

УДК 612.014.481:458.27

О.Р. ЗАВ'ЯЛОВА

МЕТАБОЛІЧНО-ГОРМОНАЛЬНІ ОБРАЗИ ЛІКВІДАТОРІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС, КОТРИ ПРИБУВАЮТЬ НА КУРОРТ ТРУСКАВЕЦЬ

Методом кластерного аналізу створено чотири метаболічно-гормональні образи ліквідаторів аварії на ЧАЕС, що перебувають на курорті Трускавець. Методом дискримінантного аналізу обрано 22 класифікуючі параметри, серед яких найбільш суттєвими - рівні в сечі та плазмі молекул середньої маси, активність каталази та псевдохолінестерази плазми, а також урикемія.

* * *

ВСТУП

Основними проявами так званого "чорнобильського синдрому" є післярадіаційна ендокринопатія та імунодисфункція [6,9]. Останні, своєю чергою, є компонентами більш загального процесу - післярадіаційної енцефалопатії [8], що узгоджується із сучасною концепцією єдиного нейро-ендокринно-імунного комплексу [15]. Тим не менше, у більшості робіт, присвячених чорнобильському контингенту, стан ендокринної та імунної системи вивчався ізольовано, без з'ясування взаємозв'язків між їх параметрами. Сказане стосується також параметрів білково-азотистого, ліпідного та вуглеводного обміну, підлеглих, з одного боку, регуляторним ендокринним впливам, а з іншого боку - потенційних регуляторів та учасників імунного процесу [6,8,9,15].

Виходячи з викладеного, ми поставили перед собою мету з'ясувати патогенетичні взаємозв'язки між ендокринно-метаболічними та імунними параметрами та їх зміни під впливом бальнеочинників курорту Трускавець у осіб із дизадаптованим та імунодисфункційним "чорнобильським" генезом. На першому етапі було створено метаболічно-гормональні образи-кластери.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під нашим спостереженням знаходились 70 ліквідаторів аварії на ЧАЕС 1986-1987 р.р. віком 30-50 років, цілеспрямовано відібраних серед тих, котрі прибули на курорт Трускавець для лікування від урологічних захворювань. За даними документів, сумарна ефективна доза опромінення складала від 10 до 25 сГр, що є найбільш характерною для даного контингенту [9].

З метою оцінки білково-азотистого обміну визначали вміст альбумінів, глобулінів, їх фракцій, білірубіну, сечовини, сечової кислоти, креатиніну, молекул середньої маси в плазмі, а чотирьох останніх - і в сечі. Загальну антипротеазну активність, активність псевдохолінестерази, лужної фосфатази, аланінової (АлАТ) і аспарагінової (АсАТ) трансаміназ, α -амілази визначали в плазмі, а останньої - і в сечі. Користувались уніфікованими методами [4].

В якості маркерів ліпідного обміну визначали вміст загальних ліпідів метаперіодатним методом, рівень загального холестерину (ХС) - за реакцією Златкіса-Зака, ХС ЛП ВЩ - ензиматичним методом Hiller G. [13] після преципітації ХС ЛП ДНЩ і ХС ЛП НЩ з допомогою декстрансульфату/ Mg^{2+} ; вміст двох останніх параметрів визначали двома методами - за залишком та турбідиметричним методом за Бурштейном-Самай, як це описано в керівництві [4].

Про стан ліпопероксидації (ЛПО) судили за вмістом в плазмі крові її продуктів: дієнових кон'югатів (ДК) ліпідів, який визначали шляхом спектрофотометрії гептанової фази їх екстракту [2], і малонового діальдегіду (МДА), який визначали в тесті з тіобарбітуровою кислотою [1], та активністю ферментів антиоксидантного захисту: супероксиддисмутази (СОД) еритроцитів, оцінюваною за ступенем гальмування відновлення нітросинього тетразолію в присутності N-метилфеназону метасульфата і НАД*Н [10], і каталази сироватки, оцінюваною за швидкістю розкладання перекису водню [7].

Вуглеводний обмін оцінено за оральним глюкозотолерантним тестом, при цьому постпрандіальну глікемію визначали через 1,5 і 2,5 год після вживання глюкози.

Крім того, визначали маркери реактивності: С-РБ, сілові кислоти, тимолову пробу, швидкість осідання еритроцитів [4].

Оцінювали функціональний стан головних адаптивних залоз: щитовидної, кори наднирників та гонад. Про тиреоїдну функцію судили за вмістом в сироватці крові загального тироксину (T_4) і трийодтироніну T_3 , які визначали імуноферментним методом з допомогою набору "EIA (Cobas Core)", глюкокортикоїдну - за добовою екскрецією з сечею сумарних 17-ОКС, андрогенну - сумарних 17-КС, які визначали методом спектрофотометрії, мінералокортикоїдну - за величиною Na/K -коефіцієнта плазми крові, визначаючи вміст катіонів методом полум'яної фотометрії [4].

Типування ЗАРО здійснювали за лейкограмою периферійної крові згідно з класичною методикою Гаркави Л.Х., Квакиной Е.Б., Уколовой М.А. [3] в модифікації Поповича І.Л. [5].

Для отримання нормальних показників обстежено 30 донорів аналогічного віку.

Для досліджень використовувалась наступна апаратура: спектрофотометр СФ-46, полум'яний фотометр ПФМ У4.2, аналізатори "Pointe-180" ("Scientific", USA) і "Reflotron" ("Boehringer Mannheim", BRD).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для створення метаболічно-гормональних образів використано метод кластерного аналізу. Відомо, що застосування кластерного аналізу робить можливим **одночасне** врахування **усіх** ознак. Врахування усієї сукупності ознак осіб, взятих в їх взаємозв'язку і зумовленості дає змогу здійснити природну класифікацію, яка відображає природу речей, їх суть. Вважається, що пізнання суті об'єкта зводиться до виявлення тих його якісних властивостей, котрі власне і визначають даний об'єкт, відрізняють його від інших [12].

На першому етапі методом Single Linkage (за програмою "Statistica") визначено оптимальну кількість кластерів - 4. Кластеризація метаболічно-гормональних параметрів реалізована ітеративним методом k-means. В даному методі об'єкт відносять до того класу, евклідова віддаль до якого мінімальна. Головний принцип структурного підходу до виділення однорідних груп полягає в тім, що об'єкти одного класу близькі, а різних – віддалені. Іншими словами, кластер (образ) – таке нагромадження точок в n-мірному геометричному просторі, в якому середня міжточкова віддаль менша ніж середня віддаль від даних точок до решти.

Із врахованих 53 параметрів створено 4 кластери. До першого кластеру увійшло 38 осіб, другого - 7, третього - 9 і четвертого - 16.

З метою виявлення параметрів метаболізму і головних адаптивних гормональних систем, констеляція яких характерна для кожного із чотирьох кластерів, наявне інформаційне поле із 53 параметрів було піддано дискримінантному аналізу (метод forward stepwise) [14].

Таблиця 1

Discriminant Function Analysis Summary

Step 22, N of vars in model: 22.

Wilks' Lambda: 0,007; approx. F (66,1)=8,51 p< 0,0000

	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,45)	p-level	1-Toler. Toler.	(R-Sqr.)
MSM	,060	,125	105,4	,000	,355	,645
EST	,011	,667	7,5	,000	,594	,406
KAT	,013	,577	11,0	,000	,489	,511
MSM_U	,010	,768	4,5	,007	,545	,455
UR	,010	,767	4,6	,007	,327	,673
UR_U	,010	,737	5,3	,003	,528	,472
DK	,010	,781	4,2	,010	,547	,453
T3	,014	,548	12,4	,000	,371	,629
ALB	,012	,646	8,2	,000	,330	,670
IAP	,008	,959	,6	,594	,623	,377
MDA	,010	,785	4,1	,012	,402	,598
BB	,009	,807	3,6	,021	,237	,763
GL 1,5	,011	,709	6,2	,001	,382	,618
CR_U	,009	,815	3,4	,026	,668	,332
ALT	,010	,751	5,0	,005	,270	,730
CR	,009	,853	2,6	,065	,652	,348
AMY_U	,008	,905	1,6	,207	,527	,473
BIL	,009	,820	3,3	,029	,499	,501
SOD	,009	,813	3,5	,024	,523	,477
AST	,010	,767	4,5	,007	,330	,670
BETA%	,009	,821	3,3	,030	,454	,546
B	,009	,872	2,2	,100	,233	,767

Для включення в модель відібрано 22 параметрів (табл. 1): вміст в крові молекул середньої маси (MSM), активність псевдохолінестерази (EST), каталази (КАТ), сечова концентрація молекул середньої маси (MSM_U), концентрація уратів (UR) в плазмі та сечі, вміст в плазмі дієнових кон'югатів (DK), трийодтироніну (Т3), альбумінів (ALB), малонового диальдегіду (MDA), суми ліпопротеїдів дуже низької і низької щільності (BB), індекс адаптації (IAP), рівень глікемії через 1,5 год після вживання глюкози (GL 1,5), креатинінурия (CR_U), активність АЛТ, креатинінемія (CR), амілазурия (AMY_U), білірубінемія (BIL), активність супероксиддисмутази еритроцитів (SOD) і АСТ плазми, відносний вміст в плазмі β-глобулінів (BETA%), а також вміст холестерину в складі ліпопротеїдів дуже низької і низької щільності (B).

За сукупністю відібраних параметрів всі кластери чітко розмежовуються, про що свідчать віддалі Mahalanobis між ними (табл.2).

Таблиця 2

Squared Mahalanobis Distances				
Cluster	III	II	IV	I
III	0,00			
II	210	0,00		
IV	33	129	0,00	
I	46	90	18	0,000
F-values; df = 22,45				
	III	II	IV	I
III				
II	22,3			
IV	5,3	17,2		
I	9,4	14,5	6,0	
p-levels				
	III	II	IV	I
III				
II	,000000			
IV	,000001	,000000		
I	,000000	,000000	,000000	

Далі 22-мірний простір дискримінантних змінних трансформується у 3-мірний простір канонічних дискримінантних функцій (канонічних змінних), кожна з яких є лінійною комбінацією дискримінантних змінних.

Таблиця 3

Chi-Square Tests with Successive Roots Removed

	Eigen-value	Canonicl R	Wilks' Lambda	Chi-Sqr.	df	p-level
0	12,73	,963	,0075	274	66	,0000
1	2,42	,841	,1025	128	42	,0000
2	1,86	,806	,3502	59	20	,0000

Оцінка реальної корисності дискримінантної функції дана за коефіцієнтом канонічної кореляції (r^*) - міри зв'язку, ступеня залежності між групами і дискримінантною функцією. За означенням, перша канонічна дискримінантна функція володіє максимальною дискримінуючою (розрізняючою) здатністю. Її доля дисперсії, яка пояснюється розподілом на групи, складає 0,927. Друга функція забезпечує максимальне розрізнення після першої (доля дисперсії - 0,707), третя - після другої ($r^{*2}=0,650$). Згідно з теорією дискримінантного аналізу, замість перевірки статистичної значущості самої дискримінантної функції розглядається залишкова дискримінантна здатність системи до визначення цієї функції. Залишкова дискримінантна здатність - це здатність змінних розрізняти групи, якщо виключити інформацію, отриману з допомогою раніше обчислених функцій. Оберненою мірою розбіжностей між групами за кількома дискримінантними змінними є Λ -статистика Wilks'. Дуже малі величини Wilks' Λ свідчать за високе розрізнення, тобто добре розділення центрів груп і сильну відмінність між собою стосовно ступеня розкиду всередині груп (табл. 3).

Високий рівень значущості для кожної групи, обчислений за тестом χ^2 , свідчить, що результати отримано із генеральної сукупності з розбіжностями між групами і що функції статистично значущі.

При оцінці реальної корисності дискримінантних функцій за відносним %-ним вмістом - долею власного числа в їх сумі, виявляється, що перша функція містить 74,9% дискримінантних можливостей, друга - лише 14,2%, а третя - 10,9%.

Структурний коефіцієнт показує, наскільки тісно зв'язані змінні і дискримінантні функції, тобто яка доля інформації про дискримінантну функцію закладена у цій змінній (табл 4). З огляду на значущі коефіцієнти функції можливо інтерпретувати наступним чином. Перша - характеризує ендогенну інтоксикацію, маркером якої є молекули середньої маси плазми. Друга функція пов'язана із концентрацією цих маркерів у сечі, а також із альбумінемією. Третя функція корелює із активністю псевдохолінергези, каталази та вмістом в плазмі уратів і дієнових кон'югатів, тобто має відношення до холінергічно-адренергічної регуляції та ліпопероксидації.

Таблиця 4

Factor Structure Matrix
Correlations Variables - Canonical Roots
(Pooled-within-groups correlations)

	Root 1	Root 2	Root 3
MSM	-.493	-.250	-.040
EST	-.011	.240	-.480
KAT	-.103	.190	-.316
MSM_U	-.038	.304	.166
UR	-.052	.178	.239
UR_U	.039	.064	-.196
DK	-.045	-.081	.239
T3	.043	-.066	-.056
ALB	.020	-.271	-.057
IAP	-.034	.090	-.033
MDA	.068	.013	-.141
BB	-.038	.091	.079
GL1,5	-.013	.026	-.186
CR_U	-.074	-.144	.057
ALT	-.005	-.022	-.144
CR	.025	.101	.103
AMY_U	-.052	.011	.049
BIL	.0210	.087	.149
SOD	-.027	.065	-.042
AST	-.016	-.017	-.013
BETA%	.033	.167	.065
B	-.048	-.004	.036

Сума добутків нестандартизованих коефіцієнтів на значення дискримінантних змінних разом із константою дають значення дискримінантної функції для кожного індивідуума. Значення дискримінантних функцій визначають точку в просторі дискримінантних функцій. Отримані дані візуалізовані на площині перших двох функцій (радикалів).

Видно чітке просторове розмежування на площині перших двох радикалів усіх чотирьох кластерів за нестандартизованими канонічальними величинами, які характеризують відхилення (в одиницях Mahalanobis) параметрів від середніх для даної статистичної вибірки (рис 1). При цьому особи найчисленнішого I кластера характеризуються квазінульовими значеннями першого радикалу в поєднанні із, як правило, від'ємними значеннями другого радикалу. Натомість для осіб решти кластерів характерні, як правило, позитивні значення другого радикалу, розміщені в діапазоні 0÷3. Проте значення першого радикалу осіб II кластера різко позитивні (7÷11), III - різко негативні (-8÷-3,5), а IV - менш негативні (-3,5÷0).

Отже, розбіжності між чотирма метаболічно-гормональними кластерами осіб вичерпно пояснюються 22 параметрами, з-поміж яких 13 стосуються білково-азотистого обміну, 6 - ліпідного, 1 - вуглеводного і 2 - стану адаптації. Інформація, що міститься в цих параметрах, може бути сконденсована у трьох, а по суті - у двох радикалах.

Іншими словами, відібрані 22 параметри можуть бути використані для передбачення групи, до якої належить конкретний об'єкт спостереження. Ця мета дискримінантного аналізу реалізується з допомогою класифікуючих (дискримінантних) функцій (табл. 5) - особливих лінійних комбінацій для кожної групи, які максимізують розбіжності між групами і мінімізують дисперсію всередині груп.

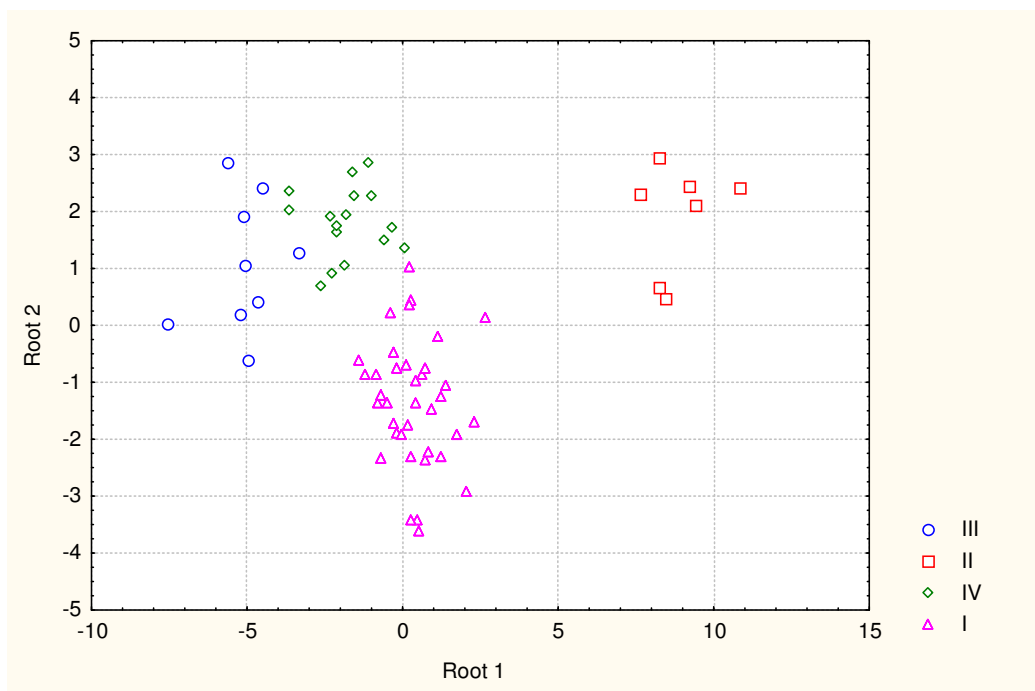


Рис. 1. Розсіювання нестандартизованих канонікальних величин перших двох радикалів осіб чотирьох метаболічно-гормональних кластерів

Таблиця 5

Classification Functions	III	II	IV	I
	p=,12857	p=,10000	p=,22857	p=,54286
MSM	,475	,079	,375	,325
EST	,165	,018	,060	,032
KAT	-,019	-,213	-,097	-,155
MSM_U	,015	,008	,033	,011
UR	187,703	74,356	172,702	146,664
UR_U	-15,768	-3,669	-14,051	-11,580
DK	10,785	-7,151	10,325	4,904
T3	25,898	84,427	39,297	59,884
ALB	5,048	5,191	4,987	5,697
IAP	1,992	3,992	3,221	3,025
MDA	,411	,193	,259	,198
BB	-,297	-1,516	-,482	-,900
GL1_5	38,884	43,321	36,412	42,616
CR_U	20,726	19,633	19,787	21,754
ALT	49,451	-25,610	25,614	10,048
CR	-,056	,102	,010	-,125
AMY_U	-,587	-,302	-,557	-,553
BIL	-1,735	-1,953	-1,579	-2,203
SOD	,057	-,386	-,010	-,156
AST	66,790	135,463	82,607	113,783
BETA%	6,395	8,580	7,026	7,986
B	5,791	15,590	7,401	11,291
Constant	-547,632	-416,295	-482,860	-500,839

Коефіцієнти класифікуючих функцій не стандартизовані, тому не інтерпретуються. Об'єкт відноситься до групи із максимальним значенням функції, обчислюваним шляхом сумування добуток величин змінних на коефіцієнти класифікуючих функцій та константи.

В нашому випадку досягнена дуже висока апостеріорна ймовірність і 100%-на коректність класифікації об'єктів (табл. 6).

Таблиця 6

Classification Matrix

Rows: Observed classifications

Columns: Predicted classifications

	Percent	III	II	IV	I
Correct		p=,12857	p=,10000	p=,22857	p=,54286
III	100	9	0	0	0
II	100	0	7	0	0
IV	100	0	0	16	0
I	100	0	0	0	38
Total	100	9	7	16	38

Таблиця 7

Основні кластероутворюючі показники метаболічно-гормонального статусу ліквідаторів аварії на ЧАЕС

Показник (n)		Норма (30)	I кластер (38)	II кластер (7)	III кластер (9)	IV кластер (16)
Молекули середньої маси, од.екс.	X±m	215±12	540±9	244±11	659±43	543±10
	I _D ±m	1	2,40±0,10*	1,13±0,05*	3,07±0,20*	2,53±0,05*
Псевдохолінестераза, мкМ/с*л	X±m	153±14	95,39±5,57	152,0±18,17	169,8±18,06	95,96±7,52
	I _D ±m	1	0,62±0,04*	0,99±0,12	1,11±0,12	0,63±0,05*
Каталаза, нМ/мл*год	X±m	125±13	117,9±6,55	126,7±16,58	230,5±24,72	144,5±16,01
	I _D ±m	1	0,94±0,05	1,01±0,13	1,84±0,20*	1,16±0,13
Молекули середньої маси сечі, од.екс.	X±m	393±14	919±50	1211±37	1223±10	1316±12
	I _D ±m	1	2,05±0,18	3,08±0,09	2,49±0,46	3,35±0,03
Урати, мМ/л	X±m	0,39±0,04	0,24±0,01	0,22±0,03	0,25±0,03	0,35±0,03
	I _D ±m	1	0,62±0,04*	0,56±0,08*	0,64±0,08*	0,91±0,08

Примітки: 1. В кожній графі верхній рядок - середні значення та їх похибки, нижній - індекс відхилення від норми та їх похибки.

2. Показники, вірогідно відмінні від нормальних, позначені *.

Найхарактернішими рисами метаболічного статусу осіб I кластера (табл. 7) є більш як дворазове підвищення вмісту молекул середньої маси (МСМ), гіпоурикемія і значне зниження активності псевдохолінестерази (ПХЕ) за нормальної активності каталази плазми. Для осіб II кластера характерне триразове підвищення рівня МСМ сечі в поєднанні із близьким до норми вмістом їх в плазмі та нормальною активністю ПХЕ. Характерні риси портрету осіб III кластера - високі рівні МСМ сечі і плазми і значно підвищена активність каталази за нормального рівня ПХЕ. Нарешті, в IV кластері, на відміну від попередніх, констатовано близький до норми рівень урикемії, а також активності каталази, при цьому має місце значне підвищення вмісту МСМ в плазмі та сечі і зниження активності ПХЕ.

ВИСНОВОК

Методом кластерного аналізу створено чотири метаболічно-гормональних образи ліквідаторів аварії на ЧАЕС, котрі прибувають на курорт Трускавець. Методом дискримінантного аналізу відібрано 22 класифікуючих параметри, з-поміж яких найбільш суттєві - рівні в сечі та плазмі молекул середньої маси, активність каталази і псевдохолінестерази плазми, а також урикемія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело.- 1988.- № 11.- С. 41-43.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело.- 1983.- № 3.- С. 33-36.

3. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. - Ростов н/Д: Изд-во Ростов. ун-та, 3-изд. дополн.- 1990. - 224 с.
4. Горячковский А.М. Клиническая биохимия.- Одесса: Астропринт, 1998.- 608 с.
5. Загальні адаптаційні реакції і резистентність організму ліквідаторів аварії на ЧАЕС / Попович І.Л., Флонт І.С., Ніщета І.В. та ін.- К.: Комп'ютерпрес, 2000.- 117 с.
6. Коваленко О.М. Гормональні та вегетативні зрушення у учасників ліквідації аварії на ЧАЕС // УРЖ.- 1996.- 4.- С. 65-69.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело.-1988.-№1.- С.16-19.
8. Післярадіаційна енцефалопатія. Експериментальні дослідження та клінічні спостереження / За ред. А.П. Ромоданова.- К.: УНДІНХ, 1993.- 223 с.
9. Саногенетичні засади реабілітації на курорті Трускавець урологічних хворих чорнобильського контингенту / За ред І.Л. Поповича і І.С. Флонта. - К.: Комп'ютерпрес, 2003.- 192 с.
10. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело.- 1991.- №10.- С. 9-13.
11. Чорнобиль. Зона відчуження: Збірник наукових праць.- К.: Наук. думка, 2001.- 547 с.
12. Aldendelfer M.S., Blashfield R.K. Cluster analysis (Second printing, 1985) // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ: Пер. с англ./ Под ред. И.С. Енюкова.- М.: Финансы и статистика, 1989.- С. 139-214.
13. Hiller G. Test for the quantitative determination of HDL cholesterol in EDTA plasma with Reflotron ® // Klin. Chem.- 1987.- 33.- P. 895-898.
14. Klecka W.R. Discriminant Analysis (Seventh Printing, 1986) // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ: Пер. с англ./ Под ред. И.С. Енюкова.- М.: Финансы и статистика, 1989.- С. 78-138.
15. Neuroimmunomodulation. Perspectives at the new millennium / Ed. by A. Conti et al.- Ann. NYAS.- Vol. 917.- NY, 2000.- 918 p.

O.R. ZAVYALOVA

THE METHABOLIC AND HORMONAL IMAGES OF LIQUIDATORS OF ACCIDENT ON ChNPP ARRIVING ON SPA TRUSKAVETS'

It is builded by method of clustering four methabolic and hormonal images of liquidators of accident on ChNPP arriving on spa Truskavets'. By method of discriminant analysing it is selected 22 parameters thouse determinates of clusters.

Кафедра реабілітації і нетрадиційної медицини Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького

Дата поступлення: 23. 06. 2005 р.