

НЕЙРОСЕТЕВАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ЛИЦ С ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ ПО ВЕЛИЧИНЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КРОВИ И АКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ЛИМФОЦИТОВ

А.А.САВЧЕНКО, Н.А.ШАКИНА, Д.А.РОССИЕВ.

Институт медицинских проблем Севера СО РАМН 660022, г.Красноярск, ул.Партизана
Железняка, д.3Г. Телефон/Факс - (3912)23-19-63

С помощью нейросетевого классификатора проведено сравнительное исследование информативности иммунологических параметров крови и активности метаболитических ферментов лимфоцитов у лиц с хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ), находящихся в состоянии ремиссии. Обнаружено, что у лиц с ХНЗЛ незначительно увеличен иммунорегуляторный индекс относительно данного показателя у здоровых людей, отсутствуют изменения со стороны гуморального иммунитета, но выявляется снижение активности оксидоредуктаз, определяющих интенсивность биоэнергетических процессов в иммунокомпетентных клетках. Предполагается, что именно нарушение метаболитического статуса лимфоцитов определяет их недостаточную функциональную активацию при антигенной стимуляции, приводящую к развитию вторичного иммунодефицитного состояния и хронизации заболевания. Выявление нейросетевым классификатором на основе анализа активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов двух групп в общей выборке обследуемых лиц с ХНЗЛ, различающихся по уровню внутриклеточного обмена веществ и типу иммунного ответа, и полное обучение нейросети на данных иммунологического статуса определяет сравнительно более высокую информативность метаболитических показателей иммунокомпетентных клеток в диагностике иммунодефицитных состояний.

Ключевые слова: лимфоциты, метаболизм, активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ, нейросетевой классификатор.

ВВЕДЕНИЕ. Основными причинами хронизации неспецифических заболеваний легких, частых рецидивов и резистентности к терапии являются нарушения в системе иммунореактивности с формированием вторичного иммунодефицита [1,2]. Оценка реактивности иммунной системы рутинными методами не дает однозначного ответа о выраженности иммунодефицита, что приводит к не всегда корректному назначению иммуностимулирующих средств [1,2,3]. В последние годы появилось другое направление, позволяющее оценить состояние иммунореактивности - исследование метаболитических параметров лимфоцитов [4,5]. Можно считать доказанным, что функциональные проявления лимфоцитов происходят только при соответствующем изменении их метаболизма [2,4,6]. Кроме того, дополнительную информацию об исследуемой системе можно получить, применяя интегративный подход к анализу данных. С этой точки зрения перспективным является использование самообучающихся нейронных сетей, позволяющих осуществить комплексную оценку всего многообразия уровней изучаемых показателей и их взаимосвязей, выявить скрытые неоднородности в распределении структурных параметров системы [7,8].

Целью исследования было сравнительное изучение информативности иммунологических параметров крови и активности метаболических ферментов лимфоцитов у лиц с хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ) с помощью нейросетевого классификатора.

В качестве метаболических ферментов лимфоцитов использованы НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы, которые, участвуя в направленной координации субстратных потоков, обуславливают изменения активности энергетических и пластических процессов во внутриклеточном метаболизме [4,9,10,11].

МЕТОДИКА. Обследовано 45 человек (20 женщин и 25 мужчин) в возрасте 23-45 лет с ХНЗЛ в стадии ремиссии. Данную группу обследуемых составили 86% больных с хроническими бронхитами и 14% больных с хронической пневмонией средней степени тяжести. Клинический диагноз ставился на основе патогномоничных признаков заболевания. Для верификации диагноза проводили обзорную рентгенографию органов грудной клетки. В качестве контроля обследовано 74 практически здоровых индивида (34 женщины и 40 мужчин).

Общую фракцию лимфоцитов из венозной крови выделяли по общепринятому методу в градиенте плотности фиколл-верографина последующей очисткой от сопутствующих клеток. Идентификацию Т-лимфоцитов проводили методом розеткообразования с эритроцитами барана (тЕ-РОК) [12]. Число хелперов и супрессоров оценивали с помощью теофиллинового теста (соответственно ТФР Е-РОК и ТФЧ Е-РОК) [13]. Содержание иммуноглобулинов определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле.

Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г-3-ФДР), прямой и обратной реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и обр.ЛДГ соответственно, прямой и обратной реакции малатдегидрогеназы (МДГ и обр.МДГ соответственно), малакфермента (НАДФ-МДГ) и НАД-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАД-ГДГ) осуществляли биолюминесцентным методом [14]. Активность оксидоредуктаз выражали в ферментативных единицах (1 Е=1 мкмоль/мин [9]) на 10^4 клеток.

Нейросетевой классификатор - это компьютерная программа (фирма "Нейромед", г.Красноярск), способная к самообучению и принятию на основе него необходимых решений [7,8]. Для этого используется обучающая выборка, состоящая из отдельных примеров, каждый из которых представляет собой набор исследуемых параметров. В нашем случае обучающая выборка была разбита на 2 класса: 1 класс - исследуемые показатели здоровых людей, 2 класс - лиц с ХНЗЛ. Задачей классификатора являлось научиться правильно идентифицировать класс, к которому относится пример, а также при полном обучении вычислить информативность входных параметров. В работе использована возможность классификатора выделять из обучающей выборки примеры, не вписывающиеся по своим параметрам в заданную классификационную модель, что позволяет создавать уточненный вариант классификационных выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у здоровых людей и лиц с ХНЗЛ (общая группа) представлены в табл. 1. Известно, что в стадии ремиссии воспалительных заболеваний большинство показателей иммунограммы укладывается в диапазон нормы [1]. Действительно, у больных ХНЗЛ, находящихся в состоянии ремиссии, выявляется только тенденция к снижению абсолютного количества ТФЧ Е-РОК, и соответственно, увеличение иммунорегуляторного индекса, но при отсутствии изменений концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови.

При исследовании информативности иммунологических показателей обнаружено, что по исследуемым параметрам иммунной системы на основе классификационной

Таблица 1. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у здоровых людей и в группах лиц с ХНЗЛ, разделенных нейросетевым классификатором ($X \pm \sigma$)

Показатели	Здоровые	ХНЗЛ		
	N=74 1	Общая N=45 2	Оставшиеся N=23 3	Исключенные N=22 4
Лейкоциты, ($10^9/\text{л}$)	6,64±0,29	7,04±0,38	6,02±0,38	7,52±1,41
Лимфоциты, (%)	38,6±1,3	37,2±1,8-1	38,5±2,7	34,4±1,9
($10^9/\text{л}$)	2,30±0,11	2,63±0,18	2,67±0,26	2,45±0,24
тЕ-РОК, (%)	60,2±1,8	55,4±2,5	53,0±3,8 0,1>P ₁ >0,05	59,8±3,0
($10^9/\text{л}$)	1,38±0,08	1,39±0,11	1,30±0,14	1,40±0,08
ТФР Е-РОК, (%)	38,7±1,9	36,9±2,6	32,9±3,1	42,8±3,3 P ₃ <0,05
($10^9/\text{л}$)	0,83 ± 0,06	0,85±0,09	0,78±0,10	0,84±0,0,П
ТФЧ Е-РОК, (%)	32,6±2,5	30,3±4,4	41,9±6,6	14,7±2,0 P _{1,3} <0,001
($10^9/\text{л}$)	0,77±0,07	0,56±0,09 0,1>P ₁ >0,05	0,95±0,12	0,27±0,0Б P _{1,3} <0,001 1, и
ТФР/ТФЧ Е-РОК	1,56±0,14	2,20±0,44 0,1>P ₁ >0,05 ^	2,71±0,21 P ₁ <0,05	2,18±0,34 P _{1,3} <0,001 1, и
Iq A, (Г/Л)	2,35±0,12	2,60±0,21	2,71±0,21	2,18±0,34
Iq M, (Г/Л)	1,14±0,07	1,16±0,П	1,01±0,07	0,79±0,09 P ₁ <0,05
Iq G, (Г/Л)	12,18±0,65	12,50±0,86	8,49±0,55 P ₁ <0,01	0,1>P ₃ >0,05 12,45±0,9Б P ₃ <0,001

Примечание: P₁ - достоверные различия с группой здоровых людей; P₃ - с группой оставшихся лиц с ХНЗЛ.

модели "Здоровые-ХНЗЛ" нейросеть обучилась со 100 % уверенностью по всем обследуемым обеим группам. Наиболее информативными показателями являются абсолютное содержание ТФЧ Е-РОК, относительное количество тЕ-РОК, иммунорегуляторный индекс ТФЧ/ТФР Е-РОК и концентрация ТФР Е-РОК (рис. 1). При исследовании активности НАД(Ф) -зависимых дегидрогеназ обнаружено, что у больных ХНЗЛ (общая группа) снижена активность таких, лимфоцитарных ферментов как НАД-ГДГ, обр.МДГ и обр.ЛДГ (табл.2). Проявляется тенденция к статистически достоверному понижению уровня ЛДГ, но при увеличении активности Г-3-ФДГ.

Применение нейросетевого классификатора для оценки информативности метаболических ферментов лимфоцитов в модели "Здоровые-ХНЗЛ" позволило обнаружить неоднородность в распределении уровней активности НАД(Ф) -зависимых дегидрогеназ у лиц с ХНЗЛ. В процессе обучения нейросеть использовала все примеры из группы здоровых людей, но из группы лиц с ХНЗЛ были исключены 22 человека



Рисунок 1.

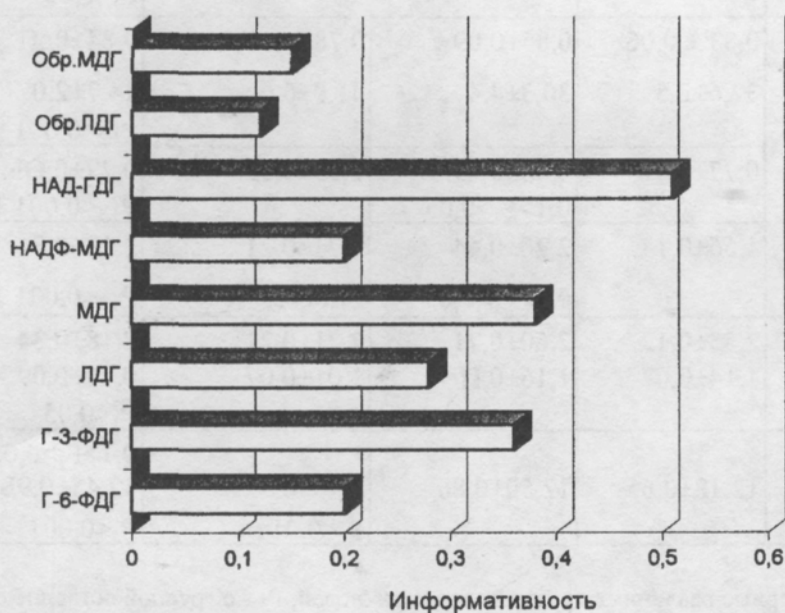


Рисунок 2

как не вписывающиеся в заданную классификационную модель.

Оставшиеся 23 индивидуума (оставшиеся) были использованы нейросетевым классификатором для обучения. Значимость метаболических ферментов в лимфоцитах в нейросетевой модели "Здоровые-ХНЗЛ" представлены на рисунке 2. Наиболее информативными показателями являются НАД-ГДГ, Г-3-ФДГ, МДГ и ЛДГ, то есть нейросеть классифицирует выборку на здоровых и больных ХНЗЛ прежде всего по ферментам с преимущественно энергетической направленностью.

Уровни активности метаболических ферментов лимфоцитов в группах лиц с ХНЗЛ, сформированных нейросетевым классификатором, отличаются своей специфичностью (табл. 2). Так, в группе оставшихся выявляется статистически достоверное снижение активности Г-6-ФДГ лимфоцитов при увеличении уровня НАДФ-МДГ. Кроме того, в этой группе уровни ЛДГ и обр.ЛДГ соответствуют уровням здоровых людей, в то время как в общей группе больных ХНЗЛ активность данных ферментов снижена. В группе лиц, исключенных нейросетевым классификатором, обнаружено

снижение активности всех исследуемых внутриклеточных ферментов за исключением Г-6-ФДГ.

Таблица 2. Активность НАД (Ф)-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) в лимфоцитах здоровых людей и в группах лиц с ХНЗЛ, разделенных нейросетевым классификатором ($\bar{x} \pm t$)

Показатели	Здоровые	ХНЗЛ		
	N=74 1	Общая N=45 2	Оставшиеся N=23 3	Исключенные N=22 4
Г-6-ФДГ	8,03±0,79	6,28±1,13	0,63±0,16 $P_1 < 0,001$	7,52±1,41 $P_3 < 0,001$
Г-3-ФДГ	0,47±0,07	0,90±0,19 $P_1 < 0,05$	1,14±0,30 $P_1 < 0,01$	0,13±0,05 $P_1 < 0,05$ $P_3 < 0,01$
ЛДГ	40,92±3,89	28,76±4,89 $0,1 > P_1 > 0,05$	36,СМ±9,60	14,52±2,12 $P_1 < 0,001$ $P_3 < 0,05$
МДГ	110,86±12,2	96,44±0,48	144,2±38,3	15,73 ± 1,78 $P_{1,3} < 0,001$
НАДФ-МДГ	4,56±0,57	6,14±1,07	7,12±1,49 $0,1 > P_1 > 0,05$	1,89±0,60 $P_1 < 0,05$ $P_3 < 0,01$
НАД-ГДГ	6,63±0,83	2,48±0,43 $P_1 < 0,001$	2,01±0,49 $P_1 < 0,01$	2,52±0,64 $P_1 < 0,01$
Обр.ЛДГ	63,76±8,22	27,94 ± 7,73 $P_1 < 0,05$	51,43±17,76	0,01±0,002 $P_1 < 0,001$ $P_3 < 0,01$
Обр.МДГ	252,29±30,5	76,42 ± 13,4 $P_1 < 0,001$	123,1. ± 26,1 $P_1 < 0,05$	41,43±9,41 $P_1 < 0,001$ $P_3 < 0,01$

Обозначения те же, что и для табл. 1.

Метаболизм иммунокомпетентных клеток в группе оставшихся лиц с ХНЗЛ характеризуется сбалансированностью аэробного и анаэробного дыхания (впрочем, также как и в общей группе). Однако при относительной нормализации энергетических процессов иммунокомпетентных клеток выявляется снижение реакций, обеспечивающих субстратами цикл Кребса, а также уровней ключевых реакций малатаспартатного шунта и пентозофосфатного пути. При этом известно, что без активации ферментов пентозофосфатного пути скорость реакции бласттрансформации снижается [4]. К тому же, некоторое увеличение уровня НАДФ-МДГ не может компенсировать недостаточность пентозофосфатного пути, так как не образуется рибозо-5-фосфат, необходимый для синтеза нуклеотидных коферментов, полинуклеотидов, нуклеозидов [9]. В то же время, в группе исключенных при снижении практически всех исследуемых ферментов

выявляется активация Г-6-ФДГ, что позволяет предположить относительное увеличение уровня пластических процессов в иммунокомпетентных клетках, но при пониженном уровне их энергетических процессов.

В сформированных нейросетевым классификатором группах было также исследовано состояние клеточного и гуморального иммунитета (табл. 1). Обнаружено, что иммунная система оставшихся лиц с ХНЗЛ характеризуется снижением отдельных показателей клеточного и гуморального иммунитета. У исключенных за счет значительного снижения содержания ТФЧ Е-РОК выявляется увеличение иммунорегуляторного индекса ТФР/ТФЧ Е-РОК, что говорит об активации Т-клеточного иммунитета.

Таким образом, в состоянии ремиссии у лиц с ХНЗЛ обнаружено незначительное увеличение иммунорегуляторного индекса относительно соответствующего показателя здоровых людей, но при отсутствии изменений со стороны гуморального звена иммунной системы. Исследование активности внутриклеточных ферментов позволило обнаружить снижение активности оксидоредуктаз, в значительной степени определяющих биоэнергетические возможности иммунокомпетентных клеток. По-видимому, именно подобное состояние метаболизма лимфоцитов и определяет их недостаточную функциональную активацию при антигенной стимуляции, что, в свою очередь, приводит к развитию вторичного иммунодефицитного состояния и хронизации заболевания. Нейросетевой классификатор на основе показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов разделил общую выборку лиц с ХНЗЛ, находящихся в состоянии ремиссии, на две группы, различающиеся по уровню обмена веществ в лимфоцитах и по типу иммунного ответа: в группе оставшихся при относительно высоком уровне энергетических процессов снижены реакции, обеспечивающие клетку субстратами для макромолекулярных синтезов, а у исключенных лиц при общем снижении практически всех исследуемых ферментов увеличен уровень Г-6-ФДГ, что позволяет предположить усиление пластических процессов. Можно предположить что, следствием состояния метаболических процессов иммунокомпетентных клеток в сформированных нейросетью группах явилось состояние Т-клеточного иммунитета: у оставшихся - снижение; у исключенных - активация. Выявление двух групп в общей выборке обследуемых лиц с ХНЗЛ на основе анализа активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов и полное обучение нейросетевого классификатора на данных иммунологического статуса определяет сравнительно более высокую информативность метаболических показателей иммунокомпетентных клеток в диагностике иммунодефицитных состояний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Покровский В. М. (1992) Тер. архив. №11, 3-7.
2. Хаитов Р. М., Земсков А. М., Земсков В. М. (1996) Иммунология. № 3, 7-10.
3. Земсков А. М., Земсков В. М. (1994) Клиническая диагностика. № 3, 34-35.
4. Робинсон М. В., Топоркова Л. Б., Труфакин В. А. (1986) Морфология и метаболизм лимфоцитов. -Новосибирск
5. Keast D., Newsholme E. A. (1991) Int. J. Biochem. 23, 823-827
6. Rohde T., Ullum H., Paimo J. et al. (1994). Clin. Sci. 87 (Suppl), 18.
7. Гилев Г. Е., Горбань А. Н., Миркес Е. М. (1991). Докл. АН СССР, 320, 220-223.
8. Горбань А. Н. (1990) Обучение нейронных сетей. М.
9. Строев Е. А. (1986). Биологическая химия. М.

10. Kletzien R.F., Harris P.K.W., Foellmi L.A (1994) *FASEB J.* 8, M.2. 174-182.
11. Zimmerle G.T., Alter G.M. (1993) *Biochemistry* 32, 12743-12749.
12. Jordal M., Holm G., Wigzell M. (1972) *J. Exp.Med.* 136. 207-213.
13. Limatibul S., Shone A., Dosch H. et al. (1978) *Clin.Exp.Immunol.* 3. 503-513
14. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. (1989) *Лаб. Дело*, № 11, 23-25.

NEURAL -NETWORK CLASSIFICATION OF PATIENTS WITH CHRONIC NON-SPECIFIC LUNG DISEASES USING IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD AND ACTIVITIES OF LYMPHOCYTE METABOLIC ENZYMES

A. A. SAVCHENKO, N. A. SHAKINA, D. A. ROSSIEV

Institute of Northern Medical Problems, Siberian Branch of the Russian
Academy of Medical Sciences

Partizan Zheleznyak street, 30, Krasnoyarsk, 6600022, Russia Tel./Fax (3912)23-19-63

Informatic importance of blood immunological parameters and activities of lymphocyte metabolic enzymes was investigated in patients with chronic non-specific lung diseases (CNLD) in remission by neural-network classifier. There insignificant increase of immunoregulatory index, absence of variations in indices of humoral immunity, but decrease oxidoreductase activities controlling of bioenergetic processes were detected in immunocompetent cells of patients with CNLD. It was assumed that disturbance of the metabolic state of lymphocytes defined weak functional activation of immunocompetent cells, as well as the development of immunodeficiency and chronicity of diseases. Basing on analysis of lymphocytic NAD(P)-dependent dehydrogenases, neural-network classifier divided all patients with CNLD into two groups distinguishing by the level of intracellular metabolism and the type of immune reactions. This result and complete training on the basis of immunological parameters reflect higher informatic importance of metabolic indices of lymphocytes in diagnosis of immunodeficiency.

Key words: lymphocytes, metabolism, activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases, neural-network classifier