

Методика расчета референтных интервалов лабораторных показателей на примере фетальных белков

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

²Российский университет дружбы народов, Москва

Резюме. Для правильной оценки лабораторных показателей производители рекомендуют рассчитывать референтные интервалы для каждой лаборатории. Существующие прямые методики расчета референтных интервалов предполагают наличие выборки из 120 практически здоровых субъектов, что может вызвать сложности при наборе группы. В косвенных методиках используются лабораторные данные амбулаторных пациентов. Использование предварительной «очистки» выборки до нормального распределения с помощью нормированного отклонения исключения «нездоровых» субъектов не противоречит рекомендациям Международной федерации клинической химии и государственному стандарту Р 53022.3-2008 и позволяет рассчитать 95% доверительный интервал по 2,5 и 97,5 процентилям полученной выборки. Данный подход был продемонстрирован при расчете референтных интервалов фетальных белков альфа-фетопротейна, раково-эмбрионального антигена СА 19-9, СА 125, СА 15-3, СА 72-4, CYFRA 21-1, уровни которых выражены повышаются при онкопатологии, но также могут изменяться и при злокачественных заболеваниях. Выявлено, что полученные референтные диапазоны оказались более узкими, чем указанные в аннотациях к наборам. Рассчитанные значения можно использовать при оценке активности базовых патогенетических процессов повреждения и регенерации тканей у пациентов с злокачественными заболеваниями. Косвенная методика расчета референтных интервалов с использованием всей имеющейся в наличии лабораторной базы данных, полученных для амбулаторных пациентов после итераций нормирования, может быть рекомендована для определения референтных интервалов любых других лабораторных показателей, используемых в клинической практике.

Ключевые слова: референтный интервал, фетальные белки, методика очистки выборки, альфа-фетопротейн, нормированное отклонение, злокачественные заболевания, регенерация тканей.

Введение. В настоящее время существуют прямые и косвенные методики расчета референтных интервалов (РИ) лабораторных показателей. Для прямого установления РИ, согласно рекомендациям Международной федерации клинической химии (International federation of clinical chemistry – IFCC), статистически достаточным является выборка из 120 практически здоровых субъектов, по результатам исследования которых рассчитывают 95% доверительный интервал [8]. Однако некоторый уровень неопределенности здоровья, связанный с тем, что некоторые пациенты могут иметь заболевания на субклинические стадиях, делает определение здоровья сложной задачей.

Широкое распространение получили косвенные методики установления РИ, использующие анализ базы данных амбулаторных пациентов, собранных лабораторией [8]. Основной проблемой применения косвенной методики являются громоздкие статистические алгоритмы для создания сложных фильтров исключения «нездоровых» субъектов. Однако Р.Г. Хоффман [7] ещё в 1963 г. описал технологию, упростившую косвенную оценку РИ. Ещё более простой и удобной технологией, является предлагаемая нами методика предварительной «очистки» выборки до нормального распределения с помощью нормированного отклонения с последующим расчётом 95% доверительного интервала (ДИ) по 2,5 и 97,5 процентилям полученной выборки, что не противоречит рекомендациям IFCC и Государственного стандарта (ГОСТ) Р 53022.3-2008 [2].

Нами проведен расчет референтных интервалов фетальных белков – альфа-фетопротейна, (АФП), раково-эмбрионального антигена (РЭА), (Cancer antigen – CA) 19-9, СА 125, СА 15-3, СА 72-4, CYFRA (фрагмент цитокератина 19) 21-1. Концентрация данных фетальных белков выражено повышается при онкологических заболеваниях, что используется для диагностики опухолей и определения объема и вида лечебного вмешательства [1, 5, 6, 13, 15, 16], но также их уровень может изменяться при состояниях, не связанных с онкопатологией, например при циррозе печени, хроническом гепатите, интерстициальном фиброзе легких, бронхоэктатической болезни [3, 9, 11, 12, 14]. Данные изменения концентраций, обусловленные регуляторной ролью фетальных белков во взрослом организме, не столь выражены, как при онкологических заболеваниях, и порой могут не выходить за пределы общепринятого референтного диапазона, что обуславливает необходимость расчета референтных интервалов фетальных белков, которые можно будет использовать для прогноза развития и течения не злокачественных заболеваний.

Материалы и методы. Для расчета РИ были применены обе методики с использованием амбулаторной базы данных общества с ограниченной ответственностью «Научный центр ЭФИС». Пациенты, данные которых включены в исследование, были отобраны случайным образом, вне зависимости от их клинических характеристик и анамнеза.

Методика расчёта РИ по Хоффману применялась после устранения выбросов данных по критериям Шовене. После ликвидации выбросов, для каждого маркера были определены совокупные частоты встречающихся значений. По полученным совокупным частотам строился график кумулятивных частот с последующим построением аппроксимирующей регрессионной прямой на линейном участке графика. РИ определялся из уравнения линейной регрессии $Y = \alpha \times X + \beta$, где α и β являются константами регрессионной прямой, а X – значением процентиля популяционного интервала, что для расчёта РИ составляет 2,5 и 97,5 процентиля.

В качестве альтернативной методики обработки базы данных для последующего расчёта РИ с использованием рекомендаций IFCC и ГОСТ Р 53022.3-2008 применён критерий выпада по нормированному отклонению исходя из того, что значения референтного интервала исследуемой выборки теоретически принадлежат к генеральной совокупности нормальных значений, которая, как известно, априори имеет нормальное распределение [4].

Уровень фетальных белков определяли в сыворотке крови на автоматическом анализаторе «Elecsys 2010» фирмы «Roche» (Швейцария), используя электрохемилюминисцентную методику и реагенты фирмы «Hitachi High-Technologies Corporation» (Япония).

Статистическая обработка данных исследования проведена с использованием программного обеспечения SPSS18.0 и Microsoft Excel 2010.

Результаты и их обсуждение. Выборка для расчёта РИ для АФП включала 339 субъектов, 135 (39,8%, 95% ДИ 34,7–45,1%) мужчин и 204 (60,2%, 95% ДИ 54,9–65,3%) женщин. В соответствии с методикой Хоффмана график кумулятивных частот значений АФП по линейной части кривой позволил получить уравнение регрессии: $Y = 0,038 \times X + 0,783$. Согласно полученному уравнению, РИ для АФП составил 0,88–4,49 МЕ/мл. По выборке, полученной с помощью методики предварительной очистки нормированного отклонения после 14 повторений, РИ для АФП составил 0,59–3,78 МЕ/мл (табл.).

Таблица

Сравнение интервальных интервалов фетальных белков

Маркер	Полная выборка	Методика Хоффмана	IFCC, после итераций нормирования
АФП, МЕ/мл	2,69 (Q 1,78–4,28), n=339	0,88–4,49	0,59–3,78, n=242
РЭА, нг/мл	1,53 (Q 1,07–2,27), n=1390	0,60–2,50	0,58–2,07, n=940
СА 19-9, ЕД/мл	7,68 (Q 5–12,4), n=1273	2,33–13,4	3,56–10,1, n=726
СА 125, ЕД/мл	14 (Q 9,92–21,5), n=1524	6,29–21,5	5,87–16,7, n=932
СА 15-3, ЕД/мл	15,9 (Q 11,5–21,9), n=982	6,80–25,6	6,53–22,2, n=738
СА 72-4, ЕД/мл	1,51 (Q 1,11–3,94), n=197	0,86–2,00	0,85–1,42, n=94
СУFRA 21-1, нг/мл	1,52 (Q 1,15–2,2), n=370	0,69–2,40	0,63–2,0, n=257

Выборка для расчёта РИ РЭА составила 1390 человек, из них 340 (24,5%, 95% ДИ 22,2–26,8%) мужчин и 1050 (75,5%, 95% ДИ 73,2–77,8%) женщин. В соответствии с методикой Хоффмана график кумулятивных частот значений РЭА по линейной части кривой позволил получить уравнение регрессии: $Y = 0,02 \times X + 0,545$. Согласно полученному уравнению, РИ для РЭА составил 0,60–2,50 нг/мл. По выборке, полученной с помощью методики предварительной очистки нормированного отклонения после 19 повторений, РИ для РЭА составил 0,58–2,07 нг/мл (см. табл.).

Выборка для расчёта РИ для СА 19-9 составила 1273 человек, из них 300 (23,6%, 95% ДИ 21,3–25,9%) мужчин, 973 (76,4%, 95% ДИ 74,1–78,7%) женщины. В соответствии с методикой Хоффмана график кумулятивных частот значений СА 19-9 по линейной части кривой позволил получить уравнение регрессии: $Y = 0,116 \times X + 2,043$. Согласно полученному уравнению, РИ для СА 19-9 составил 2,33–13,4 ЕД/мл. По выборке, полученной с помощью методики предварительной очистки данных нормированного отклонения после 26 повторений, РИ для СА 19-9 составил 3,56–10,1 ЕД/мл (см. табл.).

Выборка для расчёта РИ для СА 125 составила 1524 человек, из них 18 (1,2%, 95% ДИ 0,7–1,79%) мужчин, 1506 (98,8%, 95% ДИ 98,2–99,3%) женщин. В соответствии с методом Хоффмана график кумулятивных частот значений СА 125 по линейной части кривой позволил получить уравнение регрессии: $Y = 0,16 \times X + 5,885$. Согласно полученному уравнению, РИ для СА 125 составил 6,29–21,5 ЕД/мл. По выборке, полученной с помощью методики предварительной очистки нормированного отклонения после 29 повторений, РИ для СА 125 составил 5,87–16,7 ЕД/мл (см. табл.).

Выборка для расчёта РИ для СА 15-3 составила 982 человека, из них 26 (2,6%, 95% ДИ 1,73–3,75%) мужчин, 956 (97,4%, 95% ДИ 96,3–98,3%) женщин. В соответствии с методикой Хоффмана график кумулятивных частот значений СА 15-3 по линейной части кривой позволил получить уравнение регрессии: $Y = 0,198 \times X + 6,303$. Согласно полученному уравнению, РИ для СА 15-3 составил 6,80–25,6 ЕД/мл. По выборке, полученной с помощью методики предварительной очистки нормированного отклонения после 14 итераций, РИ для СА 15-3 составил 6,53–22,2 ЕД/мл (см. табл.).

Выборка для расчёта РИ для СА 72-4 составила 197 субъектов, из них 48 (24,4%, 95% ДИ 18,6–30,6%) мужчин, 149 (75,6%, 95% ДИ 69,4–81,4%) женщин. В соответствии с методикой Хоффмана график кумулятивных частот значений СА 72-4 по линейной части кривой позволил получить уравнение регрессии: $Y = 0,012 \times X + 0,834$. Согласно полученному уравнению, РИ для СА 72-4 составил 0,86–2,00 ЕД/мл. По выборке, полученной с помощью методики предварительной очистки нормированного отклонения после 13 итераций, РИ для СА 72-4 составил 0,85–1,42 ЕД/мл (см. табл.).

Выборка для расчёта РИ для СУFRA 21-1 составила 370 субъектов, из них 163 (44,1%, 95% ДИ 39–49,1%) мужчин, 207 (55,9%, 95% ДИ 50,9–61%) женщин. В соответствии с методикой Хоффмана график куму-

лятивных частот значений CYFRA 21-1 по линейной части кривой позволил получить уравнение регрессии: $Y=0,018 \times X + 0,646$. Согласно полученному уравнению, РИ для CYFRA 21-1 составил 0,69–2,40 нг/мл. По выборке, полученной с помощью предварительной очистки нормированного отклонения после 13 итераций, РИ для CYFRA 21-1 составил 0,63–2,00 нг/мл (см. табл.).

Референтные интервалы фетальных белков, полученные с помощью высокочувствительной методики на современном высокотехнологичном оборудовании, отличаются от предложенных в аннотациях к наборам реагентов – интервальный диапазон оказался более узким. В свою очередь, минимальные и максимальные пределы референтного интервала сдвинуты в сторону больших значений при использовании методики Хоффмана (см. табл.). Значения медиан и межквартильных размахов по полной выборке, полученной из амбулаторной лабораторной базы, по большинству маркёров находятся в референтных пределах, выведенных с помощью обеих методик расчёта. Это подтверждает мнение многих исследователей о том, что в амбулаторных базах данных преобладают практически здоровых субъектов близко к 50% [8].

Заключение. Полученные РИ рекомендуется использовать при оценке активности базовых патогенетических процессов повреждения и регенерации тканей у пациентов с незлокачественными заболеваниями. Косвенная методика расчета РИ с использованием всей имеющейся в наличии лабораторной базы данных, полученных для амбулаторных пациентов после итераций нормирования, может быть использована для определения референтных интервалов любых других лабораторных показателей, используемых в клинической практике.

Литература

- Алексеева, М.Л. Онкомаркеры, их характеристика и некоторые аспекты клинико-диагностического использования / М.Л. Алексеева [и др.] // Проблемы репродукции. – 2005. – № 3. – Р. 65–79.
- ГОСТ Р 53022.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Ч. 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов». – М.: Стандартинформ, 2009. – 22 с.
- Дати, Ф. Белки. Лабораторные тесты и клиническое применение: пер. с англ. / Ф.Дати, Э.Метцманн. – М.: Лабора, 2007. – 560 с.
- Ивантер, Э.В. Элементарная биометрия: учебное пособие / Э.В. Ивантер, А.В. Коросов. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2010. – 104 с.
- Кабанов, М.Ю. Выбор объема малоинвазивных дренирующих вмешательств у больных раком головки поджелудочной железы / М.Ю. Кабанов [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2013. – № 1 (41). – С. 97–101.
- Фомкин, Р.Н. Эффективность высокоинтенсивной сфокусированной ультразвуковой абляции в лечении рака простаты высокой степени онкологического риска / Р.Н. Фомкин [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2013. – № 4 (44). – С. 55–60.
- Hoffmann, R.G. Statistics in the practice of medicine / R.G. Hoffmann // JAMA. – 1963. – № 185. – P. 864–873.
- Katayev, A. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results. Is there a better way? / A. Katayev [et al.] // Am. j. clin. pathol. – 2010. – № 133. – P. 180–186.
- Kim, H.R. Increased CA 19-9 level in patients without malignant disease / H.R. Kim [et al.] // Clin. chem. lab. med. – 2009. – № 47 (6). – P. 750–754.
- Kim, K.N. Carcinoembryonic antigen level can be overestimated in metabolic syndrome / Kim K.N. [et al.] // J. Korean med. sci. – 2011. – № 6. – P. 759–764.
- Kruit, A. CA 15-3 as an alternative marker for KL-6 in fibrotic lung diseases / A. Kruit [et al.] // Sarcoidosis vasculitis and diffuse lung diseases. – 2010. – № 27. – P. 138–146.
- Matsubara, Y. Evaluation of CYFRA 21-1 and ProGRP in serum and bronchoalveolar lavage fluid of patients with benign lung disease / Y. Matsubara [et al.] // Nihon kokyuki gakkai zasshi. – 2000. – № 38 (9). – P. 659–664.
- Mizejewski, G.J. Physiology of alpha-fetoprotein as a biomarker for perinatal distress: relevance to adverse pregnancy outcome / G.J. Mizejewski // Exp. biol. med. – 2007. – № 232. – P. 993–1004.
- Morris-Stiff, G. CA19-9 antigen levels can distinguish between benign and malignant pancreaticobiliary disease / G. Morris-Stiff [et al.] // Hepatobiliary pancreat. dis. int. – 2009. – № 6. – P. 620–626.
- Seregini, E. Circulating tumor markers in breast cancer / E. Seregini, A. Coli, N. Mazzucca // Eur. j. nucl. med. mol. imaging. – 2004. – № 31. – P. 15–22.
- Stieber, P. CYFRA 21-1. A new marker in lung cancer / P. Stieber [et al.] // Cancer. – 1993. – № 72 (3). – P. 707–713.

A.A. Arkhipkin, O.V. Lyang, A.G. Kochetov

Methods for calculating reference ranges of laboratory parameters on example of fetal proteins

Abstract. For proper evaluation of laboratory parameters manufacturers recommend count reference intervals for each laboratory. There is a direct method of calculating reference intervals that suggests sample of 120 almost healthy subjects, which may cause difficulty in the recruitment group. In indirect methods data of laboratory outpatients are used. Using the pre-«clean» sample to a normal distribution with the normalized deviation exclusion of «unhealthy» subjects are not contrary to the recommendations of the International Federation of clinical chemistry and the state standard R 53022.3-2008 and allows to calculate 95% confidence interval, 2,5 and 97,5 percentiles of the resulting sample. This approach has been demonstrated in the calculation of the reference ranges of fetal protein alpha-fetoprotein, carcinoembryonic antigen CA 19-9, CA 125, CA 15-3, CA 72-4, CYFRA 21-1, which levels are markedly elevated in cancer pathology, but also are subject to change and non-malignant diseases. It was revealed that the obtained reference ranges were narrower than those specified in the annotations to the sets. The calculated values can be used for assessing the activity of the basic pathogenetic processes of injury and regeneration of tissues in patients with nonmalignant diseases. Indirect method of calculating reference intervals using the entire available laboratory database obtained for outpatients after iterations regulation may be recommended to determine the reference ranges of any other laboratory parameters used in clinical practice.

Key words: reference interval, fetal protein purification technique sample, alpha-fetoprotein, a standard deviation, malignant disease, tissue regeneration.

Контактный телефон: 8-917-525-74-49; e-mail: olyang84@gmail.com