

Імунний гомеостаз жінки після грипу, перенесеного на ранніх термінах вагітності

А.Д. Деркач

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика,
м. Київ

Для успішної вагітності необхідний оптимально налаштований і добре регульований баланс між активацією імунітету та ембріональною толерантністю до антигенів. Природні кілери НК-лімфоцити відіграють ключову роль у цих процесах.

Мета дослідження: вивчення особливостей імунітету вагітних після перенесеного грипу на ранніх термінах гестації на підставі визначення НК-цитотоксичності.

Матеріали та методи. Обстежено 120 жінок, що переохворіли на грип у I триместрі вагітності: основна група – 68 пацієнток з плацентарною дисфункцією, група порівняння – 52 вагітні без ознак плацентарної недостатності. Також 50 вагітних увійшли в контрольну групу.

Цитотоксичність природних кілерів оцінювали за допомогою проточної цитометрії. Проведено статистичне оброблення з використанням методів варіаційної статистики (критерій Манна–Уїтні та критерій Фішера) відношення шансів (ВШ).

Результати. Для жінок з плацентарною недостатністю після грипу, перенесеного на ранніх термінах вагітності, характерно як підвищення, так і зниження НК-цитотоксичності, що збільшує ризик розвитку плацентарної недостатності у кілька разів (від 2,87 до 5,03 за ВШ залежно від того, враховується один показник або їхня комбінація).

Найбільше прогностичне значення має фактор «відхилення від норми обох показників» (ВШ=5,03; 95% ДІ: 1,38–18,32; $p<0,05$). Водночас збільшення показників, яке свідчить про високий прозапальний потенціал та потенційно пошкоджуючий вплив НК-клітин, має вищу прогностичну цінність. Серед жінок з плацентарною недостатністю частка із суттєво вищими рівнями НК-цитотоксичності була найбільшою, а саме: 18 (26,5%) проти 5 (9,6%) пацієнток групи порівняння ($p<0,05$).

Заключення. Надмірна запальна реакція у сукупності з підвищенням НК-цитотоксичності справляє пошкоджуючий вплив на ендотелій, а зниження імунних реакцій обумовлює триваліший перебіг грипу та недостатній імунний контроль процесів інвазії трофобласту.

Отже, у вагітних після грипу, перенесеного на ранніх термінах, відзначені порушення імунної регуляції, які при сукупному впливі з можливими порушеннями гормональної регуляції, обумовлюють формування плацентарної дисфункції та високу частоту перинатальних ускладнень.

Ключові слова: вагітність, грип, плацентарна недостатність, НК-цитотоксичність.

Для успішного перебігу вагітності необхідний оптимально налаштований і добре регульований баланс між активацією імунітету та ембріональною толерантністю до антигенів. Оскільки плід є напівалогенним, імунна система матері повинна проявляти толерантність до плода, зберігаючи при цьому можливість захисту від інфекції.

Материнсько-плодовий інтерфейс складається з різних імунних клітин, таких, як клітини природних кілерів (NK), децидуальні клітини природних кілерів (dNK), макрофаги, Т-клітини, дендритні клітини, В-клітини та інше. Взаємодія між імунними клітинами, децидуальними, стромальними клітинами та трофобластами становить широко мережу клітинних зв'язків. Природні кілери NK-лімфоцити відіграють ключову роль у цих процесах.

Клітинний імунологічний дисбаланс може призвести до несприятливих наслідків вагітності, таких, як звичне невиношування, прееклампсія, передчасні пологи, затримка росту плода та вроджене інфікування. Динамічні зміни в імунних клітинах на материнсько-плодовому інтерфейсі чітко не визначені [1].

А.Е. Веєг [2] засвідчив, що пацієнтки з підвищеним рівнем NK-клітин (навіть у фізіологічних межах) мають більший ризик розвитку мимовільного переривання вагітності щодо жінок з нижчим рівнем. Деякі автори [3] у клінічних дослідженнях не підтвердили цю гіпотезу. Вітчизняні дослідники пояснюють це важливістю не лише підвищення кількості NK-клітин, а так звану акцентуацією імунної системи, тобто сполученням декількох факторів, серед яких NK-цитотоксичність, експресія активаційних маркерів CD69, HLA-DR на Т- та NK-клітинах, експресія KIR-рецепторів (рецептори пригнічення цитотоксичності), кількості регуляторних Т-клітин, продукції γ -інтерферону та фактора некрозу пухлини- α [4].

Посилення активності NK-клітин на початку вагітності пояснюють прозапальним фенотипом гестації (зокрема змінами цитокинового профілю), батьківськими антигенами плода, гормональними змінами [5, 6].

Епідемії та пандемії грипу та грипоподібних вірусних інфекцій останніх двох десятиліть виявили, що вагітні значно частіше потерпають від несприятливих наслідків цих інфекцій та мають вищу летальність, ніж загальна популяція. Отже, визначення механізмів, що зумовлюють ці процеси, є актуальною науковою проблемою [7].

При зараженні вірусом грипу периферичні клітин NK у легенях є однією з перших ліній захисту [8]. Хоча окремі NK-клітини, стимульовані цитокінами або хімічними речовинами, зменшують активність при вагітності, є дані, що реакція NK-клітин на клітини, інфіковані грипом, посилюється під час вагітності [9]. Ця посилена чутливість може бути одним із факторів пошкодження легенів, що було підтверджено в експерименті [10].

Littauer зі співавторами висловили припущення, що вроджені імунні реакції відіграють певну роль в ініціюванні ускладнень вагітності, таких, як передчасні пологи та мертвонародження після інфікування вірусом грипу. Думка про те, що посилена реакція на NK-клітини може викликати ускладнення у вагітних, узгоджується з результатами досліджень, які продемонстрували важливу роль гіперзапальних реакцій внаслідок тяжких наслідків грипу [11].

Мета дослідження: вивчення особливостей імунітету вагітних після перенесеного грипу на ранніх термінах гестації на підставі визначення NK-цитотоксичності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 120 жінок, що перехворіли на грип у I триместрі вагітності. Пацієнок було розподілено на три групи:

- основна група – 68 пацієнок з фетоплацентарною дисфункцією,
- група порівняння – 52 вагітні без ознак фетоплацентарної недостатності,
- контрольна група – 50 вагітних.

Цитотоксичність природних кілерів оцінювали за допомогою проточної цитометрії. Використовували два показники цитотоксичності природних кілерів (NK) у співвідношенні клітина-мішень – клітина-ефектор 1:10 та 1:20. NK лізис 1:10 >30%; NK лізис 1:20 >40%.

Кількісні змінні подані у вигляді медіани (Med) та інтерквартильного розмаху [LQ; UQ]. Категоріальні змінні представлені як абсолютне число випадків у групі та частота у відсотках n (%). Відмінності між вибірками для змінних здійснювали за допомогою рангового критерію Манна-Уїтні, для категоріальних змінних – за допомогою точного критерію Фішера. Критичним вважали рівень значущості $p=0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження NK-цитотоксичності продемонструвало, що у вагітних після перенесеного грипу, у яких пізніше розвинулась плацентарна дисфункція, медіанні значення обох показників (лізис 1:10 та 1:20) були достовірно вищими щодо показників контрольної групи ($p<0,05$), а NK лізис 1:20 вище і відносно групи порівняння (табл. 1).

Широкий інтерквартильний інтервал та припущення, що як зниження, так і підвищення показників на початку вагітності, може мати негативний вплив на подальший її перебіг, спонукали визначити частку пацієнок по групах зі зниженим та збільшеним рівнем NK-цитотоксичності (табл. 2). Виявлена достовірно вища частота як підвищення, так і зниження показника при NK лізисі 1:20 та одночасної зміни обох показників при дещо вищій частоті збільшення щодо референтних значень.

Нормальні показники NK-цитотоксичності за обома показниками (рисунки) виявлені у 39 (57,4%) і 44 (84,6%) жінок з плацентарною недостатністю та без неї відповідно після перенесеного грипу ($p<0,05$) проти 45 (90,0%) вагітних контрольної групи ($p<0,05$ щодо основної групи).

Водночас серед жінок з плацентарною недостатністю частка із суттєво вищими рівнями NK-цитотоксичності була найбільшою, а саме: 18 (26,5%) проти 5 (9,6%) пацієнок ($p<0,05$). Звертає увагу і достовірно вища частота зниження цитотоксичності у пацієнок, вагітність яких пізніше ускладнилась плацентарною недостатністю (16,1 проти 5,7% у групі порівняння; $p<0,05$), тоді як у контрольній групі зниження за одним показником зафіксували лише в одній вагітній (2,0%).

Таблиця 1

Показники NK-цитотоксичності, Med [LQ; UQ]

Показник NK-цитотоксичності, %	Група		
	Основна група, n=68	Група порівняння, n=52	Контрольна група, n=50
NK лізис 1:10	24 [12; 28]*	18 [16; 24]	16 [14; 22]
NK лізис 1:20	33 [25; 38]*.#	26 [20; 32]	24 [21; 30]

Примітка: * – різниця достовірна щодо показника жінок контрольної групи ($p<0,05$);

– різниця достовірна щодо показника жінок групи порівняння ($p<0,05$).

Таблиця 2

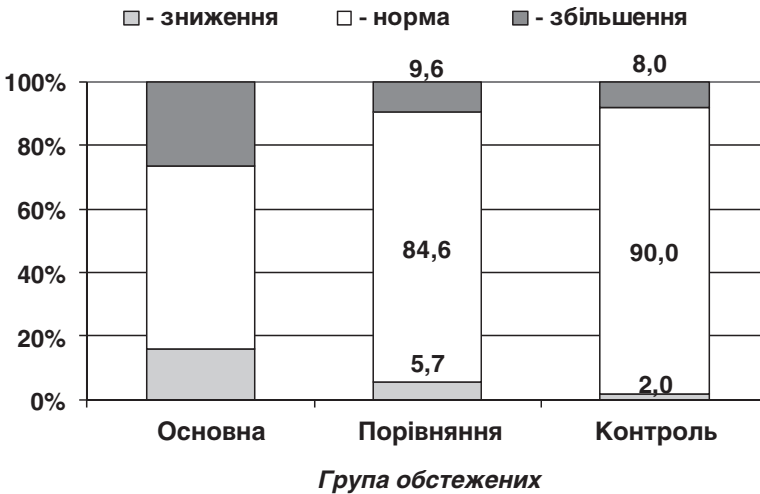
Частка обстежених жінок у групах з відхиленням показників НК-цитотоксичності

Значення показника НК-цитотоксичності, %	Група					
	Основна група, n=68		Група порівняння, n=52		Контрольна група, n=50	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
НК лізис 1:10						
- зменшення (<10)	7	10,2	2	3,8	-	-
- збільшення (>30)	13	19,1 ^{*,#}	3	5,8	2	4,0
НК лізис 1:20						
- зменшення (<15)	10	16,6 ^{*,#}	2	3,8	1	2,0
- збільшення (>40)	15	22,1 ^{*,#}	4	7,7	3	6,0
Одночасна зміна обох показників						
- зменшення	6	8,8 [#]	1	1,9	-	-
- збільшення	10	14,7 ^{*,#}	2	3,8	1	2,0

Примітки: * – різниця достовірна щодо показника жінок контрольної групи ($p < 0,05$);

– різниця достовірна щодо показника жінок групи порівняння ($p < 0,05$).

Отже, для жінок з плацентарною недостатністю після грипу, перенесеного на ранніх термінах вагітності, характерно як підвищення, так і зниження НК-цитотоксичності. При цьому показники жінок після грипу без плацентарної недостатності суттєво не відрізняються від показників вагітних без грипу з фізіологічним перебігом вагітності.



Розподіл жінок у групах за показниками НК-цитотоксичності, %

Показник НК-цитотоксичності є одночасно функцією від НК-активності, загальної частки НК-клітин та збагаченням зразка мононуклеарів моноцитами, позитивно корелює з рівнем експресії CD69 на НК після сумісної інкубації [12]. Як гіпо-, так і гіперцитотоксичність НК-клітин, яка свідчать про порушення регуляції імунітету, можуть обумовлювати більш тяжкі прояви грипу, порушення процесів плацентарної у ранніх термінах вагітності та плацентарну дисфункцію при подальшому розвитку гестації.

Для підтвердження ролі НК-цитотоксичності у виникненні плацентарної дисфункції розраховували відношення шансів за показниками НК-цитотоксичності (табл. 3). Дані табл. 3 свідчать, що як зниження, так і підвищення рівня НК-цитотоксичності підвищує ризик плацентарної недостатності у кілька разів (від 2,87 до 5,03 за ВШ залежно від того, враховується один показник чи їхня комбінація). Водночас збільшення показників щодо норми, що свідчить про високий прозапальний потенціал та потенційно пошкоджуючий вплив НК-клітин, має дещо вищу прогностичну цінність, ніж зниження. Найбільше прогностичне значення має фактор «відхилення від норми обох показників» (ВШ=5,03; 95% ДІ: 1,38–18,32; p<0,05).

Таблиця 3

Оцінювання ролі НК-цитотоксичності у виникненні плацентарної дисфункції

Показник НК-цитотоксичності (фактор ризику)	Основна група, n=68		Група порівняння, n=52		ВШ	95% ДІ
	Абс. число	%	Абс. число	%		
НК лізис 1:10						
- зниження (<10)	7	10,2	2	3,8	2,87	0,57-14,43
- норма	48	70,6*	47	90,4	0,26#	0,09-074
- підвищення (>30)	13	19,1*	3	5,8	3,86#	1,04-14,35
НК лізис 1:20						
- зниження (<15)	10	16,6*	2	3,8	4,31	0,90-20,61
- норма	43	63,2*	46		0,22#	0,08-0,6
- підвищення (>40)	15	22,1*	4	7,7	3,40#	1,05-10,94
Одночасна зміна обох показників						
- зниження	6	8,8*	1	1,9	4,93	0,58-42,34
- норма або зміна одного показника	52	76,5*	49	94,2	0,20#	0,06-0,73
- підвищення	10	14,7*	2	3,8	4,3	0,9-20,21
Зміна хоча б одного показника						
- зниження	11	16,1*	3	5,8	3,15	0,83-11,95
- норма	39	57,4*	44	84,6	0,25#	0,1-0,60
- - підвищення	18	26,5*	5	9,6	4,34#	1,47-12,75
Відхилення від норми обох показників	16	23,5*	3	5,8	5,03#	1,38-18,32
Відхилення від норми хоча б одного показника	29	42,6*	8	15,4	4,1#	1,67-10,0

Примітки: * – різниця достовірна щодо показника жінок групи порівняння (p<0,05); # – достовірність ВШ (p<0,05).

ВИСНОВКИ

Для жінок з плацентарною недостатністю після грипу, перенесеного на ранніх термінах вагітності, характерно як підвищення, так і зниження НК-цитотоксичності, що підвищує ризик плацентарної недостатності у кілька разів (від 2,87 до 5,03 за ВШ залежно від того, враховується один показник чи їхня комбінація). При цьому збільшення показників, яке свідчить про високий прозапальний потенціал та потенційно пошкоджуючий вплив НК-клітин, має дещо вищу прогностичну цінність, ніж зниження.

Надмірна запальна реакція у сукупності з підвищенням НК-цитотоксичності справляє пошкоджуючий вплив на ендотелій, а зниження імунних реакцій обумовлює триваліший перебіг грипу та недостатній імунний контроль процесів інвазії трофобласту. Отже, у вагітних після грипу, перенесеного на ранніх термінах, спостерігаються порушення імунної регуляції, які при сукупному впливі з можливими порушеннями гормональної регуляції, обумовлюють формування плацентарної дисфункції.

Виявлені фактори раннього ризику плацентарної дисфункції дають теоретичні підстави для розроблення методу прогнозування та патогенетично обґрунтованого профілактичного комплексу у даній категорії вагітних, що дозволить знизити частоту плацентарної недостатності та інших акушерських і перинатальних ускладнень.

Иммунный гомеостаз женщины после гриппа, перенесенного на ранних сроках беременности А.Д. Деркач

Для успешной беременности необходим оптимально настроенный и хорошо регулируемый баланс между активацией иммунитета и эмбриональной толерантностью к антигенам. Природные киллеры НК-лимфоциты играют ключевую роль в этих процессах.

Цель исследования: изучение особенностей иммунитета беременных после перенесенного гриппа на ранних сроках гестации на основании определения НК-цитотоксичности.

Материалы и методы. Обследованы 120 женщин, переболевших гриппом в I триместре беременности: основная группа – 68 пациенток с плацентарной дисфункцией, группа сравнения – 52 беременных без признаков плацентарной недостаточности. Также 50 беременных вошли в контрольную группу.

Цитотоксичность природных киллеров оценивали с помощью проточной цитометрии. Проведена статистическая обработка с использованием методов вариационной статистики (критерий Манна–Уитни и критерий Фишера) отношения шансов (ВШ).

Результаты. Для женщин с плацентарной недостаточностью после гриппа, перенесенного на ранних сроках беременности, характерно как повышение, так и снижение НК-цитотоксичности, что увеличивает риск развития плацентарной недостаточности в несколько раз (от 2,87 до 5,03 по ВШ в зависимости от того, учитывается один показатель или их комбинация).

Наибольшее прогностическое значение имеет фактор «отклонения от нормы обоих показателей» (ВШ=5,03; 95% ДИ: 1,38–18,32; $p<0,05$). В то же время увеличение показателей, свидетельствующее о высоком провоспалительном потенциале и потенциально повреждающем влиянии НК-клеток, имеет более высокую прогностическую ценность. Среди женщин с плацентарной недостаточностью доля с существенно более высокими уровнями НК-цитотоксичности была наибольшей, а именно: 18 (26,5%) и 5 (9,6%) пациенток группы сравнения соответственно ($p<0,05$).

Заключение. Чрезмерная воспалительная реакция в совокупности с повышением NK-цитотоксичности оказывает повреждающее влияние на эндотелий, а снижение иммунных реакций обуславливает более длительное течение гриппа и недостаточный иммунный контроль процессов инвазии трофобласта.

Следовательно, у беременных после гриппа, перенесенного на ранних сроках, отмечены нарушения иммунной регуляции, что при одновременном воздействии с возможными нарушениями гормональной регуляции, обуславливают формирование плацентарной дисфункции и высокую частоту перинатальных осложнений.

Ключевые слова: беременность, грипп, плацентарная недостаточность, NK-цитотоксичность.

Immune homeostasis of a woman after the influenza in early pregnancy A.D. Derkach

A successful pregnancy requires an optimally tuned and well-regulated balance between immune activation and embryonic antigen tolerance. Natural killers NK lymphocytes play a key role in these processes.

The objective: to study the characteristics of the immunity of pregnant women after influenza in the early stages of gestation on the basis of determining NK-cytotoxicity.

Materials and methods. We examined 120 women who contracted influenza in the first trimester of pregnancy: the main group – 68 patients with placental dysfunction, the comparison group – 52 pregnant women without signs of placental insufficiency. Також 50 вагітних увійшли в контрольну групу.

The cytotoxicity of natural killers was assessed by flow cytometry. Statistical processing was performed using the methods of variation statistics (Mann-Whitney test and Fisher's test) odds ratio (OR).

Results. Women with placental insufficiency after influenza in early pregnancy are characterized by both increased and decreased NK-cytotoxicity, which increases the risk of placental insufficiency several times (from 2.87 to 5.03 per OR, depending on one indicator or a combination thereof).

The factor "deviation from the norm of both indicators" has the greatest prognostic value (OR=5.03; 95% CI: 1.38–18.32; $p < 0.05$). At the same time, the increase, which indicates a high pro-inflammatory potential and potentially damaging effects of NK cells, has a higher prognostic value than the decrease: among women with placental insufficiency, the proportion with significantly higher levels of NK cytotoxicity was highest: 18 (26.5%) 5 (9.6%) patients of the comparison group ($p < 0.05$).

Conclusions. Excessive inflammatory response in combination with increased NK cytotoxicity, has a damaging effect on the endothelium, and reduced immune responses, causes a longer course of influenza and insufficient immune control of trophoblast invasion.

That is, in pregnant women after influenza, transmitted in the early stages, there are violations of immune regulation, which when combined with possible violations of hormonal regulation, cause the formation of placental dysfunction and a high frequency of perinatal complications.

Keywords: pregnancy, influenza, placental insufficiency, NK cytotoxicity.

Відомості про автора

Деркач Андрій Дмитрович – Кафедра акушерства, гінекології та репродуктології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ; тел.: (066) 545-96-63. E-mail: wolfrar1@gmail.com

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-8245-051X>

Information about the author

Derkach Andrii D. – Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, 04412, Kyiv, 9 Dorohozhytska Str.; tel.: (066) 545-96-63. *E-mail: wolfrar1@gmail.com*
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-8245-051X>

Сведения об авторе

Деркач Андрей Дмитриевич – Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии Национального университета здравоохранения Украины имени П.Л. Шупика, г. Киев; тел.: (066) 545-96-63. *E-mail: wolfrar1@gmail.com*
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-8245-051X>

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Seshadri S, Sunkara S. Natural killer cellsin female in fertility and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *HumanReproductionUpdate*. 2013;20(3):429-438. doi:10.1093/humupd/dmt056
2. Beer A.E., Kwak J.Y., Ruiz J.E. Immunophenotypic profile so fperipheral blood lymphocytesin women with recurrent pregnancy losses an dinin fertile women with multiplefailed in vitro fertilization cycles. *Am J Reprod Immunol*. 1996;35:376-382.
3. Chernyshov V.P., Dons'koi B.V., Sudoma I.O., Goncharova Y.O. Comparative study of immun eaccentuation spredicting IVF failureand IVG therapy success. *J ReprodImmuno*. 2014; 101; 37-38
4. Winger E.E., Reed J.L., Ashoush S., El-Toukhy T. Elevated Preconception CD56(+) 16(+) and/or Th1:Th2 Levels Predict Benefitfrom IVG Therapy in Subfertile Women Undergoing IVF. *Am J ReprodImmuno*. 2011; 66:394-403.
5. Kourtis AP, Read JS, Jamieson DJ. Pregnancy and infection. *N Engl J Med*. 2014; 370:2211–8. 10.1056/NEJMra1213566
6. Gars ML, Le Gars M, Kay AW, Bayless NL, Aziz N, Dekker CL, et al. . Increased pro in flammatory responses of monocytes and plasmacytoid dendritic cellsto influenza A virusin fection during pregnancy. *J InfectDis*. 2016; 214:1666–71. 10.1093/infdis/jiw448
7. Le Gars M, Seiler C, Kay AW, et al. Pregnancy-Induced Alterationsin NK Cell Phenotypeand Function. *Front Immunol*. 2019;10:2469. doi:10.3389/fimmu.2019.02469
8. Carlin LE, Hemann EA, Zacharias ZR, Heusel JW, Legge KL. Natural killer cellrecruitment to the lungduring influenza A virus infectionis dependent on CXCR3, CCR5, and virus exposure. *FrontImmunol*. 2018; 9:781. 10.3389/fimmu.2018.00781
9. Kay AW, Fukuyama J, Aziz N, Dekker CL, Mackey S, Swan GE, et al. . Enhanced natural killer-celland T-cell responsesto influenza A virus during pregnancy. *ProcNatlAcadSci USA*. 2014; 111:14506–11.
10. Kim HM, Kang YM, Song BM, Kim HS, Seo SH. The 2009 pandemic H1N1 influenza virusis more pathogenicin pregnantmice than seasonal H1N1 influenza virus. *Virallmmunol*. 2012; 25:402–10. 10.1089/vim.2012.0007
11. De Jong MD, Simmons CP, Thanh TT, Hien VM, Smith GJD, Chau TNB, et al. . Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viralload and hypercytokinemia. *NatMed*. 2006; 12:1203–7. 10.1038/nm1477
12. Donskoi B. V., Chernyshov V. P., Sirenko V. Yu., Strelko H. V., Osypchuk D. V. Effect of hypo-andhyper-accentuated NK-cellactivity on embryoimplantation. *Fiziolohichny zhurnal*. 2014; 60 (1): 56-63.