УДК: 618.3-06:616.155.194-002.2

ЦИТОКИНЫ ПЛОДА С ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ВО II-ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Абдуллаева Мохларойим Нодирбек кизи - ассистент
Central Asian Medical University (Фергана, Узбекистан)
Жабборов Улугбек Узокович - д.м.н., профессор
Республиканский перинатальный центр Министерства здравоохранения Республики Узбекистан (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. *Цель: изучить цитокиновый статус у плодов с гемолитической болезнью во II-триместре беременности с резус-иммунизацией. Материалы и методы: В исследовании приняли участие 30 беременных женщин на сроке 24–28 недель гестации, разделённых на две группы: основная группа (20 беременных с резус-иммунизацией) и контрольная группа (10 здоровых беременных). Всем пациенткам проводился трансабдоминальный кордоцентез для забора крови из вены пуповины плода. Иммунологические исследования выполнялись в Институте иммунологии АН РУз. Результаты: У плодов с гемолитической болезнью показатели всех исследованных цитокинов были выше, чем в контрольной группе: уровень ИЛ-18 повышен в 1,6 раза, ИЛ-6 – в 1,7 раза, ФНО-альфа – в 2,4 раза, ИЛ-4 – в 1,5 раза. Заключение: Повышенная активность цитокиновой регуляции и неспецифического иммунитета указывает на защитные механизмы плода при гемолитической болезни, обусловленные продукцией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.*

Ключевые слова: *гемолитическая болезнь плода, резус-иммунизация, цитокины, иммунный ответ, кордоцентез.*

CYTOKINES OF THE FETUS WITH HEMOLYTIC DISEASE IN THE SECOND TRIMESTER OF PREGNANCY

Abdullaeva Mokhlaroyim Nodirbek kizi - assistant
Asian Medical University (Fergana, Uzbekistan)
Jabborov Ulugbek Uzokovich - D.M.Sc., professor
Republican Perinatal Center of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan *(Tashkent, Uzbekistan)*

Annotation. *Objective: To study the cytokine status of fetuses with hemolytic disease in the second trimester of pregnancy with Rh immunization. Materials and Methods: The study involved 30 pregnant women at 24–28 weeks of gestation, divided into two groups: the main group (20 pregnant women with Rh immunization) and the control group (10 healthy pregnant women). All patients underwent transabdominal cordocentesis to collect blood from the umbilical vein of the fetus. Immunological studies were conducted at the Institute of Immunology, Academy of Sciences of Uzbekistan. Results: Cytokine levels were elevated in fetuses with hemolytic disease compared to the control group: IL-18 increased 1.6 times, IL-6 increased 1.7 times, TNF-alpha increased 2.4 times, and IL-4 increased 1.5 times. Conclusion: The increased activity of cytokine regulation and nonspecific immunity suggests the activation of the fetal immune system in response to hemolytic disease, characterized by the production of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines.*

Keywords: *fetal hemolytic disease, Rh immunization, cytokines, immune response, cordocentesis.*

HOMILADORLIKNING II TRIMESTRIDA GEMOLITIK KASALLIKKA CHALINGAN HOMILA SITOKINLARI.

Abdullaeva Moxaroyim Nodirbek qizi - assistent
Central Asian Medical University (Fargona, O‘zbekiston)
Jabborov Ulug’bek Uzokovich - t.f.d., professor
O‘zbekiston Respublikasi Sog‘liqni Saqlash Vazirligi Respublika Perinatal Markazi (Toshkent, O‘zbekiston)

Annotatsiya: *tadqiqot maqsad: Rezus-immunizatsiya bilan bog‘liq homiladagi gemolitik kasallikda II-trimestrda sitokin holatini o‘rganish. Materiallar va usullar: Tadqiqotda 24–28 haftalik homiladorlik muddatiga ega 30 nafar homilador ayol ishtirok etdi. Ular 2 guruhga ajratildi: asosiy guruh (rezus-immunizatsiyaga ega bo‘lgan 20 nafar homilador) va nazorat guruhi (10 nafar sog‘lom homilador). Barcha ishtirokchilarga homilaviy qon olish maqsadida transabdominal kordotsentez o‘tkazildi. Immunologik tekshiruvlar O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining Immunologiya institutida o‘tkazildi. Natijalar: Gemolitik kasallikka chalingan homilalardagi barcha tekshirilgan sitokinlarning darajasi nazorat guruhi bilan solishtirganda yuqori bo‘ldi: IL-18 1,6 baravar, IL-6*

1,7 baravar, TNF-alfa 2,4 baravar, IL-4 esa 1,5 baravar oshgan. Xulosa: Sitokinlar regulyatsiyasi va noaniq immunitet faolligining oshishi homilaning gemolitik kasallikka javoban himoya mexanizmlarini ishga tushirishini ko'rsatadi, bu esa yallig'lanish va yallig'lanishga qarshi sitokinlarning ishlab chiqarilishi bilan bog'liq.

Kalit so'zlar: *homilaning gemolitik kasalligi, rezus-immunizatsiya, sitokinlar, immun javob, kordotsentez.*

Введение: Диагностика гемолитической болезни плода долгое время была основана только на анамнестических данных беременной и оценке суммарного титра резус-антител [1,2]. В последние десятилетия после внедрения в широкую врачебную практику ультразвуковой диагностики, появилась возможность верифицировать сначала отечную форму ГБП, а затем - другие формы заболевания [3,4]. Однако, как показали дальнейшие исследования, подобная диагностика оказалась не совершенной, поскольку не позволяла во всех случаях выявить анемический синдром у плода, являющийся причиной развития у него отека. Основное место в диагностике гемолитической анемии у плода занимает дешёвый, неинвазивный метод–допплерометрия (измерение максимальной систолической скорости кровотока в средней мозговой артерии плода) [5]. Начиная с конца II и на протяжении III триместра беременности она имеет выраженную корреляцию с уровнями гематокрита и гемоглобина в крови плода, получаемой при кордоцентезе [6]. Возможность не инвазивного определения Rh-генотипа плода у резус-отрицательных беременных женщин позволяет снизить затраты на ведение беременности, избежать многократного скринингового определения резус-антител и обеспечить профилактическое применение антирезусной иммунопрофилактики только при резус-положительном генотипе плода [7]. По данным литературы [8,9] верификация диагноза ГБП производится по разным показателям, таким как, данные анамнеза, определение титра анти-D Rh-антител в крови матери, ультразвуковое и допплерометрическое исследование, МРТ 1,5 Тесла и данные кордоцентеза. Нашими авторами [10] изучены некоторые показатели гуморального иммунитета плода, а точнее цитокины при гемолитической болезни, но ими изучены всего лишь и ИЛ-8 где отмечено его подавление и ИЛ-1 бетта где отмечено его наоборот повышение в крови плода.

Целью исследования: явилась оценка гуморальных факторов иммунитета, таких как основные провоспалительные цитокины ФНО-альфа, ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-18, в пуповинной крови плодов с гемолитической болезнью, обусловленной резус-конфликтом у беременных во втором триместре.

Материалы исследования: Иммунологические исследования проведены на 20 пробах пуповинной крови плодов с гемолитической болезнью, которые взяты путем трансабдоминального кордоцентеза у беременных во втором триместре с резус-иммунизацией в Республиканском Перинатальном Центре за 2024 год. В целях сопоставления результатов исследования во II-триместре у плодов, нами использованы данные достоверного числа 10 плодов, которым были проведены также фетальные исследования такие как трансабдоминальный кордоцентез с диагностической целью при подозрении на различные аномалии развития, но при этом эти ВПР не были подтверждены генетическим путём. Поэтому они и были приняты как за контрольную группу.

Иммунологические методы исследования: определение уровня цитокинов проводились методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем «Human» производства Германии, 2023г. Тест-системы основаны на сэндвич–методе твердофазного иммуноферментного анализа с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Наборы реагентов представляют собой комплект, основными реагентами которого являются МКАт к исследуемым цитокинам, сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета. Наборы предназначены для количественного определения человеческих цитокинов в сыворотке периферической крови и в биологических жидкостях. Измерение оптической плотности в каждой лунке проводили с использованием автоматического фотометра для микропланшета при длине волны 450 нм методом иммуноферментного анализа на анализаторе «Stat-Fax» (США). Все исследования цитокинового статуса у плода в пуповинной крови проведены в лаборатории фундаментальной иммунологии Института иммунологии и геномики человека АН РУз.

Статистическая обработка результатов: проводилась с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2018. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик - IBM Corporation). При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывался t-критерий Стьюдента. Полученные значения t-критерия Стьюдента оценивались путем сравнения с

критическими значениями. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости p<0,05.

Результаты и обсуждение: Цитокины не функционируют отдельно друг от друга, а в тесной взаимосвязи, обеспечивая определенное состояние иммунной системы и поддержание гомеостаза организма. При различных патологических процессах отдельные цитокины могут выполнять разные функции. Нередко при одних и тех же осложнениях беременности исследователями выявляются разнонаправленные изменения уровней цитокинов. Вероятно, на течение беременности и плода оказывает влияние не только конкретного свойства цитокинов и их концентрации в организме на системном и локальном уровнях, а их динамическое равновесие.

Ниже нами представлен анализ значений основных цитокинов или интерлейкинов, такие как ФНО-альфа, ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-18 которые играют важную роль в функционировании иммунной системы плода и матери. Что касается плода, нами исследована пуповинная кровь из вены плода с гемолитической болезнью в сроке от 24х до 28 недель гестации у женщин с резус-конфликтом.

Известно, что эти цитокины имеют также важное значение в развитии плода и самой беременности, особенно имеют важное значение при патологии, причем внутриутробной патологии. Вообще говоря, о цитокинах, следует указать, что важны все известные цитокины, каждый из них имеет свое важное место в развитии и созревании плода и беременности.

Установлено, что именно ИЛ-18 имеет важное значение в развитии воспалительных реакций, именно речь идет о воспалительном потенциале. Более того, это цитокин, который способствует передаче воспаления другим цитокинам, так как является хемокином, который имеет прямую корреляцию с повышением целого каскада воспалительных реакций. Так, ниже представлены результаты анализа изменения основных цитокинов в периферической крови плода во II-триместре беременности.

Как видно из таблицы №1, где представлены основные цитокины и их значения, видно, что практически все значения исследуемых цитокинов были повышены у плода во втором триместре беременности по сравнению с группой контроля. Анализ показал, что ИЛ-18 был достоверно повышен в 1,6 раза по сравнению с контролем.

ИЛ-6 также был достоверно повышен в 1,7 раза у плода на втором триместре. ФНО-альфа достоверно повышен в 2,4 раза. ИЛ-4 в крови плода был достоверно повышен в 1,5 раза.

Таблица 1.

ЦИТОКИНЫ ПЛОДА ВО II-ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Цитокины плода (M±m, пг/мл)	**Основная группа (n-20)**	**Контрольная группа (n-10)**
Интерлейкин-18	9,45 ± 1,22 *	5,81 ± 1,47
Интерлейкин-6	5,22 ± 0,65 *	3,07 ± 0,32
ФНО-альфа	17,44 ± 5,62 *	7,25 ± 1,59
Интерлейкин-4	9,06 ± 1,66 *	6,21 ± 1,33

***Примечание:** * – достоверность различий с контрольной группой p<0,05*

Отсюда следует, что все изученные цитокины у плода во втором триместре на фоне гемолитической болезни были достоверно повышены. Это свидетельствует об активности цитокиновой регуляции, что указывает на защитную активность иммунитета путем выработки провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Причем, были повышены цитокины, которые обладают выраженными патологическими свойствами.

Выводы:

1. При гемолитической болезни во II-триместре беременности повышается синтез всех исследуемых цитокинов у плодов по сравнению с группой контроля. ИЛ-18 достоверно повышен в 1,6 раза, ИЛ-6 в 1,7 раз, ФНО-альфа в 2,4 раз, а ИЛ-4 повышен в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой.

2. Активность цитокиновой регуляции и неспецифического иммунитета являются результатом иммунологического ответом плода. Это указывает на защитную активность иммунитета плода путем выработки провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при гемолитической болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белуга М.В. Резус-конфликт: прошлое и настоящее в решении проблемы/ М.В. Белуга // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. - 2012.-№1 (37). - С.24-29.

2. Завьялова И.В., Федорова Т.А., Рогачевский О.В., Гурбанова С.Р., Павлович С.В. Неинвазивные методы диагностики и лечения резус-сенсибилизации. // Акушерство и гинекология. – 2019. №11. С. 14-19.

3. Шишков Г.А. Изосерологическая несовместимость между матерью и плодом по системе резус // Репродуктивное здоровье Восточная Европа. - 2014.- №4 (34).-С. 162-171.

4. Babović I., Plešinac S., Radojičić Z., Antonović O., Sparić R., Plećaš D., Radunović N. Middle cerebral artery Doppler in prediction degree of fetal anemia and the best timing for the second intrauterine intravascular transfusion in red cell alloimmune disease. // Clin. Exp. Obstet. Gynecol.– 2015. №42(6). P. 792-6.

5. Babović I., Plešinac S., Sparić R., Dotlić J., Pilić I., Nejković L., Plećaš D. Fetal hydrops and middle cerebral artery Doppler in prediction degree of fetal anemia and the best timing for therapy. // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. – 2017. №44(3). P.423-8.

6. Birchenall K.A. Neonatal outcomes of pregnancies affected by haemolytic disease of the fetus and newborn and managed with intrauterine transfusion: a service evaluation / K.A. Birchenall, S.E. Illanes, F. Lopez et al. //Blood. Transfus.- 2013.- Vol.11, №4.- P.548-552.

7. Boggione C.T. идр. Genotyping approach for non-invasive fetal RHD detection in an admixed population. // Blood Transfus. 2017. Т. 15. № 1. С. 66–73.

8. Garabedian C. Neonatal outcome after fetal anemia managed by intrauterine transfusion /C. Garabedian, T. Rakza, D. Thomas et al.// Eur. J. Pediatr. - 2015. Vol.174, №11.- P.1535-1539.

9. Ghesquiére L. Management of red blood cell alloimmunization in pregnance / L. Ghesquiére, C. Garabedian, C. Coulon // J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod. - 2018.- Vol.47, №5.- P.197-204.

10. У.У. Жабборов, Ю.Г. Расуль-Заде, А.А. Исмаилова. Цитокиновый статус плода с гемолитической болезнью при резус-иммунизации матери // Инфекция, иммунитет, фармакология-2020 №4 С.65-70.