



УДК 618.3-097

В. Г. Марічереда, Т. Я. Москаленко, І. М. Шевченко,
С. Г. Чернієвська, А. Г. Волянська, Н. В. Шевченко, Н. А. Бикова

БАГАТОФАКТОРНИЙ АНАЛІЗ СТАНУ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ РЕЗУС-СЕНСИБІЛІЗОВАНИХ ЖІНОК

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 618.3-097

В. Г. Маричереда, Т. Я. Москаленко, И. М. Шевченко, С. Г. Черниевская, А. Г. Волян-
ская, Н. В. Шевченко, Н. А. Быкова
МНОГОФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА РЕЗУС-СЕНСИ-
БИЛИЗИРОВАННЫХ ЖЕНЩИН

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Нарушение целостности иммунобиологических взаимосвязей в системе мать-плацента-плод — ведущее звено патогенеза различных форм патологии матери и плода, определяет ход перинатального периода.

Результаты наших исследований показали, что наиболее интересными для изучения закономерностей клеточного иммунитета у резус-сенсibilизированных женщин являются показатели: CD19+ (В-лимфоциты), CD3+ (Т-лимфоциты), CD3+HLA-DR+ (активированные Т-лимфоциты), CD3+CD4+HLA-DR+ (активированные Т-хелперы), CD3+CD8+HLA-DR+ (активированные Т-супрессоры), NK-клетки CD3-CD16/56+ (Т-киллеры) и иммунорегуляторный индекс CD3+CD4+/CD3+CD8+.

Ключевые слова: клеточный иммунитет, беременность, резус-сенсibilизация.

UDC 618.3-097

V. G. Marichereda, T. Ya. Moskalenko, I. M. Shevchenko, S. G. Cherniyevska, A. G. Volyanska,
N. V. Shevchenko, N. A. Bykova

MULTIVARIATE ANALYSIS OF THE CELLULAR IMMUNITY OF RH-SENSITIZED WOMEN

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Aim: On the basis of multivariate analysis of indicators of cellular immunity Rh sensitized women to identify the most important laboratory markers and their association.

Materials and methods. We conducted a study of cellular immunity (populations and subpopulations of lymphocytes) in 37 Rh-sensitized women with different antibody titers observed and delivered in Maternity hospital № 7 (Odesa).

Results. It may be noted according to the results of multivariate analysis with rotation Varimax raw that the factor 1 was activated subpopulation of T cells and T-killer cells. With the direct dependence are: CD3+HLA-DR+ (activated T cells) with correlation coefficient 0.84, CD3+ CD4+HLA-DR+ (activated T-helpers cells) with a coefficient of 0.83, CD3+CD8+HLA-DR+ (activated T-suppressors) with the same correlation of 0.83. With inverse correlation in the group represented by NK-cells CD3-CD16/56+ (T-killers), the coupling coefficient is equal to 0.77. Factor 2 showed by indicators of the population of B-lymphocytes (CD19+) with a direct correlation of 0.88, and T-lymphocytes (CD3+) with an inverse relationship 0.92. Factor 3 includes main subpopulations of lymphocytes (T-helpers and T-suppressors) and immunoregulatory index. CD3+CD8+ (T-suppressors) ratio of 0.69 are presented by the direct connection. CD3+CD4+ (T-helpers) — 0.95 immunoregulatory index and CD3+CD4+/CD3+CD8+ with a correlation coefficient — 0.78 are presented by the negative connection.

Conclusion. The results of our studies showed that the most interesting indicators for studying the patterns of cellular immunity in Rh-sensitized women are: CD19+ (B-lymphocytes), CD3+ (T-lymphocytes), CD3+HLA-DR+ (activated T-lymphocytes), CD3+CD4+HLA-DR+ (activated T-helpers), CD3+CD8+HLA-DR+ (activated T-suppressors), NK-cells CD3-CD16/56 (T-killers) and immunoregulatory index CD3+CD4+/CD3+CD8+.

Key words: cellular immunity, pregnancy, Rh-sensitization.



Вступ

Імунологічні взаємовідносини матері і плода формуються в рамках єдиної функціональної системи, де системоутворювальним фактором є оптимальний розвиток зародка. Порушення цілісності імунологічних взаємозв'язків в системі мати-плацента-плід є провідною ланкою патогенезу різних форм патології матері і плода, визначає перебіг перинатального періоду [1; 2]. Сьогодні імунологічні взаємовідносини матері і плода є предметом вивчення фізіологів, імунологів, перинатологів, неонатологів і акушерів-гінекологів.

У популяції зустрічальність резус-несумісних шлюбів становить 14 %, резус-несумісність у системі мати-плід — 10 %, що передбачає імунізацію вагітної жінки еритроцитарними фетальними антигенами та реалізацію її в гемолітичну хворобу плода і новонародженого [2]. Незважаючи на те, що патогенез захворювання трактується з позиції агресії антитіл матері проти еритроцитів плода, у діагностиці не враховується імунологічна реактивність плода та новонародженого, немає достатніх відомостей про напруженість клітинного імунітету організму резус-негативної матері при імуноконфліктній вагітності. Необхідність вдосконалення способів діагностики гемолітичної хвороби визначають актуальність досліджень імунних реакцій вагітних і формування пре-і постнатальних діагностичних та прогностичних критеріїв патологічного процесу [2–4].

У доступній літературі ми не виявили відомостей про стан клітинного імунітету при резус-сенсibilізованій вагітності, про можливість його показників для прогнозування, діагно-

стики і використання як контролю за процесом профілактики і лікування, а також про доцільність проведення імунокорективної терапії вагітності [5; 6]. Серед різних методів, які використовуються нині для вивчення патологічного процесу, все більшого значення набувають тести, що характеризують функціональну активність клітинних елементів крові. В основному — це імунологічні методи, які вивчають популяції і субпопуляції лімфоцитів [3; 4; 7].

Існує великий набір заходів для лікування і профілактики різних проявів імуноконфліктної вагітності, проте досі відсутні чіткі рекомендації щодо поліпшення імуноклітинного стану вагітних з ізоsensibilізацією до резус-фактора. Для цього необхідно продовжувати розробляти нові методи профілактики і лікування, спрямовані на відновлення імунної системи організму.

Мета дослідження: на основі багатофакторного аналізу показників клітинного імунітету резус-сенсibilізованих жінок визначити найбільш значущі лабораторні маркери і їх асоціації.

Матеріали та методи дослідження

Нами проведено дослідження стану клітинного імунітету (популяції і субпопуляції лімфоцитів) у 37 резус-сенсibilізованих жінок з різним титром антитіл, які спостерігалися і народжували в КУ «Пологовий будинок № 7» Одеси, що спеціалізується на імуноконфліктній вагітності, за період 2011–2015 рр.

Обстеження протягом вагітності проводили відповідно до клінічних протоколів МОЗ України № 676 від 31.12.2004 р. «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гі-

некологічної допомоги» та № 205 від 24.03.2014 р. «Про внесення змін до наказів Міністерства охорони здоров'я України від 29 грудня 2005 року № 782 та від 31 грудня 2004 року № 676».

Статистичний аналіз отриманих даних здійснювався з використанням пакетів Statistica 10.0 і IBM SPSS Statistics 22. Перевірка нормальності розподілу проводилася двома методами: графічним (за допомогою побудови «графіків нормального розподілу») і тесту Шапіро — Уїлка. У всіх процедурах статистичного аналізу при перевірці нульових гіпотез критичний рівень значущості p приймався рівним 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення

З метою класифікації та зниження розмірності показників популяції лімфоцитів в абсолютних і відносних цифрах було проведено багатофакторний аналіз клітинного імунітету резус-сенсibilізованих жінок.

Усі показники клітинного імунітету у досліджуваних жінок при перевірці продемонстрували відносну однорідність за наявності одиничних «викидів».

На першому етапі багатофакторного кореляційного аналізу методом головних компонент та критерієм відсіювання Кеттелла визначено кількість факторів зовнішнього навантаження (табл. 1).

За результатами проведеного методу головних компонент можна зробити висновок про те, що найбільш доцільно застосовувати для зовнішнього навантаження три фактори, в яких вибрано 68,85 % потужності навантажень. Початок багатофакторного кореляційного аналізу у вигляді матриці



**Визначення кількості факторів для багатофакторного
кореляційного аналізу методом головних компонент**

Пояснена сукупна дисперсія						
Компонент	Початкові особисті значення			Суми квадратів завантажень обертання		
	Усього	% дисперсії	Сумарний %	Усього	% дисперсії	Сумарний %
1	4,163	37,842	37,842	2,741	24,920	24,920
2	1,726	15,693	53,535	2,584	23,493	48,413
3	1,685	15,317	68,852	2,248	20,439	68,852
4	1,239	11,265	80,117	—	—	—
5	1,028	9,349	89,466	—	—	—
6	0,576	5,236	94,702	—	—	—
7	0,266	2,418	97,120	—	—	—
8	0,158	1,439	98,560	—	—	—
9	0,086	0,778	99,338	—	—	—
10	0,050	0,451	99,789	—	—	—
11	0,023	0,211	100,000	—	—	—

Таблиця 2

**Матриця факторних навантажень після повороту
методом Varimax гав відносних показників
клітинного імунітету у жінок із резус-конфліктом**

Показник	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
CD3+, %	0,307363	0,852303	0,203921
CD3+CD16/56+, %	0,061274	0,567778	0,027439
CD3+HLA-DR+, %	0,837919	0,218223	0,33936
CD3+CD4+, %	0,082246	-0,01761	-0,94404
CD3+CD4+HLA-DR+, %	0,763826	-0,40288	0,259719
CD3+CD8+, %	0,340533	0,428734	0,732425
CD3+CD8+HLA-DR+, %	0,836179	0,220482	0,221323
CD3+CD4+/CD3+CD8+	-0,40271	-0,1162	-0,82817
CD3+CD4+CD8+, %	-0,2005	0,005647	-0,22791
CD3+CD4-CD8-, %	0,680369	0,365552	0,011241
CD19+, %	-0,04477	-0,82268	-0,13725
CD3-CD16/56+, %	-0,8236	-0,2167	0,148163

трифакторного навантаження з використанням повороту Varimax гав представлені у табл. 2 та на рис. 1.

За результатами багатофакторного аналізу з обертанням Varimax гав (табл. 3, рис. 2) можна відзначити, що найбільш значущі показники клітинного імунітету жінок із резус-сенсibiliзацією були розподілені за

трьома основними факторними компонентами. Перший сектор (фактор 1) утворили активовані субпопуляції Т-лімфоцитів і Т-кілери. З прямою залежністю представлені: CD3+HLA-DR+ (активовані Т-лімфоцити) з коефіцієнтом кореляції 0,84, CD3+CD4+HLA-DR+ (активовані Т-хелпери) з коефіцієнтом 0,83, CD3+CD8+HLA-DR+ (ак-

тивовані Т-супресори) з аналогічною кореляцією 0,83. Зі зворотною кореляцією в групі представлені НК-клітини CD3-CD16/56+ (Т-кілери), коефіцієнт сили зв'язку яких дорівнює — 0,77.

Фактор 2 представлений показниками популяції В-лімфоцитів (CD19+) з прямою кореляцією 0,88, а також Т-лімфо-



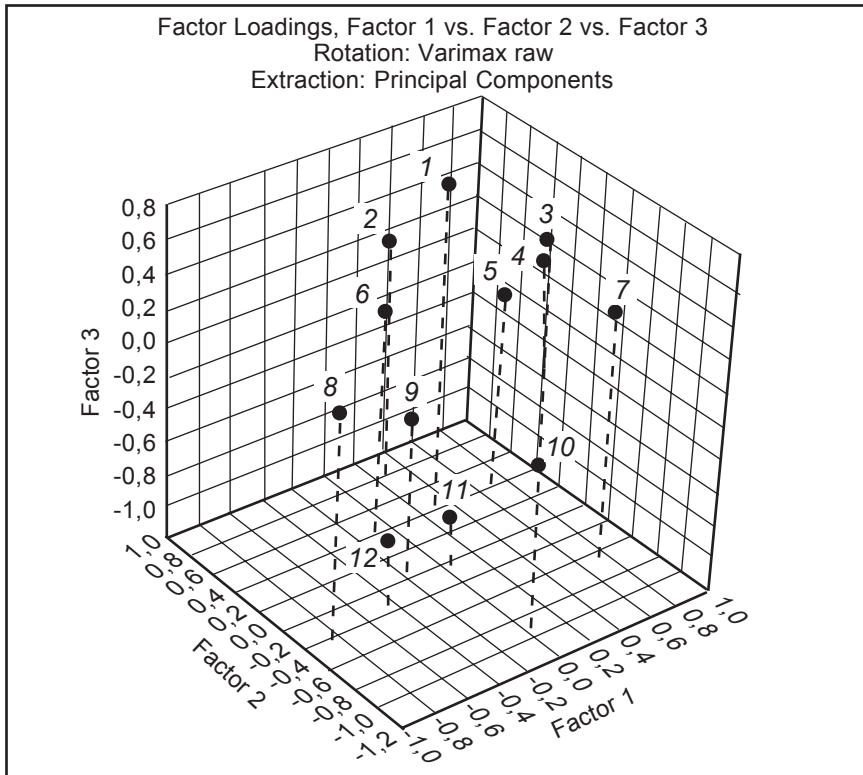


Рис. 1. Графічне відображення початку трифакторного аналізу відносних показників клітинного імунітету у жінок із резус-конфліктом (метод обертання Varimax raw): 1 — CD3+CD8+, %; 2 — CD3+, %; 3 — CD3+HLA-DR+, %; 4 — CD3+CD8+HLA-DR+, %; 5 — CD3+CD4-CD8-, %; 6 — CD3+CD16/56+, %; 7 — CD3+CD4+HLA-DR+, %; 8 — CD3-CD16/56+, %; 9 — CD3+CD4+CD8+, %; 10 — CD19+, %; 11 — CD3+CD4+, %; 12 — CD3+CD4+/CD3+CD8+

цитів (CD3+) зі зворотною залежністю — 0,92.

До фактора 3 увійшли основні субпопуляції лімфоцитів (Т-хелпери і Т-супресори), а також імунорегуляторний індекс (коефіцієнт їх співвідношення). Прямим зв'язком представлені

CD3+CD8+ (Т-супресори) з коефіцієнтом 0,69. Негативним зв'язком представлені CD3+CD4+ (Т-хелпери) — 0,95 і імунорегуляторний індекс CD3+CD4+/CD3+CD8+ з коефіцієнтом кореляції — 0,78. Усі показники сили зв'язку значущі при $p < 0,05$.

Кластерний аналіз, цілями якого також було виявлення класифікаційних закономірностей клітинного імунітету при резус-сенсibiliзації вагітних, виявив аналогічні закономірності кореляційних зв'язків досліджуваних субпопуляцій лімфоцитів. Результати графічного відображення кластерного аналізу клітинного імунітету при резус-сенсibiliзації подані на рис. 3.

Висновки

Таким чином, можна зробити висновок про те, що найбільш цікавими показниками для подальшого вивчення закономірностей клітинного імунітету у резус-сенсibiliзованих жінок є: CD19+ (В-лімфоцити), CD3+ (Т-лімфоцити), CD3+HLA-DR+ (активовані Т-лімфоцити), CD3+CD4+HLA-DR+ (активовані Т-хелпери), CD3+CD8+HLA-DR+ (активовані Т-супресори), NK-клітини CD3-CD16/56+ (Т-кілери) та імунорегуляторний індекс CD3+CD4+/CD3+CD8+.

ЛІТЕРАТУРА

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

Таблиця 3

Матриця факторних навантажень після повороту методом Varimax raw відносних показників клітинного імунітету у жінок із резус-конфліктом (підсумковий варіант)

Показник	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
CD3+, %	0,225234	-0,92876	0,154775
CD3+HLA-DR+, %	0,841573	-0,23507	0,310538
CD3+CD4+, %	0,018942	-0,00722	-0,95976
CD3+CD4+HLA-DR+, %	0,837795	0,256569	0,214113
CD3+CD8+, %	0,315341	-0,54916	0,694435
CD3+CD8+HLA-DR+, %	0,839679	-0,21829	0,20668
CD3+CD4+/CD3+CD8+	-0,39788	0,218478	-0,78839
CD19+, %	0,02316	0,888906	-0,08781
CD3-CD16/56+, %	-0,77143	0,426827	0,256838



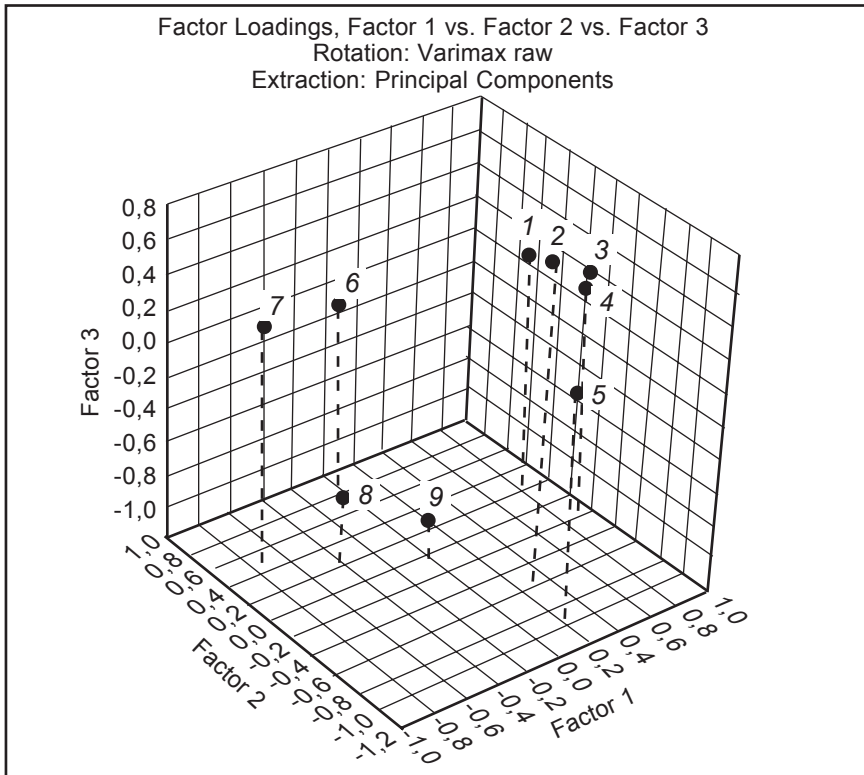


Рис. 2. Графічне відображення підсумку трифакторного аналізу відносних показників клітинного імунітету у жінок із резус-конфліктом (метод обертання Varimax raw): 1 — CD3+CD4+HLA-DR+, %; 2 — CD3+CD8+, %; 3 — CD3+HLA-DR+, %; 4 — CD3+CD8+HLA-DR+, %; 5 — CD3+, %; 6 — CD19+, %; 7 — CD3-CD16/56+, %; 8 — CD3+CD4+/CD3+CD8+; 9 — CD3+CD4+, %

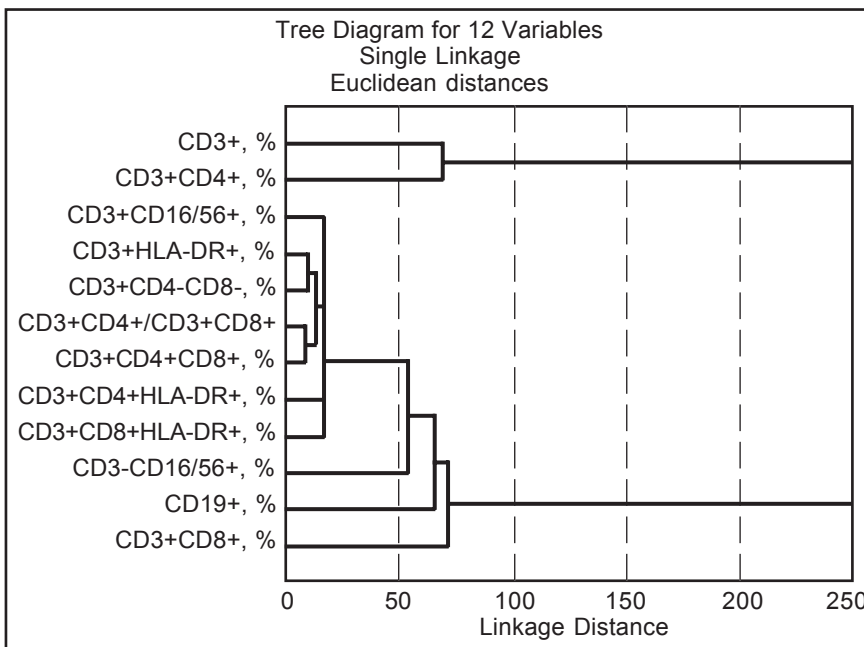


Рис. 3. Результат кластерного аналізу відносних показників клітинного імунітету в групі жінок із резус-ізоsensibilізацією

2. Баряева О. Е. Изосерологическая несовместимость крови матери и плода / О. Е. Баряева. – Иркутск : ИГМУ, 2012. – 25 с.

3. Bricca P. Management of fetomaternal red cell allo-immunizations /

P. Bricca, E. Guinchard, C. Guitton Bliem // *Transfus Clin Biol.* – 2011. – Vol. 18 (2). – P. 269–276.

4. Нечай О. С. Оптимізація методів пренатальної діагностики резус-конфлікту / О. С. Нечай // *Актуальні*

питання педіатрії, акушерства та гінекології. – 2014. – № 2. – С. 124–126.

5. Тураев Р. Г. Профилактика гемолитической болезни новорожденных у Rh0 (D)-положительных женщин: оценка эффективности решения проблемы иммуноконфликтной беременности / Р. Г. Тураев, Р. С. Гадильшина, Е. Е. Бельская // *Общественное здоровье и здравоохранение.* – 2013. – № 2. – С. 35–38.

6. Basu S. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Current trends and perspectives / S. Basu, R. Kaur, G. Kaur // *Asian J Transfus Sci.* – 2011. – Vol. 5 (1). – P. 3–7.

7. До питання щодо профілактики гемолітичної хвороби плода й новонародженого / В. І. Пирогова, Н. В. Шурук, М. Й. Малачинська, С. О. Шурпяк // *Акушерство. Гінекологія. Генетика.* – 2016. – № 1. – С. 24–28.

REFERENCES

1. Beluga M.V. Rhesus incompatibility: past and present of the problem solutions. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* 2012; 1: 24-29.

2. Baryaeva O.E. Isoserological incompatibility of blood between mother and fetus. *Irkutsk, ISMU*, 2012. 25 p.

3. Bricca P., Guinchard E., Guitton Bliem C. Management of fetomaternal red cell allo-immunizations. *Transfus Clin Biol.* 2011; 18 (2): 269-76.

4. Nечай О.С. Optimization of the methods for prenatal diagnosis of Rh-conflict. *Aktualni pytannya pediatrii, akusherstva ta ginekologii* 2014; 2: 124-126.

5. Turaev R.G., Gadyshina R.S., Belskaya E.E. Evaluation of effectiveness of problems solution of immune-conflict pregnancy during the prophylactic of hemolytic disease of the newborn from RHo(d) women. *Obshchestvennoye zdorovye I zdravokhraneniye* 2013; 2: 35-38.

6. Basu S., Kaur R., Kaur G. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Current trends and perspectives. *Asian J Transfus Sci* 2011; 5 (1): 3-7.

7. Pyrohova V.I., Shchuruk N.V., Malachynska M.I., Shurpiak S.O. On the issue of hemolytic disease prevention in the fetus and newborn. *Akusherstvo, Ginekologiya. Genetika* 2016; 1: 24-28.

Надійшла 24.03.2017

Рецензент д-р мед. наук, проф. Н. М. Рожковська

