

ВЛИЯНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 НА СИСТЕМУ «МАТЬ–ПЛАЦЕНТА–ПЛОД»

Н. В. Низяева, Н. А. Ломова [✉], Е. Л. Долгополова, У. Л. Петрова, Т. Э. Карапетян, Р. Г. Шмаков, В. Е. Франкевич

Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

Нарушение развития плаценты на ранних сроках беременности, ассоциированное с системным поражением эндотелия сосудов при COVID-19, может привести к ряду осложнений. Целью исследования было выявить гистологические и иммуногистохимические (ИГХ) особенности ткани плаценты у беременных женщин с COVID-19 на разных сроках гестации и изучить их роль в патогенетических механизмах болезни в системе «мать–плацента–плод». Исследовали две группы беременных: основную из 66 пациенток с COVID-19 и группу сравнения из 40 женщин без признаков вирусной инфекции. Выполняли макроскопическое, микроскопическое и ИГХ-исследования образцов плацент. Проведен анализ клинико-анамнестических характеристик пациенток с COVID-19 с учетом тяжести течения заболевания, родоразрешения и перинатальных исходов. При ИГХ-окрашивании первичными антителами у пациенток с COVID-19 повышена экспрессия в структурах плаценты провоспалительных факторов (TNF α , IL8) и снижен уровень противовоспалительных (IL4) ($p < 0,05$). В образцах плацент женщин основной группы детектирована перестройка ворсинчатого дерева с развитием субклинической плацентарной недостаточности, в ряде случаев декомпенсируемой в родах, с развитием клинической картины острой гипоксии плода. У матерей с COVID-19 следует выбирать акушерскую тактику индивидуально с учетом факторов риска и проведением в родах непрерывной кардиотографии. Целесообразно проводить ИГХ-исследование плаценты родильниц с COVID-19 для уточнения тактики ведения новорожденного и прогноза возможных неонатальных осложнений.

Ключевые слова: беременность, плацента, COVID-19, плод, хроническая гипоксия, плацентарная недостаточность, провоспалительный ответ

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ грант рег. № 20-04-60093.

Благодарности: фельдшеру-лаборанту 2-го патологоанатомического отделения НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова В. А. Синицыной; с. н. с. лаборатории протеомики и метаболомики репродукции человека НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова А. В. Бугровой.

Вклад авторов: Н. В. Низяева — проведение патоморфологического и ИГХ-исследований, систематический анализ, написание рукописи; Н. А. Ломова — анализ клинических данных, систематический анализ, написание рукописи; Е. Л. Долгополова — сбор и подготовка биологических сред в условиях «красной зоны», статистический анализ результатов; У. Л. Петрова — сбор и подготовка биологических сред в условиях «красной зоны»; Т. Э. Карапетян — анализ клинических данных; Р. Г. Шмаков — анализ клинических данных в условиях «красной зоны», систематический анализ, редактирование рукописи; В. Е. Франкевич — подготовка исследования, систематический анализ.

Соблюдение этических стандартов: все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании; исследование соответствовало требованиям Хельсинкской декларации, 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.

✉ **Для корреспонденции:** Наталья Анатольевна Ломова
ул. Академика Опарина, д. 4, г. Москва, 117997; natasha-lomova@yandex.ru

Статья получена: 14.04.2021 **Статья принята к печати:** 25.04.2021 **Опубликована онлайн:** 29.04.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.020

THE IMPACT OF THE NOVEL CORONAVIRUS INFECTION COVID-19 ON THE MOTHER-PLACENTA-FETUS SYSTEM

Nizyaeva NV, Lomova NA [✉], Dolgopolova EL, Petrova UL, Karapetyan TE, Shmakov RG, Frankevich VE

Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Impaired placental development during early pregnancy associated with systemic damage to the vascular endothelium in patients with COVID-19 may result in a number of complications. The study was aimed to reveal histological and immunohistochemical (IHC) features of placental tissue in pregnant women with COVID-19 at different stages of gestation, and to examine the contribution of those to pathogenesis of the disease involving mother-placenta-fetus system. The following two groups of pregnant women were studied: index group of 66 patients with COVID-19, and comparison group of 40 women with no symptoms of viral infection. Macroscopic and microscopic examination, and the IHC analysis of placental samples were carried out. Clinical and anamnestic characteristics of patients with COVID-19 were analyzed taking into account disease severity, delivery route and perinatal outcome. ICH staining using primary antibody revealed elevated expression of proinflammatory factors (TNF α , IL8) and reduced level of anti-inflammatory factors (IL4) in placental structures of patients with moderate and severe COVID-19 ($p < 0.05$). The villous tree rearrangement and the development of subclinical placental insufficiency, which could in some cases be decompensated during labor, resulting in clinical manifestations of acute fetal hypoxia were detected in the placental samples obtained from the index group patients. The obstetrical tactics for mothers with COVID-19 should be decided individually based on the risk factors; continuous cardiotocography should be used during labor. It may be appropriate to conduct IHC analysis of placenta in puerperant women with COVID-19 in order to fine-tune the tactics of neonatal management and to predict possible neonatal complications.

Keywords: pregnancy, placenta, COVID-19, fetus, chronic hypoxia, placental insufficiency, proinflammatory response

Funding: the study was supported by RFBR grant № 20-04-60093.

Acknowledgements: here we would like to thank Sinitsina VA, medical laboratory assistant of the 2nd Anatomical Pathology Department of the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, and Bugrova AV, senior research scientist of the Laboratory for Proteomics and Metabolomics of Human Reproduction of the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology.

Author contribution: Nizyaeva NV — pathomorphological study and IHC analysis, systematic analysis, manuscript writing; Lomova NA — analysis of clinical data, systematic analysis, manuscript writing; Dolgopolova EL — collection and preparation of biological matrix samples in the red zone, statistical analysis of the results; Petrova UL — collection and preparation of biological matrix samples in the red zone; Karapetyan TE — analysis of clinical data; Shmakov RG — analysis of clinical data in the red zone, systematic analysis, manuscript editing; Frankevich VE — preparation of the study, systematic analysis.

Compliance with ethical standards: all patients submitted the informed consent to participate in the study; the study met the requirements of the Declaration of Helsinki, International Conference on Harmonization (ICF), Good Clinical Practice (GCP), and Federal Law No. 323-FZ "On the Basics of Protecting Citizens' Health in the Russian Federation" of November 21, 2011.

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia A. Lomova
Oparina, 4, Moscow, 117997; natasha-lomova@yandex.ru

Received: 14.04.2021 **Accepted:** 25.04.2021 **Published online:** 29.04.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.020

Исследователи всего мира активно изучают вирус SARS-CoV-2 и связанное с ним заболевание COVID-19. Особую важность эти работы имеют для когорты беременных женщин, так как несут безотлагательный характер, и новые сведения о COVID-19 смогут уже сегодня помочь здоровью будущего поколения. На сегодняшний день нет достоверных данных об увеличении частоты акушерских патологий, как и информации о возможной перинатальной передаче вируса SARS-CoV-2. Показана вероятная связь COVID-19 у беременной/роженицы с развитием дистресс-синдрома у плода, тромбоцитопенией и нарушением функции печени у новорожденного [1, 2]. Согласно исследованию ученых из Цюриха, COVID-19 вызывает системное воспаление сосудов легких (васкулит) с поражением многих органов и систем без видимой связи с пневмонией. Воспаление затрагивает эндотелий — внутреннюю выстилку кровеносных сосудов различных органов [3]. Нарушение развития плаценты на ранних сроках беременности, ассоциированное с системным поражением эндотелия сосудов при COVID-19, может привести к формированию плацентарного оксидативного стресса и ряду осложнений [4, 5]. Анализ данных литературы свидетельствует о том, что синдром системного воспалительного ответа (ССВО) у беременных при COVID-19 объединяет многие патогенетические механизмы, приводящие к активации процессов воспаления и изменению иммунного ответа. Понимание патофизиологических механизмов ССВО при COVID-19, задействованных в системе «мать–плацента–плод», способствует совершенствованию методов диагностики и подбору патогенетически обоснованной терапии ряда акушерских осложнений [5, 6].

Целью исследования было выявить гистологические и иммуногистохимические (ИГХ) особенности ткани плаценты беременных женщин с COVID-19 на разных сроках гестации и изучить связь данных нарушений с патогенетическими механизмами болезни в системе «мать–плацента–плод».

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В период с марта по май 2020 г. в Национальном медицинском исследовательском центре акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова на базе 1-го инфекционного отделения была создана «красная зона», где проходили лечение и обследование пациенты с диагнозом COVID-19, в том числе беременные женщины. Подготовлено 190 коек для лечения пациентов с COVID-19 и 60 коек акушерского профиля. Биологические материалы (венозная материнская кровь, пуповинная кровь, амниотическая жидкость, ткань плаценты) были переданы на хранение в сертифицированный биобанк Центра. В основную группу вошли беременные женщины с наличием верифицированного диагноза COVID-19. Средний возраст пациенток составил $(30,3 \pm 6,25)$ года. Включение в группу происходило по мере обращения. Для решения поставленных задач было проведено клинико-лабораторное исследование и ведение беременности у 66 женщин с COVID-19 (плацентарная ткань исследована в 42 случаях, окончившихся родоразрешением, и одном случае с летальным исходом) и 40 беременных группы сравнения, не имеющих клинических и лабораторных признаков вирусной инфекции.

Критерии включения: в I группу — наличие COVID-19, установленного по данным молекулярно-генетического обследования (ПЦР); во II группу — отсутствие COVID-19

по данным клинического обследования, результатам ПЦР-исследования. Критерии исключения: многоплодная беременность.

Были выполнены макроскопическое и микроскопическое исследования 42 образцов плаценты от родильниц с COVID-19, одной плаценты от пациентки с летальным исходом и 40 плацент условно здоровых родильниц из группы сравнения. В качестве дополнительной группы сравнения и для исключения форм заболевания, перенесенных в стертой форме, были взяты парафиновые блоки образцов плацент женщин с неосложненной беременностью, родоразрешенных в 2017–2018 гг. На серийных парафиновых срезах проводили гистологическое (окраска гематоксилином и эозином) и ИГХ-исследование. В 10%-м формалине (рН 7,4) на парафиновых срезах толщиной 4 мкм с помощью иммуноштейнера закрытого типа Ventana (Roche; Великобритания) с закрытым набором для детекции проводили ИГХ-анализ. Протокол автоматизированного окрашивания образцов включал все этапы стандартной ИГХ-процедуры. Система визуализации — Ultra View Universal DAB, Detection Kit («Вентана Медикал Системс, Инк.»; США). Для выявления вирусных частиц в ткани плаценты использовали первичные моноклональные антитела SARS-CoV-2 nucleoprotein antibody (N-белок (NP), clon 1518 (1:1000); Bialexa, Россия). Наиболее важным был вопрос контроля оценки экспрессии NP к вирусу SARS-CoV-2. Предварительно антитела к SARS-CoV-2 проверяли методом иммуноблоттинга с использованием рекомбинантного белка. Путем морфометрии оценивали степень повреждения мембран СЦТ ворсинчатого дерева. Оценку проводили при помощи системы анализа изображений NIS-Element AR3 (Nikon; Чехия) на базе микроскопа Nikon ECLIPSE 80i. Статистическую обработку полученных данных осуществляли в пакете программ «SPSS Statistics for Windows v. 21».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате анализа клинико-anamnestических характеристик пациенток с COVID-19 получены следующие данные: средний возраст пациенток составил $(30,3 \pm 6,25)$ года, средний индекс массы тела — $(27,1 \pm 4,6)$ кг / м², средняя продолжительность заболевания — 17,6 (6–34) дня, длительность госпитализации — 14,9 (4–30) дней. Отрицательные результаты ПЦР-теста, подтверждающие отсутствие вируса SARS-CoV-2 в слизистой ротоглотки, диагностировали в среднем через 15,6 (6–31) дня. Основными клиническими симптомами, выявляемыми у пациенток, были потеря обоняния (34,9%), гипертермия (33,3%) и кашель (51,5%). Бессимптомное течение COVID-19 зарегистрировано в 15 (22,7%) случаях. Легкое, среднее и тяжелое течение заболевания отмечено в 25 (38%), 20 (30,2%) и 6 (9,1%) случаях соответственно.

Все беременные получали низкомолекулярный гепарин и интерферон альфа-2b. Противомикробные препараты включали амоксициллин / клавулановую кислоту (46%) и макролиды (28%). В тяжелых случаях заболевания антибиотиками выбора были карбапенемы. Дополнительная оксигенация потребовалась в шести случаях (9%), из них в четырех (6%) случаях ее проводили в отделении интенсивной терапии и в двух (3%) — во время искусственной вентиляции легких. Назначали также кортикостероиды (дексаметазон 12 мг / сут. в течение 3–4 дней) и иммуноглобулиновую терапию (0,5 г / кг в течение 3–4 дней). Один случай материнской смерти от

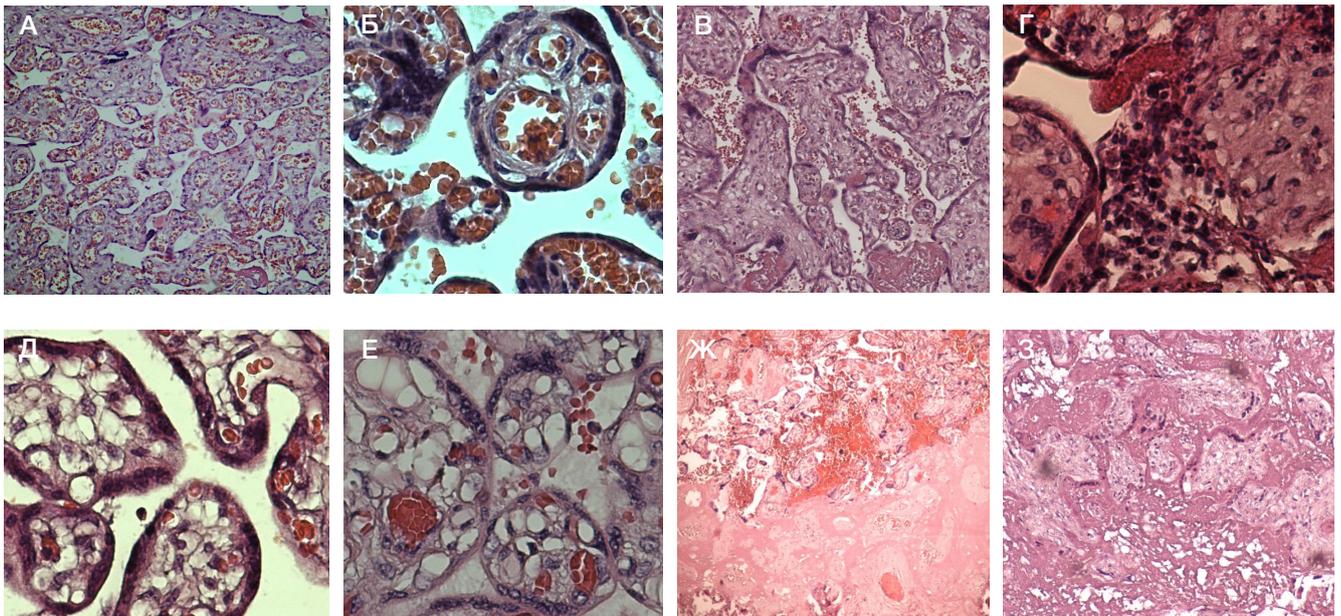


Рис. 1. Гистологические изменения ворсинчатого дерева плаценты у женщин, страдающих новой коронавирусной инфекцией. **А.** Плацента при неосложненной беременности, число сосудов в одной терминальной ворсине 3–7; $\times 40$. **Б.** Плацента при неосложненной беременности, число сосудов на одной терминальной ворсине 3–7; $\times 400$. **В.** Плацента пациенток с COVID-19; повышение количества депозитов плодного фибриноида; $\times 100$. **Г.** Плацента пациенток с COVID-19; очаговые скопления клеток воспалительного ряда (макрофагов, лимфоцитов с примесью плазмочитов и единичных нейтрофилов); $\times 400$. **Д.** Плацента пациенток с COVID-19; ангиогенез с преобладанием ветвления сосудов: увеличение числа капилляров в одной ворсине более 10 с уменьшением диаметра сосудов; обращает на себя внимание сохранение целостности мембран СЦТ. **Е.** Плацента пациенток с COVID-19; ангиогенез с преобладанием ветвления сосудов: увеличение числа капилляров в одной ворсине более 10 с уменьшением диаметра сосудов. **Ж.** Плацента пациенток с COVID-19; множественные инфаркты и кровоизлияния плацент, полученных от женщин, заболевших COVID-19. **З.** Плацента пациенток с COVID-19

тромбоэмболии легочной артерии и прогрессирования синдрома полиорганной дисфункции на фоне тяжелого гематологического заболевания произошел на 33-и сутки после госпитализации пациентки. Самопроизвольный выкидыш произошел на 21–22-й неделе беременности. Роды и пролонгирование беременности произошли в 42 (63,6%) и 20 (30,3%) случаях соответственно, самопроизвольные выкидыши — в четырех случаях (6,1%) из 66. Родоразрешение выполнено у 42 женщин, из которых восемь преждевременных (19%) и 34 доношенных (81%) родов. Кесарево сечение проведено в 17 (40,5%) случаях, вакуум-экстракция в связи с дистрессом плода — в двух (4,8%) случаях, нормальные роды через естественные родовые пути — в 23 случаях (54,7%). Средний вес при рождении составил 3283 ± 477 г, средняя длина — $52 \pm 2,75$ см. Новорожденные были оценены по шкале Апгар на первой минуте ($7,8 \pm 0,6$) и пятой минуте ($8,7 \pm 0,5$). Случаев COVID-19 у новорожденных не зарегистрировано. Новорожденные сразу после рождения были изолированы от их матерей, пока мать не получила два отрицательных результата теста на SARS-CoV-2. После получения отрицательных результатов ПЦР женщины возобновляли кормление грудью. Все новорожденные были протестированы на SARS-CoV-2 сразу после рождения, а также на третий и 10-й дни после рождения. Все новорожденные получили отрицательные результаты анализов, которые могут свидетельствовать об отсутствии вертикальной передачи инфекции.

Образцы ткани плаценты от 42 пациенток, родоразрешенных в «красной зоне», одной пациентки с летальным исходом и 40 условно здоровых пациенток группы сравнения были направлены для дальнейшего гистологического и ИГХ-исследований в патологоанатомическое отделение. При гистологическом исследовании у пациенток с COVID-19 было зафиксировано меньшее, чем следовало ожидать, число воспалительных

заболеваний плаценты (пуповины, плодных оболочек и ворсинчатого дерева) (менее 10%). При этом преобладали очаговые формы виллитов (поражения >3 полей зрения из 10 при 200-кратном увеличении микроскопа), которые выявлялись только при ИГХ-окрашивании с антителами к CD4 (маркер лимфоцитов и макрофагов) (рис. 1А–Е и 2А–Г). При углубленном анализе сочетанных изменений плаценты у пациенток основной группы были выявлены достоверные различия ($p < 0,05$), которые проявлялись преобладанием гиперкапилляризации терминальных ворсин (средней и тяжелой степени) или патологической незрелости ворсинчатого дерева (см. рис. 1А–Е). Гистологическая картина ворсинчатого дерева у пациенток с COVID-19 соответствовала разветвленному ангиогенезу (ангиогенезу с преобладанием ветвления сосудов) (23 и 32 балла по шкале Berniske, Kaufman, 2006) умеренной и выраженной и степени, что свидетельствует о вовлечении компенсаторных механизмов и чаще характерно для внутриутробной гипоксии. Число инфарктов ворсинчатого дерева в группе пациенток, заболевших новой коронавирусной инфекцией, было значимо выше и в основном связано с тяжелыми формами ($p < 0,05$) (см. рис. 1А–Е). Число межворсинчатых кровоизлияний и тромбов в просвете сосудов имело тенденцию к повышению (см. рис. 1А–Е). В плаценте женщины, страдавшей лейкозом (случай с летальным исходом), было поражено до 90% ворсинчатого дерева среди полей инфарктов, множественных кровоизлияний и гематом (субамниотические, межворсинчатые, ретрохориальные), депозитов массивных отложений плодного фибриноида, среди которых различались только единичные ворсины, часть из них — с дистрофическими изменениями (см. рис. 1А–Е). Наряду с этим у пациенток с COVID-19, дети которых родились здоровыми, при анализе ворсинчатого дерева плаценты и степени повреждения СЦТ ворсин отмечено сохранение мембран СЦТ и отсутствие слущивания

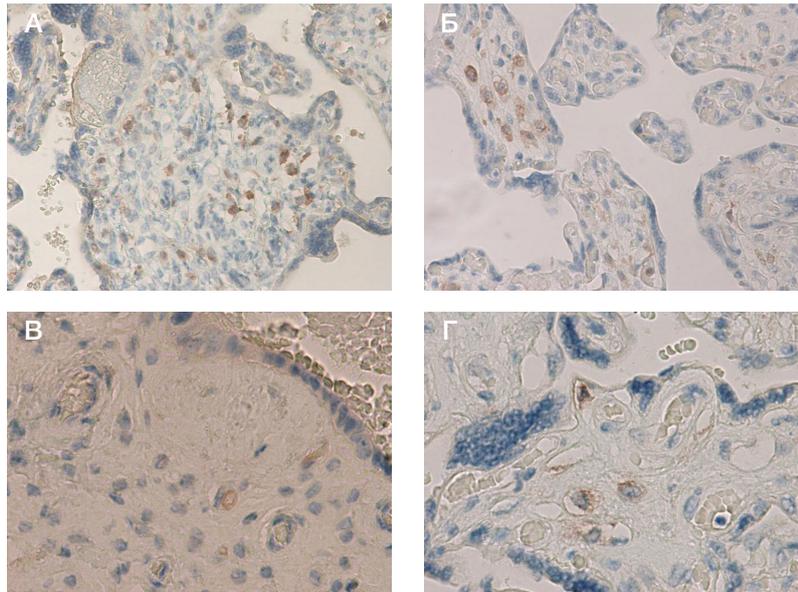


Рис. 2. Экспрессия CD4 в ткани плаценты пациенток с COVID-19 и в группе сравнения. **А.** Очаговое повышение количества CD4⁺ макрофагов и лимфоцитов в строме ворсин у пациенток с COVID-19; $\times 200$. **Б.** Очаговое повышение количества CD4⁺ макрофагов и лимфоцитов в строме ворсин у пациенток с COVID-19; $\times 200$. **В.** Очаговое повышение количества CD4⁺ макрофагов и лимфоцитов в строме ворсин у пациенток с COVID-19; $\times 400$. **Г.** CD4⁺ макрофаги в строме ворсин при неосложненной беременности; $\times 400$

клеток с поверхности ворсины. На наш взгляд, имеет ключевое значение тот факт, что у женщин с COVID-19 степень повреждения трофобласта была менее 10%, т. е. соответствует нормальным показателям [7] и при попадании в материнский кровоток разрушенные компартменты трофобласта не инициируют запуск системного воспалительного ответа матери, имеющего место при преэклампсии. При оценке результатов ИГХ-исследования с первичными антителами к N-белку SARS-CoV-2 обращало внимание отсутствие окрашивания большинства ворсин плаценты у женщин, страдающих легкими формами. У женщин со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания выявлено очаговое окрашивание мембраны

и цитоплазмы отдельных ворсин СЦТ, синцитиальных узелков, мелких участков базальной мембраны, эндотелия отдельных сосудов ворсин, макрофагов (рис. 3А–Е). В плодных оболочках и пуповине вирусных частиц обнаружено не было. Напротив, у пациентки, страдавшей лейкозом (случай с летальным исходом), среди полей инфарктов и кровоизлияний различались единичные ворсины с положительным окрашиванием антителами к вирусу (рис. 3; *темно-окрашенные участки*). Положительно окрашенные участки соответствовали контуру СЦТ ворсин, часть ворсин были дистрофически изменены и замурованы в плодный фибриноид (см. рис. 3А–Е). Таким образом, плодный фибриноид, образующийся в месте

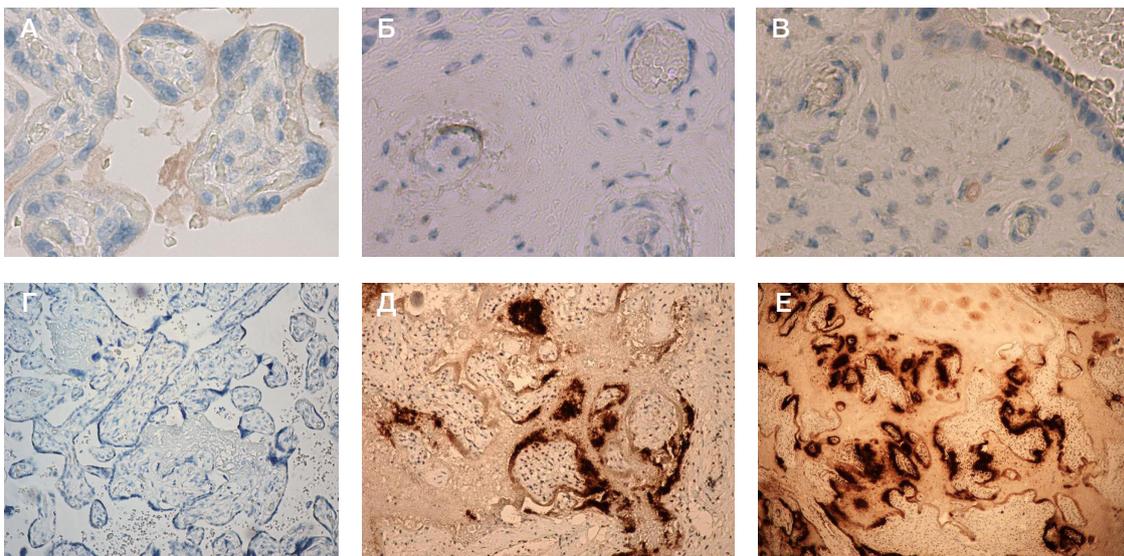


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование с первичными антителами к SARS-CoV-2 в ткани плаценты. **А.** Слабое окрашивание мембраны СЦТ и плодного фибриноида в плаценте пациенток с COVID-19, обращает на себя внимание целостность мембраны СЦТ, $\times 200$. **Б.** Очаговое слабое окрашивание эндотелия отдельных сосудов ворсин; $\times 400$. **В.** Слабое окрашивание мембраны СЦТ и плодного фибриноида в плаценте пациенток, заболевших COVID-19; обращает на себя внимание целостность мембраны СЦТ, $\times 200$; очаговое слабое окрашивание эндотелия отдельных сосудов ворсин; $\times 400$. **Г.** Негативное окрашивание. Плацента женщины, не болевшей COVID-19; $\times 100$. **Д.** Выраженное положительное окрашивание скоплений вирусных частиц по периметру дистрофически измененной ворсины. Плацента женщины, страдавшей острым лейкозом, умершей от COVID-19. Плод погиб на 20-й неделе внутриутробно от плацентарной недостаточности. Определяются окрашенные клетки воспалительного ряда: лимфоциты, макрофаги; $\times 100$. **Е.** Выраженное положительное окрашивание скоплений вирусных частиц по периметру дистрофически измененной ворсины. Плацента женщины, страдавшей острым лейкозом, умершей от COVID-19. Плод погиб на 20-й неделе внутриутробно от плацентарной недостаточности; $\times 40$

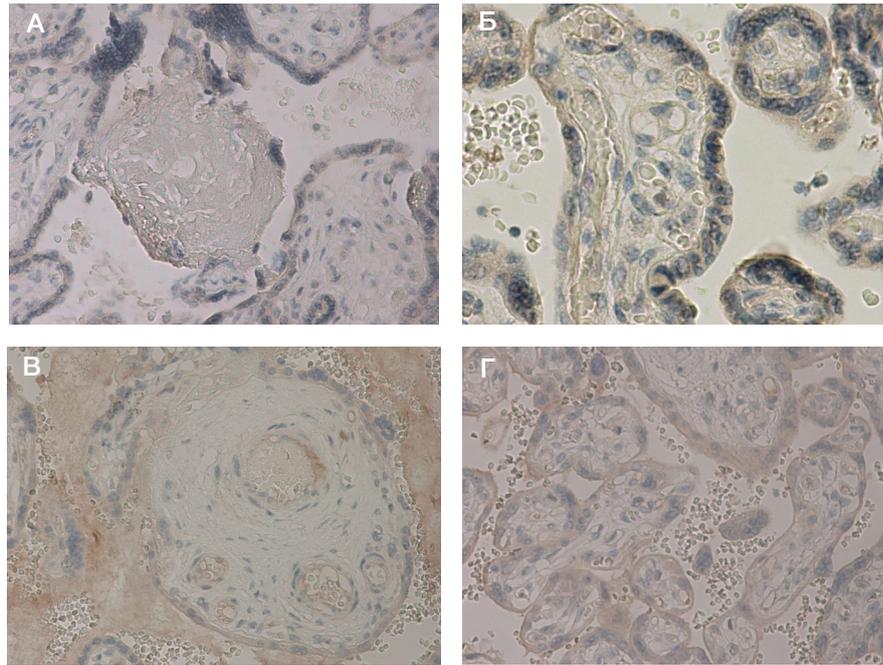


Рис. 4. Экспрессия TNF α в ткани плаценты пациенток с COVID-19 и в группе сравнения. **А.** Экспрессия TNF α в структурах плаценты при неосложненной беременности, присутствует слабое окрашивание мембраны и цитотрофобласты СЦТ, а также эндотелия сосудов; плодный фибриноид не окрашен; $\times 100$. **Б.** Экспрессия TNF α в структурах плаценты при неосложненной беременности, присутствует слабое окрашивание мембраны и цитотрофобласты СЦТ, а также эндотелия сосудов; плодный фибриноид не окрашен; $\times 200$. **В.** Экспрессия TNF α в структурах плаценты у женщин с COVID-19. Присутствует слабое окрашивание в эндотелии сосудов; плодный фибриноид положительно окрашен; $\times 200$. **Г.** Экспрессия TNF α в структурах плаценты у женщин с COVID-19. Присутствует слабое окрашивание в эндотелии сосудов (рис. В); а также в мембране и цитоплазме СЦТ и синцитильных узелках (рис. Г); плодный фибриноид положительно окрашен (рис. В); $\times 200$

повреждения ворсинчатого дерева преимущественно из коагулированных белков плазмы, функциональная роль которого заключается в разобщении материнского и фетального кровотока при повреждении плаценты, при попадании вирусных частиц в межворсинчатое пространство стремится локализовать и инактивировать

вирусные частицы, чтобы они не попали в кровоток плода. В сосудах плацент пациенток с COVID-19, дети которых родились здоровыми, отсутствовали васкулиты и периваскулиты, что противоречит данным о поражении легких и других внутренних органов в результате гранулематозного поражения, о которых писали ряд

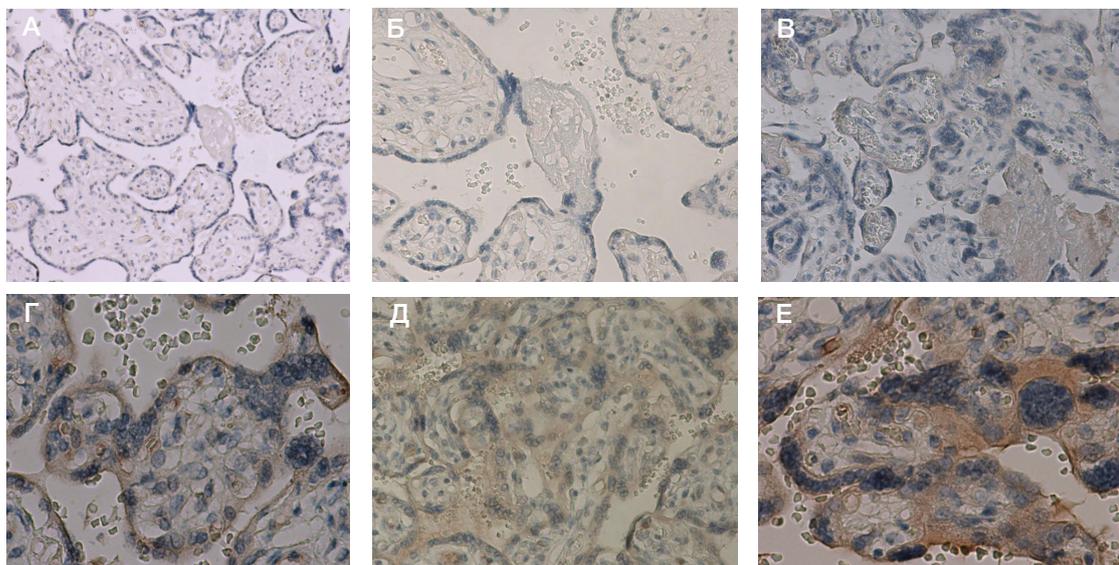


Рис. 5. Экспрессия IL8 в ткани плаценты пациенток с COVID-19 и в группе сравнения. **А.** Экспрессия IL8 в структурах плаценты при неосложненной беременности, присутствует слабое окрашивание мембраны и цитотрофобласты СЦТ, а также эндотелия сосудов; плодный фибриноид не окрашен; $\times 100$. **Б.** Экспрессия IL8 в структурах плаценты при неосложненной беременности, присутствует слабое окрашивание мембраны и цитотрофобласты СЦТ, а также эндотелия сосудов; плодный фибриноид не окрашен; $\times 200$. **В.** Экспрессия IL8 в структурах плаценты у женщин с COVID-19; экспрессия IL8 при легком течении заболевания: присутствует слабое окрашивание преимущественно в мембране и цитоплазме СЦТ; плодный фибриноид слабо окрашен; $\times 100$. **Г.** Экспрессия IL8 в структурах плаценты у женщин с COVID-19; экспрессия IL8 при среднетяжелом течении заболевания: более выраженное окрашивание в структурах плаценты, преимущественно в СЦТ; плодный фибриноид интенсивно окрашен; некоторые ворсины замурованы в плодный фибриноид; $\times 400$. **Д.** Экспрессия IL8 в структурах плаценты у женщин с COVID-19; экспрессия IL8 при среднетяжелом течении заболевания: более выраженное окрашивание в структурах плаценты, преимущественно в СЦТ; плодный фибриноид интенсивно окрашен; некоторые ворсины замурованы в плодный фибриноид; $\times 200$. **Е.** Экспрессия IL8 при среднетяжелом течении заболевания: более выраженное окрашивание в структурах плаценты, преимущественно в СЦТ; плодный фибриноид интенсивно окрашен; некоторые ворсины замурованы в плодный фибриноид

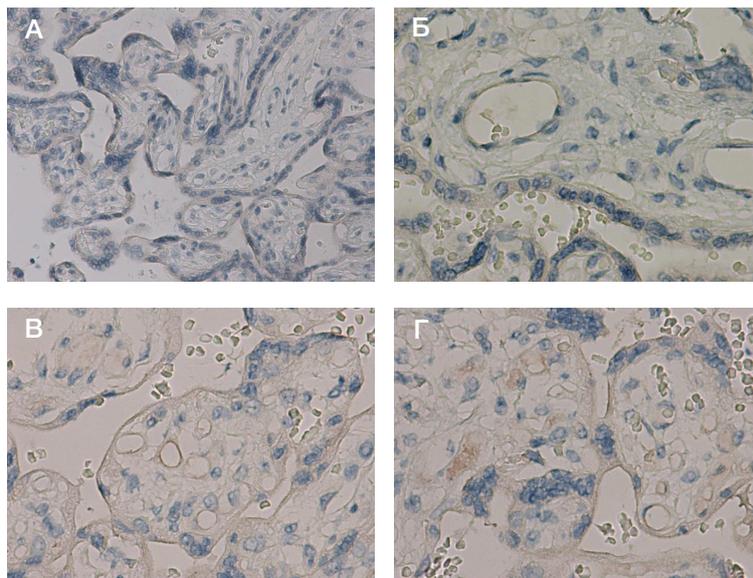


Рис. 6. Экспрессия противовоспалительного медиатора IL4 в ворсинах плаценты у пациенток с COVID-19 и в группе сравнения. **А.** Экспрессия IL4 в структурах плаценты при неосложненной беременности; присутствует слабое окрашивание в СЦТ и эндотелии сосудов ворсин; $\times 100$. **Б.** Экспрессия IL4 в структурах плаценты при неосложненной беременности; присутствует слабое окрашивание в СЦТ и эндотелии сосудов ворсин; $\times 400$. **В.** Экспрессия IL4 в структурах плаценты у женщин с COVID-19: имеет место снижение окрашивания. **Г.** Экспрессия IL4 в структурах плаценты у женщин с COVID-19: имеет место снижение окрашивания

исследователей [8, 9]. При ИГХ-окрашивании первичными антителами к TNF α в основной группе было отмечено умеренное мембранное и цитоплазматическое окрашивание цито- и синцитиотрофобласта, цитоплазмы макрофагов и лимфоцитов, эпителия, а также синцитиальных узелков, являющихся зонами пролиферации трофобласта, вневорсинчатого цитотрофобласта и децидуальных клеток. Выраженное окрашивание было отмечено в межворсинчатом плодном фибриноиде (рис. 4А–Г), что указывает на высокий уровень провоспалительных маркеров в плазме крови, по сравнению с плацентой. При оценке IL8 присутствовало более выраженное окрашивание в указанных структурах, прежде всего в СЦТ (рис. 5А–Е). Как известно, СЦТ образует гемоплацентарный барьер, создающий основную преграду для внедрения вируса. Экспрессия противовоспалительного цитокина IL4 была снижена в плаценте пациенток основной группы, страдающих COVID-19 (рис. 6А–Г).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, при новой коронавирусной инфекции наблюдается повышение синтеза провоспалительных и снижение противовоспалительных цитокинов. Наиболее выраженное окрашивание имело место в депозитах плодного фибриноида. Следует отметить, что структуры плаценты, а не только клетки иммунной системы могут вырабатывать про- и противовоспалительные цитокины, в том числе при связывании с рецепторами врожденного иммунитета. Особо следует отметить, что если уровень провоспалительных маркеров был повышен в 5–10 раз в плазме («цитокиновый шторм»), то уровень их в плаценте был сопоставим с неосложненной беременностью. Наряду с этим, у пациенток с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 отмечалось повышение экспрессии в структурах плаценты провоспалительных факторов (TNF α , IL8) и снижение противовоспалительных (IL4).

Одна из важных причин нарушения кровотока в пуповине — формирование тромбов и сладжей в сосудах пуповины и хориона, или плодовая тромботическая

васкулопатия [10, 11]. Гиперкапилляризация терминальных ворсин является компенсаторным механизмом при гипоксии, что связывают с повышением ангиогенных факторов, в том числе VEGF, способствующих росту новых сосудов. При наличии гиперкапилляризации терминальных ворсин выраженной степени (32–33 балла по шкале) [12] происходит перестройка ангиогенеза, что обуславливает замедление микроциркуляции и фетоплацентарного кровотока, ввиду этого агрегация тромбоцитов в просвете капилляров повышается, образуются микротромбы. Усиление этих процессов приводит к очаговому фиброзу стромы ворсин, и изменения, которые первоначально были направлены на компенсацию негативного влияния гипоксии, способствуют постепенному переходу в стадию декомпенсации. В нашем исследовании у пациенток основной группы умеренная и тяжелая степень гиперкапилляризации терминальных мембран встречалась значительно чаще, чем в группе сравнения. В результате исследования в основной группе по сравнению с контрольной нами отмечены более высокий процент инфарктов, наличие тромбозов хориальных сосудов, межворсинчатых и субамниотических гематом. Кроме механических факторов, причиной образования тромбов является нарушение реологических свойств крови с замедлением кровотока по сосудам, уменьшение диаметра сосудов, а также нарушения в системе свертывания крови — все это характерно для новой коронавирусной инфекции. Морфологические особенности состояния плаценты указывают на то, что острая гипоксия плода в родах развивалась в тех наблюдениях, когда в течение беременности в системе «мать–плацента–плод» имела место хроническая кислородная недостаточность или воздействовал другой повреждающий фактор [13, 14]. В результате происходила перестройка ворсинчатого дерева и развивалась субклиническая плацентарная недостаточность. Воздействие дополнительных триггерных факторов в родах (сократительная активность матки, сдавление пуповины и др.) вызывало декомпенсацию с развитием клинической картины острой гипоксии плода.

При оценке данных ИГХ-исследования не было отмечено значимого повышения провоспалительных маркеров на фоне снижения противовоспалительных при тяжелой и среднетяжелой инфекции.

ВЫВОДЫ

В связи с достижениями иммунологии и расширением представлений о механизмах врожденного и приобретенного иммунитета в последнее десятилетие все больший интерес вызывает изучение индивидуальных различий иммунного ответа при инфекционно-воспалительных заболеваниях. Наиболее продуктивны в этом плане исследования различий реакции иммунной системы у особой с преобладанием Th1 или Th2-типа иммунного ответа, который во многом определяет клинико-морфологические и иммунологические особенности воспалительного процесса. Таким образом, беременность можно рассматривать как фактор, способствующий более благоприятному течению COVID-19. Выявленный в нашем исследовании более высокий процент гипоксии в родах может быть связан с нарушениями в системе свертывания крови и быть следствием более высокого процента тромбозов хориальных сосудов, наличия межворсинчатых

и субамниотических, ретрохориальных гематом, а также инфарктов ворсинчатого дерева. Плацента представляет собой «подушку безопасности» для плода, и при отсутствии повреждения гемоплацентарного барьера плод защищен от COVID-19. Однако в определенных условиях при «прорыве» гемоплацентарного барьера новая коронавирусная инфекция может быть опасна для плода, вызывая изменения по типу «цитокинового шторма». Плацента максимально снижет нагрузку на плод. Подавляющее большинство детей рождается здоровыми и уровень провоспалительных цитокинов в плаценте сопоставим с его уровнем в группе сравнения. Неповрежденная плацента и гемоплацентарный барьер защищают будущего ребенка от инфекции, а влияние на развитие ребенка минимально. Учитывая более высокий процент гипоксии в родах у детей от матерей, заболевших COVID-19, следует выбирать акушерскую тактику индивидуально с учетом факторов риска и проведением в родах непрерывной кардиотокографии плода. Целесообразно выполнять ИГХ-исследование образцов плаценты родильниц с подозрением на перенесенную новую коронавирусную инфекцию, с первичными антителами к вирусу Sars-CoV-2, для уточнения тактики ведения новорожденного и прогноза возможных неонатальных осложнений.

Литература

- Zhu H, Wang L, Fang C, Peng S, Zhang L, Chang G, et al. Clinical analysis of 10 neonates born to mothers with 2019-nCoV pneumonia. *Transl Pediatr.* 2020; 9 (1): 51–60. DOI: 10.21037/tp.2020.02.06.
- Liu Y, Chen H, Tang K, Guo Y. Clinical manifestations and outcome of SARS-CoV-2 infection during pregnancy. *J Infect.* 2020; DOI: 10.1016/j.jinf.2020.02.028.
- Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endothelitis in COVID-19. *Lancet.* 2020; 395 (10234): 1417–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
- Dashraath P, Wong JLJ, Lim MXK, Lim LM, Li S, Biswas A, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 222 (6): 521–31. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.03.021.
- Schwartz DA, Graham AL. 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.* 2020; 12 (2): 194. DOI: 10.3390/v12020194.
- Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *Lancet.* 2020; 395 (10226): 809–15. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30360-3.
- Баев О. Р., Карапетян А. О., Низяева Н. В., Садекова А. А., Красный А. М. Содержание внеклеточной ДНК плода в материнской крови и экспрессия ДНК-распознающих ZBP-1 рецепторов в структурах плаценты при преэклампсии и преждевременных родах. 2019; 3: 179–84.
- Becker RC, et al. COVID-19-associated vasculitis and vasculopathy. *Journal of thrombosis and thrombolysis.* 2020; 50 (3): 499–511. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02230-4>.
- Hosier H, Farhadian SF, et al. SARS-CoV-2 infection of the placenta. 2020; *J Clin Invest.* 2020; 130 (9): 4947–53. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI139569>.
- Issa AH, Jaber BMS. Evaluation of predictive ability for the indicator of natal cord coils of the pregnant women. *World J Pharm Res.* 2019; 8 (5): 197–208.
- Бицадзе В. О., Макацария А. Д., Хизроева Д. Х., Макацария Н. А., Яшенина Е. В., Казакова Л. А. Тромбофилия как важнейшее звено патогенеза осложнений беременности. *Практическая медицина.* 2012; 9 (65): 24–31.
- Shchyogolev AI, Dubova EA, Pavlov KA, Lyapin VM, Kulikova GV, Shmakov RG. Morphometric characteristics of terminal villi of the placenta in preeclampsia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2013; 154 (1): 92–95.
- Низяева Н. В., Приходько А. М., Евграфова А. В., Тысячный О. В., Баев О. Р. Клинико-морфологические особенности плаценты при острой внутриутробной гипоксии в родах. *Акушерство и гинекология.* 2019; 12: 9–104. Доступно по ссылке: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.12.96-104>.
- Hcini N, Maamri F, Picone O, Carod JF, Lambert V, Mathieu M, et al. Maternal, fetal and neonatal outcomes of large series of SARS-CoV-2 positive pregnancies in peripartum period: A single-center prospective comparative study. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology.* 2020; 257: 11–18. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.11.068>.

References

- Zhu H, Wang L, Fang C, Peng S, Zhang L, Chang G, et al. Clinical analysis of 10 neonates born to mothers with 2019-nCoV pneumonia. *Transl Pediatr.* 2020; 9 (1): 51–60. DOI: 10.21037/tp.2020.02.06.
- Liu Y, Chen H, Tang K, Guo Y. Clinical manifestations and outcome of SARS-CoV-2 infection during pregnancy. *J Infect.* 2020; DOI: 10.1016/j.jinf.2020.02.028.
- Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endothelitis in COVID-19. *Lancet.* 2020; 395 (10234): 1417–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
- Dashraath P, Wong JLJ, Lim MXK, Lim LM, Li S, Biswas A, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 222 (6): 521–31. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.03.021.

5. Schwartz DA, Graham AL. 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*. 2020; 12 (2): 194. DOI: 10.3390/v12020194.
6. Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *Lancet*. 2020; 395 (10226): 809–15. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30360-3.
7. Baev OR, Karapetyan AO, Nizyaeva NV, Sadekova AA, Krasny AM. Soderzhanie vnekletochnoj DNK ploda v materinskoj krovi i jekspressija DNK-raspoznajushhijh ZBP-1 receptorov v strukture placenty pri prejeklampsii i prezhdevremennyh rodah. 2019; 3: 179–84. Russian.
8. Becker RC, et al. COVID-19-associated vasculitis and vasculopathy. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 2020; 50 (3): 499–511. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02230-4>.
9. Hosier H, Farhadian SF, et al. SARS-CoV-2 infection of the placenta. 2020; *J Clin Invest*. 2020; 130 (9): 4947–53. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI139569>.
10. Issa AH, Jaber BMS. Evaluation of predictive ability for the indicator of natal cord coils of the pregnant women. *World J Pharm Res*. 2019; 8 (5): 197–208.
11. Bitsadze VO, Makatsariya AD, Hizroeva DH, Makatsariya NA, Yashenina EV, Kazakova LA. Thrombophilia as the most important link of the pathogenesis of pregnancy complications. *Practical medicine*. 2012; 9 (65): 24–31. Russian.
12. Shchyogolev AI, Dubova EA, Pavlov KA, Lyapin VM, Kulikova GV, Shmakov RG. Morphometric characteristics of terminal villi of the placenta in preeclampsia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013; 154 (1): 92–95.
13. Nizyaeva NV, Prihodko AM, Evgrafova AV, Tsyachny OV, Baev OR. Kliniko-morfologicheskie osobennosti placenty pri ostroj vnutriutrobnoj gipoksii v rodah. *Akusherstvo i ginekologija*. 2019; 12: 96–104. Dostupno po ssylke: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.12.96-104>. Russian.
14. Hcini N, Maamri F, Picone O, Carod JF, Lambert V, Mathieu M, et al. Maternal, fetal and neonatal outcomes of large series of SARS-CoV-2 positive pregnancies in peripartum period: A single-center prospective comparative study. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2020; 257: 11–18. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.11.068>.