

Імунний фенотип вагітних, інфікованих парвовірусом В19, з неімунною водянкою плода: клінічні випадки

Н.П. Бондаренко, В.П. Лакатош, А.В. Аксьонова

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ
Перинатальний центр, м. Київ

У статті проаналізовано показники імунограм вагітних у трьох клінічних випадках неімунної водянки плода, спричиненої В19-парвовірусною інфекцією, що призвело до летальних наслідків у 2 випадках. Продемонстровано, що у двох пацієток за нормальних показників гуморального імунітету відбулося зниження кількісних показників Т-лімфоцитів та основних ефektorів противірусного клітинного імунітету – цитотоксичних CD8⁺-лімфоцитів та НК-клітин порівняно з даними третьої пацієтки, для якої була характерна активація клітинної ланки противірусного імунітету, що сприяло ефективній елімінації інфекції та запобіганню тяжких уражень плода, який залишився живий. Вважаємо за доцільне сфокусувати увагу лікарів на аспекти, що функціональна активність імунної системи вагітної жінки є важливим фактором, який при інфікуванні парвовірусом В19 визначає ефективність та швидкість подолання інфекції та прогнозування її наслідків для дитини.
Ключові слова: парвовірус В19, неімунна водянка плода, імунний фенотип.

Неімунна водянка плода (НІВП) – виражена загальна гідратація плода, що проявляється позаклітинним скупченням рідини у тканинах і серозних порожнинах без будь-яких ознак циркулюючих антитіл до антигенів еритроцитів і становить до 90% від усіх описаних випадків водянок у плодів.

Факторами, які спричинюють виникнення цієї патології, є серцево-судинні захворювання, хромосомні порушення, гематологічні аномалії, внутрішньоутробні інфекції та ін. [3, 20].

Найбільш поширеним інфекційним агентом, що пов'язаний із виникненням водянки у плода, є парвовірус В19. Цей вірус був уперше відкритий Cossart та співавторами у 1975 р. [5]. Зв'язок парвовірусної інфекції з ускладненнями вагітності був уперше описаний у 1984 р., коли у плода з водянкою були виявлені антитіла (IgM) до антигенів парвовірусу [4].

У разі інфікування у плода може розвинути тяжка анемія (внаслідок тропності вірусу до еритроцитарних стовбурових клітин), вірусний міокардит та порушення нормального функціонування печінки у результаті прямого вірусу-індукованого руйнування гепатоцитів та непрямого пошкодження, спричиненого накопиченням гемосидерину [10]. На період інфікування імунна система плода є ще незрілою та не може подолати інфекцію, яка в результаті призводить до потенційно летальної водянки плода, що було продемонстровано в багатьох наукових роботах [11–13, 19].

Важливим фактором, що визначає ефективність елімінації інфекції та зменшення її наслідків, є функціональна активність імунної системи вагітної. Як відомо, різні періоди вагітності характеризуються прозапальним чи протизапальним фенотипом імунної відповіді, що зумовлено необхідністю одночасного захисту від патогенів та формуванням імунної толерантності до антигенів плода. Період проти-

запального фенотипу імунної відповіді характеризується розвитком переважно гуморальної відповіді та пригніченням клітинної ланки, що призводить до підвищеної чутливості вагітної до інфекційних захворювань, зокрема до парвовірусної інфекції [2, 16].

Сьогодні існує низка методів для діагностики парвовірусної інфекції у матері та плода. До них належать: серологічне визначення антитіл (IgG, IgM) до парвовірусу В19 у крові матері чи пуповинній крові; гістологічне визначення типових ядерних включень у плаценті; електронна мікроскопія клітин плаценти; ампліфікація вірусної ДНК з тканин методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР); *in situ* гібридизація та ін. Поєднання ПЛР-методу та серологічного дослідження антитіл вважають «золотим стандартом» для швидкої діагностики парвовірусної інфекції В19. Проте низка робіт підтверджує високий рівень серонегативності за IgM у вагітних, інфікованих парвовірусом В19 [9]. За даними літератури, у середньому рівень серонегативності за IgM в інфікованих парвовірусом жінок варіював від 14,9% до 62,5%. [8, 14]. Тому дослідження лише специфічних антитіл у діагностиці парвовірусної інфекції при вагітності може призводити до хибнонегативних результатів.

У статті проаналізовано показники імунограм трьох вагітних, у яких було виявлено неімунну водянку плода, що призвело до летальних наслідків у 2 випадках.

Пацієнтка 1. Виявлена водянка плода на 31-у тиждні вагітності, проведений кесарів розтин. Аналіз крові дитини демонстрував ознаки анемії – значне зниження еритроцитів та гемоглобіну та загальне зниженням лейкоцитів, зокрема за рахунок зниження сегментоядерних гранулоцитів. Дитина померла на 1-у добу.

Імунний фенотип пацієнтки на 31-у тиждні вагітності. Характерний протизапальний фенотип зі зниженням абсолютної та відносної кількості основних цитокінових продуцентів – Т-лімфоцитів. Відзначали зниження абсолютної та відносної кількості Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD3⁺, CD8⁺), які є важливим компонентом противірусного захисту. Також були значно знижені показники активованих Т-хелперів (CD3⁺CD4⁺HLA-DR) та Т-цитотоксичних (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺) лімфоцитів. Нижче норми також був показник активності комплементу. За показниками гуморального імунітету концентрація сироваткових імуноглобулінів та кількість В-лімфоцитів не виходили за межі норми. Показники кількості НК-лімфоцитів, одна з функцій яких є також противірусний захист та які є важливим джерелом IFN-γ, не виходили за межі норми.

Пацієнтка 2. На терміні 23 тиж вагітності виявлена водянка плода, у 31 тиж проведено внутрішньоутробне переливання крові. У 33 тиж – кесарів розтин. Дитина померла на 3-ю добу.

Імунний фенотип пацієнтки на 31-у тиждні вагітності. Характерним також було зниження показників Т-клітинної

ланки імунітету: незважаючи на незначне підвищення кількості клітин з активованим фенотипом CD3⁺HLA-DR⁺ відзначено зниження абсолютної кількості Т-хелперів та Т-цитотоксичних лімфоцитів.

Показники гуморального імунітету – концентрація сироваткових імуноглобулінів та кількість В-лімфоцитів не виходили за межі норми. Також відзначено зниження абсолютної кількості NK-лімфоцитів. Підвищена активація комплементу.

Пацієнтка 3. На терміні 32 тиж при УЗД виявлено помірну водянку плода. Пікова швидкість кровотоку по середній мозковій артерії була у межах норми. Визначали порушення кровотоку у венозній протоці, тахіаритмію та потовщення міокарда. Проведено кесарів розтин на 35-у тижні гестації. При народженні діагностовано інфекційний міокардит. Проводили лікувальні заходи у відділенні інтенсивної терапії новонароджених. За 2 дні відзначено позитивну динаміку стану дитини. Дитина жива.

Імунний фенотип пацієнтки на 32-у тижні вагітності. Характерним було незначне збільшення відсоткового вмісту Т-лімфоцитів (CD3⁺) та Т-лімфоцитів пам'яті (CD4⁺CD45RA⁻CD45RO⁺). Також вдвічі знижений був відсоток регуляторних Т-лімфоцитів. Характерним була активація Т-лімфоцитів: підвищений вміст активованих Т-лімфоцитів (CD3⁺HLA-DR⁺) за рахунок активованих Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺); також підвищена експресія маркера ранньої активації CD25 на Т-хелперах (CD4⁺CD25⁺). Значно підвищений вміст активованих NK-клітин з фенотипом CD38⁺CD8^{dim}, також дещо підвищений вміст цитолітичних NK-лімфоцитів (CD16^{bright}CD56^{dim}). Загалом, на відміну від двох інших пацієнток, у даної пацієнтки спостерігалась активація клітинної ланки противірусного імунітету, а саме – активація NK-лімфоцитів та CD8⁺-цитотоксичних лімфоцитів.

Дослідження імунної відповіді під час парвовірусної інфекції встановили, що основними ефекторними компонентами клітинної ланки є Т-лімфоцити та NK-лімфоцити, які є важливими продуцентами противірусних прозапальних цитокінів, зокрема IFN- γ та TNF- α . IFN- γ чинить безпосередню противірусну дію, підвищує цитотоксичну активність NK-клітин та CD8⁺-лімфоцитів. TNF- α – цитокін прозапального типу, що синтезується макрофагами і також відіграє важливу роль у противірусній імунній відповіді [1, 14].

Von Poblitzki та співавтори [17] дослідили проліферативну відповідь ізольованих мононуклеарів периферійної крові після стимуляції з рекомбінантними білками парвовірусу B19 – VP1, VP2 та NS1. Вони також засвідчили, що основними ефекторними клітинами імунної системи у відповідь на антигени парвовірусу були антиген-специфічні CD4⁺-лімфоцити, які забезпечували розвиток довготривалої імунної пам'яті. В іншому дослідженні [18] було також продемонстровано зростання рівнів мРНК-прозапальних цитокінів (IL-1, IFN- γ) під час інфікування парвовірусною інфекцією. Отже, основними продуцентами прозапальних цитокінів, які беруть участь в елімінації парвовірусної інфекції, є субпопуляція CD4⁺-лімфоцитів – Т-хелперів 1-го типу (Th1) та NK-лімфоцитів.

Відомо, що в період вагітності імунна система забезпечує захист материнського організму та плода від патогенів та одночасно формує толерантність до плода, що розвивається. Це забезпечується завдяки динамічним змінам функціональної активності імунної системи та її цитокіновому фенотипу у різні терміни вагітності.

Продемонстровано, що прозапальним фенотипом – активацією Th1-лімфоцитів, NK-клітин, CD8⁺-лімфоцитів характеризуються ранні періоди вагітності (імплантація, гестація), що є необхідним для нормальної репарації та регенерації тканин матки, а також період перед пологами, під час якого відбувається інфлюкс імунних клітин у біометрії та ініціюється запальний стан для відторгнення плаценти [15, 16].

Період значного росту та розвитку плода, який є найтривалішим періодом вагітності, характеризується протизапальним фенотипом імунної системи, пригніченням цитотоксичності імунних клітин (CD8⁺-лімфоцитів, NK-клітин), розвитком переважно гуморальної імунної відповіді та відповідним цитокіновим профілем Т-клітин (Th2). Усе це зумовлює підвищену чутливість вагітної жінки у цей період до вірусних інфекцій та внутрішньоклітинних патогенів [16].

У роботі Amanda Corcoran та співавторів [7] продемонстровано, що під час стимуляції антигенами парвовірусу B19 мононуклеарів периферійної крові вагітних рівень IFN- γ та IL-2, синтезований Т-лімфоцитами, був значно нижчий у порівнянні з невагітними. Тобто спостерігалась супресія Th1-клітинної відповіді у вагітних, що, як наслідок, створює умови трансплацентарної передачі та інфікування плода парвовірусною інфекцією.

Пацієнтки у даному дослідженні вже мають дітей, що є додатковим фактором ризику інфікування парвовірусною інфекцією. Згідно з літературними даними, вагітні, в яких вже є діти, мають втричі вищий ризик інфікування парвовірусною інфекцією у порівнянні з бездітними жінками; ризик підвищується до 7,5 разу у жінок, які мають три і більше дітей. Також наявність в сім'ї дітей, які відвідують школу, значно корелює з ризиком втрати плода [2, 6]. Інтервал між проявом інфекції (еритема, підвищення температури тіла) та діагностикою водянки плода в когорті таких жінок був від 2 до 6 тиж [2, 6, 9]. Останні дані також підтверджуються нашими даними з анамнезу пацієнток.

Як видно з імунологічних досліджень, для двох пацієнток даного дослідження, в яких загинули діти, було характерним зниження кількісних показників Т-клітинної ланки імунітету та NK-лімфоцитів, що свідчить про супресію клітинного імунітету та загальний протизапальний фенотип імунної системи, що могло зумовити підвищену чутливість до парвовірусної інфекції та ураження плодів.

Важливо відзначити, що імунний фенотип третьої пацієнтки, на відміну від інших двох, характеризувався підвищеною експресією активаційних маркерів на Т-лімфоцитах (зокрема на CD8⁺) та NK-лімфоцитах, що може свідчити про активну відповідь на вірусну інфекцію. Можна припустити, що така активація материнської імунної відповіді забезпечує швидшу елімінацію інфекції і, як результат, захищає плід від тяжких пошкоджень з летальними наслідками.

ВИСНОВКИ

Аналіз імунологічних досліджень засвідчив, що у двох пацієнток з неімунною водянкою плода, яка призвела до загибелі новонароджених, при нормальних показниках гуморального імунітету відзначено зниження кількісних показників Т-лімфоцитів та, зокрема, основних ефекторів противірусного клітинного імунітету – цитотоксичних CD8⁺-лімфоцитів та NK-клітин. Зниження клітинної імунної відповіді характерне для певних періодів вагітності, що забезпечує формування толерантності до плода, який розвивається. Одночасно такі періоди – це періоди підвищеної чутливості вагітних до збудників інфекцій, особливо до внутрішньоклітинних патогенів та вірусів. Така транзиторна імуносупресія клітинної ланки імунітету у матері у поєднанні з незрілістю імунної системи у плода може спричинювати трансплацентарну передачу парвовірусної інфекції та ураження плода, призводячи до тяжких ускладнень та летальних наслідків.

На відміну від перших двох пацієнток, для третьої пацієнтки була характерною активація клітинної ланки противірусного імунітету, що могло сприяти ефективнішій елімінації інфекції та запобіганню тяжким ураженням плода. Це ще раз підтверджує, що функціональна активність імунної системи вагітної є важливим фактором, який при інфікуванні визначає ефективність та швидкість подолання інфекції і зменшення її наслідків.

Иммунный фенотип беременных, инфицированных парвовирусом В19, с неиммунной водянкой плода: клинические случаи

Н.П. Бондаренко, В.П. Лакатош, А.В. Аксьонова

The immune phenotype of pregnant women infected with parvovirus B19, a non-immune fetal hydrops: clinical cases

N.P. Bondarenko, V.P. Lakatosh, A.V. Aksonova

В статье проанализированы показатели иммунограмм беременных в трех клинических случаях неиммунной водянки плода, вызванной В19-парвовирусной инфекцией, повлекшей летальный исход в 2 случаях. Продемонстрировано, что у двух пациенток при нормальных показателях гуморального иммунитета произошло снижение количественных показателей Т-лимфоцитов и основных эффекторов противовирусного клеточного иммунитета – цитотоксических CD8+ лимфоцитов и NK-клеток по сравнению с данными третьей пациентки, для которой была характерна активация клеточного звена противовирусного иммунитета, что способствовало эффективной элиминации инфекции и предотвращению тяжелых поражений плода, который остался жив. Считаем целесообразным привлечь внимание врачей на аспекте, что функциональная активность иммунной системы беременной является важным фактором, который при инфицировании парвовирусом В19 определяет эффективность и скорость преодоления инфекции и прогнозирования ее последствий для ребенка.

Ключевые слова: парвовирус В19, неиммунная водянка плода, иммунный фенотип.

The article analyzes the performance of immunograms of pregnant women in three clinical cases of non-immune fetal hydrops caused by parvovirus B19 infection that resulted in death in 2 cases. Demonstrated that two patients with the normal parameters of humoral immunity, a decrease of quantitative indicators of T-lymphocytes and the main effectors of antiviral cellular immunity – cytotoxic CD8+ lymphocytes and NK-cells as compared with the data of the third patient for which was characterized by the activation of the cellular component of antiviral immunity that is contributed to the effective elimination of the infection and prevent severe fetal losses, which stayed alive. We consider it necessary to focus the attention of physicians on this medical aspect that the functional activity of the immune system of pregnant women is an important factor in case of parvovirus B19 infection which determines the efficiency and speed to overcome the infection and predict its consequences for the child.

Key words: parvovirus B19, non-immune fetal hydrops, immune phenotype.

Сведения об авторах

Бондаренко Наталия Петровна – Кафедра акушерства и гинекологии № 1 Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, 03150, г. Киев, ул. Предславинская, 9; тел.: (067) 404-41-77. E-mail: nataliabondareno@gmail.com

Лакатош Владимир Павлович – Кафедра акушерства и гинекологии № 1 Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, 03150, г. Киев, ул. Предславинская, 9. E-mail: pb7@health.kiev.ua

Аксьонова Анастасия Валериевна – Кафедра акушерства и гинекологии № 1 Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, 03150, г. Киев, ул. Предславинская, 9. E-mail: aks.anastasia@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Barash J., Dushnitski D., Barak et al. (TNF) β and its soluble receptor (sTNFR) p75 during acute human parvovirus B19 infection children. *Immunol Lett* 88(2003):109–12.
- Beigi RH, Wiesenfeld HC, Landers DV et al. High Rate of Severe Fetal Outcomes Associated with Maternal Parvovirus B19 Infection in Pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2008; 2008: 524601.
- Bellini C, Hennekam RCM, Fulcheri E et al. Etiology of nonimmune hydrops fetalis: A systematic review. *Am J Med Genet Part A.* 2009; 149A:844–51.
- Brown T, Anand A, Ritchie LD, Clewley JP, Reid TMS. Intrauterine parvovirus infection associated with hydrops fetalis. *Lancet* 1984; 2: 1033–4.
- Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera *Lancet.* 1975 Jan 11; 1(7898): 72–3.
- Daniilidis A, Sidiropoulos K, Panna ZD et al. Association of fetal loss with recent parvovirus infection and other demographic prognostic risk factors *J Obstet Gynaecol.* 2014 Jan; 34(1): 40–4.
- Doyle S, Corcoran A. The Immune Response to Parvovirus B19 Exposure in Previously Seronegative and Seropositive Individuals. *J Infect Dis.* (2006) 194 (2): 154–158. doi: 10.1086/505226.
- Enders M, Weidner A, Rosenthal T et al. Improved Diagnosis of Gestational Parvovirus B19 Infection at the Time of Nonimmune Fetal Hydrops. *J Infect Dis.* 2008 Jan 1; 197(1):58–62.
- Ergaz Z, Ornoy A. Parvovirus B19 in pregnancy. *Rep Tox;* 21 (2006) 421–435.
- Giorgio E, De Oronzo MA, Iozza I, Di Natale A. et al Parvovirus B19 during pregnancy: a review *Journal of Prenatal Medicine* 2010; 4 (4): 63–66.
- Ismail KM, Martin WL, Ghosh S, Whittle MJ, Kilby MD. Etiology and outcome of hydrops fetalis. *J Matern Fetal Med* 2001; 10(3):175–81.
- Kailasam C, Brennand J, Cameron AD. Congenital Parvovirus B19 infection: experience of a recent epidemic. *Fetal Diagn Ther* 2001; 16(1): 18–22.
- Kaiser L, Sukosd F, Veszpremi B, et al. Parvovirus B19 infection in hydrops fetalis. *Orv Hetil* 2000; 141(30):1661–5.
- Klenerman P, Tolfvenstam T, Price DA et al. T lymphocyte responses against human parvovirus B19: small virus, big response. *Pathol Biol;* 50(2002): 317–25.
- Mor G., Abrahams V. Immunology of implantation. In: Arici, A., editor. *Immunology and Allergy Clinics.* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2002. – P. 545–565.
- Mor G, Cardenas I. The Immune System in Pregnancy: A Unique Complexity. *Am J Reprod Immunol.* 2010 June ; 63(6): 425–433.
- Von Poblitzki A, Gerdes C, Reischl U et al. Lymphoproliferative responses after infection with human parvovirus B19. *J Virol;* 1996. 70(10): 7327–30.
- Wagner AD, Goronzy JJ, Matteson EL et al. Systemic monocyte and T-cell activation in a patient with human parvovirus B19 infection. *Mayo Clin Proc.* 1995 Mar; 70(3): 261–5.
- Yaegashi N, Niinuma T, Chisaka H, et al. Serologic study of human Parvovirus B19 infection in pregnancy in Japan. *J Infect* 1999; 38(1):30–5.
- Yurdakuk M. Non-immune hydrops fetalis. *J Pediatr Neonat Individual Med.* 2014; 3(2): e030214.

Статья поступила в редакцию 12.07.2016