

О. Т. Кудаева, Е. Н. Наумова, В. А. Козлов

СТАТИСТИЧЕСКОЕ ОЦЕНИВАНИЕ ДАННЫХ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЛОКАЛЬНОГО ГЕМОЛИЗА

Институт клинической иммунологии СО АМН СССР, Новосибирск

В настоящее время широко распространенным методом в иммунологических исследованиях является определение количества антителообразующих клеток (АОК) путем локального гемолиза в различных модификациях. Однако значение этого признака сильно варьирует даже в однородных группах [4], что часто затрудняет статистическую обработку полученных результатов. Для выбора адекватных критериев оценки величины иммунного ответа по количеству АОК нам представлялось необходимым проверить распределение этого показателя в однородных выборках. С этой целью были выбраны 2 группы линейных животных: мыши высоко- и низкоотвечающих линий на использованный нами антиген (эритроциты барана — ЭБ). Определение количества АОК проводили двумя наиболее часто используемыми модификациями метода локального гемолиза: в геле и жидкой среде.

Методика исследований. В опытах использовали мышей линий СВА/Са и С57BL/6, самцов, 3—4-месячного возраста, полученных из питомника «Столбовая» АМН СССР.

Иммунизацию проводили внутривенно оптимальной дозой антигена ($2 \cdot 10^8$ ЭБ). Количество АОК определяли через 4 сут у каждой мыши одновременно в пластиковых чашках в агаре [7] и в стеклянных камерах в жидкой среде [6].

Суммарная выборка для каждой линии состояла из 4 серий, выполненных в разные дни, каждая серия — из 10—15 животных. Возможность объединения данных 4 се-

рий в одну выборку проверяли с помощью непараметрического H -критерия Краскела — Валлиса [3].

Первичная обработка исходных данных проводилась с помощью пакета прикладных программ статистического описания, анализа и моделирования случайных элементов, разработанного на кафедре автоматической обработки информации Новосибирского электротехнического института и реализованного на ЭВМ БЭСМ-6 [1]. При помощи критериев согласия χ^2 , ω^2 и оценок квадрата коэффициента асимметрии и неприведенного коэффициента эксцесса проверяли статистические гипотезы согласия эмпирического распределения с гипотетическим. В качестве гипотетических предлагались следующие распределения: нормальное, логнормальное, экспоненциальное, Вейбулла, Релея, χ^2 , гамма-распределение и кривые семейства Джонсона.

Для наглядного представления исходной информации были построены гистограммы, где число интервалов рассчитывалось по формуле Стерджеса (5):

$$k = 1 + 3,321 \lg N,$$

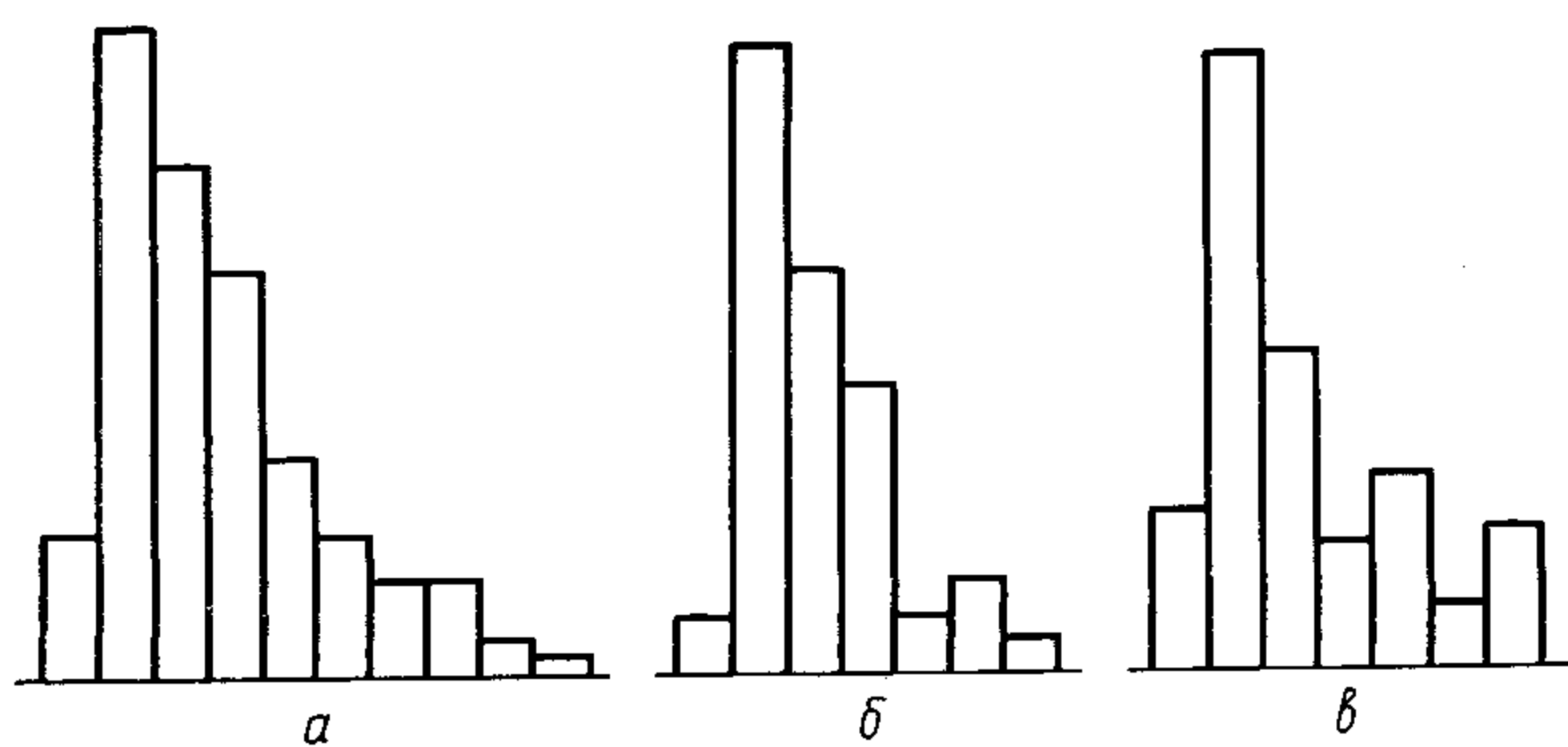
где N — объем выборки.

Непараметрическое оценивание проводили с помощью U -критерия Вилкоксона — Манна — Уитни [2].

Результаты и обсуждение. Количество АОК, определенное в агаре у мышей высокоотвечающей линии СВА, обнаруживает неоднородность в суммарной выборке ($H=33,8$), поэтому данный показатель был исключен из дальнейшей статистической обработки.

Основные параметры суммарных выборок

Признак	Среднее значение	Среднее квадратическое отклонение	Асимметрия	Эксцесс	Минимальное значение	Максимальное значение
Число АОК в жидкой среде у мышей линии СВА	61 059	35 863	1,0037	3,1601	13 802	158 807
Число АОК в агаре у мышей линии С57BL/6	9 312	5 553	1,6753	4,1498	1 400	26 150
Число АОК в жидкой среде у мышей линии С57BL/6	11 613	7 269	0,9762	2,8503	2 750	30 375



Гистограммы суммарных выборок.

a — количество АОК в жидкой среде у мышей СВА; *б* — количество АОК в агаре у мышей С57BL/6; *в* — количество АОК в жидкой среде у мышей С57BL/6.

Основные параметры для остальных выборок (количество АОК в жидкой среде у мышей высокоотвечающей линии СВА, количество АОК в агаре и жидкой среде у мышей низкоотвечающей линии С57BL/6) приведены в таблице. Гистограммы представлены на рисунке.

Данные литературы о том, что логарифмическое преобразование данных при определении количества АОК в агаре является близкой аппроксимацией к нормальному закону распределения, выполнены на материале большого количества групповых средних [8], что отличается от того, с чем фактически имеет дело исследователь (объединенная группа результатов нескольких однотипных опытов, выполненных в разные дни), что и проверялось в нашей работе. Кроме того, и в случае групповых средних параметры после логарифмического преобразования все же не строго соответствуют значениям при нормальном законе распределения, а только приближаются к ним [8].

Проведенный анализ показал, что изучаемые выборки не могут быть удовлетворительно аппроксимированы выбранными законами распределений; таким образом, для грамотной статистической обработки данных, полученных методом локального гемолиза как в агаре, так и в жидкой среде, предпочтительнее использование непараметрических методов, применение которых не требует знания закона распределения и не зависит от него [3].

Приведем примеры сравнения данных с помощью распределенного в медико-биологических исследованиях критерия *t* Стьюдента, применение которого обосновано в случае удовлетворительной аппроксимации нормальным распределением исследуемых параметров, и непараметрического критерия U Вилкоксона — Манна — Уитни.

При использовании свежей сыворотки морской свинки вместо лиофилизированной в качестве источника компонента для определения количества АОК в жидкой среде у мышей линии СВА наблюдается увеличение количества АОК: $121\ 810 \pm 13\ 690$ и $78\ 004 \pm 9\ 450$ соответственно. В этом случае увеличение фиксируется обоими критериями, но с разной достоверностью: $p < 0,05$ по критерию *t* Стьюдента и $p < 0,01$ по критерию U Вилкоксона — Манна — Уитни ($n=15$).

При определении количества АОК в агаре у мышей линии BALB/c после иммунизации одной и той же дозой антигена ($2 \cdot 10^8$ ЭБ) разными способами — внутривенно и внутрибрюшинно — получены следующие значения: $24\ 210 \pm 3440$ ($n=30$) и $15\ 070 \pm 2820$ ($n=27$) соответственно. Различия оказываются недостоверными по критерию *t* Стьюдента ($p < 0,05$) и достоверными по критерию U Вилкоксона — Манна — Уитни ($p < 0,01$).

Таким образом, при оценке данных о количестве АОК, определенных методом локального гемолиза, более оправданным можно считать применение непараметрических критериев, так как распределение признака далеко от нормального и использование параметрических критериев, разработанных для случаев нормального распределения, может не выявить существующих закономерностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Губарев В. В., Никитина Н. Т., Уварова Л. В. Комплекс программ оценивания вероятностных и надежности характеристик (COHAND): Информационные листы №№ 74—83. — Новосибирск, 1983.
2. Гублер Е. В. // Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — Л., 1978.
3. Закс Л. Статистическое оценивание. — М., 1976.
4. Зигль Э., Бем Э. // Иммунологические методы. — М., 1979. — С. 96—107.
5. Рожков В. А. // Методы вероятностного анализа океанологических процессов. — Л., 1979.
6. Cunningham A. J., Szenberg A. // Immunology. 1968. — Vol. 14, N 4. — P. 599—600.
7. Jerne N. K., Nordin A. A. // Science. — 1963. — Vol. 140, N 3565. — P. 405.

Поступила 18.01.88