

©Ю. Б. Якимчук

Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України**АПОПТОЗ НЕЙТРОФІЛІВ СЕКРЕТУ ЦЕРВІКАЛЬНОГО КАНАЛУ У ВАГІТНИХ
ІЗ ПОСТКОВІДНИМ СИНДРОМОМ**

Мета дослідження – визначення ролі нейтрофілів в активізації програмованої загибелі клітини як маркера процесу апоптозу та їх ролі у розвитку гестаційних ускладнень при затримці росту плода у вагітних на тлі постковідного синдрому.

Матеріали та методи. Дослідження нейтрофілів секрету цервікального каналу проводили методом проточної цитофлюориметрії. Проведено визначення частки нейтрофілів, що перебували на стадії апоптозу та некрозу, кореляційний взаємозв'язок цих показників із неускладненим перебігом гестаційного процесу при фізіологічному перебігу вагітності та з розвитком гестаційних ускладнень при затримці росту плода у вагітних на тлі постковідного синдрому. У дослідженні взяли участь 60 вагітних жінок (основна група) із перенесеним SARS-CoV-2, позитивним IgA, IgM чи IgG до SARS-CoV-2 в термін вагітності 30–34 тижні. Контрольну групу склали 25 жінок із фізіологічною вагітністю.

Результати дослідження та їх обговорення. При оцінці апоптозу нейтрофільних гранулоцитів у крові та цервікальному слизі обстежуваних у термін вагітності 32 тижні виявлено, що у жінок з одноплідною вагітністю та фізіологічним перебігом гестаційного процесу ранній апоптоз нейтрофілів крові перебував у межах (4,45±0,25) %, у цервікальному слизі – (5,14±,32) %. У вагітних основної групи з неускладненим перебігом гестаційного процесу частка анексин-позитивних нейтрофілів у крові складала (15,80±0,18) %, тоді як у вагітних основної групи з ускладненим перебігом вагітності, яка супроводжувалася затримкою росту плода, рівень апоптозу склав (24,30±0,50) % нейтрофільних клітин, що достовірно відрізнялося від показників контрольної групи – (5,14±0,32) % ($p<0,001$). Концентрація IL-32 становила (67,27±5,63) пг/мл у вагітних контрольної групи. Постковідний синдром викликає зростання цих показників в основній групі вагітних у 2,8 раза порівняно з контрольною групою – (188,36±25,22) ($p<0,001$).

Висновки. Розвиток метаболічних порушень та апоптичні зміни у плацентарній тканині підтверджені на морфологічному рівні у вигляді деструктивних та некротичних змін у мікроциркуляторному руслі плаценти. Зростання рівня анексин-позитивних нейтрофілів та активація ступеня некрозу нейтрофілів супроводжують фетоплацентарну дисфункцію і є важливими маркерами для прогнозування розвитку затримки росту плода у вагітних із постковідним синдромом.

Ключові слова: ковід-19; вагітність; затримка росту плода; апоптоз.

Yu. B. Yakymchuk

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

APOPTOSIS OF NEUTROPHILS OF THE SECRETION OF THE CERVICAL CANAL IN PREGNANT WOMEN WITH POST-VIDAL SYNDROME

The aim of our study – to determine the role of neutrophils in the activation of programmed cell death, as a marker of the apoptosis process, and their role in the development of gestational complications during fetal growth retardation in pregnant women with post-covid syndrome.

Materials and Methods. The study of neutrophils in the secretion of the cervical canal was carried out by the method of flow cytometry. The proportion of neutrophils that were at the stage of apoptosis and necrosis was determined, the correlation of these indicators with the uncomplicated course of the gestational process during the physiological course of pregnancy and with the development of gestational complications during fetal growth retardation in pregnant women against the background of post-covid syndrome. 60 pregnant women (the main group) with SARS-CoV-2, positive Ig A, M or G to SARS-CoV-2 at 30–34 weeks of pregnancy took part in the study. The control group consisted of 25 women with physiological pregnancy.

Results and Discussion. When evaluating the apoptosis of neutrophil granulocytes in the blood and cervical mucus of the subjects examined at the 32nd week of pregnancy, it was found that in women with a singleton pregnancy and the physiological course of the gestational process, the early apoptosis of blood neutrophils was within (4.45 ± 0.25) %, in the cervical mucus – (5.14 ± 0.32) %. In pregnant women of the main group with an uncomplicated course of gestation, the proportion of annexin-positive neutrophils in the blood was (15.80 ± 0.18) %, while in pregnant women of the main group with a complicated course of pregnancy, which was accompanied by fetal growth retardation, the level of apoptosis was (24.30 ± 0.50) % of neutrophil cells, which was significantly different from the indicators of the control group (5.14 ± 0.32) %, ($p<0.001$). IL-32 concentration was 67.27±5.63 pg/ml in pregnant women of the control group. The post-covid syndrome causes an increase in these indicators in the main group of pregnant women by 2.8 times compared to the control group (188.36±25.22, ($p<0.001$)).

Conclusions. The development of metabolic disorders and apoptotic changes in the placental tissue are confirmed at the morphological level in the form of destructive and necrotic changes in the microcirculatory channel of the placenta. An increase in the level of annexin-positive neutrophils and activation to the degree of neutrophil necrosis accompanies fetoplacental dysfunction and is an important marker for predicting the development of fetal growth retardation in pregnant women with post-covid syndrome.

Key words: Covid-19; pregnancy; fetal growth retardation; apoptosis.

ВСТУП. Активізація оксидативних процесів у вагітних із постковідним синдромом має негативний вплив на ліпідний шар клітинних мембран, розвивається патологічна проникність клітинної стінки, що посилює активацію прозапальних цитокінів та активує процеси апоптозу у клітинах плаценти [1, 2]. Пошкодження ендотелію судинної стінки за рахунок активації цитотоксичних процесів на рівні мікроциркуляторного русла супроводжується порушенням плацентарної перфузії та розвитком дисфункції плаценти і синдромом затримки росту плода [3, 4].

Нейтрофіли завжди реагують найбільш активно на зміну впливу цитокінів. Посилення апоптозу сприяє зниженню інтенсивності запальної реакції, а тривале хронічне запалення при постковідному синдромі приводить до розвитку імуносупресії [5–8].

Апоптотичний шлях загибелі нейтрофілів є сприятливішим для патогенних вірусних частин. Саме нейтрофіли відіграють ключову роль у підтриманні локального імунітету і першими зустрічають антигени, що здатні стимулювати апоптоз. Викидом медіаторів запалення та запуском в повному обсязі запальної реакції нейтрофіли перешкоджають розмноженню патогенного агента та генералізації процесу. При некрозі відбувається розрив мембрани імунокomпетентних клітин із викидом протеолітичних ферментів та цитокінів, що активізує процес фагоцитозу [6, 9, 10].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ – визначення ролі нейтрофілів в активізації програмованої загибелі клітини як маркера процесу апоптозу та їх ролі у розвитку гестаційних ускладнень при затримці росту плода у вагітних на тлі постковідного синдрому.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Дослідження нейтрофілів секрету цервікального каналу проводили методом проточної цитофлюориметрії. Проведено визначення частки нейтрофілів, що перебували на стадії апоптозу та некрозу, кореляційний взаємозв'язок цих показників з неускладненим перебігом гестаційного процесу при фізіологічному перебігу вагітності та з розвитком гестаційних ускладнень при затримці росту плода у вагітних на тлі постковідного синдрому. У дослідженні взяли участь 60 вагітних жінок (основна група) із перенесеним SARS-CoV-2, позитивним IgA, IgM чи IgG до SARS-CoV-2 у термін вагітності 30–34 тижні. Контрольну групу склали 25 жінок із фізіологічною вагітністю.

Дослідження схвалено Етичною комісією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (протокол № 61 від 13.11.2020 р.).

Дослідження виконано в межах НДР «Вдосконалення діагностики та лікування вагітних з обтяженим соматичним анамнезом» кафедри акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (державний реєстраційний номер N 0121U100153).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

При оцінці апоптозу нейтрофільних гранулоцитів у крові та цервікальному слизі обстежуваних у термін вагітності 32 тижні виявлено, що у жінок з одноплідною вагітністю та фізіологічним перебігом гестаційного процесу ранній апоптоз нейтрофілів крові перебував у межах (4,45±0,25) %, у цервікальному слизі – (5,14±0,32) %. У вагітних основної групи з неускладненим перебігом гестаційного процесу частка анексин-позитивних нейтрофілів у крові склала (15,80±0,18) %, тоді як у вагітних основної групи з ускладненим перебігом вагітності, яка супроводжувалася затримкою росту плода, рівень апоптозу склав (24,30±0,50) % нейтрофільних клітин, що достовірно відрізнялося від показників контрольної групи – (5,14±0,32) % (p<0,001). Концентрація IL-32 становила (67,27±5,63) пг/мл у вагітних контрольної групи. Постковідний синдром викликає зростання цих показників в основній групі вагітних у 2,8 раза порівняно з контрольною групою – (188,36±25,22) (p<0,001) (табл.).

При визначенні стадії пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів у цервікальному слизі у вагітних основної групи з ускладненим перебігом вагітності, яка супроводжувалася затримкою росту плода, виявлено, що його рівень – (16,80±0,54) % достовірно відрізнявся від показника вагітних контрольної групи.

Посилення процесів апоптозу в нейтрофілах призводить до порушення структури клітинної стінки ендотелію судин, їх підвищеної проникності. Особливо небезпечним є пошкодження вірусом SARS-CoV-2 внутрішньоклітинних структурних мембран, особливо мітохондрій, що провокує запуск мітохондріального шляху апоптозу.

В умовах активації прозапальних цитокінів, оксидативного стресу та активації апоптозу формуються передумови для порушення інвазії трофобласта в децидуальну оболонку, відбувається патологічний ангіогенез із ремоделюванням спіральних артерій, що створює підґрунтя для порушення плацентарної перфузії, розвитку фетоплацентарної дисфункції з подальшою затримкою розвитку плода [9, 10].

Таблиця. Активність ранньої та пізньої фази апоптозу нейтрофілів, інтерлейкіну-32 у крові обстежуваних вагітних

Показник	Контрольна група (n=25)	Основна група (n=25)	P
Анексин-позитивні нейтрофіли, %	4,45±0,25	24,30±0,50	p<0,001
Рівень пізнього апоптозу, некрозу нейтрофілів, %	4,20±0,65	16,80±0,54	p<0,05
IL-32 (пг/мл)	67,27±5,63	188,36±25,22	p<0,001

Примітка. P – достовірність різниці між показниками різних груп.

ВИСНОВКИ. Розвиток метаболічних порушень та апоптичні зміни у плацентарній тканині підтверджені на морфологічному рівні у вигляді деструктивних та не-

кротичних змін у мікроциркуляторному руслі плаценти. Зростання рівня анексин-позитивних нейтрофілів та активація ступеня некрозу нейтрофілів супроводжують

фетоплацентарну дисфункцію і є важливими маркерами для прогнозування розвитку затримки росту плода у вагітних із постковідним синдромом.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Подальше вивчення маркерів розвитку гестаційних ускладнень у вагітних із постковідним синдромом дозволить попередити розвиток синдрому затримки росту плода, передчасних пологів та ендотеліальної дисфункції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Blitz M. J. Preterm birth among women with and without severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection / M. J. Blitz, R. P. Gerber // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. – 2021. – Vol. 100 (12). – P. 2253–2259.
- Aabakke A. J. M. Risk factors for and pregnancy outcomes after SARS-CoV-2 in pregnancy according to disease severity: A nationwide cohort study with validation of the SARS-CoV-2 diagnosis / A. J. M. Aabakke, T. G. Petersen // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. – 2023. – Vol. 102 (3). – P. 282–293.
- Endothelial cell serine proteases expressed during vascular morphogenesis and angiogenesis / R. T. Aimes, A. Zijlstra, J. D. Hooper [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2003. – Vol. 89 (3). – P. 561–572.
- Homocysteine as a marker for predicting disease severity in patients with COVID-19 / A. Keskin, G. Ustun, R. Aci, U. Duran // *Biomark. Med.* – 2022. – Vol. 1 (7). – P. 559–568.
- Placental Pathology Findings during and after SARS-CoV-2 Infection: Features of Villitis and Malperfusion / T. Menter, K. D. Mertz, S. Jiang [et al.] // *Pathobiology*. – 2021. – Vol. 88 (1). – P. 69–77.
- Biomarkers associated with COVID-19 disease progression / G. Ponti, M. Maccaferri, C. Ruini [et al.] // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 2020. – Vol. 57 (6). – P. 389–399.
- Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga, A. J. Flammer, P. Steiger [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395 (10234). – P. 1417–1418.
- Wong Y. P. The Effects of COVID-19 on Placenta and Pregnancy: What Do We Know So Far? / Y. P. Wong, T. Y. Khong, G. C. Tan // *Diagnostics (Basel)*. – 2021. – Vol. 11 (1). – P. 94.
- Rizzo G. Effect of SARS-CoV-2 infection during the second half of pregnancy on fetal growth and hemodynamics: a prospective study / G. Rizzo, I. Mappa // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. – 2021. – Vol. 100 (6). – P. 1034–1039.
- Severinsen E. R. Mental health indicators in pregnant women compared with women in the general population during the coronavirus disease 2019 pandemic in Denmark / E. R. Severinsen, L. K. A. Kähler // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. – 2021. – Vol. 100 (11). – P. 2009–2018.
- Ponti, G., Maccaferri, M., Ruini, C., Tomasi, A., & Ozben, T. (2020). Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 57(6), 389-399.
- Varga, Z., Flammer, A.J., Steiger, P., Haberecker, M., Andermatt, R., Zinkernagel, A.S., ... & Moch, H. (2020). Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *The Lancet*, 395(10234), 1417-1418.
- Wong, Y.P., Khong, T.Y., & Tan, G.C. (2021). The effects of COVID-19 on placenta and pregnancy: what do we know so far? *Diagnostics*, 11(1), 94.
- Rizzo, G., Mappa, I., Maqina, P., Bitsadze, V., Khizroeva, J., Makatsarya, A., & D'Antonio, F. (2021). Effect of SARS-CoV-2 infection during the second half of pregnancy on fetal growth and hemodynamics: a prospective study. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 100(6), 1034-1039.
- Severinsen, E.R., Kähler, L.K., Thomassen, S.E., Varga, T.V., Fich Olsen, L., Hviid, K.V., ... & Nielsen, H.S. (2021). Mental health indicators in pregnant women compared with women in the general population during the coronavirus disease 2019 pandemic in Denmark. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 100(11), 2009-2018.

REFERENCES

- Blitz, M.J., Gerber, R.P., Gulersen, M., Shan, W., Rausch, A.C., Prasannan, L., ... & Rochelson, B. (2021). Preterm birth among women with and without severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 100(12), 2253-2259.
- Aabakke, A.J., Petersen, T.G., Wørdemann, K., Ibsen, M.H., Jonsdottir, F., Rønneberg, E., ... & Bliddal, M. (2023). Risk factors for and pregnancy outcomes after SARS-CoV-2 in pregnancy according to disease severity: a nationwide cohort study with validation of the SARS-CoV-2 diagnosis. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 102(3), 282-293.
- Aimes, R.T., Zijlstra, A., Hooper, J.D., Ogbourne, S.M., Sit, M.L., Fuchs, S., ... & Antalis, T.M. (2003). Endothelial cell serine proteases expressed during vascular morphogenesis and angiogenesis. *Thrombosis and haemostasis*, 89(03), 561-572.
- Keskin, A., Ustun, G., Aci, R., & Duran, U. (2022). Homocysteine as a marker for predicting disease severity in patients with COVID-19. *Biomarkers in Medicine*, 16(7), 559-568.
- Menter, T., Mertz, K.D., Jiang, S., Chen, H., Monod, C., Tzankov, A., ... & Bruder, E. (2021). Placental pathology findings during and after SARS-CoV-2 infection: features of villitis and malperfusion. *Pathobiology*, 88(1), 69-77.

Отримано 12.07.23

Прийнято до друку 06.09.23

Електронна адреса для листування: yakymchuk@tdmu.edu.ua