокинов при инфекционном процессе в организме.

Материал исследований

Материалом исследований явилась периферическая кровь беременных, где изучалась концентрация иммуноглобулинов (Ig) как sIgA, IgA, IgM, IgG, IgE и цитокинов серологическим методом в условиях лаборатории.

Результаты исследования

Результатами исследования иммунологического статуса выявлено, что у всех беременных при коронавирусной инфекции отмечается повышенный местный гуморальный иммунодефицит. Иммунная система активно продуцирует медиаторы, способные стать защитой для организма.

По результатам исследования уровня цитокинов беременных женщин, инфицированных COVID-19, установлена закономерность дисбаланса цитокинов. Вследствие чего вывели критерии, которые могут стать основой прогностической шкалы оценки состояния беременной во время болезни. Выявление цитокинов показало срыва адаптационных процессов и нарастание инфекции в организме матери.

Для изучения цитокинов использовалось специальное современное оборудование, включающее в себя установку «Bio-Plex» («Bio-Rad Laboratories») с набором реагентов для анализа цитокинов (Bio-Plex Pro™ Rat Cytokine Th₁/Th₂ Assay). Систему интерлейкинов IL-6 и IL-10 оценивали с использованием твердофазного иммуноферментного методов коммерческих диагностических наборов фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия); IL-1 β , TNF α (фактор некроза опухоли α) — иммуноферментным методом с использованием реагентов «ProCon» («Протеиновый контур», Санкт-Петербург, Россия) на иммуноферментном анализаторе «Stat-Fax 2100», TGF-1 β (трансформирующий фактор роста β 1) «Quintikin» (США); IL-4 и IL-8 — с помощью реагентов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург, Россия) по прилагаемым инструкциям, результаты выражали в мг/мл.

Программа STATISTICA v.6.0 (StatSoft Inc., США) стала основой для обработки полученных результатов. Средней ошибкой ($M \pm m$) представлены описательные статистики количественных, нормально распределенных данных. В зависимости от характера распределения пе-

Таблица 2. Содержание иммуноглобулинов в периферической крови у беременных с коронавирусной инфекцией (медиана, интерквартильный размах)

Показатель	Контрольная группа (беременные без коронавирусной инфекции)	Беременные с коронавирусной инфекцией
	n=23	n=38
slgA, г/л	142,4 [74,2–188,3]	202,1** [177,7–211,1]
IgA, мг/л	60,8 [45,1–90,6]	44,5** [34,5–54,8]
IgM, мг/л	3,3 [2,2–4,1]	1,5*** [0,8–2,8]
IgG, мг/л	11,0 [8,9–21,4]	7,5*** [4,8–9,2]
IgE, мг/л	1,7 [0,9–3,4]	1,1*** [0,4–1,2]

Примечание. Данные представлены в виде медиана (25-й, 75-й процентиль), статистическая значимость различий оценена критерием Манна-Уитни. p** - вероятность различий показателей беременных без и с COVID-19 ($p \leq 0,01$).

ременных была использованы медиана (Me) и квартили [Q25; Q75]. Непараметрический U-критерий Манна-Уитни определял достоверность различий независимых выборок. Для качественных признаков использовались абсолютные значения и процентные доли. Сравнение групп с помощью критерия χ^2 . По r-критерию корреляционной зависимости Спирмена устанавливали силу и направленность связи признаков. F-критерий однофакторного дисперсионного анализа определял влияние независимых факторов на зависимую переменную. Критический уровень значимости p при проверке взяли за 0,05.

Уровень провоспалительных (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α) медиаторо-полипептидов вырос, тогда как противовоспалительные (IL-4, IL-10, TGF-1 β) интерлейкины в периферической крови у беременных женщин при COVID-19 в исследовании заметно снизились (таблица 1).

Максимальные сдвиги в нарастании цитокинов, статистически значимые для нашего исследования, обнаружены у беременных женщин с коронавирусной инфекцией. Так нарастание провоспалительных интерлейкинов обусловлено тяжестью заболевания.

Именно последние выполняют защитную роль, призывая в очаг инфекции нейтрофильные макрофаги, или же эффекторные клетки; также стимулируют их фагоцитарную и бактерицидную активность, и запускают антиген-специфический иммунный ответ, приводя к удалению агента. Но прогресс увеличения IL-1 β и IL-8, так же хемокинов на фоне снижения уровня IL-4 и IL-10 ведет к генерализации воспаления у пациенток. Установленная корреляционная связь концентрации IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF α от сроков беременности представлена для IL-1 β как обратная средняя зависимость ($r = -0,22; p = 0,08$); для

IL-6 как прямая средняя зависимость ($r = 0,43; p \leq 0,001$); для IL-8 как прямая средняя зависимость ($r = 0,45; p \leq 0,001$) и для TNF α как сильная прямая корреляционная связь ($r = 0,85; p \leq 0,001$).

Содержание IL-10, ингибитора IL-1 β и IL-8, снижается. Именно так помимо воспаления включается репарация. Из-за активации воспаления в системе крови к очагу поражения направляются нейтрофилы и эозинофилы, мононуклеарные фагоциты, активируются и синтезируют интерлейкины. Из-за дисфункции клеточно-опосредованных иммунных реакций растет концентрация IL-1 β , IL-6 и IL-8. Лимфоциты активируют Th $_1$ -иммунный ответ, но IL-10 слишком мало продуцируется, что ведет к обострению воспалительного процесса у беременных с коронавирусной инфекцией.

На основании выше изложенного, устанавливается статистическая закономерность дисбаланса соотношения про и противовоспалительных цитокинов у беременных пациенток ковидных госпиталей. Полученные информативные критерии станут основой для прогноза состояния пациентов в течении COVID-19. Это поможет определять необходимость купирования воспалительного ответа для предотвращения цитокинового шторма.

Результаты исследования концентрации иммуноглобулинов slgA, IgA, IgM, IgG, IgE у беременных с коронавирусной инфекцией (таблица 2), показывают о их неоднозначном изменении. Как видно, содержание slgA у беременных с коронавирусной инфекцией превышает исходное значение в 1,5 раза.

Данное изменение секреторного иммуноглобулина слизистых оболочек объясняется его эффекторной

функцией, а именно агрегацией микробов и сорбцией их на поверхности эпителиальных клеток с угнетением роста микробов. Поэтому преобладание IgA и IgG у беременных с COVID-19 по сравнению с другими иммуноглобулинами (IgM, IgE) объясняется активным участием в первой фазе острого воспаления новой коронавирусной инфекции. Изучая дальше показатели крови можем наблюдать снижение показателей местного иммунитета, что клинически значимо у пациенток. Данный результат говорит о наличии иммунодефицита у беременных с COVID-19.

Таким образом, у беременных с коронавирусной инфекцией в целом отмечается повышенный местный гуморальный иммунодефицит.

Основываясь на корреляционном анализе беременных, выявлены умеренные связи внутри блока секреторных иммуноглобулинов периферической крови. В системе местного иммунитета выявлены умеренные корреляционные зависимости между: между sIgA и IgA ($r=0,62$; $p \leq 0,01$); sIgA и IgM ($r=0,28$; $p \leq 0,05$); sIgA и IgG ($r=0,23$; $p \leq 0,05$); sIgA и IgE ($r=0,26$; $p \leq 0,05$); IgA и IgM ($r=0,54$; $p \leq 0,01$); IgA и IgG ($r=0,48$; $p \leq 0,05$); между IgA и IgE ($r=0,51$; $p \leq 0,01$); IgM и IgG ($r=0,45$; $p \leq 0,05$); IgM и IgE ($r=0,49$; $p \leq 0,05$); IgE и IgG ($r=0,46$; $p \leq 0,05$). Значение коэффициентов парной корреляции варьировали от 0,28 до 0,62, что характерно для умеренной силы корреляции.

Оценивая структуру корреляционной сети беременных с коронавирусной инфекцией, нами было определена сложность строения в сравнении с группой па-

циенток беременных без коронавирусной инфекции. Корреляционные взаимодействия в этой группе беременных характеризуются усилением корреляции между блоками местного иммунитета.

Внутри блока параметров местного иммунитета связи умеренной силы отмечаются у sIgA с IgA периферической крови ($r=0,62$; $p \leq 0,01$); у sIgA с IgG ($r=0,39$; $p \leq 0,05$); у sIgA с IgM ($r=0,42$; $p \leq 0,05$); у sIgA с IgE ($r=0,32$; $p \leq 0,05$).

Число корреляционных зависимостей между показателями местного иммунитета было максимальным. Внутри блока параметров местного иммунитета связи умеренной силы отмечаются у sIgA с IgA ($r=0,68$; $p \leq 0,01$); у sIgA с IgG ($r=0,53$; $p \leq 0,01$); у sIgA с IgM ($r=0,42$; $p \leq 0,01$); у sIgA с IgE ($r=0,50$; $p \leq 0,01$); у IgA и IgE ($r=0,56$; $p \leq 0,01$); у IgM с IgG ($r=0,48$; $p \leq 0,01$); у IgM с IgE ($r=0,51$; $p \leq 0,01$) и у IgE с IgG ($r=0,44$; $p \leq 0,01$).

Таким образом, на основании полученных данных приходим к выводу о том, что математико-статистический анализ лабораторных данных показателей местного иммунитета подтвердил их значимую роль в поддержании гомеостаза у беременных с коронавирусной инфекцией преимущественно в начальную фазу острого воспаления. Из-за чего делаем вывод о повышенной активности иммунной системы беременных в этот период. Результаты корреляционного анализа послужили тому доказательством, так как выявлено усиление внутрисистемных взаимодействий защитных факторов на фоне фазового течения воспалительной инфекции в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ketlinskij S.A. Citokiny / S.A. Ketlinskij, A.S. Simbircev — SPb, 2008.
2. Biohimicheskie i patofiziologicheskie markjory himicheskogo vozdejstvija na organizm, ih informativnost' i diagnosticheskoe znachenie / R.I. Sabitova, E.D. Kravec, V.M. Samsonov, D.F. Shakirov i [dr.] // Klin. lab. diag. — 2016. -T.61.-№ 1. — S.21–24.
3. Ocenka sostojanija nespecificheskoj zashhity organizma rabochih pri vozdejstvii toksicheskikh faktorov proizvodstva himii i neftehimii /R.I. Sabitova, E.D. Kravec, Je.F. Galiullina, D.F. Shakirov, F.H. Kamilov, R.T., Buljakov, V.M. Samsonov, D.A. Enikeev // Kazan, med. zhurnal. — 2016. — № 5. — T.97. — S.784–792.
4. Leus, P.A. Smeshannaja sljuna (sostav, svojstva, funkcii) / P.A. Leus, O.S. Trockaja, S.S. Lobko, L.I. Palij. — Minsk, 2004.
5. Shirinskij V.S., Starostina I.M., Sennikova Ju.A., Malysheva O.A. Problemy diagnostiki i klassifikacija vtorichnyh imunodeficitov. Allergologija i immunologija. — 2002. — T. 10. — № 1. — S. 62–71.
6. Sabitova R.I., Kravec E.D., Galiullina Je.F., Shakirov D.F., Kamilov F.H., Buljakov R.T., Samsonov V.M., Enikeev D.A. Ocenka sostojanija nespecificheskoj zashhity organizma rabochih pri vozdejstvii toksicheskikh faktorov proizvodstva himii i neftehimii. Kazan, med. zhurnal. — 2016. — № 5. — T.97.-S.784–792.
7. Breslin N., Baptiste C., Gyamfi-Bannerman C., Miller R., Martinez R., Bernstein K. COVID-19 infection among asymptomatic and symptomatic pregnant women: Two weeks of confirmed presentations to an affiliated pair of New York City hospitals [published online ahead of print, 2020 Apr 9] Am J ObstetGynecol MFM.2020:100118. doi: 10.1016/j.ajogmf.2020.100118.

© Сахутдинова Индира Венеровна, Хайбуллина Альфия Рашитовна (alfiyahabullina@mail.ru),

Таюпова Ирина Маратовна, Засядкин Игорь Сергеевич.

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»