

УДК: 616-053.31-097:616.155.194-089.168

**ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО И КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У
НОВОРЖДЁННЫХ, С ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ КОТОРЫМ ПРОВЕДЕНА
ФЕТАЛЬНАЯ ВНУТРИМАТОЧНАЯ ТРАНСФУЗИЯ**

Жабборов Улужбек Узакович DSc., доцент Республиканского перинатального центра, фетальный хирург, 100007, Ташкент, Узбекистан.

uljab@mail.ru

<https://orcid.org/0009-0005-8706-3964>

Салимова Камола Арифджановна Врач акушер-гинеколог частного центра женского здоровья «Ayol Care», 100007, Ташкент, Узбекистан.

karifdjanovna@mail.ru

Хатамов Холдордон Мансуржон угли

Врач акушер – гинеколог, заведующий организационно – методического отдела Республиканского перинатального центра, 100007, Ташкент, Узбекистан.

Spark.sss9737@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0002-9570-1282>

Резюме.

Цель исследования. Изучение показателей врожденного гуморального и клеточного иммунитета у новорождённых, с гемолитической болезнью которым проведены высокотехнологичные фетальные в антенатальном периоде.

Материал и методы. Исследования проведены в РПЦ за 2024 год. Участвовали 60 новорождённых, которые были разделены на 3 группы. 1-я основная группа 20 новорождённых с гемолитической болезнью и которым в антенатальном периоде проведена операция «внутриутробная, внутрисосудистая геотрансфузия плоду», 2-я группа сравнения 20 новорождённых с гемолитической болезнью и в антенатальном периоде велись традиционно и 3-я контрольная группа из 20 здоровых новорожденных.

Результаты. Число CD8+ и CD16+ киллерных лимфоцитов были достоверно повышены в 1,4 раз и 1,8 раза по отношению с новорожденными контрольной группы. У новорожденных в группе сравнения, у которых не проводились фетальные технологии число CD3+ и CD4+ Т-лимфоцитов были достоверно снижены в 2,2 раза по отношению с данными контрольной группы. Показатели IgM в пуповинной крови у новорождённых, взятой в группе сравнения, то есть, где беременность велась традиционным путём была достоверно повышена в 2,2 раза по сравнению с группой контроля. У новорождённых, которым в антенатальном периоде не проводилось внутриутробная геотрансфузия показатель IgA был достоверно повышен по

отношению группы контроля в 2,3 раза, тогда как у новорожденных в основной группе IgA не был повышен.

Заключение. Исследования показали, что внутриутробная, внутрисосудистая гемотрансфузия плоду не только улучшают гематологические показатели крови, но и благоприятно влияет на Т-клеточный иммунитет и не дает формироваться иммунодефицитному состоянию при рождении. Что касается гуморального иммунитета, то отмечено снижение уровня IgG, A и M у новорожденных, все это свидетельствует о снижении воспалительного потенциала у них.

Ключевые слова: гемолитическая болезнь новорожденных, реус-иммунизация, клеточный и гуморальный иммунитет, Т-клетки, иммуноглобулины Ig G, A и M.

Annotatsiya.

Tadqiqot maqsadi. Antenatal davrda yuqori texnologiyali fetal amaliyotlarni o'tkazilgan homiladorlar ayollardan tug'ilgan, gemolitik kasalligi bo'lgan yangi tug'ilgan chaqaloqlarda tug'ma gumoral va hujayrali immunitet ko'rsatkichlarini o'rganish.

Tadqiqot materiali va usullari. Tadqiqot Respublika Perinatal Markazi 2024 yilda o'tkazildi. 60 ta yangi tug'ilgan chaqaloq ishtirok etdi va ular 3 guruhga bo'lingan. 1-asosiy guruh gemolitik kasalligi bo'lgan va antenatal davrda "homilaga tomir ichiga qon quyish" operatsiyasidan o'tgan 20 nafar yangi tug'ilgan chaqaloqlar, 2-chi solishtirma guruhi gemolitik kasalligi bo'lgan va antenatal davrda 20 nafar yangi tug'ilgan chaqaloqlar an'anaviy va 3-nazorat guruhida davolandi. 20 ta sog'lom yangi tug'ilgan chaqaloq.

Tadqiqot natijalari. Nazorat guruhiga nisbatan asosiy guruhlarda CD8+ va CD16+ killer limfotsitlari miqdori ishonchli 1,4 va 1,8 barobarga yuqori bo'lgan. Fetal amaliyotlar o'tkazilmagan solishtiruv guruhga tegishli chaqaloqlarda CD3+ va CD4+ T-limfotsitlar miqdori nazorat guruhiga nisbatan ishonchli 2,2 martta kam bo'lgan. An'anaviy tarzda homiladorlik davri olib borilgan solishtirma guruh chaqaloqlari kindik qonidan olingan tahlillarda IgM miqdori nazorat guruhiga nisbatan 2,2 martta past bo'lgan. Antenatal davrda homila ichi gemotransfuziyalar o'tkazilmagan guruh chaqaloqlarida IgA nazorat guruhiga nisbatan 2,3 marotaba baland va aksincha asosiy guruhda IgA miqdori o'sishi kuzatilmagan.

Xulosa. Tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, homilaga tomir ichiga qon quyish nafaqat gematologik qon parametrlarini yaxshilaydi, balki T-hujayra immunitetiga foydali ta'sir ko'rsatadi va tug'ilishda immunitet tanqisligi holatining shakllanishiga to'sqinlik qiladi. Gumoral immunitetga kelsak, yangi tug'ilgan chaqaloqlarda IgG, A va M darajasining pasayishi qayd etilgan, bularning barchasi ularning yallig'lanish salohiyatining pasayishini ko'rsatadi.

Kalit so'zlar: chaqaloqlar gemolitik kasalligi, reus-immunizatsiya, hujayraviy va gumoral immunitet, T-hujayralar, Ig G, A va M immunoglobulinlari.

Resume.

The purpose of the study. Study of the indices of innate humoral and cellular immunity in newborns with haemolytic disease who underwent high-tech fetal in the antenatal period.

Material and methods. Research was carried out in the Republican Perinatal Centre for 2024. 60 newborns took part and were divided into 3 groups. 1st main group of 20 newborns with hemolytic disease and who underwent an operation "intrauterine, intravascular blood transfusion to the fetus" in the antenatal period, 2nd comparison group of 20 newborns

with hemolytic disease and in the antenatal period were treated traditionally and 3rd control group of 20 healthy newborns.

Results. The number of CD8+ and CD16+ killer lymphocytes were significantly increased 1.4-fold and 1.8-fold compared to the control group newborns. In newborns in the comparison group who did not undergo fetal technology, the numbers of CD3+ and CD4+ T-lymphocytes were significantly reduced by 2.2 times compared to the control group. IgM values in cord blood of newborns taken in the comparison group, i.e. where the pregnancy was carried out in the traditional way, were significantly increased by 2.2 times in comparison with the control group. In newborns who did not undergo intrauterine haemotransfusion in the antenatal period, IgA was significantly increased 2.3-fold in relation to the control group, whereas in newborns in the main group IgA was not increased.

Conclusion. Studies have shown that intrauterine, intravascular blood transfusion to the fetus not only improves hematological blood parameters, but also has a beneficial effect on T-cell immunity and prevents the formation of an immunodeficiency state at birth. As for humoral immunity, a decrease in the level of IgG, A and M in newborns was noted, all this indicates a decrease in their inflammatory potential.

Key words: haemolytic disease of newborns, Rh immunisation, cellular and humoral immunity, T cells, Ig G, A and M immunoglobulins.

Актуальность: на рубеже тысячелетий ГБП считали еще почти синонимом Rh-конфликта, но активная послеродовая иммунопрофилактика, осуществляемая с 1970 г. уменьшила материнскую резус-иммунизацию с 14% до 1-2%, еще более нивелировала проблему дородовая иммунопрофилактика беременных с Rh-кровью до 0,1% [1,2]. Дородовая иммунопрофилактика привела к некоторому приросту встречаемости ГБП, обусловленной другими эритроцитарным антигенами [3,4].

Патогенез ГБП формирует внесосудистый гемолиз эритроцитов плода и новорожденного вследствие повреждения их мембран антителами беременной, а распадаясь гемоглобин превращается в билирубин (1г гемоглобина образует 35 мг билирубина) [5]. При гестации аллоиммунизация по Rh чаще всего активно проявляется в III триместре и в родах, но в 3% ГБП развивается в I триместре, в 12% – во II и в 45% – в III триместре, при этом у 90% – позже 28 недели гестации [6]. ГБП при последующих гестациях всегда тяжелее относительно первой гестации, так как аллоиммунизация наступает быстрее и проявляется сильнее [7]. Наследование плодом особенностей иммунного статуса при беременности называется эпигенетическим материнским иммунным импринтингом [8].

В нашей стране проблема резус-иммунизации и в настоящее время является актуальной и требует активных действий по решению. По данным отечественных авторов в Узбекистане за 2016-2018 гг. отмечалась тенденция увеличения частоты заболеваемости новорождённых гемолитической болезнью (ГБН) [9]. Согласно статистическим данным Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан, в 2021 году в Республике родилось 2086 новорожденных (0,24%) с ГБН, в 2022 году 2281 (0,25%) и в 2023 году 2812 (0,3%). Как в абсолютном, так и в процентном отношении отмечается увеличение данной патологии.

У плода, как и взрослого человека главными компонентами иммунобиологической защиты считают натуральные киллеры (NK), оцениваемых по уровням CD16 и CD56 [10]. Следует понимать, что абсолютно любое нарушение двусторонней иммунологической адаптации плода и матери представляют собой угрозу развития плаценты, рост и жизнь плода на любых сроках, например, при ГБП во II или III триместрах [11]. Исходя выше указанного нами также было решено более детально изучить основные показатели врождённого клеточного и гуморального иммунитета у новорожденных с гемолитической болезнью.

Целью исследования: явилась оценка клеточных факторов иммунитета, таких как основные Т-лимфоциты CD3+, Т-хелперы CD4+, Т-супрессоры CD8+, Т-киллеры CD16+, В-лимфоциты CD20+ и оценка гуморальных факторов иммунитета, таких как иммуноглобулины G, M, A в пуповинной крови новорождённых с гемолитической болезнью, обусловленной резус-конфликтом у беременных и которые в антенатальном периоде получали лечение путём внутриутробной, внутрисосудистой гемотрансфузии плоду.

Материалы исследования: всего в исследованиях участвовали 60 новорождённых, которые родились Республиканском Перинатальном Центре за 2024 год. Они были разделены на 3 группы. 1-я основная группа 20 новорождённых с гемолитической болезнью которым в антенатальном периоде проведена операция «внутриутробная, внутрисосудистая гемотрансфузия плоду», 2-я группа сравнения

также 20 новорождённых с гемолитической болезнью, но которым в антенатальном периоде не проведены фетальные операции, и 3-я контрольная группа состоит из 20 здоровых новорожденных.

Иммунологические методы исследования: исследования иммунного статуса у новорождённого в пуповинной крови проведены 1-е сутки жизни в лаборатории фундаментальной иммунологии Института иммунологии и геномики человека АН РУз. Определение клеточного иммунитета включала CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD16+/56+ и проводилась с использованием моноклональных антител компании BD (USA) методом проточной цитофлуориметрии (BD Accury C6). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ), который является соотношением количества CD4+Т-хелперов к количеству CD8+Т-лимфоцитов рассчитывался вручную. В норме ИРИ у здоровых детей и взрослых бывает выше единицы. Определение уровня основных иммуноглобулинов в биологических жидкостях проводились методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих тест-систем «Human», Германия. Тест-системы основаны на сэндвич-методе твердофазного иммуноферментного анализа с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. 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).

Результаты и обсуждение: перед нами стояла первая задача провести иммунологическое обследование клеточного иммунитета у новорождённых, которым была проведена фетальная операция. В связи с этим иммунологические исследования клеточного иммунитета были проведены в пуповинной крови новорождённых с ГБН, которым внутриутробно проведена гемотрансфузия и не проведена гемотрансфузия. Полученные результаты представлены ниже в таблице-1.

Анализ результатов показал, что число Т-лимфоцитов CD3+ в группе сравнения были достоверно снижены по сравнению с контрольной группой в 2,2 раза, причем в основной группе число Т-лимфоцитов CD3+ достоверной разницы не наблюдалось и снижение было всего лишь в 1,2 раза.

Таблица-1.

ОСНОВНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИММУНИТЕТА НОВОРОЖДЕННЫХ (ПУПОВИННАЯ КРОВЬ), (M±m, %)

Параметр	Основная группа (n-20)	Группа сравнения (n-20)	Контрольная группа (n-20)
CD3+, %	47,88±1,96	28,66±1,51 *	62,44±5,31
CD4+, %	39,24±2,38	21,55±1,78 *	47,53±5,52
CD8+, %	20,46±	25,82±1,	18,60±3,

	1,22	66 *	36
CD4+/CD8 +, (ИРИ)	1,67±0, 18	0,85±0,0 6 *	2,32±0,2 4
CD20+, %	12,34±1,75	19,42±1,56	17,56±1, 64
CD16+/CD 56+, %	9,55±1, 45	14,66±2, 42 *	8,35±1,2 4

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

Это свидетельствует о том, что после проведенной внутриутробной гемотрансфузии наблюдается улучшение показателей клеточного иммунитета, в частности повышение числа Т-лимфоцитов, что благоприятно влияет на Т-клеточный иммунитет и не дает формироваться иммунодефицитному состоянию при рождении.

Число Т-лимфоцитов хелперов/индукторов CD4+ в группе сравнения были также достоверно снижены по сравнению с данными значений контроля в 2,2 раза причем в основной группе показатели Т-лимфоцитов хелперов CD4+ достоверной разницы не наблюдалось и снижение было всего лишь в 1,2 раза. Показатели Т-цитотоксических лимфоцитов CD8+ в группе сравнения были достоверно повышены по сравнению с данными контрольной группой в 1,4 раза, причем в основной группе количество CD8+ клеток достоверной разницы не наблюдалось и повышение было всего лишь в 1,1 раза. Иммуно-регуляторный индекс был достоверно снижен в группе сравнения в 2,7 раза по отношению данными группой контроля, причем в основной группе данный индекс был снижен всего лишь в 1,3 раза по отношению к контролю и достоверной разницы тоже не было.

Результаты исследования В-лимфоцитов CD20+ в группе новорожденных с традиционным ведением было повышено незначительно и достоверной разницы не наблюдалось. Такая же не достоверная разница выявлена с В-лимфоцитами CD20+ в основной группе по отношению к значениям контрольной группы. Анализ киллерной активности иммунитета новорожденных показал, что число киллерных лимфоцитов CD16+/56+ были достоверно повышены в группе сравнения в 1,8 раза, причем в основной группе число киллерных лимфоцитов CD16+/56+ повышены всего лишь в 1,1 раз что наблюдается не достоверная разница по сравнению с данными значений контроля.

Известно, что антитела класса IgG обладают способностью трансплацентарного транспорта, что позволяет иммунным факторам матери и плода находится в постоянной взаимосвязи. В постнатальном периоде IgG по праву считают преобладающим Ig, который превалирует в сыворотке крови плода и новорожденного, а концентрации IgM, IgE и IgA относительно малы, хотя материнские IgE проникают в кровотоки плода в комплексе IgG/IgE. При гестации уровень IgG характеризуется постепенным приростом в течение I и II триместров, с максимальным увеличением в течение III триместра (в норме у доношенных новорожденных уровень IgG приблизительно 1000 г/дл – 125% от сывороточной концентрации матери), т.е. активным введением антител к плоду опосредованно Fc-рецепторов (FcRn) плаценты [12].

Далее перед нами стояла вторая задача провести иммунологическое с оценкой гуморального иммунитета у новорождённых, которым была проведена внутриматочная трансфузия. Полученные результаты представлены ниже в таблице-2.

Таблица-2.

ОСНОВНЫЕ ГУМОРАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИММУНИТЕТА НОВОРОЖДЕННЫХ (ПУПОВИННАЯ КРОВЬ), (M±m, г/л)

ы	Параметр	Основна я группа (n-20)	Группа сравнения (n-20)	Контрол ьная группа (n-20)
	Иммуноглобулин G	7,33 ± 0,75 ^	8,51 ± 1,21 *	6,36 ± 0,35
	Иммуноглобулин A	1,53 ± 0,32 ^	2,95 ± 0,24 *	1,28 ± 0,44
	Иммуноглобулин M	1,64 ± 0,50 * ^	2,26 ± 0,45 *	1,05 ± 0,45

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

^ - достоверность различий между исследуемыми группами

Так анализ показал, что значения иммуноглобулина G в пуповинной крови новорождённых в группе сравнения был достоверно повышен в 1,4 раза по сравнению с группой контроля, тогда как IgG в пуповинной крови новорождённых основной группы не был достоверно повышен по отношению группы контроля. При сравнении различий между двумя группами исследования было выявлено что после проведенной гемотрансфузии показатель иммуноглобулина G в основной группе незначительно, но достоверно снижается по отношению группы сравнения и разница составляет 1,2 раза.

Показатель иммуноглобулина A в пуповинной крови в группе новорождённых, где не была проведена внутриутробная гемотрансфузия были достоверно повышены в 2,3 раза по отношению группы контроля. Иммуноглобулина A в пуповинной крови новорождённых, взятой после проведенной внутриутробной гемотрансфузии, был не достоверно повышен по отношению группы контроля. При сравнении различий между двумя группами исследования было выявлено что в основной группе новорождённых уровень иммуноглобулина A в 1,9 раза ниже, чем у новорождённых группы сравнения.

IgM — первые иммуноглобулины, которые начинают синтезироваться у плода на 18-20-й неделе. При первичном столкновении с антигеном IgM образуются первыми, они появляются и при повторных столкновениях, но в меньших количествах. IgM не проходят через плаценту. По данным некоторых авторов изменение концентрации IgM при ГБП характеризуется минимальной диагностической значимостью, но комплекс «пролиферация мононуклеарных клеток, стимулированных ConA, анти-CD3-моноклональных антител и IgM» имел высокую специфичность, чувствительность и информативность, т.е. с высокой вероятностью (26:1) говорит о наличии иммунной патологии плода [13].

Значения IgM в пуповинной крови новорожденных, взятой в группе сравнения, то есть где беременность велась традиционным путём была достоверно повышена в 2,2 раза по сравнению с группой контроля, тогда как IgM в пуповинной крови новорождённых, взятой после проведенной фетальной операции, то есть в основной группе был достоверно повышен в 1,6 раза по сравнению группы контроля. Как видно после проведенной внутриутробной гемотрансфузии IgM незначительно снижается в основной группе, и достоверная разница между группой сравнения составляет 1,4 раза.

Выводы:

1. У новорожденных в группе сравнения, у которых не проводились фетальные технологии число CD3+ и CD4+ Т-лимфоцитов были достоверно снижены в 2,2 раза по отношению с данными контрольной группы. Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) также был снижен в группе сравнения в 2,7 раза по отношению данными группой контроля, причем в основной группе достоверной разницы не было.

2. Число CD8+ и CD16+ киллерных лимфоцитов были достоверно повышены в 1,4 раз и 1,8 раза по отношению с новорожденными контрольной группы. Показатели CD20+ В-лимфоцитов в обеих группах новорожденных как в основной, так и в группе сравнения не имели достоверных различий с показателями здоровой группой новорожденных.

3. У новорожденных в основной группе, которым проводились фетальные технологии в антенатальном периоде показатель IgG в пуповинной крови не был достоверно повышен по отношению группы здоровых новорожденных. Показатели IgM в пуповинной крови у новорождённых, взятой в группе сравнения, то есть, где беременность велась традиционным путём была достоверно повышена в 2,2 раза по сравнению с группой контроля. У новорождённых, которым в антенатальном периоде не проводилось внутриутробная гемотрансфузия показатель IgA был достоверно повышен по отношению группы контроля в 2,3 раза, тогда как у новорожденных в основной группе IgA не был повышен.

4. Внутриутробная, внутрисосудистая гемотрансфузия плоду не только улучшает гематологические показатели крови плода, но и улучшает показатели клеточного иммунитета, в частности благоприятно влияет на Т-клеточный иммунитет и не дает формироваться иммунодефицитному состоянию при рождении, а также улучшает показатели гуморального иммунитета, в частности способствует снижению уровня иммуноглобулинов G, A и M. Все это свидетельствует о снижении воспалительного потенциала.

Список использованной литературы:

1. Liunbruno G.M., D'alessandro A., Rea F., Piccinini V. et al. The role of antenatal immunoprophylaxis in the prevention of maternal fetal anti Rh (D) alloimmunisation. // Blood Transfus. 2020 - №8(1) – p.8-16.;
2. Moise K.Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. // Obstet. Gynecol. 2018 - №112(1) – p.164-76.
3. Basu S., Kaur R., Kaur G., Jain S. Severe hemolytic disease of newborn due to non-Rh D antibody. // Indian J. Pediatr. 2021 -№78(3) – p.366-367.;

4. De Winter DP, Kaminski A, Tjoa ML, Oepkes D. Hemolytic disease of the fetus and newborn: systematic literature review of the antenatal landscape. // *BMC Pregnancy Childbirth*. 2023 - №23(1) – p.12-18
5. Moise KJ Jr, Ling LE, Oepkes D, Tiblad E. UNITY Study Group. Nipocalimab in Early-Onset Severe Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. // *N Engl J Med*. 2024 - №391(6) – p.526-537
6. Chilcott J. et al. A review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of routine anti-D prophylaxis for pregnant women who are rhesus-negative. // *Health Technol. Assess.* 2023. - Vol.7. - №4. - p.44-62.;
7. De Winter DP, Hulzebos C, Van 't Oever RM, De Haas M. History and current standard of postnatal management in hemolytic disease of the fetus and newborn. // *Eur J Pediatr*. 2023 – №182(2) – p.489-500
8. Poletaev A, Osipenko L. General network of natural autoantibodies as Immunological Homunculus (Immunculus). // *Autoimmunity Rev.* 2023 - №2 – p.264-271
9. Жабборов У.У., Расуль-Заде Ю.Г. Новый взгляд на проблему резус-иммунизации в Республике Узбекистан. *Медицинские новости* №4, 2020 стр.83-86 Минск.
10. He Y-D, Xu B-N, Wang M-L, et al. Dysregulation of complement system during pregnancy in patients with preeclampsia: A prospective study. // *Mol Immunol*. 2020 - №122 – p.69–79.
11. Papuchova H, Meissner TB, Li Q, et al. The Dual Role of HLA-C in Tolerance and Immunity at the Maternal-Fetal Interface. // *Front Immunol*. 2019 -№10 – p.2730-2741
12. Amatuni G.S., Currier R.J., Church J.A., Bishop T. et al. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency and T-cell Lymphopenia in California, 2010–2017. // *Pediatrics* 2019 - №143 (2) – p.31–63
13. Alexandrova M, Manchorova D, Dimova T. Immunity at maternal-fetal interface: KIR/HLA (Allo)recognition. // *Immunol Rev.* 2022 - №308(1) – p.55-76.