

## 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- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 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,  $\chi^2$  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- $\gamma$  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 <sub>1</sub> , %, М ± m	51 ± 3 ***	66 ± 4 *	97 ± 2 §	106 ± 2
ОФВ <sub>1</sub> /ЖЕЛ, %, Me (25%-75%)	51 (44-62) §§	64 (58-75) **	76 (71-82)	80 (77-85)
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, %, М ± m	64 ± 3 *	70 ± 2 **	81 ± 1 §	88 ± 1
ПОСвыд, %, М ± m	50 ± 3 *	62 ± 4 *	92 ± 3	94 ± 3
МОС <sub>25</sub> , %, М ± m	39 ± 4 *	52 ± 5 *	89 ± 4	99 ± 3
МОС <sub>50</sub> , %, М ± m	29 ± 3 *	43 ± 5 *	79 ± 4 #	101 ± 3
МОС <sub>75</sub> , %, М ± m	25 (18-34) *	36 (25-45) *	60 (51-88) #	94 (81-110)
СОС <sub>2575</sub> , %, Me (25%-75%)	30 ± 3 §§	47 ± 5 *	83 ± 4 #	109 ± 2
МВЛ, %, М ± m	33 ± 2 *	38 ± 3 ##	57 ± 4	54 ± 3

Примечания:

- \* - p<0,001 по сравнению с контролируемой БА и группой контроля;
- \*\* - p<0,01 по сравнению с контролируемой БА и p<0,001 по сравнению с группой контроля;
- \*\*\* - p<0,01 по сравнению с частично контролируемой БА и p<0,001 по сравнению с контролируемой БА и группой контроля;
- § - p<0,05 по сравнению с группой контроля;
- §§ - p<0,05 по сравнению с частично контролируемой БА и p<0,001 по сравнению с контролируемой БА и группой контроля;
- #- p<0,001 по сравнению с группой контроля;
- ## - 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 <sup>+</sup> , % 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 <sup>+</sup> , %	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 <sup>+</sup> , %	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 <sup>+</sup> , %	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 <sup>+</sup> CD25 <sup>hi</sup> , %	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 <sup>+</sup> , %	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 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> , %	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  $\lambda$  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)
<b>IL-4</b>	0,176533	0,548693	13,16022	0,000067	0,916492	0,083508
<b>ОФВ<sub>1</sub></b>	0,157327	0,615677	9,98763	0,000426	0,882247	0,117753
<b>CD4<sup>+</sup>CD25<sub>hi</sub></b>	0,136607	0,709058	6,56517	0,004082	0,870390	0,129610
<b>CD25<sup>+</sup></b>	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 $\chi^2$	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+CD25hi, в дискриминантную функцию 2 – CD25+.

Таблица 6 – Стандартизованные коэффициенты дискриминантных функций

	Корень 1	Корень 2
<b>IL-4</b>	<b>0,689753</b>	<b>-0,505687</b>
<b>ОФВ<sub>1</sub></b>	<b>-0,649998</b>	<b>-0,471271</b>
<b>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup></b>	<b>-0,581056</b>	<b>0,369325</b>
<b>CD25<sup>+</sup></b>	<b>0,228493</b>	<b>0,807921</b>
<b>Собственное значение</b>	<b>5,844772</b>	<b>0,508293</b>
<b>Кумулятивная доля объясненной дисперсии</b>	<b>0,919992</b>	<b>1,000000</b>

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+CD25hi;

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+CD25hi), 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+CD25hi- 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+CD25hi) 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.