

Количественные критерии для оценки уровня контроля над бронхиальной астмой

Белорусский государственный медицинский университет

Статья посвящена разработке количественных критериев для оценки уровня контроля над бронхиальной астмой. Показатели концентрации интерлейкина-4 в сыворотке крови, ОФВ1 (%), процентного содержания в крови естественных регуляторных Т-клеток (CD4+CD25hi) и активированных клеток (CD25+) являются количественными критериями для оценки уровня контроля над бронхиальной астмой (общая вероятность верной классификации 100%).

Ключевые слова: бронхиальная астма, уровни контроля, критерии оценки, естественные регуляторные Т-клетки, активированные клетки, интерлейкин-4, ОФВ1.

Zh.V. Antanovich

Quantitative criteria for an estimation of bronchial asthma control level

The article is devoted working out of quantitative criteria for an estimation of bronchial asthma control level. Indicators of serum interleukin-4 concentration, FEV1 (%), percentage in blood naturally occurring T-regulatory cells (CD4+CD25hi) and activated cells (CD25+) are quantitative criteria for an estimation of bronchial asthma control level.

Key words: bronchial asthma, control levels, criteria of an estimation, naturally occurring T-regulatory cells, activated cells, interleukin-4, FEV1.

В настоящее время в основе определения уровня контроля над бронхиальной астмой (БА) лежат преимущественно клинические проявления заболевания и данные анамнеза [2]. Показатели спирометрии (ОФВ1) являются объективными критериями в диагностике БА, однако для неконтролируемой, частично контролируемой БА и обострения заболевания составляют менее 80% от должного значения или от наилучшего для данного пациента показателя и не позволяют дифференцировать эти состояния [2]. Последние исследования демонстрируют, что среди факторов, препятствующих достижению контроля над БА, одним из ведущих является неадекватная оценка контроля над заболеванием, а, следовательно, и назначение неадекватной противовоспалительной фармакотерапии, причем уровень контроля над БА переоценивают не только пациенты, но и их лечащие врачи [1, 3, 5, 6].

Правильная оценка уровня контроля над БА является обязательным условием для адекватной терапии заболевания, поэтому целью нашего исследования было разработать количественные критерии для точной оценки уровня контроля над БА.

Материал и методы.

В исследование включено 75 больных БА, возраст которых составил 46 лет (от 31 до 54 лет). По полу больные БА распределились следующим образом: 29% (22) мужчин и 71% (53) женщин. Длительность БА составила 9 лет (от 2 до 16 лет). У 21% (16) больных была диагностирована аллергическая, у 12% (9) –

неаллергическая и у 67% (50) – смешанная форма заболевания. Легкое течение БА наблюдалось у 25% (19), среднетяжелое – у 39% (29), тяжелое – у 36% (27) больных. Контролируемое течение БА отмечалось у 33% (25) больных, частично контролируемое течение – у 27% (20) больных, неконтролируемое течение – у 40% (30) больных. Группу контроля составили 34 практически здоровых лица (41% (14) мужчин и 59% (34) женщин). Средний возраст лиц контрольной группы был 43±2 года. Статистически значимых различий по возрасту, полу, форме БА между группами не было. Никто из больных не принимал системных глюкокортикостероидов, базисное лечение соответствовало «ступенчатой терапии БА»[2].

Исследование показателей функции внешнего дыхания (ФВД), проводилось на компьютерном спирографе «МАС-1» (Беларусь).

Определение Т-лимфоцитов (CD3+), Т-лимфоцитов-хелперов (CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), естественных киллерных клеток (CD16+), естественных киллерных клеток с фенотипом Т-лимфоцитов (CD3+CD16+), активированных клеток (CD25+), естественных регуляторных Т-клеток (CD4+CD25hi) проводилось в периферической крови на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson, США) с моноклональными антителами фирмы Beckman Coulter (США).

Концентрации цитокинов интерлейкина-4 (IL-4) и интерферона-γ (IFN-γ) определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа, согласно рекомендации фирмы-производителя с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ Statistica 7,0 и Statistica 8,0. Применялись критерии Шапиро-Уилка, Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни, χ^2 Пирсона, Фишера, параметрический однофакторный дисперсионный анализ (тест Шеффе), дискриминантный анализ. За критический уровень статистической значимости принимали вероятность безошибочного прогноза равную 95% ($p < 0,05$) [4].

Результаты и обсуждение

Для выявления количественных признаков, имеющих наиболее существенные межгрупповые различия был проведен сравнительный анализ показателей клеточного иммунитета, концентраций цитокинов IFN-γ и IL-4, как важных составляющих в процессе воспаления при БА, а также показателей спирометрии.

Показатели ФВД у больных БА с разными уровнями контроля над заболеванием и практически здоровых лиц представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели функции внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой с разными уровнями контроля над заболеванием и практически здоровых лиц.

Параметр	Группа			
	Больные с неконтролируемой БА (n=30)	Больные с частично контролируемой БА (n=20)	Больные с контролируемой БА (n=25)	Группа контроля (n=32)
ЖЕЛ, %, М ± m	79 ± 3 *	85 ± 5 **	103 ± 2	105 ± 2
ФЖЕЛ, %, М ± m	68 ± 4 *	80 ± 4 *	102 ± 2	105 ± 2
ОФВ ₁ , %, М ± m	51 ± 3 ***	66 ± 4 *	97 ± 2 §	106 ± 2
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %, Me (25%-75%)	51 (44-62) §§	64 (58-75) **	76 (71-82)	80 (77-85)
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %, М ± m	64 ± 3 *	70 ± 2 **	81 ± 1 §	88 ± 1
ПОСвыд, %, М ± m	50 ± 3 *	62 ± 4 *	92 ± 3	94 ± 3
МОС ₂₅ , %, М ± m	39 ± 4 *	52 ± 5 *	89 ± 4	99 ± 3
МОС ₅₀ , %, М ± m	29 ± 3 *	43 ± 5 *	79 ± 4 #	101 ± 3
МОС ₇₅ , %, М ± m	25 (18-34) *	36 (25-45) *	60 (51-88) #	94 (81-110)
СОС ₂₅₇₅ , %, Me (25%-75%)	30 ± 3 §§	47 ± 5 *	83 ± 4 #	109 ± 2
МВЛ, %, М ± m	33 ± 2 *	38 ± 3 ##	57 ± 4	54 ± 3

Примечания:

1. * - $p < 0,001$ по сравнению с контролируемой БА и группой контроля;
2. ** - $p < 0,01$ по сравнению с контролируемой БА и $p < 0,001$ по сравнению с группой контроля;
- 3.*** - $p < 0,01$ по сравнению с частично контролируемой БА и $p < 0,001$ по сравнению с контролируемой БА и группой контроля;
4. § - $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля;
- 5.§§ - $p < 0,05$ по сравнению с частично контролируемой БА и $p < 0,001$ по сравнению с контролируемой БА и группой контроля;
6. #- $p < 0,001$ по сравнению с группой контроля;
7. ## - $p < 0,01$ по сравнению с контролируемой БА и $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля.

Показатели клеточного иммунитета и концентрации цитокинов IFN- γ и IL-4 у практически здоровых лиц и больных БА с разными уровнями контроля над заболеванием представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели клеточного иммунитета и концентрации цитокинов IFN- γ и IL-4 у практически здоровых лиц и больных бронхиальной астмой с разными уровнями контроля над заболеванием

Показатель	Группа			
	Неконтролируемая БА (n=21) M ± m или Me (25%-75%)	Частично контролируемая БА (n=20) M ± m или Me (25%-75%)	Контролируемая БА (n=21) M ± m или Me (25%-75%)	Практически здоровые лица (n=30) M ± m или Me (25%-75%)
T-лимфоциты CD3 ⁺ , % клеток	67,78 (65,11 - 69,00)	67,95 (66,81 - 70,27)	68,57 (66,05 - 72,23)	68,49 (66,14 - 70,77)
T-хелперы CD4 ⁺ , %	38,98 (37,25 - 41,77)	38,07 (33,94 - 39,45)	40,61 (38,56 - 44,26)	40,08 (36,93 - 41,72)
T-цитотоксические CD8 ⁺ , %	23,45 (21,17 - 24,81)	24,30 (22,67 - 27,16)	22,86 (20,74 - 24,26)	23,55 (20,82 - 24,99)
Активированные клетки CD25 ⁺ , %	6,01 (5,46 - 7,35) •	7,39 (5,16 - 7,89) ••	4,30 (3,45 - 5,15)	5,49 (3,69 - 6,01)
Естественные регуляторные Т-клетки CD4 ⁺ CD25 ^{hi} , %	5,28 ± 0,21 •••	6,47 ± 0,29	6,42 ± 0,33	7,44 ± 0,30
ИРИ	1,64 (1,48 - 1,84)	1,54 (1,38 - 1,77)	1,75 (1,63 - 1,89)	1,74 (1,61 - 1,85)
Естественные киллеры CD16 ⁺ , %	14,23 (11,07 - 16,23)	14,62 (13,25 - 16,80)	12,78 (9,69 - 15,16)	14,08 (11,35 - 16,93)
T-клетки с киллерной активностью CD3 ⁺ CD16 ⁺ , %	7,56 (4,80; 10,78)	7,67 (5,52; 9,30)	5,48 (3,27; 8,29)	5,06 (3,87; 8,91)
IFN-γ, пг/мл	13,01 * (11,01-16,3)	14,62 * (12,79-16,51)	12,77 * (11,68-14,46)	2,35 (1,44-3,99)
IL-4, пг/мл	221,76 ** (191,29-277,45)	141,79 *** (121,63-170,00)	95,17 * (66,96-107,03)	1,53 (0,96-1,99)
IFN-γ/IL-4	0,061 ** (0,047-0,071)	0,104 # (0,084-0,120)	0,145 * (0,109-0,202)	1,44 (1,17-1,69)

Примечания:

- - p<0,05 по сравнению с контролируемой БА и группой практически здоровых лиц;
- - p<0,01 по сравнению с контролируемой БА и p<0,05 по сравнению с группой практически здоровых лиц;
- - p<0,05 по сравнению с частично контролируемой и контролируемой БА и p<0,001 по сравнению с группой практически здоровых лиц;
- * - p<0,001 по сравнению с группой практически здоровых лиц;
- ** - p<0,001 по сравнению с частично контролируемой БА, контролируемой БА и группой практически здоровых лиц;
- *** - p<0,001 по сравнению с контролируемой БА и группой практически здоровых лиц;
- # - p<0,05 по сравнению с контролируемой БА и p<0,001 по сравнению с группой практически здоровых лиц.

С целью выявления наиболее информативных количественных признаков для отнесения пациента к одной из 3-х групп больных с разными уровнями контроля над БА выполнялся дискриминантный анализ. Поскольку результаты анализа трех групп планируется использовать для предсказания принадлежности новых членов к той или иной группе, проведение подобного исследования подразумевает наличие двух выборок: анализируемой и проверочной. Анализируемая выборка – это часть общей выборки, которая используется для

вычисления дискриминантной функции, в свою очередь проверочная выборка используется для проверки результатов расчета на основании анализируемой выборки. В нашем случае общий массив данных случайным образом был разбит на две части в отношении 80%:20%, одна служит анализируемой выборкой, другая используется для проверки. При этом разделение совокупности производится для каждой из анализируемых групп в указанном соотношении. Таким образом, тестовая выборка включила 12 пациентов, по 4 из каждой группы.

В качестве группирующей переменной выступал качественный признак, определяющий принадлежность пациента к одной из трех групп: 1 – «контролируемая БА», 2 – «частично контролируемая БА», 3 – «неконтролируемая БА». К независимым были отнесены признаки, имеющие групповые различия по результатам t-критерия

Стьюдента или критерия Манна-Уитни: показатель ОВФ1 (%), показатели процентного

содержания в крови CD25+-, CD4+CD25hi-клеток, показатель концентрации IL-4.

В результате выполнения дискриминантного анализа получены следующие основные

параметры вычислительной процедуры: количество переменных в модели – 4, значение статистики Уилкса $\lambda=0,29042$, приближенное значение статистики F-критерия, соответствующее λ Уилкса $F(8,84) = 8,9841$ и рассчитанный для него уровень значимости $p<0,001$, что свидетельствует о приемлемом качестве дискриминации. В качестве проверки корректности анализируемой выборки оценивались результаты матрицы классификации, приведенные в таблице 3.

Таблица 3 – Матрица классификации (число и доля объектов исследования)

	% правильной классификации	группа 1 $p=0,31373$	группа 2 $p=0,47059$	группа 3 $p=0,21569$
группа 1	87,50000	14	1	1
группа 2	68,75000	2	11	3
группа 3	81,25000	0	3	13
Всего	79,16666	16	15	17

Из классификационной матрицы следует вывод, что 10 из 48 объектов были неправильно отнесены к соответствующим группам. В этой связи возникает задача получения корректной обучающей выборки путем исключения из нее тех объектов, которые по своим показателям не соответствуют большинству объектов, образующих однородную группу. Для этого с помощью метрики Махаланобиса определяется расстояние от всех объектов до центра тяжести каждой группы (вектор средних), определяемых по анализируемой выборке. Отнесение i-го объекта в j-ую группу считается ошибочным, если расстояние Махаланобиса от объекта до центра его группы значительно выше, чем от него до центра других групп, а апостериорная вероятность попадания в свою группу ниже критического значения. В этом случае объект считается некорректно отнесенным и должен быть исключен из выборки. Процедура исключения наблюдений продолжается до тех пор, пока общий коэффициент корректности в классификационной

матрице не достигнет 100%, то есть все наблюдения анализируемой выборки будут

правильно отнесены к соответствующим группам.

В таблице 4 приведена статистика переменных, содержащихся в модели, после ее уточнения.

Таблица 4 – Итоговая таблица анализа дискриминантных функций после уточнения модели

статистика Уилкса $\lambda = 0,09686$, $F(8,64)=17,705$ $p<0,001$

	Статистика Уилкса	Частная статистика Уилкса	F-отношение (2,32)	p-уровень	толерантность	1-толерантность (R-квадрат)
IL-4	0,176533	0,548693	13,16022	0,000067	0,916492	0,083508
ОФВ₁	0,157327	0,615677	9,98763	0,000426	0,882247	0,117753
CD4⁺CD25^{hi}	0,136607	0,709058	6,56517	0,004082	0,870390	0,129610
CD25⁺	0,130259	0,743614	5,51653	0,008741	0,969130	0,030870

Поскольку в нашем случае имеется три группы, то в процессе анализа могут быть вычислены две дискриминантные функции и, в дальнейшем, выполнен канонический анализ для более детальной их оценки.

В таблице 5 приведены показатели, характеризующие значимость полученных дискриминантных функций.

Таблица 5 – Значимость дискриминантных функций

Корни	Собственное значение	Коэффициент канонической корреляции	Статистика Уилкса	Статистика χ^2	p-уровень
Все	5,844772	0,924069	0,096862	78,20454	0,000000
2	0,508293	0,580516	0,663001	13,76779	0,003239

Как следует из таблицы 5, обе функции статистически значимы на уровне $p<0,01$.

Первая строка таблицы показывает значимость всех корней (дискриминантных функций), вторая – оставшихся после удаления первого (наиболее значимого) корня. Коэффициент канонической корреляции показывает, какая доля дисперсии зависимой переменной может быть объяснена полученной моделью. В данном случае доля объясненной дисперсии для всех корней составляет 92%, только для второго корня – 58%.

Анализ стандартизованных коэффициентов дискриминантных функций (табл. б) показывает, что наибольший вклад в дискриминантную функцию 1 вносят признаки IL-4,

ОФВ1 и CD4+CD25^{hi}, в дискриминантную функцию 2 – CD25⁺.

Таблица 6 – Стандартизованные коэффициенты дискриминантных функций

	Корень 1	Корень 2
IL-4	0,689753	-0,505687
ОФВ₁	-0,649998	-0,471271
CD4+CD25^{hi}	-0,581056	0,369325
CD25⁺	0,228493	0,807921
Собственное значение	5,844772	0,508293
Кумулятивная доля объясненной дисперсии	0,919992	1,000000

Повторную классификацию объектов, не попавших в анализируемую выборку, можно проводить на основе полученных дискриминантных функций:

где X1 – показатель IL-4;

X2 – показатель ОФВ1;

X3 – показатель CD4+CD25^{hi};

X4 – показатель CD25⁺.

С помощью этих функций можно будет в дальнейшем классифицировать новые случаи. Новые объекты будут относиться к той группе, для которой классифицированное значение будет максимальным.

При определении принадлежности объектов тестовой выборки к выделенным группам при помощи рассчитанных классификационных функций установлено, что все 12 объектов тестовой выборки были правильно отнесены к соответствующей группе.

Таким образом, приведенные функции могут быть использованы для дальнейшего применения, как обеспечивающие общую вероятность верной классификации 100%.

Выводы

1. Неконтролируемая БА характеризуется снижением содержания в крови естественных регуляторных Т-клеток (CD4+CD25^{hi}), повышением концентрации IL-4, снижением соотношения концентраций IFN- γ /IL-4 и ОФВ1 (%) по сравнению с частично контролируемой, контролируемой БА и группой контроля, а также повышением содержания активированных клеток (CD25⁺) по сравнению с контролируемой БА и группой контроля. Для частично контролируемой БА характерно повышение содержания CD25⁺-клеток и концентрации IL-4, а также снижение соотношения концентраций IFN- γ /IL-4 и ОФВ1 (%) по сравнению с контролируемой БА и группой контроля. Контролируемая БА характеризуется отсутствием статистически значимых различий по уровню CD4+CD25^{hi}- и CD25⁺-клеток от группы контроля, повышением концентрации IL-4 и снижением соотношения концентраций IFN- γ /IL-4 и ОФВ1 (%) по сравнению с группой контроля.
2. Количественными критериями для определения уровня контроля над бронхиальной астмой являются показатели концентрации IL-4 в сыворотке крови, ОФВ1 (%), процентного содержания в крови естественных регуляторных Т-клеток (CD4+CD25^{hi}) и активированных клеток (CD25⁺), как вносящие

наибольший вклад в дискриминантные функции (общая вероятность верной классификации 100%).

Литература

1. Белевский, А. С. Взгляд на пациента с точки зрения пациента: исследование INSPIRE / А. С. Белевский // *Consilium medicum*. 2007. № 3. С. 40–44.
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA). Пересмотр 2006 г. / под ред. А. Г. Чучалина. М.: «Атмосфера», 2007. 104 с.
3. Ненашева, Н. М. Контроль над БА и возможности его достижения / Н. М. Ненашева // *Пульмонология*. 2008. № 3. С. 91–96.
4. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. М.: Медиасфера, 2002. 312 с.
5. Чучалин, А. Г. Бронхиальная астма в России: результаты национального исследования качества медицинской помощи больным бронхиальной астмой / А. Г. Чучалин [и др.] // *Пульмонология*. 2006. № 6. С. 94–102.
6. Partridge, M. R. Attitudes and actions of asthma patients on regular maintenance therapy: the INSPIRE study / M. R. Partridge [et al.] // *BMC Pulm. Med.* 2006. № 6. P. 13.