

Діагностичні аспекти лабораторного дослідження амніотичної рідини при передчасних пологах

А. С. Падченко

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика,
м. Київ

Мета дослідження: вивчення діагностичного значення клініко-лабораторного дослідження амніотичної рідини при передчасних пологах.

Матеріали та методи. Під нашим спостереженням у клінічних умовах перебували 142 породіллі, що були госпіталізовані з початком пологової діяльності до пологових установ різного рівня. Із загального числа були виключені породіллі з багатоплідною вагітністю, тазовим передлежанням плода, аномаліями розвитку плода і антенатальною загибеллю плода. Більшість обстежених була активного репродуктивного віку. Середній вік пацієнток становив $24,9 \pm 0,3$ року. Усім вагітним проводили комплексне клінічне обстеження під час госпіталізації. Клінічне обстеження жінок включало вивчення анамнезу життя, зокрема анамнезу захворювання, особливостей перебігу вагітності. Були проведені загальноприйняті лабораторні і функціональні методи дослідження. До комплексу додаткових методів дослідження були включені ехографічні, кардіотокографічні і доплерометричні.

Результати. Вивчення гормонального статусу амніотичної рідини у пологах продемонструвало, що вміст естрадіолу під час пологової діяльності коливався у межах 30–180 нг/мл. Виявлена достовірна різниця між вмістом цього гормону в амніотичній рідині при народженні хлопчиків і дівчаток. Так, при народженні дівчаток показник естрадіолу становив $21,4 \pm 2,3$ нг/мл, а при народженні хлопчиків середній показник естрадіолу був на рівні $16,5 \pm 2,3$ нг/мл. Хоча виявлена різниця і не мала достовірний характер ($p > 0,05$), даний факт свідчить про участь плода у виробленні амніотичної рідини.

Водночас рівень естрадіолу в амніотичній рідині при народженні хлопчиків і дівчаток однаково достовірно підвищувався за наявності акушерської патології, такої як слабкість пологової діяльності у поєднанні з дистресом плода ($p < 0,05$). Аналогічна картина відзначена у вмісті кортизолу в амніотичній рідині. Показники кортизолу в амніотичній рідині у пологах були у межах 200–450 нмоль/мл. При цьому при народженні дівчаток середній рівень кортизолу становив $180,4 \pm 8,4$ нмоль/мл, а при народженні хлопчиків – $265,4 \pm 10,2$ нмоль/мл, що також свідчить про участь плода у виробленні амніотичної рідини.

Між двома гормонами виявлено прямий кореляційний зв'язок ($r=0,64$; $p<0,05$). При патологічному перебігу пологів показник естрадіолу і кортизолу достовірно підвищувався, що свідчило про внутрішньоутробне страждання плода ($p<0,01$). Виявлено взаємозв'язок рівнів естрадіолу і кортизолу з іншими параметрами амніотичної рідини і стану плода в пологах. Так, показник естрадіолу був у прямій залежності від показників опору кровотоку при доплерометрії, а саме: систоло-діастолічного відношення та індексу резистентності ($r=0,64$). Показники естрадіолу і кортизолу закономірно підвищувалися при зниженні рН в амніотичній рідині ($r=-0,71$; $p<0,01$) і при зниженні базального ритму серцевої діяльності плода на кардіотокограмі ($r=-0,69$).

Заключення. Результати проведених досліджень продемонстрували, що фізико-хімічні і біохімічні параметри амніотичної рідини схильні до статистично достовірних змін залежно від терміну пологів і внутрішньоутробного стану плода в пологах. Найбільш показовими є зміни концентрації креатиніну і сечовини в амніотичній рідині при пологах, що запізналися, що може мати діагностичне значення. Поєднання наведених ознак зі зниженням кислотності і підвищенням щільності амніотичної рідини при пологах, що запізналися, а також наявність в ній меконію вказує на порушення метаболізму плода і необхідність своєчасної корекції виявлених порушень.

Клінічний аналіз зазначених параметрів амніотичної рідини в пологах має важливе діагностичне значення при фізіологічному і патологічному перебігу вагітності і пологів.

Ключові слова: передчасні пологи, амніотична рідина, лабораторне обстеження, діагностика.

Перинатальні втрати переважно обумовлені несприятливими результатами вагітності і пологів при різних станах [1, 2]. Більшість опублікованих досліджень направлено на виявлення і лікування порушень гомеостазу плода при вагітності, тоді як період пологів часто залишається без уваги [3, 4]. Гомеостаз плода формується матково-плацентарним комплексом, який разом із забезпеченням кровотоку плода виробляє амніотичну рідину (АР), що оточує плід протягом вагітності і першого періоду пологів. Є безліч публікацій, що свідчать про фізико-хімічні і біологічні параметри навколоплідних вод (НПВ) і їхній вплив на формування плода під час вагітності [5, 6]. Водночас зміна особливостей АР в пологах і їхнє значення для плода мало вивчені.

Кількість АР, що оточує плід, значно змінюється протягом вагітності і при її ускладненнях. Із впровадженням ультразвукової діагностики (УЗД) в акушерську практику стало можливим визначення кількості НПВ, а також вилучення АР шляхом амніоцентезу під контролем УЗД. Проте дослідження НПВ за допомогою амніоцентезу під час вагітності пов'язане з високим ризиком переривання вагітності, порушенням цілісності плодового міхура і ризиком травми плода.

У сучасній літературі є багато робіт, присвячених маловодддю і багатоводддю під час вагітності [7, 8]. Водночас вплив кількості АР на перебіг пологів і інтранатальний стан плода залишається маловивченим. З іншого боку, участь плода в ініціації і процесі пологової діяльності також є предметом досліджень багатьох авторів. Є відомості про те, що багато компонентів АР виробляються організмом плода і потрапляють в амніотичний простір із сечею плода [9, 10]. Інші компоненти АР, зокрема простагландини, виробляються безпосередньо амніоном. Амніон сам по собі, особливо його капітальна частина, є досить міцним бар'єром, що захищає організм

плода від проникнення інфекції з піхви жінки під час вагітності. З іншого боку, він є бар'єром для потрапляння в кров матері часток сироподібного мастила й епітелію плода і захищає матір від розвитку емболії НПВ [1, 2]. Проте за певних умов цілісність амніотичної оболонки порушується, що призводить до багатьох патологічних станів, зокрема передчасному розриву плодових оболонок, передчасним пологам і такому грізному стану, як емболія НПВ, що в більшості випадків може спричинити материнську смертність [3, 4].

Причини порушення цілісності плодових оболонок, а також роль амніона та АР при передчасних пологах, що запізнiliся, є предметом багатьох досліджень [5, 6]. Патогенез усіх наведених вище станів залишається маловивченим і закликає до ведення подальших досліджень амніона і АР.

Відомо, що з початком пологової діяльності, і особливо в перший період пологів, стан матково-плацентарно-плодового комплексу змінюється досить швидко. Розвиток компенсаторно-приспосовних реакцій залежить від багатьох чинників, зокрема і від кількості і складу АР, що оточує плід [7, 8]. З огляду на це актуальним є вивчення особливостей АР і їх взаємозв'язку з перебігом і результатами пологів.

Розроблення найбільш прийнятних методів діагностики і прогнозування перинатальних порушень у пологах сприяє поліпшенню якості медичної допомоги і скороченню частоти неонатальної захворюваності і смертності.

Мета дослідження: аналіз діагностичного значення клініко-лабораторного дослідження АР у разі передчасних пологів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під нашим спостереженням у клінічних умовах перебували 142 породіллі, що були госпіталізовані з початком пологової діяльності до пологових установ різного рівня.

Із загального числа були виключені породіллі з багатоплідною вагітністю, тазовим передлежанням плода, аномаліями розвитку плода і антенатальною загибеллю плода. Більшість обстежених були активного репродуктивного віці (середній вік обстежених – $24,9 \pm 0,3$ року).

Із загального числа обстежених майже половина (48,6%) були ті, хто народжували уперше, інші були повторнонароджуючі. Із загального числа жінок, що були госпіталізовані, переважна більшість народжували в терміні гестації 38–41 тиж (59,9%). Пологи, що запізнiliся, зафіксовані у 19,7% жінок, у 20,4% жінок вагітність закінчилася передчасними пологами в термінах гестації 22–37 тиж (19,8%).

Під час оцінювання клінічного перебігу вагітності привертає увагу, що 57,0% жінок перенесли ранній токсикоз вагітних, майже кожна четверта породіллі (14,1%) відзначала в анамнезі явища загрозливого викидня, а кожна восьма – загрозу передчасних пологів (12,7%). Усього у 142 породіль зареєстровано 218 ускладнень вагітності, тобто у деяких жінок було декілька ускладнень (1,5 на одну жінку).

Акушерський анамнез у 73 обстежених повторнонароджуючих жінок був ускладнений у 28,8% з них переважно невиношуванням, штучним перериванням вагітності, мертвонародженням і кровотечами.

Лише 29 (20,4%) жінок із 142 зазначили в анамнезі ті або інші гінекологічні захворювання, причому найчастіше – запальні процеси репродуктивної системи.

Усім вагітним проводили комплексне клінічне обстеження під час госпіталізації. Клінічне обстеження жінок включало вивчення анамнезу життя, зокрема анамнезу захворювання, особливостей перебігу вагітності. Були проведені загальноприйняті лабораторні і функціональні методи дослідження.

До комплексу додаткових методів дослідження були включені ехографічні, кардіотокографічні і доплерометричні.

Кількість АР визначали двома методами:

- визначення максимальної вертикальної кишені (МВК),
- визначення індексу АР (ІАР) [1].

Забір АР на лабораторне дослідження виконували наприкінці першого періоду пологів при мимовільному розтині плодового міхура або амніотомії. При цьому в декілька пробірок забирали АР для визначення гормонів, сечовини і креатиніну, білірубину, глюкози, білка, рН, визначення яких проводили за загальноприйнятими методиками [5].

Із загальної кількості обстежених 32 породіллям визначали вміст кортизолу, естрадіолу і плацентарного лактогену в АР імуноферментним методом.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження біохімічних показників АР продемонстрували, що вміст білка в АР коливався у межах 2,2–3,8 г/л. Зі збільшенням терміну гестації концентрація білка в АР поступово збільшується. Виявлено статистично достовірні відмінності в показниках білка в АР при передчасних пологах порівняно з пологами, що запізнилися ($p < 0,05$). Встановлено також, що при маловодді спостерігається незначне збільшення концентрації білка при передчасних пологах і значне збільшення – при пологах, що запізнилися. При багатоводді концентрація білка залишалася на рівні 2,5–3,3 г/л.

Отже, збільшення вмісту білка в АР більшою мірою пов'язане з терміном гестації і меншою – з кількістю АР. Наведені дані переконливо свідчать, що маловоддя – це не просте згущування концентрації АР, а складний метаболічний процес, що вимагає детальних досліджень усіх можливих параметрів НПВ.

Середні показники концентрації сечовини в АР становили $3,8 \pm 0,1$ мкмоль/л з коливаннями від 2,2 до 9,9 мкмоль/л. Це свідчить про те, що концентрація сечовини також зростала в термінових пологах порівняно з передчасними пологами ($p < 0,05$), досягаючи максимуму при пологах, що запізнилися. Достовірність різниці показників була високою ($p < 0,001$). Між величинами білка і сечовини виявлено пряму залежність, хоча кореляція цієї залежності була невисокою ($r = 0,72$). При багатоводді вміст сечовини залишався в межах норми, а при маловодді – залежав від наявності акушерської патології.

Вміст сечовини під час пологів у всі терміни мав найбільш високі показники при хронічній гіпоксії плода, особливо розвинутій на тлі прееклампсії, затримці розвитку плода при здавленні пуповини. Найбільш високі показники сечовини зафіксовані під час пологів, що запізнилися, ускладнених акушерською патологією.

Вміст креатиніну в АР поступово підвищувався від $101,11 \pm 1,29$ мкмоль/л при передчасних пологах до $133,36 \pm 5,8$ мкмоль/л при термінових пологах, досягаючи до $198,25 \pm 4,07$ мкмоль/л при пологах, що запізнилися. Вказані відмінності носили достовірний характер ($p < 0,001$). Показники креатиніну були в прямій залежності від показників сечовини ($r = 0,77$) і змінювалися в аналогічній послідовності, як і показники сечовини.

Зворотна тенденція спостерігалася у вмісті цукру в АР. Так, при передчасних пологах вміст цукру в АР був максимальним і досягав до 0,99 моль/л, хоча і коливався в межах норми. При термінових пологах вміст цукру в АР дещо знижувався, проте це не мало достовірних відмінностей (0,88 моль/л). Під час пологів, що запізнилися, концентрація цукру в АР знижувалась до 0,61 моль/л. Водночас виявлена достовірна відмінність концентрації цукру в АР порівняно з терміновими пологами ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що при багатоводді або маловодді концентрація цукру не зазнавала особливих змін і коливалась у межах норми. Проте цей показник різко збільшувався за наявності макросомії плода (71%), особливо обумовленому цукровим діабетом у матері (один випадок).

Визначення щільності АР спірометром продемонструвало, що даний показник підвищується лише при пологах, що запізнилися. При термінових і передчасних пологах щільність АР залишалась у межах норми. Прозорість АР також змінювалась лише при пологах, що запізнилися, або супроводжуються маловоддям.

Частота вмісту меконію в АР достовірно підвищувалася при пологах, що запізнилися, і дещо знижувалася при передчасних пологах, коливаючись від 0,5% до 45,7%. У дослідженнях меконій в АР виявлений у 40 (28,1%) породіль. При цьому виявлено, що меконій в АР фіксували як за наявності дистресу плода (50%), так і без нього (50%).

Для диференціації респіраторного і метаболічного ацидозу визначали рН НПВ. Середні показники кислотності АР (рН) коливались від 6,9 до 7,8 із середніми значеннями $7,2 \pm 0,09$. Показники кислотності АР також мали статистично достовірні відмінності при пологах в різні терміни. Так, частота зниження рН менше 7,0 підвищувалася як при передчасних пологах, так і при запізнених. В останньому випадку різниця була статистично достовірна ($p < 0,01$). При цьому рівень кислотності при маловодді у всі терміни пологів був достовірно нижче, ніж при інших випадках.

Дослідження рН НПВ продемонструвало, що рівень її кислотності корелює з величиною частоти серцевих скорочень, лише при дистресі плода гіпоксії ($r = 0,68$; $p < 0,05$). У всіх останніх випадках чіткого взаємозв'язку рН НПВ з показником КТГ не виявлено.

Результати досліджень вмісту білірубину в АР продемонстрували, що рівень загального білірубину коливався в межах від 4,8 до 22,9, при цьому середній рівень загального білірубину становив $10,5 \pm 1,6$, у тому числі прямого – $3,7 \pm 0,1$ і зв'язаного – $6,9 \pm 0,2$. Показники білірубину значно підвищувалися за наявності внутрішньоутробної інфекції (4 випадки), розвитку кон'югаційної жовтяниці новонародженого і гепатиту у плода (1 випадок).

У більшості випадків підвищення рівня білірубину в АР свідчило про хронічну гіпоксію плода і при фарбуванні АР меконієм. Останні дані вказують на факт потрапляння фекальних виділень плода у НПВ. Крім того, підвищення рівня загального і зв'язаного білірубину свідчило про страждання функції печінки плода у разі дистресу плода.

Вивчення гормонального статусу АР пологів свідчить, що вміст естрадіолу під час пологової діяльності коливався у межах 30–180 нг/мл. Виявлено достовірну різницю між вмістом цього гормону в АР при народженні хлопчиків і дівчаток. Так, при народженні дівчаток показник естрадіолу становив $21,4 \pm 2,3$ нг/мл, у той час як при народженні хлопчиків середній показник естрадіолу був на рівні $16,5 \pm 2,3$ нг/мл. Хоча виявлена різниця і не носила достовірний характер ($p > 0,05$), даний факт вказує на участь плода у виробленні АР. Тим часом рівень естрадіолу в АР при народженні хлопчиків і дівчаток однаково достовірно підвищувався за наявності акушерської патології, такої як слабкість пологової діяльності у поєднанні з дистресом плода ($p < 0,05$).

Аналогічна картина відмічена у вмісті кортизолу в АР. Показники кортизолу в АР пологах були в межах 200–450 нмоль/мл. При цьому при народженні дівчаток середній рівень кортизолу становив $180,4 \pm 8,4$ нмоль/мл, а при народженні хлопчиків – $265,4 \pm 10,2$ нмоль/мл, що також свідчить про участь плода у виробленні АР. Між двома гормонами виявлений прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,64$; $p < 0,05$).

При патологічному перебігу пологів показник естрадіолу (Е2) і кортизолу (К), достовірно підвищувався, що свідчило про внутрішньоутробне страждання плода ($p < 0,01$). Виявлений взаємозв'язок рівнів Е2 і К з іншими параметрами АР. Так, показник Е2 прямо залежав від показників опору кровотоку при доплерометрії, а саме: систоло-діастолічного відношення й індексу резистентності ($r = 0,64$). Показники естрадіолу і кортизолу закономірно підвищувались при зниженні рН АР ($r = -0,71$; $p < 0,01$) і при зниженні базального ритму серцевої діяльності плода на КТГ ($r = -0,69$).

Дані визначення рівня плацентарного лактогену (ПЛ) виявили абсолютно протилежні тенденції. Середній рівень гормону в АР після початку пологової діяльності перебував у межах $6,7 \pm 0,09$ нг/мл з коливаннями від 0,04 нг/мл до 19,0 нг/мл. Показники ПЛ були у зворотній залежності від показників естрадіолу і кортизолу, хоча даний зв'язок був недостовірним. Рівень плацентарного лактогену достовірно знижувався при хронічному дистресі плода, особливо при народженні плода із затримкою розвитку, і різко підвищувався при гострому дистресі, особливо при народженні крупного плода ($p < 0,01$). Рівень ПЛ знаходився в прямому взаємозв'язку з рівнем рН АР і показником оцінки новонародженого за шкалою Апгар ($r = 0,71$; $p < 0,01$).

Рівень гормонів в АР з початком пологової діяльності не залежав від терміну гестації, кількості АР, віку і паритету матері.

Індекс АР знаходився в зворотній кореляційній залежності від рівня креатиніну і сечовини лише при маловодді ($r = -0,78$; $p < 0,05$), що супроводжує переношенню, але не пролонговану вагітність.

При багатоводді дані параметри не змінювалися. Найменш сприятливі результати для плода фіксували при зменшенні кількості НПВ після 38 тиж вагітності у поєднанні зі змінами біохімічних показників НПВ у пологах, таких як рН $< 7,0$, а також підвищення рівня креатиніну або сечовини, що свідчить про внутрішньоутробне страждання плода.

ВИСНОВКИ

Отже, результати проведених досліджень продемонстрували, що фізико-хімічні і біохімічні параметри АР схильні до статистично достовірних змін залежно від терміну пологів і внутрішньоутробного стану плода в пологах. Найбільш показовими є зміни концентрації креатиніну і сечовини в АР при пологах, що запізнилися, що може мати діагностичне значення. Поєднання наведених ознак із зниженням кислотності і підвищенням щільності АР при пологах, що запізнилися, а також наявність в ній меконію свідчить про порушення метаболізму плода і необхідність своєчасної корекції виявлених порушень.

Клінічне застосування наведених вище параметрів АР у пологах має важливе діагностичне значення при фізіологічному і патологічному перебігу вагітності і пологів.

Diagnostic aspects of laboratory research of amniotic fluid are at premature births A. S. Padchenko

The objective: to learn a diagnostic value clinical-and-laboratory research of amniotic fluid at premature births.

Materials and methods. Under our supervision in clinical terms was 142 puerpera which acted on births to maternity establishments of different level. All the inspected acted with beginning of childbirth. From an incurrence there were eliminated puerpera with a multifetation, pelvic fetal

Перинатологія та репродуктологія: від наукових досліджень до практики | **Perinatology and reproductology:** from research to practice

presentation, anomalies of development of fetus and antenatal fetal death. Most inspected was in active reproductive age. Middle age of inspected made $24,9 \pm 0,3$ year.

A complex clinical inspection was conducted all pregnant at a receipt in permanent establishment. The clinical inspection of women was included by the study of anamnesis of life, including also to anamnesis of disease, the features of motion of pregnancy were studied, the generally accepted laboratory and functional methods of research were conducted. To the complex of additional methods researches were included echographic, cardiocotographic and Doppler.

Results. The study of hormonal status of amniotic fluid retined in births, that content of estradiol during a childbirth had hesitated within the limits of 30–180 ng/ml. Found out a reliable difference between maintenance of this hormone in a amniotic fluid at birth of boys and girls. So at birth of girls the index of estradiol arrived at $21,4 \pm 2,3$ ng/ml, while at birth of boys a middle index of estradiol was at the level of $16,5 \pm 2,3$ ng/ml. Although found out a difference and did not carry reliable character ($p > 0,05$), this fact specifies on participating of fetus in making a amniotic fluid.

Meantime, level of estradiol in a amniotic fluid at birth of boys and girls identically for certain rose at presence of obstetric pathology, such as a weakness of childbirth in combination with fetal distress ($p < 0,05$). An analogical picture is marked in maintenance of cortisol in a amniotic fluid. Indexes of cortisol in a amniotic fluid in births were within the limits of 200–450 nmol/ml. Thus at birth of girls the middle level of cortisol made $180,4 \pm 8,4$ nmol/ml and at birth of boys – $265,4 \pm 10,2$ nmol/ml, that also testifies to participating of fetus in making of amniotic fluid.

Between two hormones found out direct cross-correlation connection ($r = 0,64$; $p < 0,05$). At pathological motion of births index of estradiol, as well as to the cortisol, rose for certain, that had testified to the intrauterine fetal distress ($p < 0,01$). The found out intercommunication of levels of estradiol and cortisol is with other parameters of amniotic fluid and state of fetus in births. An index of estradiol was in direct dependence on the indexes of resistance of blood stream at dopplerometry, namely – systolic-diastolic ratio and index of resistance ($r = 0,64$). The indexes of estradiol and cortisol appropriately rose at the decline of pH in a amniotic fluid ($r = -0,71$; $p < 0,01$) and at the decline of basale rhythm of cardiac activity of fetus on cardiocotogram ($r = -0,69$).

Conclusion. The results of the conducted researches retined that the physical and chemical and biochemical parameters of amniotic fluid are inclined statistically to the reliable changes depending on the term of births and intrauterine fetal distress in births. A most model are changes of concentration of kreatinine and urea in a amniotic fluid at births which were late, that can have a diagnostic value. Combination of the indicated signs with the decline of acidity by the increase of closeness of amniotic fluid at births which were late, and also a presence in it of meconium specifies on violation of metabolism of fetus and necessity of timely correction of found out violations.

The clinical use of the transferred parameters of amniotic fluid in births has an important diagnostic value at physiology and pathological motion of pregnancy and births.

Keywords: *premature births, amniotic fluid, laboratory inspection, diagnostics.*

Відомості про автора

Падченко Анастасія Сергіївна – аспірант, кафедра акушерства, гінекології та перинатології, Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України, м. Київ

ORCID: 0009-0007-6382-8955

Information about author

Padchenko Anastasiya S. – graduate student, department of obstetric, gynecology and perinatology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv

ORCID: 0009-0007-6382-8955

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Buhimschi CS, Weiner CP, Buhimschi LA., 2020. Clinical proteomics: a novel diagnostic tool for the new biology of preterm labor, part I: proteomics tools. *Obstet Gynecol Surv.*:81:481–6.
2. Chan K, Zhang J, Hui A., 2021. Size distribution of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem.*:50:88–92.
3. Choudhury SR, Knapp LA., 2021. Human reproductive failure I: Immunological factors. *Hum Reprod.*:7(2):113–34.
4. Christiansen OB, Pedersen B, Rosgaard A, Husth M., 2019. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of intravenous immunoglobulin in the prevention of recurrent miscarriage: evidence for a therapeutic effect in women with secondary recurrent miscarriage. *Hum Reprod.*:17:809–16.
5. Cohen D, Berger SP, Steup-Beekman GM, Bloemenkamp K., 2020. Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome. *BMJ.*:340:2541.
6. Cole LA., 2020. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reprod Biol Endocrinol.*:8:102-118.
7. Constant SL, Bottomry K., 2019. Induction of Th1 and Th2 CD4+ T-cell responses: the alternative approaches. *Ann Rev Immunol.*:15:297–322.
8. Costa JM, Benachi A, Gauntier E., 2021. New strategy for prenatal diagnosis of X-linked disorders. *N Engl J Med.*:346:1502-1510.
9. Crowther CA, Hiller JE, Doyle LW., 2021. Magnesium sulphate for preventing preterm birth in threatened preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev.*:4:CD001060.
10. Den Hollander NS, Wessels MW, Niermeijer MF, 2021. Early fetal anatomy and measure nuchal translucency in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol.*:19(4):520–74.