

А. В. Соломенников,  
докт. мед. наук

Н. А. Арсениев,  
канд. биол. наук

Н. Н. Нестеров

Е. П. Тоскуева,  
канд. биол. наук

Городская больница № 38 им. Н. А. Семашко, Санкт-Петербург

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСПЕРТНО-АНАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ОПРЕДЕЛЕНИИ СОСТОЯНИЯ ИММУНИТЕТА ПО ДАННЫМ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОГРАММЫ

Количественное определение гематологических показателей является одним из основных инструментов клиницистов в оценке динамики накопления—потребления разных клеток крови, отличающихся по своим функциональным свойствам. Вместе с тем, на эти процессы способны влиять, в том числе, разные цитокины, образующиеся в ходе иммунных реакций. Исходя из этого, можно полагать, что отличительные особенности формирования и реализации иммунного ответа разного типа могут находить свои «отличительные черты» и в изменениях клеточного состава крови, определяемого при выполнении клинического анализа.

Ранее нами уже были представлены попытки установления и обоснования возможности использования в оценке иммунных сдвигов показателей общего анализа крови [1–3]. Вместе с тем, получаемые результаты достаточно сложны для интерпретации, что ограничивает возможности их практического использования.

Цель исследования — создание типовых «обобщенных профилей» характерных изменений иммунитета по данным формулы крови и возможность их использования в оценке состояния иммунитета в индивидуальных случаях.

### Материалы и методы

Использованы результаты обследования пациентов с раком толстой кишки III–IV стадии в пред- и послеоперационном периодах и больных с диагностированным дисбактериозом кишечника до и после лечения (104 наблюдения). Данные были объединены в один массив. Гематологические методы исследования включали определение содержания гемоглобина, лейкоцитов, формулы крови, СОЭ. Эти исследования осуществляли по общепринятым методикам.

Для определения поверхностных маркеров клеток, участвующих в иммунном ответе, использовали моноклональные антитела (МКА *DT-ANTI-CD*), избирательно связывающиеся с поверхностными антигенами лимфоцитов. В исследовании определяли лимфоциты, несущие на поверхности кластеры дифференциации (*CD*): *CD3* (*T*-лимфоциты), *CD4* (*T*-хелперы), *CD8*

(*T*-киллеры и *T*-супрессоры), *CD16* (натуральные киллеры, *NK*-клетки), *CD19* или *CD20* (*B*-лимфоциты).

Содержание сывороточных иммуноглобулинов (классов *A*, *M*, *G*) определяли методом G. Mancini (1965). Количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли методом Ю. А. Гриневича и А. Н. Алферова (1981). Неспецифическую резистентность оценивали в тесте определения фагоцитарного индекса. Для статистической обработки данных использовали параметрические и непараметрические методы оценки [4]. Все расчеты осуществляли на персональном компьютере с применением стандартного пакета программ Excel.

Помимо фактических показателей иммунитета, определявшихся традиционными методами, рассчитывали значение степени проявления их функциональной активности по данным формулы крови в виде коэффициентов корреляции (ККр) [1–4].

Учитывая, что разные показатели крови имеют разную размерность, а также то, что их клинически значимые колебания могут существенно отличаться, для корреляционного анализа использовали величины, полученные после предварительных расчетов:  $(M_1 - M_{\text{ср.}}) / G \cdot 100$ , где  $M_1$  — фактический показатель формулы крови, полученный у конкретного больного,  $M_{\text{ср.}}$  — среднее значение этого показателя по всему массиву данных,  $G$  — величина стандартного отклонения массива данных. Полученные показатели крови сопоставляли (ККр) с определенными ранее значениями специфических связей конкретных иммунных и гематологических показателей [1]. В конце этих расчетов получали панель-набор для последующего анализа, который был представлен рассчитанными значениями активности (ККр) для *CD3%*, *CD3* абс., *CD4%*, *CD4* абс., *CD8%*, *CD8* абс., *CD16%*, *CD16* абс., *CD19%*, *CD19* абс., *IgA*, *IgM*, *IgG*, сумма иммуноглобулинов, ЦИК, фагоцитарный индекс, *IgA%*, *IgM%*, *IgG%* ( $n=19$ ) [1]. Эти расчеты были осуществлены для каждого наблюдения ( $n=104$ ) и составляли общий массив для последующего анализа.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Далее алгоритм обработки полученного массива данных осуществляли следующим образом. В основу анализа данных был положен стандартный метод корреляционного анализа с использованием стандартного пакета программ (Excel). Пытаясь определить чаще всего встречающиеся конфигурации панели показателей активности иммунитета у наших пациентов, мы произвели математические действия, заключающиеся в следующем.

1. Используя конфигурацию первого больного в общем массиве наблюдений, осуществляли последовательно расчет степени ее совпадения с соответствующими конфигурациями других пациентов (то есть ККр). При этом предполагалось, что доказательством идентичности количественных и процентных изменений совпадения общей «конфигурации» панели иммунных показателей, полученных на основе изменений формулы крови, будет их статистически достоверная идентичность ( $p < 0,05$  при  $n=19$  достигается при значении  $ККр > [0,45]$  (95 % совпадения), а при  $> [0,6]$   $p < 0,01$  (99 % совпадения)) [4].

2. Выделяли и объединяли в отдельную группу тех пациентов, у которых ККр с соответствующими показателями первого пациента превышал значение 0,45, то есть статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) совпадал [4]. Выделенных пациентов (п. 2) удаляли из общего массива.

3. Возвращались к оставшемуся массиву данных и повторяли всю процедуру (п. 1–3) вновь, но уже используя конфигурацию больного, оказавшегося первым в списке сокращенного массива данных (п. 3).

4. Эти действия циклически продолжали до тех пор, пока весь массив данных не был исчерпан.

Отметим, что ввиду многочисленности совпадений во 2-й группе включение в группу граничили совпадением  $ККр > 0,6$ .

В результате этих действий нам удалось выявить восемь групп пациентов, статистически отличающихся по конфигурации расчетных показателей в используемом массиве данных. При этом количество

Таблица 1

Распределение случаев статистически достоверного совпадения ( $ККр > 0,45$ ;  $p < 0,05$ ) конфигурации расчетных показателей активности иммунитета состояния по всему массиву данных (104 наблюдения)

Группа	Число пациентов	% от всего массива
1-я	19	18,3
2-я	28	26,9
3-я	7	6,7
4-я	7	6,7
5-я	25	24,0
6-я	10	9,6
7-я	5	4,8
8-я	3	2,9
Всего	104	100

пациентов в группах, объединенных по совпадению характера распределения иммунных показателей, рассчитанных по формуле крови, существенно различалось (табл. 1).

Для проведения последующего анализа была взята 8-я группа для сравнения с другими группами, поскольку распределение активности ее средних значений в иммунных показателях по формуле крови с высокой степенью достоверности ( $ККр + 0,73$ ;  $p < 0,01$ ) совпадало с соответствующим распределением средних показателей нормы (табл. 2).

Далее рассчитывали  $M$  (среднее значение в группе),  $\pm m$  (среднее математическое отклонение) для каждой группы (табл. 3), а также статистическую достоверность выявляемых отличий по методу Стьюдента–Фишера с определением значения  $T$  по отношению к 8-й группе как для показателей, определявшихся «традиционным» способом, так и соответствующим им значениям ККр, рассчитанным по формуле крови.

Таблица 2

Степень совпадения (ККр) между панелями средних расчетных показателей иммунитета на основе формулы крови по выделенным группам

Группа	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я	7-я	8-я	ККр со средними показателями нормы
1-я	1,00	– 0,34	– 0,29	0,22	0,29	– 0,86	0,11	– 0,41	– 0,38
2-я		1,00	0,15	0,57	– 0,86	– 0,08	– 0,81	0,30	– 0,23
3-я			1,00	– 0,57	– 0,08	0,16	0,00	– 0,22	– 0,33
4-я				1,00	– 0,35	– 0,32	– 0,71	0,09	– 0,20
5-я					1,00	0,21	0,51	– 0,52	– 0,02
6-я						1,00	0,09	– 0,52	0,32
7-я							1,00	0,06	0,55
8-я								1,00	0,73

Таблица 3

Средние показатели иммунитета по группам, определявшиеся «традиционными» методами

Ср. зн.	CD3 %	CD3 абс., 10 <sup>9</sup> /л	CD4 %	CD4 абс., 10 <sup>9</sup> /л	CD8 %	CD8 абс., 10 <sup>9</sup> /л	CD16 %	CD16 абс., 10 <sup>9</sup> /л	CD19 %	CD19 абс., 10 <sup>9</sup> /л	Ig A, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л	Сумма иммуноглобулинов	ЦИК, у.е.	Фаг. индекс	%A	%M	%G
<i>1-я группа</i>																			
<i>M</i>	<b>69,47</b>	1,55	38,42	0,86	<b>31,84</b>	0,75	18,83	0,40	12,84	0,28	2,24	1,13	12,66	16,03	95,31	6,68	14,03	7,49	78,48
<i>m ±</i>	<b>1,63</b>	0,16	1,45	0,09	<b>0,93</b>	0,10	1,67	0,04	0,82	0,03	0,17	0,07	0,73	0,78	10,03	2,76	0,81	0,77	1,11
<i>2-я группа</i>																			
<i>M</i>	66,52	0,94	38,13	0,55	<b>26,86</b>	0,38	18,88	<b>0,26</b>	13,29	0,19	2,53	<b>1,39</b>	13,02	16,74	124,43	3,74	15,21	<b>8,73</b>	76,06
<i>m ±</i>	1,32	0,06	1,05	0,04	<b>1,17</b>	0,03	1,29	<b>0,02</b>	0,96	0,02	0,17	<b>0,11</b>	0,76	0,84	12,06	0,37	0,93	<b>0,73</b>	1,36
<i>3-я группа</i>																			
<i>M</i>	<b>70,71</b>	1,21	42,79	0,78	<b>29,43</b>	0,54	17,33	0,29	13,57	0,24	2,21	1,29	12,95	16,45	113,00	3,72	14,30	8,25	77,45
<i>m ±</i>	<b>2,45</b>	0,12	2,96	0,11	<b>2,25</b>	0,08	1,54	0,04	1,69	0,03	0,31	0,14	1,66	1,66	25,55	0,56	2,10	1,01	2,48
<i>4-я группа</i>																			
<i>M</i>	66,71	1,03	37,57	0,57	<b>29,57</b>	0,46	17,43	0,28	15,00	0,23	1,74	1,18	9,23	12,14	99,29	2,50	14,11	<b>10,31</b>	75,58
<i>m ±</i>	2,42	0,09	1,84	0,05	<b>1,94</b>	0,05	3,17	0,07	2,33	0,03	0,32	0,11	1,22	1,46	8,96	0,45	1,69	<b>1,35</b>	1,96
<i>5-я группа</i>																			
<i>M</i>	<b>69,17</b>	1,49	37,10	0,79	<b>31,45</b>	0,69	<b>15,24</b>	0,32	12,68	0,27	2,08	1,21	14,60	17,89	74,24	5,14	11,80	6,84	81,37
<i>m ±</i>	<b>0,98</b>	0,10	0,98	0,05	<b>1,05</b>	0,07	<b>1,37</b>	0,03	0,70	0,03	0,09	0,05	0,60	0,66	6,63	0,30	0,52	0,32	0,57
<i>6-я группа</i>																			
<i>M</i>	67,60	0,96	37,40	0,53	<b>30,60</b>	0,43	<b>13,63</b>	<b>0,19</b>	17,00	0,25	2,04	1,32	14,23	17,58	104,00	4,35	11,73	7,56	80,71
<i>m ±</i>	1,67	0,07	1,71	0,05	<b>1,45</b>	0,04	<b>1,88</b>	<b>0,03</b>	1,65	0,03	0,16	0,12	0,73	0,74	25,76	0,44	0,96	0,69	1,21
<i>7-я группа</i>																			
<i>M</i>	66,40	0,95	44,40	0,75	22,20	0,39	15,20	0,27	13,20	0,22	1,82	1,18	13,12	16,12	58,00	5,33	11,48	7,39	81,13
<i>m ±</i>	2,11	0,25	2,38	0,06	1,71	0,07	2,22	0,07	1,24	0,02	0,11	0,05	0,79	0,66	8,46	0,64	1,14	0,62	1,73
<i>8-я группа</i>																			
<i>M</i>	59,67	1,37	35,67	0,84	23,00	0,51	19,67	0,45	13,67	0,32	2,79	1,01	12,38	16,18	89,00	2,51	17,50	6,36	76,14
<i>m ±</i>	4,37	0,33	5,36	0,24	1,53	0,07	1,20	0,09	1,76	0,09	0,54	0,12	1,71	1,91	31,21	1,79	3,41	0,74	3,04

Примечание. Полужирным выделены значения, статистически достоверно отличающиеся от 8-й группы

Таблица 4

Статистически достоверные отличия иммунных показателей выделенных групп по отношению к 8-й группе, рассчитанных по показателям гемограммы

Группа	CD3 %	CD3 абс.	CD4 %	CD4 абс.	CD8 %	CD8 абс.	CD16 %	CD16 абс.	CD19 %	CD19 абс.	Ig A, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л	Сумма иммуноглобулинов	ЦИК, у.е.	Фаг. индекс	%A	%M	%G
1-я	+	+	-	+	++	++			-			+	-	-		+	+	+	-
2-я	+		+	-	++							++	-	-	++		++	++	-
3-я	++		++		+++	++	-					++						+	
4-я												+	-	-	+		+	+	-
5-я	+++	++		-	+++	+++	-				-	+	+++	+++	-	++	-		+++
6-я	++				++	+	-	-			-	+	++	++		+	-		++
7-я					+	+	-				-				-		-		++

Примечание: «+» статистически достоверно более высокий показатель в сравнении с 8-й группой; «-» статистически достоверно более низкий показатель в сравнении с 8-й группой; пустая ячейка — отсутствие статистически достоверных отличий

## Результаты и обсуждение

Каждая из выделенных групп имела статистически достоверные отличия от 8-й группы по тем или иным средним значениям, определявшимся «традиционными» методами. При этом эти отличия носили определенный характер между группами (см. табл. 3). Это указывало на повторяющиеся закономерности отличий по группам в показателях иммунитета, выделенных с использованием особенностей гемограммы. Мы сопоставили (рассчитали ККр) значения *T*-критерия групп, рассчитанного для иммунных показателей по фактическим значениям и значениям формулы крови. Полученное значение ККр достигало +0,68 по всем показателям ( $n=133$ ) и +0,85, если брать в расчет только статистически достоверные отличия между группами по фактически полученным данным ( $n=16$ ). Этот факт высоко достоверно ( $p<0,01$ ) подтверждал прямую связь динамики значений иммунных показателей с отличительными особенностями показателей формулы крови. Вместе с тем, можно было заметить, что значения критерия *T* отличий между группами как по частоте встречаемости, так и по отдельным показателям, рассчитанным по формуле крови, в ряде случаев значительно превосходили его аналогичные значения, рассчитанные по фактическим данным. Это, по нашему мнению, свидетельствовало о большей «чувствительности» последних, а значит, и об их большей информативности.

Для удобства дальнейшего обсуждения была составлена таблица, в которой были обобщены статистически достоверные отличия по иммунным показателям и их выраженность по выделенным группам в соответствии с результатами, полученными при использовании формулы крови (табл. 4).

В приведенных данных, в первую очередь, обращают на себя внимание отличительные особенности по группам в активности гуморального иммунитета. При этом наиболее «демонстративно» различаются между собой 2-я и 5-я группы. Так, на фоне роста интенсивности образования общего пула *T*-лимфоцитов (*CD3* %) в обеих группах, как отличительного признака активации иммунитета, во 2-й группе зафиксирован рост преимущественной активации *IgA* (*IgA* %) и *IgM* (*IgM* %) с ростом признаков накопления *IgM* в крови, а в 5-й — рост активности (*IgG* %) и накопления в крови *IgG* при низкой активности *IgA* (%). При этом в обеих группах зафиксирована статистически достоверная активация *CD8* % с ростом их присутствия в крови в 5-й группе (*CD8* абс.). Если рассматривать остальные группы по отношению ко 2-й и 5-й группам, то 1-я приближалась по характерным сдвигам ко 2-й (относительный рост активности *IgA* (%) и *IgM* (%), *IgM* абс. со снижением активности *IgG* (%)), а 6-я и 7-я — к 5-й (рост активности *IgG* %) на фоне угнетения активности образования *IgA* (%) и его накопления в крови (*IgA* г/л). Интересно, что на фоне

активации образования *IgG* (5-я, 6-я и 7-я группы) зафиксировано статистически достоверное снижение активности образования *NK* (*CD16* %), в то время как в 1-й и 2-й группах их активность и накопление в крови по отношению к 8-й статистически не менялись. Несколько отличалась «комбинация» рассчитанных показателей в 3-й и 4-й группах. В 4-й отсутствовали отличия в показателях клеточного иммунитета по отношению к группе сравнения, но выявлялся определенный рост активности *IgA* (%), *IgM* (%) и накопления *IgM* (абс.) в крови. 3-ю группу отличал рост активности образования и накопления *IgM* на фоне активации иммунитета (увеличение активности образования *CD3* % и *CD4* %) при отсутствии признаков активации образования *IgA* и *IgG*, сопровождаемые усилением активности *T*-киллеров (*CD8* % и *CD8* абс.) и снижением активности *NK* (*CD16* %).

Таким образом, полагаем, что показатели 1-й, 2-й и 4-й групп пациентов отражают определенные этапы становления гуморального иммунитета с преобладанием образования *IgA* и *IgM*, а 5-й, 6-й и 7-й, а также, вероятно, и 3-й — образования *IgG*.

Представляется достаточно сложным оценить 8-ю группу пациентов. Однако, судя по абсолютным значениям (см. табл. 3), несмотря на общее совпадение конфигурации со средними показателями нормы, рассчитанными по формуле крови, ее отличало от других групп наиболее низкая общая активация специфического иммунитета (*CD3* %), достаточно высокое накопление *CD4* абс. в крови, сравнительно низкая активность стимуляции образования *CD8* % при сравнительно высокой активности как образования, так и накопления в крови *CD16*. При этом в этой же группе отмечали наиболее высокие значения по фактическим данным как активации, так и накопления в крови *IgA* при самых низких аналогичных показателях других групп *IgM*.

## Выводы

Среди пациентов с дисбиозом и раком толстой кишки по показателям клинического анализа крови с использованием экспертно-аналитической системы в определении функциональной активности отдельных звеньев иммунитета при критическом значении коэффициента корреляции +0,45 удается выделить восемь групп больных, у которых внутри групп статистически достоверно совпадает общая конфигурация получаемых показателей.

При расчете и сопоставлении средних показателей иммунитета в выделенных группах, полученных при использовании общепринятых методов их определения, установлены отличающиеся от группы к группе статистически достоверные отличия между ними, совпадающие с аналогичными отличиями в показателях групп, рассчитанных по формуле крови с коэффициентом корреляции +0,85, что указывает на их высокую степень взаимозависимости.

Вместе с тем, как число, так и величина статистически достоверных отличий между группами в показателях, рассчитанных на основе данных формулы крови, значительно выше, что, по нашему мнению, указывает на их большую «чувствительность» и, соответственно, информативность.

На основе отличающихся значений функциональной активности отдельных звеньев иммунитета в анализируемых группах, можно выделить два основных типа ответа: 1) разные степени сочетанной активации

*IgA* и *IgM* с сохранением активности *NK*; 2) разная степень активации *IgG* с торможением активности *NK*.

Внесение в структуру ранее предложенной экспертно-аналитической системы дополнительной способности определения принадлежности конкретного больного к той или иной группе существенно упростит анализ получаемых данных и может быть осуществлен при наличии ПК on line сразу при получении данных общего анализа крови.

## Литература

1. Соломенников А. В., Арсениев Н. А., Нестеров Н. Н., Тоскуева Е. П. Перспективы использования математических методов анализа показателей гемограмм в оценке функциональной активности отдельных звеньев иммунной системы // «Terra Medica. Лабораторная диагностика». 2008. № 4. С. 22–26.

2. Соломенников А. В., Арсениев Н. А., Нестеров Н. Н., Тоскуева Е. П. Оценка функциональной активности отдельных звеньев иммунитета у больных с дисбиозом кишечника по

показателям клинического анализа крови // «Terra Medica Лабораторная диагностика». 2010. № 3–4. С. 15–20.

3. Соломенников А. В., Арсениев Н. А., Нестеров Н. Н., Тоскуева Е. П. Оценка функциональной активности отдельных звеньев иммунитета у больных раком толстой кишки по показателям клинического анализа крови // «Terra Medica Лабораторная диагностика». 2011. № 1. С. 11–16.

4. Зайцев В. М., Лифляндский В. Г., Маринкин В. И. Прикладная медицинская статистика (2-е изд.). СПб.: Фолиант, 2006.