

С. В. Макаров

ПАТОМЕТРИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Самарский государственный медицинский университет

S.V. Makarov

PATHOMETRIC ALGORITHM IN MULTIPLE
SCLEROSIS DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS

Р е ф е р а т. Рассмотрена значимость ряда иммунологических показателей для дифференциальной диагностики рассеянного склероза и клинически сходных заболеваний нервной системы на основе патометрического алгоритма распознавания. Обследованы 89 больных в возрасте от 17 до 52 лет с достоверным диагнозом рассеянного склероза. Группами сравнения служили 34 пациента с энцефаломиелополирадикулоневритом и 52 пациента с невоспалительными неврологическими заболеваниями. Выявленная разница в процессах аминорегуляции субпопуляции цитотоксических лимфоцитов и предшественников натуральных киллеров свидетельствует о меньшей их функциональной активности и участии в иммунопатологическом процессе при энцефаломиелополирадикулоневрите по сравнению с таковой при рассеянном склерозе. Высокие дискриминационные свойства выбранных с помощью патометрического алгоритма иммунологических показателей основаны на изменении экспрессии маркеров мембран лимфоцитов в тест-системах с моноаминами, что особенно наглядно показано между группами больных рассеянным склерозом и невоспалительными неврологическими заболеваниями. Разработаны диагностические таблицы, пригодные для практического использования в качестве дополнительного клинико-лабораторного метода дифференциальной диагностики рассеянного склероза и выявления аутоиммунного характера процесса при энцефаломиелополирадикулоневрите.

С. В. Макаров

ТАРКАУ СКЛЕРОЗНЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЕ
ДИАГНОСТИКАЛАУДА ПАТОМЕТРИК АЛГОРИТМ

Таркау склерозны һәм нерв системасының клиник охшашлы чирләрен патометрик алгоритмны билгеләү нигезендә дифференциаль диагностикалау өчен күптөрле иммунологик күрсәткечнең әһәмияте каралган. Таркау склероз диагнозы дәрәс билгеләнгән 17 яшьтән алып 52 яшькәчә булган 89 авыру тикшерелгән. Энцефаломиелополирадикулоневрит чире белән авыручы 34 пациент, ялкынсынмаган неврологик чирләр белән авыручы 52 пациент чагыштыру төркеме булып хезмәт иткән. Цитотоксик лимфоцитларның һәм натураль киллерны тудыручыларның субпопуляцияләрен аминорегуляция процессында барлыкка китерелгән аерма, таркау склерозны энцефаломиелополирадикулоневрит белән чагыштырганда, аның функциональ һәм иммунопатологик процессы катнашу активлыгы аз булуы турында сөйли. Иммунологик күрсәткечләрнең патометрик алгоритмы ярдәмдә сайлап алынган югары дискриминацион үзлекләре лимфоцитларның мембран маркерларының экспрессия үзгәрешләренә нигезләнгән. Бу исә таркау склероз һәм ялкынсыну булмаган неврологик чирләр белән авыручы төркемнәр арасында аеруча ачык күрсәтелгән. Таркау склерозны диагностикалау һәм энцефаломиелополирадикулоневрит вакытында процессының аутоиммун характерын ачыклауның өстәмә клиник-лаборатор методы сыйфатында гамәли файдаланырга яраклы диагностик таблицалар төзелгән.

A significance of some immunological indices has been studied, used for differential diagnostics of multiple sclerosis and similar nervous system diseases. They had been studied on the basis of pathometric algorithm. 89 patients aged from 17 to 52 were examined which had been diagnosed for multiple sclerosis. In groups of comparison there were 34 patients with encephalomyelo-polyradiculoneuritis and 52 patients with noninflammatory neurologic diseases. The revealed difference in aminoregulation processes in subpopulation of cytotoxic lymphocytes and natural killers predecessors evidences their smaller functional activity and smaller participation in immunological process in encephalomyelo-polyradiculoneuritis compared to that in multiple sclerosis. High discrimination properties of immunologic indices, chosen by pathometric algorithm are based on marker expression changes in lymphocyte membranes when performing test systems with monoamines. It has been most vividly shown in comparison between multiple sclerosis group and noninflammatory neurologic diseases group. Diagnostic tables have been developed, necessary for practical use as an additional clinico-laboratory method in multiple sclerosis diagnostics and in autoimmune character revealing in encephalomyelo-polyradiculoneuritis.

Клиническая диагностика рассеянного склероза (РС), особенно в начале заболевания, в ряде случаев связана с определенными сложностями. Развитие воспалительного и демиелинизирующего процессов в нервной системе при РС сопровождается иммунным дисбалансом, поэтому проблема клинко-лабораторных иммунологических исследований при нем чрезвычайно актуальна как с точки зрения изучения патогенеза заболевания, так и в плане разработки прикладного аспекта — новых приемов иммунодиагностики, прогнозирования течения иммунопатологического процесса при РС [5, 10].

Особое внимание в работе уделено аминергической регуляции отдельных субпопуляций лимфоцитов, что объясняется важной ролью моноаминергических систем в процессах нейроиммунного взаимодействия и регуляции активности отдельных иммунокомпетентных клеток (ИКК). Биогенные амины задействованы в филогенетически более древнем гуморальном механизме межклеточной интеграции.

В настоящее время известно, что у больных РС имеются селективный дефицит эндогенного серотонина и нарушение его метаболизма [3, 14]. Выявленные изменения позволили коллективу авторов разработать иммунофармакологический тест для диагностики РС [9]. При этом, как утверждают авторы, пол, возраст больных и длительность заболевания не оказывают существенного влияния на информативность теста. Помимо нарушений механизмов серотонинергической регуляции отмечен также дисбаланс катехоламинов в развитии РС [1, 10]. Исследования антител к катехоламинам в крови, в том числе у больных РС [7, 8], показывают, что изменение их уровня является маркером нарушения обмена самих эндогенных катехоламинов. Кроме гуморальных факторов, обнаружены изменения рецепторного аппарата отдельных ИКК у больных РС. Отмечено увеличение плотности бета-адренорецепторов на моноклеарных клетках крови при прогрессировании РС [15]. Предположена связь между воспалительным процессом и функциональной регуляцией бета-адренорецепторов на моноклеарных клетках крови. У больных с прогрессирующим течением РС Karaszewski J.W. и соавт. (1992, 1993) удалось установить увеличение плотности бета-адренорецепторов на Т-супрессорах. В литературе описана возможность снижения синтеза другого биогенного амина — гистамина у больных РС [11]. Эндогенный дефицит гистамина позволил авторам предложить способ лечения с использованием данного препарата для уменьшения степени неврологического дефицита. Нарушение эндогенной продукции гистамина и связывание H_2 -рецептора может быть вызвано супрессорным влиянием антителозависимой цитотоксичности на олигодендроциты при РС [13]. Отмечено, что цитотоксические лимфоциты при РС более чувствительны к стимулирующему действию гистамина, чем при других неврологических заболеваниях. Аминергическая регуляция иммунологической дисфункции при РС изучена недостаточно. Это создает предпосылки для разработки новых методологических приемов в оценке функциональных свойств ИКК при данной патологии и математических методов, определяющих их значимость в клинко-диагностическом процессе.

Цель настоящей работы: на основе патометрического алгоритма распознавания определить значимость ряда иммунологических

показателей для дифференциальной диагностики РС и клинически сходных заболеваний нервной системы.

Обследованы 89 больных (21 женщина и 68 мужчин) в возрасте от 17 до 52 лет с достоверным диагнозом РС по критериям Poser C. et al (1983). Длительность заболевания составляла от одного года до 15 лет. Степень тяжести заболевания по шкале J.Kurtzke — $3,7 \pm 1,2$ балла. У 52 пациентов наблюдалось ремиттирующее течение, у 37 — прогрессирующее (у 6 — первично и у 31 — вторично-прогрессирующее). У 34 пациентов 1-й группы сравнения синдромологически определялся энцефаломиело-полирадикулоневрит (ЭМПРН) инфекционно-аллергического или воспалительного генеза. У 52 пациентов 2-й группы сравнения, сопоставимой по возрасту и полу с группой РС, имели место по клинической симптоматике или течению заболевания другие неврологические заболевания (ДНЗ), сходные с РС в процессе своего развития. У больных этой группы не было аутоиммунных и инфекционных заболеваний нервной системы.

Для оценки иммунологического статуса, исследованного у большинства больных неоднократно, использовали сыворотку и моноклеарные клетки венозной крови, выделенные по общепринятой методике Bouum A. (1968). Субпопуляции лимфоцитов определяли иммуноферментным методом по уровню экспрессии мембранных антигенов: CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD54, CD56, CD95 с использованием моноклональных антител серии ИСО НПЦ “Биомедспектр” г.Москва. Антитела к серотонину и норадреналину изучали электрооптическим методом в условных единицах с помощью тест-антигенов (последние были любезно предоставлены сотрудниками лаборатории нейроиммунопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН Л.А.Башаровой и Л.А.Ветрилэ). Уровень антител Ig G к основному белку миелина определяли с помощью иммуноферментного анализатора и реактивов фирмы «Sigma» (США). В работе также был использован новый методический прием изменения экспрессии поверхностных маркеров различных субпопуляций лимфоцитов по способности этих клеток в тест-системе *in vitro* депонировать и/или высвобождать биогенные амины — адреналин, серотонин, гистамин [6, 4].

В основе патометрической модели и шкалы, оценивающей “степень патологичности”, лежит

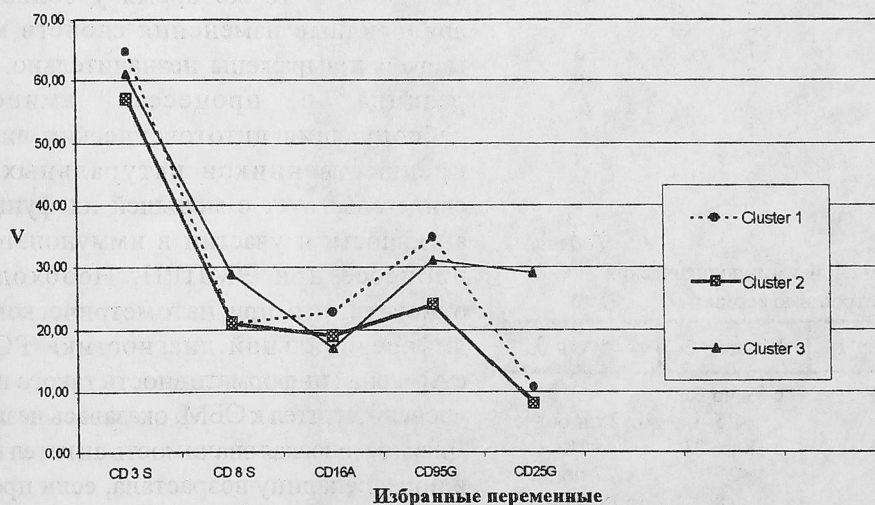
алгоритм распознавания, предложенный А. А. Генкиным и соавт. [2]. По балльной системе, называемой “патами”, измеряют степень отклонения состояния от нормы, она имеет строгую математическую вероятностную базу. Было показано, что при использовании определенной градации каждого признака в диагностической таблице на основе патометрического алгоритма распознавания (ПА), “средний” больной приближается к правильному диагностическому порогу на величину информативности $g(x_{ij})$, равную половине дивергенции по Кульбаку. Информативность градации $g(x_{ij})$ представляется в виде произведения расхождения распределений признака x_i в диапазоне j на пат этого диапазона: $g(x_{ij}) = d(x_{ij}) \cdot n(x_{ij})$. Информативность всего признака $R(x_i)$ равна сумме информативностей всех его градаций:

$$R(x_i) = \sum_j 0,5(P_2 - P_1) 5lgP_2/P_1$$

Сумму патов $\sum n(x_{ij})$, найденных у больного признаков, сравнивают с пороговыми суммами патов, выбранными в соответствии с допустимым уровнем ошибок. При достижении одного из порогов выносят решение (диагноз).

количество кластеров так, чтобы они были настолько различны, насколько это возможно. Исследования показали, что оптимальное количество кластеров (степень оптимальности определяется величиной критерия Фишера F , показывающей различия между формируемыми кластерами) для рассматриваемых иммунологических показателей, — это 2 или 3. Для конкретного иммунологического показателя в каждой изучаемой группе определяли варианты значений и соответствующие им наблюдения, затем рассчитывали частоты и их соотношения для анализируемых данных. После этого оценивали диагностические коэффициенты для включения в результирующую диагностическую таблицу.

Суммарная информативность признака иммунологических показателей колебалась от 0,12 до 2,65. В результирующую диагностическую таблицу были включены данные со значением признака выше 0,5. Ими оказались относительные показатели субпопуляций лимфоцитов с нагрузкой биогенными аминами (приставка А — с адреналином, G — с гистамином, S — с серотонином): CD3S, CD8S, CD16A, CD95G, CD25G. Эти иммунологические параметры отображены в графике средних значений найденных кластеров (см. рис.).



V — величина средних значений центроидов кластеров.

График средних значений найденных кластеров

Предварительная обработка данных показала преимущественное их несоответствие нормальному статистическому распределению, в связи с этим использовались непараметрические методы анализа. На начальном этапе статистической обработки применяли кластерный анализ, выполненный методом К средних. Данный метод позволяет образовать необходимое

По приведенной методике были проанализированы основные признаки и составлены две диагностические таблицы. Последние позволяют с высокой степенью достоверности (более 75 %) проводить дифференциальную диагностику по простому алгоритму расчета суммы диагностических коэффициентов с последующим сравнением полученного результата с пороговыми

значениями. Например, для дифференциальной диагностики РС и ДНЗ была разработана табл. 1. Для работы с ней необходимо определить отношение иммунологических показателей CD25G, CD3S и CD95G конкретного пациента к номеру кластера (табл.2). Так, у пациента Б. значение CD25G=29% и принадлежит кластеру 3 (интервал значений больше 18), поэтому из табл. 1 выбирали соответствующий коэффициент -3. Значение CD3S=69%, что соответствует кластеру 1 (показатель больше 61), для него вычислен коэффициент -3. Уровень CD95G=31% принадлежит кластеру 1 (интервал значений больше 30), для него диагностический коэффициент равен 1. Сумма полученных коэффициентов $k = (-3 - 3 + 1) = -5$. Решающее правило, вычисленное на основе ПА, для этих групп больных свидетельствует о том, что при сумме ДК меньше 5 пациент относится к группе больных РС, а при сумме ДК больше 5 — к группе с ДНЗ.

Таблица 1

Таблица для дифференциальной диагностики РС и ДНЗ

Иммунологические показатели	Номер кластера	Диагностический коэффициент
CD25G	2	5
CD25G	3	-3
CD3S	1	-3
CD3S	2	-6
CD3S	3	6
CD95G	1	1
CD95G	2	-5
CD95G	3	4

Таблица 2

Интервалы значений иммунологических параметров в кластерах

Параметры, %	Кластер 1	Кластер 2	Кластер 3
CD3S	>61	с 59 по 61	<59
CD8S	*	<25	от 25 и более
CD16A	>21	с 18 по 21	<18
CD95G	>30	<27	с 27 по 30
CD25G	*	<18	от 18 и более

* Значение не влияет на диагностическую информативность системы.

Аналогичная таблица была разработана и для дифференциальной диагностики РС и ЭМПРН (табл. 3). Если сумма ДК была меньше 3, то пациент относился к группе больных РС, если больше 3, то к группе больных ЭМПРН.

Патометрический алгоритм распознавания был апробирован на имеющейся выборке пациентов с определением качества диагностики. Соответствие

клиническому диагнозу выявлено в 77,6–85,0 % случаев, несоответствие — в 15,0–22,4 % Неопределенность диагностики не отмечена. Это свидетельствует о высоком диагностическом потенциале данных.

Таблица 3

Таблица для дифференциальной диагностики РС и ЭМПРН

Иммунологические показатели	Номер кластера	Диагностический коэффициент
CD8S	2	4
CD8S	3	-2
CD16A	1	-3
CD16A	2	3
CD16A	3	-2

Как показали наши исследования, отобранные с помощью ПА иммунологические данные в нагрузочных тестах с моноаминами далеко не случайны. Так, в тест-системе с серотонином и адреналином относительные показатели субпопуляций лимфоцитов с маркером CD 8+ и CD16+ у больных ЭМПРН меньше, чем у пациентов РС ($P < 0,05$). В сравнении с контролем при нагрузке с биогенными аминами у больных РС происходят падение экспрессии маркера CD8+ и повышение маркера CD16+ в среднем на 15–20%. В то же время у больных ЭМПРН аналогичные изменения свойств мембранных маркеров выражены незначительно. Выявленная разница в процессах аминорегуляции субпопуляции цитотоксических лимфоцитов и предшественников натуральных киллеров свидетельствует о меньшей их функциональной активности и участии в иммунопатологическом процессе при ЭМПРН. Необходимо также отметить, что при патометрическом алгоритме дифференциальной диагностики РС и ЭМПРН суммарная информативность такого признака, как уровень антител к ОБМ, оказалась незначительной. Диагностическая значимость антител к серотонину и норадреналину возрастала, если прослеживался аутоиммунный компонент в развитии ЭМПРН: волнообразный характер течения с последующими эпизодами эксацербации, регресс неврологических симптомов только на фоне иммуносупрессивной терапии. Вероятно, это связано с вовлечением в аутоиммунный процесс нейромедиаторных систем и различным характером иммунорегуляторных нарушений при РС и ЭМПРН.

При сравнении больных РС со второй контрольной группой (табл.1) в нагрузочных тестах с биогенными аминами отмечались большие значения относительных показателей лимфоцитов

с маркерами: CD 25 G ($P < 0,001$), CD 95 G, CD 3 C ($P < 0,0001$). Выраженное падение экспрессии маркера CD 3 + в тест-системе с серотонином по сравнению с контролем отмечалось лишь у больных РС. Эта информация подчеркивает важность серотонинергических механизмов регуляции популяции лимфоцитов с Т-клеточным рецептором, имеющих ведущее значение в патогенезе РС. Заслуживает внимания и различная степень гистаминергической регуляции лимфоцитов с маркерами CD 95 (активированные клетки, готовые к апоптозу), CD 25 (клетки, имеющие α -цепь рецептора ИЛ-2). Если под влиянием гистамина уровень экспрессии маркеров лимфоцитов, находящихся на разной стадии активации, у больных РС имеет тенденцию к повышению, то у больных с ДНЗ он снижается. В процессе исследования были также подтверждены данные Merrill J.E. и соавт. [13] о большей чувствительности к гистамину субпопуляции цитотоксических лимфоцитов, но суммарная информативность этого признака оказалась меньше 0,5, что исключало его для диагностики. Таким образом, патометрический алгоритм распознавания позволяет интегрально оценивать значимость иммунологических параметров и их дискриминирующие свойства, основанные прежде всего на изменении экспрессии маркеров мембран лимфоцитов в тест-системах с моноаминами. Нагрузочные тесты с биогенными аминами повышают информативность иммунодиагностических исследований при РС.

В результате проведенного исследования на основании ПА распознавания разработаны диагностические таблицы, пригодные для непосредственного использования в практическом здравоохранении в качестве дополнительного

клинико-лабораторного метода дифференциальной диагностики РС и выявления аутоиммунного характера процесса при ЭМПРН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бархатова В. П., Завалишин И.А., Хайдаров Б.Т. // Журн. неврол. и психиатр. — 1998. — № 11. — С. 51—54.
2. Гублер Е.В. Информатика в патологии, клинической медицине и педиатрии. — Л., 1990.
3. Ковысова А.Ж. Серотониновый обмен при рассеянном склерозе и ретробульбарном неврите: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук — М., 1995.
4. Лавров О.В. Прямое и опосредованное действие биогенных аминов на различные субпопуляции лимфоидных клеток: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Краснодар, 1997.
5. Ларина И.В., Жирнова И.Г., Комелькова Л.В., и др. Материалы X конференции "Нейроиммунология" — СПб., 2001.
6. Макаров С.В., Балмасова И.П. // Сборник научных трудов по материалам итоговой годичной конференции ЦНИЛ — Куйбышев, 1990. — С. 21—24. — Деп. в ВИНИМИ 01.09.90, № 20702.
7. Макаров С.В., Сирота А.И., Подковкин В.Г. Иммунобиохимические изменения нейро-медиаторного балланса у больных с демиелинизирующими заболеваниями нервной системы. / Итоги программы "Десятилетие мозга". Нейроиммунология. — Мат. конф. 24—27 апреля. — СПб., 2000. — С. 76—77.
8. Мягков М.А., Савицкая Ю.А., Трубаева Ж.Н. и др. // Журн. тер. архив. — 1998. — № 4. — С. 43—45.
9. Невоструева О.Н., Шутов А.А. Материалы к Республиканскому рабочему совещанию 23—24 февраля 1999 г. — Ступино — С. 178—179.
10. Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики. / Под ред. И.А.Завалишина, В.И.Головкина — М., 2000.
11. Gillson G., Wright J.V., DeLack E., Ballasiotes G. // Altern. Med. Rev. — 2000. — Vol.5. — P. 224—248.
12. Karaszewski J.W., Reder A.T., Anlar B. et al. // J. Neuroimmunol. — 1993. — Vol.43. — P. 1—7.
13. Merrill J.E., Mohlstrom C. // Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. — 1987. — Vol. 82. — P. 195—201.
14. Sandyk R. // Int.J.Neurosci. — 1995. — Vol.82. — P. 223—242.
15. Zoukos Y., Leonard J.P., Thomaidis T. et al. // Neurol. — 1992. — Vol. 31. — P. 657—662.

Поступила 23.10.01.