

А. В. Соломенников,
д-р мед. наук

Н. А. Арсениев,
канд. биол. наук

Н. Н. Нестеров

Е. П. Тоскуева,
канд. биол. наук

Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования
Городская больница № 38 им. Н. А. Семашко, Санкт-Петербург

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНАЛИЗА ИЗМЕНЕНИЙ ОБЩИХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОЦЕНКЕ ИММУННОГО СТАТУСА

На основании полученных результатов сделан вывод о существовании статистически достоверных специфических связей между динамикой отдельных показателей иммунитета и биохимических показателей крови, что может являться обоснованием для создания стандартной компьютерной программы автоматического расчета относительных показателей активности отдельных звеньев иммунитета по данным лабораторных биохимических исследований. Предложен собственный вариант расчетов. В ходе верификации получаемых относительных значений активности отдельных звеньев иммунитета с использованием предлагаемой к разработке методики «отпечатков» авторы пришли к выводу, что сопряженные с функциональной активностью изменения общих биохимических показателей крови отражают, прежде всего, не абсолютные значения накопления в крови иммунных факторов, а выраженность активности их специфического цитокинового «сопровождения».

Введение

Активация и торможение эффекторных и промежуточных участников различных звеньев иммунитета связаны с образованием целого комплекса различных по своему действию цитокинов, обладающих специфической активностью по отношению к различным клеткам органов и тканей [1, 2]. Исходя из этого, можно полагать, что отличительные особенности формирования и реализации иммунного ответа различного типа находят свои отличительные черты и в изменениях общих биохимических показателей.

Цель исследования: установить отличительные связи между изменениями показателей иммунограммы и общих биохимических показателей, определить возможности их практического использования.

Материалы и методы исследования

Общий объем исследований составил 102 наблюдения, включавших определение общих биохимических и иммунологических показателей у больных раком толстой кишки ($n = 54$) III–IV стадии до вмешательства и в послеоперационном периоде и у больных с диагностированным дисбактериозом кишечника до и после лечения ($n = 48$).

В сыворотке крови больных определяли концентрацию общего белка (ОБ), кальция, общего билирубина, хлоридов, железа, мочевины, активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), амилазы, щелочной фосфатазы (ЩФ). Исследования проводили на биохимическом анализаторе «SAPPHIRE-400» (Япония) с использованием стандартных наборов реактивов компании «Biosystems». Концентрацию глюкозы в крови определяли на аппарате «Biosen» (Германия), калия и натрия в сыворотке крови — на анализаторе «Electrolyte Analyzer» фирмы «Roche» (Германия).

Для определения поверхностных маркеров клеток, участвующих в иммунном ответе, использовали моноклональные антитела (МКА DT-ANTI-CD), избирательно связывающиеся с поверхностными антигенами лимфоцитов. Определяли лимфоциты, несущие на своей поверхности кластеры дифференцировки (CD): CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-киллеры и Т-супрессоры), CD16 (натуральные киллеры, NK-клетки), CD19 и CD20 (В-лимфоциты).

Содержание сывороточных иммуноглобулинов (классов А, М, G) определяли методом G. Mancini (1965). Исходя из полученных данных, рассчитывали процентное содержание иммуноглобулинов отдельных классов от общего количества. Количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли методом Ю. А. Гриневича и А. Н. Алферова (1981). Активность неспецифической резистентности оценивали по результатам определения фагоцитарного индекса, фагоцитоза, спонтанной миграции и миграции с фитогемаглютинином (ФГА).

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Статистическая обработка данных. Для статистической обработки полученных данных использовали параметрические и непараметрические методы оценки [3]. Все расчеты осуществляли на персональном компьютере с применением стандартного пакета программ «Excel».

Обработка и анализ полученных данных включали три этапа.

На первом этапе определяли существование достоверных связей между динамикой показателей крови и иммунологическими сдвигами. Такие расчеты являлись обоснованием существования специфических статистически достоверных «отпечатков» иммунологических процессов на биохимическом составе крови.

На втором этапе осуществлялась отработка оптимального способа математических расчетов, который на основании выявленных общих закономерностей изменений иммунологических показателей и показателей крови

позволял бы оценить иммунный статус пациента по характеру и особенностям количественного соотношения биохимических показателей.

На третьем этапе осуществлялась верификация достоверности соответствия получаемых на основании биохимических показателей расчетных величин активности иммунологических параметров, определяемых фактически, и оценивалось их возможное значение в характеристике иммунного статуса.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе выполнялось определение специфических связей между изменениями иммунологических и биохимических показателей. В табл. 1 приведены результаты расчетов коэффициента корреляции (ККр) между динамикой показателей иммунного статуса пациентов и биохимическими показателями крови. Значения ККр

Таблица 1. Коэффициенты корреляции между динамикой биохимических показателей и основных показателей иммунограммы

Показатель	ОБ	АсАТ	АлАТ	Амилаза	ЩФ	Общ. билирубин	Глюкоза	Калий	Натрий	Кальций	Хлориды	Железо	Мочевина
CD3 %	-0,062	-0,036	-0,144	0,062	-0,051	-0,044	-0,080	0,010	-0,208	-0,041	0,201	0,107	-0,071
CD3 абс.	0,129	0,151	-0,078	-0,067	-0,232	0,133	-0,057	0,040	-0,278	-0,037	-0,061	-0,080	0,182
CD4 %	-0,098	-0,053	-0,075	0,068	-0,215	0,071	0,005	-0,012	0,150	-0,147	0,204	0,153	0,114
CD4 абс.	0,086	0,156	-0,081	-0,064	-0,240	0,187	-0,031	0,102	-0,151	-0,150	-0,021	-0,053	0,180
CD8, %	0,018	-0,108	0,026	0,085	0,173	-0,146	0,047	0,053	-0,049	-0,060	-0,082	-0,212	-0,093
CD8, абс.	0,103	0,087	-0,099	-0,058	-0,180	0,028	-0,060	0,073	-0,227	-0,141	-0,105	-0,175	0,062
CD16, %	0,183	-0,017	0,192	-0,204	-0,079	0,117	0,188	-0,056	0,257	0,136	-0,197	0,138	-0,035
CD16, абс.	0,221	0,236	0,136	-0,143	-0,208	0,265	0,055	0,071	0,047	0,022	-0,203	0,113	0,119
CD19, %	-0,041	0,185	0,102	-0,068	0,270	-0,078	-0,194	-0,046	-0,287	-0,037	0,072	-0,066	-0,161
CD19, абс.	0,096	0,270	0,028	-0,129	0,002	0,026	-0,207	0,023	-0,415	-0,075	-0,062	-0,152	0,046
Ig A	0,222	0,147	0,198	-0,325	0,090	-0,012	0,232	-0,086	-0,203	0,132	-0,216	-0,117	-0,035
Ig M	0,182	0,130	0,266	-0,221	-0,131	0,104	0,200	0,080	0,065	-0,043	0,043	0,019	-0,098
Ig G	0,185	-0,015	-0,177	-0,045	0,013	0,021	0,087	-0,119	-0,112	-0,101	-0,059	-0,137	0,101
Сумма ИГ	0,217	0,031	-0,108	-0,115	0,015	0,033	0,145	-0,122	-0,153	-0,074	-0,094	-0,152	0,079
ЦИК	0,243	0,094	0,363	-0,123	0,161	-0,147	0,037	-0,044	0,000	0,035	-0,026	0,084	-0,209
Фак. индекс	-0,039	-0,107	-0,286	0,034	0,172	0,161	-0,231	0,042	-0,296	-0,024	0,016	0,176	0,001
Ig A, %	0,055	0,201	0,279	-0,267	0,049	-0,031	0,143	-0,075	-0,166	0,192	-0,206	0,022	-0,132
Ig M, %	-0,085	0,076	0,313	-0,107	-0,125	0,028	0,040	0,141	0,205	0,009	0,082	0,138	-0,088
Ig G, %	0,004	-0,198	-0,388	0,271	0,043	0,009	-0,133	-0,019	0,080	-0,144	0,108	-0,101	0,151

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически достоверные (p < 0,05) значения ККр.

между определявшимися биохимическими показателями и иммунологическими данными по всему приводимому массиву колебались от $-0,415$ (ККр между содержанием в сыворотке натрия и абсолютным количеством лимфоцитов, маркируемых по CD19) до $+0,363$ (ККр между содержанием в крови ЦИК и активностью АлАТ). Общее число статистически значимых «точек пересечения» между динамикой иммунологических и биохимических показателей в представленном массиве (в табл. 1 выделены жирным шрифтом) составило 44 из 247 (17,8%). Общие значения «колебания» величины ККр (от наиболее низкого до наиболее высокого) в этом массиве данных достигали 0,778. Это, по нашему мнению, указывало на перспективность и необходимость учета при оценке влияния того или иного иммунологического фактора на показатели биохимии не абсолютных значений, а их соотношения. Принципиально важным было выявление существования «индивидуальных особенностей» отпечатков, характеризующих тот или иной иммунологический параметр по биохимическим показателям, как по своей выраженности, так и по «знаку» (см. табл. 1).

Таким образом, предварительный корреляционный анализ биохимических и иммунологических показателей установил существование устойчивых статистически достоверных связей между ними, причем для изменений отдельных параметров иммунограммы в комбинации изменений биохимических зафиксированы индивидуальные различия.

На втором этапе была предпринята попытка разработки оптимального способа математических расчетов, который на основании биохимических показателей крови позволял оценивать иммунологический статус пациента.

При реализации этих действий использовали следующие приемы. Во-первых, с целью унификации существенно различающихся по своей размерности используемых биохимических показателей индивидуальные значения предлагаемого к анализу спектра данных соотносили с соответствующими ему средними значениями архивной базы данных и умножали на 100% (А). Таким образом, полученные значения сохраняли свои количественные характеристики, но уже находились в приблизительно одном порядке размерности. Полученные после этих расчетов значения процента в данном ряду (А) суммировали и делили на число показателей в ряду, получая среднее значение для представленного ряда (С). Этим путем пытались учесть общую тенденцию в отклонении значений для конкретного образца крови от среднестатистической по всему архивному массиву данных. Далее вновь соотносили конкретное значение «А» каждого показателя и рассчитанного показателя «С». Таким образом, было получено индивидуальное значение для каждого показателя (Д), учитывающее не только его абсолютное значение в процентах к среднему в массиве, но и «удельный вес» внутри рассматриваемого ряда.

Обсуждая различные варианты алгоритма расчетов «перевода» биохимических показателей в иммуноло-

гические, предложили следующую общую логическую программу математических действий: а) установление «долженствующих» (прогнозируемых) значений того или иного иммунологического показателя по значениям каждого индивидуального биохимического показателя конкретного пациента с использованием формулы регрессии; б) сопоставление полученных значений по индивидуальному ряду определявшихся биохимических показателей, представленного прогнозируемыми значениями, со «стандартным», ранее установленным распределением характера связей (ККр), специфичным для данного иммунологического показателя. Определяемый в конечном счете параметр ККр, с математической точки зрения, мог демонстрировать степень совпадения прогнозируемого распределения значений конкретного ряда биохимических показателей с «идеальным», т. е. распределением, характерным для максимального «проявления» того или иного иммунологического показателя в отсутствии других факторов. По образной аналогии на основании последнего положения было предложено называть данный метод «методом отпечатков».

Следующим необходимым действием являлся расчет значений математического прогнозирования долженствующей величины относительного значения иммунологического показателя для индивидуального значения биохимического показателя. Эта задача была решена с использованием известной формулы регрессии [2]:

$$Y = (a \cdot X) + b,$$

где: Y — искомая величина (в наших расчетах долженствующее значение активности иммунологического показателя по фактическому значению биохимического показателя; $D_{\text{имм}}$); X — процентное отношение ($D_{\text{биох}}$) конкретного биохимического показателя в общем ряду; a — наклон (рассчитывается по формуле с использованием программы по массиву данных и отражает сопряженность изменений показателей); b — поправочный коэффициент (рассчитывается от среднего Y по всему массиву после определения «а» и известного среднего по всему массиву X).

В результате последовательно выполненных предварительных расчетов на основе архивных данных были составлены соответствующие таблицы с рассчитанными значениями коэффициентов «а» и «b» для каждого иммунологического показателя по каждому определявшемуся биохимическому показателю.

Таким образом, был создан «математический аппарат» для предварительной обработки представляемых для анализа индивидуальных биохимических лабораторных данных. Он представлял собой последовательность действий:

1) последовательное определение процентного отношения каждого индивидуального биохимического показателя к соответствующему среднему значению в архивном ряду (А) ($\% = \text{Показатель} / \text{Ср. в ряду} \cdot 100$);

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2) далее полученные значения суммировались и вычислялось среднее (С) ($\Sigma\%$ значений / n в ряду определенных биохимических показателей);

3) затем каждое процентное значение показателя (А) соотносилось (делилось) на среднее (С);

4) исходя из полученного значения соотношения по формуле: $Y = (a \cdot X) + b$ (с использованием стандартных таблиц, полученных на основе архивных данных) на основании индивидуальных биохимических показателей последовательно высчитывали прогнозируемое значение, специфичное для соответствующего иммунологического показателя ($Y_1, Y_2, Y_3, \dots, Y_{15}$) — прогнозируемую величину соотношения процента от среднего в массиве соответствующего иммунологического показателя к среднему в данном конкретном ряду, т. е. аналогично «Д» для биохимических показателей.

По завершении описанных действий получали ряд прогнозируемых должностующих соотношений иммунологических показателей по представленному индивидуальному ряду биохимических.

Далее определяли «идеальные» характерные зависимости между ростом «удельной» активности отдельных иммунологических показателей и соответствующим им изменениям биохимических показателей. В связи с этим было необходимо вернуться к расчету ККр между процентными соотношениями традиционно определяемых биохимических показателей крови ($D_{\text{биох.}}$) и аналогичными изменениями иммунологических показателей ($D_{\text{иммн.}}$). Сделанные расчеты и полученные значения зависимостей были вычислены и вынесены в отдельную таблицу (ККр). Они отражали «идеальную» картину взаимозависимости изменений.

Таким образом, определив «идеальную» картину взаимозависимости изменений процентных соотношений традиционно определяемых биохимических показателей (Д) и аналогичных изменений иммунологических показателей, можно было приступить к сопоставлению (расчету ККр) общей картины соответствия получаемых значений по индивидуальным показателям «идеальным», представленным в рабочей таблице.

С этой целью после создания ряда из расчетных величин по формуле: $Y = (a \cdot X) + b$ для каждого биохимического показателя ($Y_1 - Y_{15}$) полученные индивидуальные значения сопоставляли с «идеальной» картиной соотношений, характерной для «стандартного» роста влияния того или иного иммунологического показателя, т. е. проводили «опознавание» специфического влияния иммунологических реакций. Полученные величины ККр отражали степень совпадения характерных проявлений специфического влияния данного иммунологического показателя с рядом индивидуальных биохимических.

Полученные данные представляли в виде таблицы (табл. 2). Значение ККр для каждого показателя отражает степень проявления его влияния на биохимические показатели. Это значение может колебаться от «-1» (конфигурация биохимических показателей абсолютно

Таблица 2. Представление полученных результатов на бланке (пример)

АКТИВНОСТЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА, ОПРЕДЕЛЕННАЯ МЕТОДОМ «ОТПЕЧАТКОВ» ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ (ККр)		
ФИО		
Дата Диагноз		
Иммунологические показатели	По биохимическим показателям	
	результат	по средним значениям нормы
CD3, %	-0,299	0,107
CD3, абс.	0,6384	0,628
CD4, %	-0,013	0,302
CD4, абс.	-0,077	-0,283
CD8, %	0,2415	0,404
CD8, абс.	0,057	0,0799
CD16, %	-0,118	-0,471
CD16, абс.	-0,501	-0,535
CD19, %	0,32	0,0297
CD19, абс.	0,1729	-0,233
Спонтанная миграция	0,2227	0,166
Спонтанная миграция с ФГА	0,2174	0,222
Ig A	-0,107	0,219
Ig M	0,3528	0,335
Ig G	-0,127	-0,314
Сумма ИГ	-0,159	-0,432
Фагоцитоз	-0,251	-0,361
ЦИК	-0,707	-0,748
Фагоцитарный индекс	-0,106	-0,42
Ig A, %	-0,319	-0,308
Ig M, %	-0,524	-0,643
Ig G, %	0,0793	0,37

противоположна характерному для него распределению) до «+1» (полное совпадение). Можно полагать, что по мере роста степени активности того или иного звена иммунитета его влияние на биохимические показатели будет возрастать, тем самым «подгоняя под себя» соотношения между отдельными показателями. Отметим, что, исходя из числа использованных биохимических показателей ($n = 15$), статистически достоверным проявлением специфической активности (или торможения) можно считать значение ККр $\geq 0,5$ (см.: табл. 2).

На третьем этапе проводимого анализа с целью верификации получаемых зависимостей нами был произведен «обратный расчет», т. е. на основании индивидуальных

данных биохимических показателей пациентов, составивших архивную базу данных, рассчитывали индивидуальные значения ККр в соответствии с предложенным. Затем полученные данные сопоставляли (ККр) со значениями показателей иммунологии, определявшихся традиционными методами. Как свидетельствовали результаты расчетов, значения ККр в этом случае оказались сравнительно низкими и не превышали +0,5. Отсюда следовало, что получаемые в относительных единицах значения активности тех или иных иммунологических факторов с недостаточной степенью надежности отражают динамику их накопления в крови, по крайней мере, в используемом диапазоне значений.

По нашему мнению, убедительные доказательства достоверности и функциональной значимости получаемых по предложенной схеме расчетов оценочных показателей функциональной активности иммунитета были найдены при сопоставлении результатов расчетов значений взаимозависимого влияния иммунологических факторов друг на друга. То есть одни и те же показатели, а именно значения корреляции иммунологических показателей, рассчитывали двумя независимыми способами — по иммунологическим данным и по данным биохимических исследований.

Общее значение ККр между массивами полученных расчетных данных на основании иммунологических показателей и биохимических параметров составило +0,803 ($n = 484$), что определяется как высокая степень сопряженности оцениваемых параметров.

Таким образом, получаемые значения проявления активности отдельных звеньев иммунитета по биохимическим данным имеют достаточно «плотную», высоко статистически достоверную связь с динамикой изменений иммунологических показателей, но отражают преимущественно не их связь с динамикой изменений по абсолютным значениям, а характеризуют преобладающий специфический цитокиновый «профиль» иммунной

реакции [3]. Это положение основано на том, что регистрируемые высокие значения совпадения характеристик взаимовлияния различных иммунных компонентов, рассчитанных с использованием показателей, отражающих состояние различных систем и тканей (отдельно биохимические и иммунологические) могут быть обоснованы их объединением в единый комплекс только под общим «флагом» изменений накопления специфических цитокинов в ходе иммунологических реакций.

Выводы

1. Между изменениями иммунологических и общих биохимических показателей существует статистически достоверная корреляционная связь, имеющая специфические отличия для отдельных звеньев иммунитета.

2. На основании «опознавания» характерных изменений соотношений биохимических показателей с использованием стандартных математических методов можно оценить степень специфического отражения на них активности отдельных звеньев иммунологических реакций.

3. Получаемые относительные значения активности отдельных звеньев иммунитета с использованием предлагаемой к разработке методики «отпечатков» отражают, прежде всего, не абсолютные значения накопления в крови иммунологических факторов, а выраженность активности их специфического цитокинового «сопровождения».

4. Получаемые значения отражают относительное преимущественное влияние (или торможение влияния) того или иного иммунологического фактора на течение биохимических процессов «на периферии», но не их абсолютное значение.

5. Полученные результаты делают возможным создание стандартной компьютерной программы автоматического расчета относительной активности отдельных звеньев иммунитета по лабораторным данным биохимических исследований.

Литература

1. *Абрамов В. В.* Возможные принципы интеграции иммунной и нейроэндокринной систем / В. В. Абрамов // Иммунология. — 1996. — № 1. — С. 60–61.
2. *Кетлинский С. А.* Цитокины и их антагонисты: теория и практика / С. А. Кетлинский, А. М. Ищенко // Мед. иммунология. — 1999. — Т. 1, № 3–4. — С. 16.

3. *Зайцев В. М.* Прикладная медицинская статистика: уч. пос. / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. — 2-е изд. — СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2006. — 432 с.