

ВОЗМОЖНА ЛИ ПЕРИНАТАЛЬНАЯ COVID-19: ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

М.А. Вашукова¹, В.А. Цинзерлинг^{1,2}, Н.Ю. Семенова^{1,2}, Н.А. Луговская¹, Т.А. Наркевич¹,
Ю.В. Суханова¹

¹Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Is perinatal COVID-19 possible: first results

M.A. Vashukova¹, V.A. Zinserling^{1,2}, N.Yu. Semenova^{1,2}, N.A. Lugovskaya¹, T.A. Narkevich¹, Yu. V. Sukhanova¹

¹Clinical Infectious diseases hospital named after S. P. Botkin, Saint-Petersburg, Russia

²National medical research center named after V.A. Almazov, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Среди проблем, связанных с новой коронавирусной инфекцией, важную роль играет возможность её течения у беременных женщин. До настоящего времени данные о перинатальной инфекции SARS-CoV-2 крайне малочисленны, а описаний структурных изменений в последе найти не удалось.

Материалы и методы. Проведен клиничко-морфологический анализ 6 наблюдений, в которых женщины с COVID-19 рожали в условиях инфекционного стационара. Во всех случаях плаценты были детально исследованы морфологически с использованием антител к нуклеопротеину и белку капсиды (S1 subunit spike protein) вируса SARS-CoV-2.

Результаты. Показано, что клиническое течение COVID-19 у беременных женщин может быть различным, 3 находились в отделении интенсивной терапии, в том числе 1 на инвазивной вентиляции легких. 4 ребенка родились в срок, 2 детей преждевременно (на 31–33-й неделе беременности). Состояние детей в 5 случаях оценивалось как удовлетворительное, лишь 1 ребенок в тяжелом состоянии был переведен в детскую больницу. Внутриутробное инфицирование с помощью ПЦР документировано в 1 наблюдении. При гистологическом исследовании послегов во всех наблюдениях, как в материнской, так и плодной частях, были выявлены изменения, характерные для РНК вирусной инфекции. При иммуногистохимическом исследовании были в умеренном количестве обнаружены оба исследованных антигена.

Выводы. Внутриутробное трансплацентарное инфицирование новым коронавирусом, безусловно, возможно. Его частота и клиническая значимость требуют дальнейшего комплексного изучения.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, COVID-19, SARS-CoV-2, перинатальная инфекция, поражение плаценты, иммуногистохимия.

Введение

Широкое распространение во всём мире инфекции, вызванной новым коронавирусом (COVID-19), приводит к заболеванию и значительного числа

Abstract

Among the problems associated with a new coronavirus infection, the possibility of its occurrence in pregnant women plays an important role. Until now, there is very little data on perinatal COVID-19, and there are no descriptions of structural changes in the afterbirth at all.

Material and methods. A clinical and morphological analysis of 6 cases in which women with verified COVID-19 gave birth in an infectious hospital was performed. In all cases, the placenta was examined in detail morphologically using antibodies to the nucleoprotein and spike (S1 subunit spike protein) SARS-CoV-2. COVID-19

Results. It is shown that the clinical course of COVID-19 in pregnant women may be different, three were in the intensive care unit, including one was shown to be on a ventilator. 4 children were born at term, 2 children prematurely (at 31–33 weeks of pregnancy). The condition of children in 5 cases was assessed as satisfactory, only one child in serious condition was transferred to a children's hospital. Intrauterine infection with the polymerase chain reaction documented in a single observation. When histological examination of the afterbirth in all observations, both in the maternal and fetal parts, changes characteristic of RNA viral infection was detected. Both of the studied antigens were found in moderate amounts in IHC.

Conclusions. Intrauterine transplacental infection with a new coronavirus is certainly possible. Its frequency and clinical significance require further comprehensive study.

Key words: new coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2, perinatal infection, placenta lesion, immunohistochemistry.

беременных женщин, что, естественно, остро ставит вопрос о рисках развития внутриутробных поражений. В литературе имеются публикации, в которых утверждается, что такой риск практически

отсутствует [1]. Свои выводы авторы обосновывают отсутствием данных о заболеваниях новорожденных и отрицательных ПЦР-тестах, взятых у них из носоглотки. При этом высказывается мнение, что РНК-содержащие вирусы вообще не способны вызывать внутриутробные инфекции. В другом исследовании [2] теоретическая возможность внутриутробного инфицирования не исключается, учитывая наличие в плаценте рецепторов к ACE2 и очень скудные сведения, представленных только в сети Интернет [3]. При этом данных о результатах гистологического исследования последов не приводится вовсе. Следует отметить, что данным исследователям остались неизвестными целые серии отечественных работ [4, 5, 6], в которых такая возможность для гриппа, парагриппа и респираторно-синцитиальной инфекции была доказана с помощью вирусологических, серологических, гистологических, иммуногистохимических и электронно-микроскопических методов. Следует, однако, отметить, что в этих исследованиях было показано, что внутриутробное инфицирование респираторными вирусами зачастую не приводит к яркой клинической симптоматике. Краеугольным камнем в диагностике перинатальных инфекций, с нашей точки зрения, является целенаправленное исследование последов [4]. К сожалению, такие исследования в мировой практике не проводятся. Нельзя не заметить, что трансплацентарное инфицирование любым возбудителем, даже приводя к генерализованному поражению, может лишь факультативно обусловить положительную ПЦР в смыве из носоглотки. Сказанное послужило основанием для проведения клинкоморфологического анализа 6 случаев родоразрешения женщин, страдавших COVID-19.

Материалы и методы

Проанализированы медицинские карты стационарных больных и пересмотрены микроскопические препараты плацент и аутопсийного материала соответствующих наблюдений. Макро- и микроскопическое исследование последов осуществлялось в соответствии с разработками петербургской школы перинатологии [4]. Для иммуногистохимического исследования (ИГХ) использовались поликлональные кроличьи антитела к белку нуклеокапсида SARS-CoV-2 (GTX135361, GeneTex, США) и поликлональные кроличьи антитела к S1 субъединице spike протеина (белок шипика) SARS-CoV-2 (GTX135360, GeneTex, США) в рабочих разведениях 1:500. Визуализация продукта реакции проводилась с использованием полимерной системы UltraVision Quanto Detection System HRP (Thermo Scientific, США). Оптимальные условия проведения иммуногисто-химической реакции подбирали после процедуры окрашивания параллельных срезов с отрицательными и положительными контролями. Изучение гистологических препаратов проводилось с помощью микроскопа Nikon ECLIPSE Ni-U (Япония) с окуляром $\times 10$, при объективах $\times 20$, $\times 40$.

Результаты и обсуждение

Беременные женщины были в возрасте от 20 до 35 лет. Краткие анамнестические данные приведены в таблице 1. Состояние матерей существенно варьировало. Все женщины получали стандартную терапию, в наблюдениях 1, 2, 6 получали интенсивную терапию в ОРИТ, в том числе в наблюдении 1 проводилась ИВЛ.

Таблица 1

Общие сведения о беременных женщинах

№ наблюдения	Инициал, возраст	Какая беременность	Исходы предыдущих беременностей	Наличие фоновой патологии	Нахождение в ОРИТ, ИВЛ
1	М., 35	3	2010 – срочные роды 2017 – кесарево сечение,	Неизвестна	ОРИТ, ИВЛ
2	Ч., 38	5	2010 – роды, 2012, 2016 – медицинские аборт, 2018 – плановое кесарево сечение	Неизвестна	ОРИТ
3	Б., 28	3	2017 – ЭКО, смерть при преждевременных родах 2019 – роды	Хронический сальпинго-оофорит	Нет
4	А., 20	2	2017 – преждевременные роды	Неизвестна	Нет
5	С., 30	5	2013, 2015 – срочные роды, 2016 – самопроизвольный выкидыш, 2017 – медицинский аборт	Неизвестна	Нет
6	П., 35	3	2008 – выкидыш, 2010 – роды	Бронхиальная астма, ХВГ С	Нет

В большинстве наблюдений роды протекали без осложнений, и состояние новорожденных было высоко оценено по шкале Апгар (табл. 2). Исключение представил только недоношенный ребенок из наблюдения 1, который с диагнозом «Синдром дыхательных расстройств новорожденных» был переведен в детскую больницу, где после проведения ИВЛ его состояние удалось стабилизировать. В 2 наблюдениях констатировано наличие ранней гипогликемии. При ПЦР-исследовании положительный результат получен только во втором наблюдении.

Специальный интерес представили изменения последов, которые были выявлены во всех наблюдениях. В 2 случаях преждевременного рождения выявлены признаки незрелости плаценты, примерно соответствующие сроку гестации. Кроме того, во всех наблюдениях выявлены признаки РНК вирусной инфекции, заключавшиеся в появлении клеток с крупными светлыми ядрами несколько измененной формы, как в материнской, так и плодной частях плаценты и внеплацентарных оболочек (рис. 1). Кроме того, имелась возможность говорить о развитии субкомпенсированной хронической плацентарной недостаточности. Синцитиальные почки в ворсинах хориона были выражены незначительно. В качестве характерных изменений во всех наблюдениях отмечено набухание ядер эндотелиальных клеток.

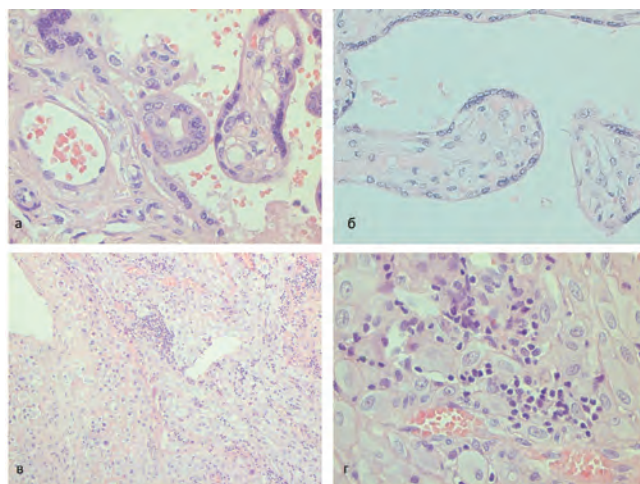


Рис. 1. Изменения в плацентах при COVID-19 у матерей. Окраска гематоксилином-эозином: А — незрелые терминальные ворсины плаценты наблюдении 1. Видно резкое увеличение в размерах светлых ядер синцитиотрофобласта и клеток Кащенко — Гофбауера, характерные для РНК-вирусных инфекций. Ув. $\times 400$; Б — зрелая терминальная ворсина в наблюдении 2. Видно значительное увеличение светлых ядер синцитиотрофобласта, характерное для РНК-вирусных инфекций. Ув. $\times 400$; В — внеплацентарная оболочка в наблюдении 1. Видна очаговая мононуклеарная инфильтрация и характерная для РНК-вирусных инфекций трансформация клеток децидуальной оболочки. Ув. $\times 100$; Г — аналогичные изменения. Видна смешанная инфильтрация и изменения ядер эндотелиальных клеток. Ув. $\times 400$

Таблица 2

Общие сведения о новорожденных

№ наблюдения	Срок родов	Баллы по шкале Апгар	ПЦР на SARS-CoV2	Диагноз
1	31 неделя	1/2/2	Отрицательный	Синдром дыхательных расстройств новорожденных, тяжелая асфиксия при родах, анемия врожденная неуточненная, гипокоагуляция
2	Доношенный	8/9	Положительный	Носительство возбудителя коронавирусной инфекции
3	Доношенный	7/9	Отрицательный	Перинатальный контакт по коронавирусной инфекции, ранняя неонатальная гипогликемия, тромбоцитоз
4	Доношенный	7/8	Отрицательный	Инфекция, специфичная для перинатального периода, неонатальная желтуха, расщелина твёрдого и мягкого неба
5	Доношенный	7/8	Нет данных	Внутриутробная гипоксия, впервые выявленная во время родов, контакт с больным коронавирусной инфекцией
6	33 недели	7/8	Отрицательный	Перинатальный контакт по коронавирусной инфекции и вирусному гепатиту. Ранняя неонатальная гипогликемия

При ИГХ оба исследованных антигена нуклеокапсида SARS-CoV-2 и к S1 субъединице spike протеина SARS-CoV-2 удалось выявить в умеренном количестве, в том числе в плодной части последа (рис. 2). В 2 наблюдениях имелись и умеренные признаки сопутствующей ДНК вирусной инфекции.

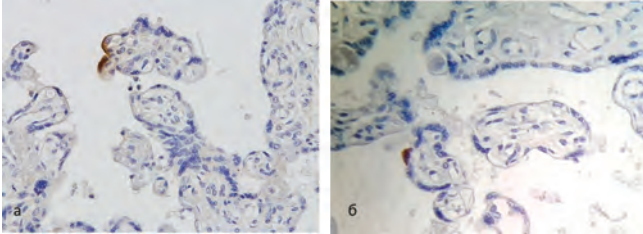


Рис. 2. Антигены вируса SARS-Cov-2 в плацентах при иммуногистохимическом исследовании: А — «шиповый» антиген в синцитиотрофобласте терминальной ворсины в наблюдении 6. Ув. $\times 100$; Б — «нуклеарный» антиген в синцитиотрофобласте терминальной ворсины в наблюдении 6. Ув. $\times 100$

Учитывая данные о способности нового коронавируса вызывать непосредственные поражения многих клеток, вероятность прямого поражения последа очень высока. Учитывая многолетний опыт по диагностике РНК-вирусных плацентитов у ряда соавторов, а также безусловное сходство выявленных в материнской и плодных частях последа изменений с наблюдаемыми при COVID-19 в легких [6], можно с большой долей вероятности предполагать способность нового коронавируса к трансплацентарному транспорту. Этот феномен подтверждается и результатами ИГХ-исследования, при котором как «ядерный», так и «шиповый» антигены определялись в плодных частях последа. Отрицательные результаты ПЦР из носоглоточных смывов новорожденного ребенка не позволяют отрицать возможности внутриутробного трансплацентарного инфицирования, поскольку в слизистую верхних дыхательных путей вирус сразу попасть не может. Тем не менее, в 1 из наших наблюдений положительный результат ПЦР был получен.

Самым важным является вопрос о клинической релевантности выявленных изменений в последе. Весьма вероятно, что среди механизмов преждевременных родов в 2 наших наблюдениях существенную роль сыграл и коронавирус. С ним же можно предположительно связать и тяжелое состояние ребенка в наблюдении 1. Вместе с тем, срочные роды в 4 случаях и отсутствие тяжелой патологии у 5 детей сразу после рождения не позволяют исключить развития каких-либо патологических процессов у этих детей в дальнейшем.

Не следует забывать, что многие представители семейства коронавирусов способны вызывать хронические инфекционные процессы, по крайней мере у некоторых животных [8]. Кроме того, при многих внутриутробных инфекциях, в том числе вызванных РНК-содержащими вирусами, доказана возможность малосимптомного течения, приводящего к умеренному нарушению психомоторного развития, развитию аутоиммунных и других вторичных заболеваний [9]. Проблема перинатального COVID-19, безусловно, нуждается в дальнейшем изучении, а дети подлежат наблюдению.

Литература

1. Schwartz D.A. An analysis of 38 pregnant women with COVID-19, their newborn infants, and maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2: maternal coronavirus infections and pregnancy outcomes. *Arch Pathol Lab Med.* 2020 Mar 17 doi: 10.5858/arpa.2020-0901-SA
2. Dashraath P., Wong J.L.J., Lim M.X.K. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2020 June; 222 (6): 521-531 doi: 10.1016/j.ajog.2020.03.021
3. Murphy S. Newborn baby tests positive for coronavirus in London. Available at: <https://www.theguardian.com/world/2020/mar14/newborn-baby-tests-positive-for-coronavirus-in-london>
4. Цинзерлинг, В.А. Перинатальные инфекции: вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинкоморфологических сопоставлений. Руководство для врачей / В.А. Цинзерлинг, В.Ф. Мельникова. — СПб.: Изд. "Элби СПб", 2002. — 351 с.
5. Шабунина-Басок, Н.Р. Ультразвуковая патология перинатальных вирусных инфекций. Атлас / Шабунина-Басок Н.Р. — Екатеринбург: УрОПАН, — 132 с.
6. Колобов, А.В. Вирусные плацентиты: морфологические особенности и возможности верификации / А.В. Колобов, В.Е. Карев // *Журнал инфектологии.* — 2018. — Т. 10, № 4. — С. 24–29.
7. Цинзерлинг, В.А. Вопросы патоморфогенеза новой коронавирусной инфекции [COVID-19] / В.А. Цинзерлинг [и др.] // *Журнал инфектологии.* — 2020. — Т.12, №2. — С. 5–11.
8. Chapter 24. Coronaviridae in: *Fenner's Veterinary Virology.* DOI: 10.1016/B978-0-12-375158-4.00042-9
9. Ehrenfeld M., Ehrenfeld M., Tincani A., Andreoli Let al. COVID-19 and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 2020. <https://doi.org/10.1055/a-1191-8094>

References

1. Schwartz D.A. An analysis of 38 pregnant women with COVID-19, their newborn infants, and maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2: maternal coronavirus infections and pregnancy outcomes. *Arch Pathol Lab Med.* 2020 Mar 17 doi: 10.5858/arpa.2020-0901-SA
2. Dashraath P., J.L.J. Wong, M.X.K. Lim et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2020 June; 222 (6): 521-531 doi: 10.1016/j.ajog.2020.03.021
3. Murphy S. Newborn baby tests positive for coronavirus in London. Available at: <https://www.theguardian.com/world/2020/mar14/newborn-baby-tests-positive-for-coronavirus-in-london>

4. Zinserling V.A., Melnikova V.F. Perinatal Infections: Issues of Pathogenesis, Morphological Diagnostics and Clinico-Pathological Correlations: Manual "ElbiSPb ", 2002, 351 p. [Rus]

5. Shabunina-Basok N.R. Ultrastructural Pathology of Perinatal Viral Infections. Atlas. Ekaterinburg: UrORAN 2003 ISBN 5-7691-1369-3132 p. [Rus]

6. Kolobov A.V., Karev V.E. Viral placentites: morphological features and verification possibilities Journal Infectology 2018,10(4): 24-29 [Rus]

7. Zinserling V.A., Vashukova M.A., Vasilyeva M.V. et al. Issues of pathology of a new coronavirus Infection [COVID-19]. Journal Infectology. – 2020, 12 (2):5-11 [Rus]

8. Chapter 24. Coronaviridae in: Fenner's Veterinary Virology. DOI: 10.1016/B978-0-12-375158-4.00042-9`

9. Ehrenfeld M., Tincani A., Andreoli L. et al. COVID-19 and autoimmunity Autoimmunity Reviews 2020. <https://doi.org/10.1055/a-1191-8094>.

Авторский коллектив:

Вашукова Мария Александровна – заместитель главного врача Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, к.м.н.; тел.: 8(812)409-79-00, e-mail: mavashukova@yahoo.com

Цинзерлинг Всеволод Александрович – руководитель центра инфекционной патологии Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, заведующий отделом патоморфологии ЦДТИ ИЭМ Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова, д.м.н., профессор; тел.: 8(812) 246-06-27, e-mail: zinslerling@yandex.ru

Семенова Наталья Юрьевна – биолог центра инфекционной патологии Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, старший научный сотрудник отдела патоморфологии ЦДТИ ИЭМ Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова, к.б.н.; тел.: 8(812) 246-06-27, e-mail: natyciel87@gmail.com

Луговская Наталья Александровна – врач-патологоанатом Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, к.м.н.; тел.: 8(812) 246-06-27, e-mail: lugovskajanatalja@yandex.ru

Наркевич Татьяна Александровна – врач-патологоанатом Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина; тел.: 8(812)246-06-27, e-mail: narkev@mail.ru

Суханова Юлия Владимировна – врач-патологоанатом Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина; тел.: 8(812)246-06-27, e-mail: sjuli07@mail.ru