

О.В.Хмара
О.О.Дядик
Н.Ф.Ярова
Ю.Є.Лях
В.Г.Гур'янов

Донецький національний
медичний університет
імені М.Горького, До-
нецьк

Ключові слова: матема-
тичне моделювання, іму-
ногістохімічне досліджен-
ня, мезангіокапілярний
гломерулонефрит І типу,
дифузний вовчаковий
гломерулонефрит.

Надійшла: 18.09.2013
Прийнята: 22.10.2013

УДК: 616.611-002-006.3-002.524:51-7

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ МАТЕМАТИЧНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ПРИ ВИРІШЕННІ ПРОБЛЕМИ МОРФОЛОГІЧНОЇ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ МЕЗАНГІОКАПІЛЯРНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ І ТИПУ ТА ДИФУЗНОГО ВОВЧАКОВОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ

Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи «Вивчити можливості прогнозування перебігу та ефективності різних режимів патогенетичної та симптоматичної терапії у хворих із нефропатіями різного генезу на тлі поглибленої структурно-функціональної оцінки нирок, серцево-судинної системи та нейрогуморальних механізмів їх регуляції» (номер державної реєстрації 0709U008723).

Реферат. Мета – проаналізувати та узагальнити дані про прижиттєві дослідження біопсій нирок у пацієнтів з вовчаковим дифузним гломерулонефритом і мезангіокапілярним гломерулонефритом І типу і виявлення найбільш важливих морфологічних ознак з допомогою систематичного патоморфологічного дослідження та статистичних методів. Було виявлено ряд морфологічних даних, які відіграють найбільш важливу роль у складних випадках диференціальної діагностики між мезангіокапілярним типом І і дифузним вовчаковим гломерулонефритом, такі як: відкладення ІgМ в стромі, субепітеліальна та субендотеліальна депозиція фракцій комплементу С3, відкладення комплементу С3 всередині циліндрів, відкладення комплементу фракцій С1q в тубулярній базальній мембрані у фокусі склерозу. Імуногістохімічний аналіз з методом нейромережевого математичного моделювання дозволив виявити найбільш важливі свідчення фактором для диференціальної діагностики гломерулонефриту.

Morphologia. – 2013. – Т. VII, № 3. – С. 108-111.

© О.В.Хмара, О.О.Дядик, Н.Ф.Ярова, Ю.Є.Лях, В.Г.Гур'янов, 2013

✉ khmara_e_v@mail.ru

Khmara O.V., Dyadyk O.O., Yarova N.F., Lyakh Y.E., Guryanov V.G. Mathematical modeling in morphological differential diagnosis between mesangiocapillary glomerulonephritis type I and diffuse lupus glomerulonephritis.

ABSTRACT. Background. Diffuse lupus and mesangiocapillary glomerulonephritises have similar morphological appearance which causes difficulties of their differential diagnostics. **Objective.** To analyze and generalize the data about intravital investigation of renal biopsies of patients with diffuse lupus glomerulonephritis and mesangiocapillary glomerulonephritis type I and identification of their most important morphological features with the help of systematic patomorphological study and statistical methods. **Methods.** 39 renal biopsies of patients with diffuse lupus glomerulonephritis and 43 of biopsies of patients with mesangiocapillary glomerulonephritis were studied. Polyclonal antibodies to IgA, IgG, IgM, complement fraction C1q, C3, monoclonal antibodies to CD68, CD3, CD20, CD45, α -SMA, vimentin, desmin and polyclonal antibodies to cytokeratin (AE1/AE3 та CK18) were used. Analysis of biopsies stained with histochemical methods was conducted with the help of development of neuronetwork models. **Results.** It was revealed a number of morphological findings that play the most important role in the cases of complicated differential diagnosis between mesangiocapillary type I and diffuse lupus glomerulonephritises, such as the following: deposition of IgM in stroma, subepithelial and subendothelial deposition of complement C3 fraction, deposition of complement C3 within cylinders, deposition of complement C1q fractions inside the tubular basal membrane at the focuses with sclerosis. **Conclusion.** Immunohistochemical analysis with the method of neuronetwork mathematical modeling helped to reveal the most important factor evidences for differential diagnostics of glomerulonephritis.

Keywords: mathematical modeling, immunohistochemical method of staining, mesangiocapillary glomerulonephritis type I, diffuse lupus glomerulonephritis.

Citation:

Khmara OV, Dyadyk OO, Yarova NF, Lyakh YE, Guryanov VG. [Mathematical modeling in morphological differential diagnosis between mesangiocapillary glomerulonephritis type I and diffuse lupus glomerulonephritis]. *Morphologia*. 2013; 7(3):108-11. Ukrainian.

Вступ

Серед різноманітних ниркових захворювань, з якими в сучасній нефрології зустрічаються лікарі, особливе місце посідають гломерулонефрити, в зв'язку тяжкістю їх перебігу, складністю в лікуванні та неоднозначністю прогнозу. Дослідження останніх років доводять неоднорідність морфологічних змін в нирковій тканині при однакових клінічних проявах гломерулонефритів, а також участь різноманітних імунних та не імунних процесів в його патогенезі. [1; 2]. Дуже часто лише залучення комплексного морфологічного дослідження, яке включає імуногістохімічні методи, дозволяє правильно верифікувати діагноз, а значить веде до правильного вибору складних патогенетичних схем лікування.

Гломерулонефрит (ГН) розглядають, як поліетіологічне захворювання нирок, для якого характерно імунне запалення клубочкових структур із можливим подальшим втягуванням в патологічний процес будь якого компоненту ниркової тканини [1; 3; 4].

Прижиттєве морфологічне дослідження нирок сьогодні розглядають, як важливий компонент діагностики та прогнозу ГН, а також вибору оптимальних лікувальних режимів та являється «золотим» стандартом у нефрології [1; 3; 4; 5]. Завдяки методу черезшкірної біопсії нирок можливо прослідкувати різні етапи розвитку ГН, його еволюцію, визначити найбільш характерні морфологічні зміни в гломерулах, в канальцях та стромі при різноманітних клінічних проявах захворювання.

В нашій роботі ми вивчали такі тяжкі ураження нирок як мезангіокапілярний (мембранопроліферативний) гломерулонефрит (МКГН) I типу та дифузний вовчаковий гломерулонефрити (ДВГН). МКГН I типу має досить східну світло-мікроскопічну картину із початковими проявами ДВГН. Диференційна діагностика між ними є дуже складною задачею, особливо на початку захворювання у хворих на системний червоний вовчак (СЧВ), зважаючи на імунокомплексні ураження при цих хворобах. Це віддзеркалює необхідність ретельного комплексного дослідження ниркових біоптатів із залученням різноманітних методів, задля встановлення коректного морфологічного діагнозу.

МКГН присвячено чи не найбільше робіт ніж іншим різновидностям ГН, так як він є одним із найскладніших за пато- та морфогенезом, перебігом та прогнозом. Діагностика даної форми ГН надзвичайно складна, та базується на характерних морфологічних, імуногістохімічних та електронно-мікроскопічних змінах. Особливості морфологічної картини ниркових біоптатів дозволяють вперше запідозрити вторинний характер ураження нирок, що є дуже важливим для клінічної практики та патогенетичної терапії цих хворих [1; 3; 5].

СЧВ належить до найбільш тяжких системних захворювань сполучної тканини, а ураження нирок при ньому залишається найбільш частим вісцеритом та впливає на перебіг й прогноз захворювання. При поглибленому вивченні ниркової тканини практично у всіх випадках СЧВ виявляють патологічні зміни в ниркових структурах – ВГН. ВГН часто визначає особливості перебігу, характер патогенетичної терапії та прогноз СЧВ. ВГН характеризується різноманітністю морфологічних форм, що пов'язують із індивідуальними особливостями ефекторних механізмів та їх різних комбінацій, що призводять до пошкодження різних структур нирки. На сьогодні ДВГН – IV клас за класифікацією експертів Інтернаціональної Асоціації Нефрологів та Морфологів (2004 р.) – є однією із самих частих морфологічних форм хвороби. [5].

МКГН I типу має досить східну світло-мікроскопічну картину із ДВГН. Диференційна діагностика між ними є дуже складною задачею, особливо на початку захворювання у хворих на СЧВ, зважаючи на імунокомплексні ураження при цих хворобах. Це віддзеркалює необхідність ретельного комплексного дослідження ниркових біоптатів із залученням різноманітних сучасних методів, задля встановлення коректного морфологічного діагнозу.

Метою роботи був аналіз даних дослідження ниркових біоптатів та визначення найвагоміших інформативних морфологічних особливостей у хворих на ДВГН та МКГН I типу за допомогою комплексного патоморфологічного дослідження ниркових біоптатів із залученням статистичних методів.

Матеріали та методи

Нами було проаналізовано 39 ниркових біоптатів хворих на ДВГН та 43 біоптати хворих на МКГН I типу. Серед хворих на ДВГН було 32 (82,1±6,1%) жінки та 7 (17,9±6,1%) чоловіків, в групі хворих на МКГН I типу було 27 (62,8±7,4%) жінок та 16 (27,2±7,4%) чоловіків. Середній вік хворих з ДВГН склав 33±0,2 роки, хворих на МКГН I типу 37,8±2,2 роки. Гістологічні зрізи завтовшки 3-4 мікрони забарвлювалися гематоксиліном та еозином, ставилася PAS-реакція, проводилася імпрегнація зрізів сріблом за Джонсом-Моурі та за методом РТАН. Імуногістохімічне дослідження (ІГХД) проводилось за допомогою поліклональних антитіл до IgA, IgG, IgM, фракцій комплементу C1q, C3, фенотип клітинних інфільтратів вивчалися за допомогою моноклональних антитіл до CD68, CD3, CD20, CD45, стан екстрацелюлярного матриксу, ступень та розповсюдженість інтерстиційного фіброзу вивчали за допомогою моноклональних антитіл до альфа-гладком'язового актину, виментіну, десміну, у 22 спостереженнях вивчено стан епітелію канальців за допомогою поліклональних антитіл до цитокератинів (AE1/AE3 та CK18).

Для виявлення та аналізу факторних ознак, які в найбільшій мірі визначають результат диференційної діагностики використані методи побудови багатофакторних математичних моделей [6]. Якість побудованих моделей оцінювалася за їх чутливістю та специфічністю з відповідним 95% вірогідним інтервалом (95% ВІ). Оптимізація моделей проводилася з використанням методів побудови кривих операційних характеристик (Receiver Operating Characteristic – ROC) [6]. Для оцінки адекватності моделі використано метод оцінки площі під ROC-кривою моделі (Area under the curve – AUC), модель неадекватна, якщо $AUC \leq 0,5$ [6]. Для оцінки ступеню впливу розраховувався показник парціальної кореляції (r_{partial}).

Результати та їх обговорення

У всіх випадках поряд із гістологічним, гістохімічним було проведено ІГХД із виявленням імуноглобулінів, фракцій комплементу С3, С1q задля встановлення особливостей та характеру депозитів в різних ниркових структурах. При дослідженні біоптатів хворих на ДВГН та МКГН І тип нами було відокремлено ураження гломерулярного апарату та зміни у тубулоінтерстиційних структурах у вигляді тубулоінтерстиційного компонента (ТІК). Слід зазначити, що у всіх проаналізованих спостереженнях мав місце різного ступеня виразності (від слабо-

го до виразного) ТІК.

Аналізуючи дані ІГХД для виявлення значущих показників диференційної діагностики між МКГН І типу та ДВГН був використаний метод побудови неймережових моделей. В якості факторних ознак спочатку були проаналізовані 78 факторних ознак, які віддзеркалювали дані ІГХД.

Надалі для відбору найбільш значимих ознак, методом покрокового виключення був проведений відбір значимих ознак. В результаті отримали 6 факторних ознак до яких належать: депозиція ІgМ в стромі, субепітеліальна та субендотеліальна депозиція комплементу С3, депозиція фракцій комплементу С3 в циліндрах, депозиція С1q в тубулярній базальній мембрані, С1q в вогнищах склерозу.

Побудована на виділеному наборі шести ознак модель адекватна (значення F-критерію = 19,5, $p < 0,0$). Чутливість моделі при оптимальному порозі прийняття/не прийняття становила 100% (95% ВІ 87,2% – 100%), специфічність – 100% (95% ВІ 76,8% – 100%). Площа під ROC-кривою моделі $AUC=1,00$ (95% ВІ 0,91–1,00), статистично значимо ($p < 0,001$) відрізняється від 0,5.

В таблиці 1 наведені значення коефіцієнтів моделі класифікації.

Таблиця 1

Значення коефіцієнтів 6-факторної моделі класифікації

Факторна ознака	Коефіцієнт моделі	Стандартна помилка коефіцієнта	Значення парціального коефіцієнта кореляції, r_{partial}	Рівень значимості відмінності коефіцієнта моделі від 0
(Constant)	1,082			
Депозиція ІgМ в стромі	-0,115	0,059	-0,316	0,061
Субепітеліальна депозиція комплементу С3	0,190	0,091	0,339	0,043*
Субендотеліальна депозиція комплементу С3	0,313	0,097	0,483	0,003*
Депозиція фракцій комплементу С3 в циліндрах	-0,633	0,088	-0,777	<0,001*
Депозиція С1q в тубулярній базальній мембрані	0,149	0,135	0,186	0,279
С1q в вогнищах склерозу	-0,432	0,193	-0,359	0,032*

Із аналізу коефіцієнтів моделі видно, що відмінності МКГН І типу від ДВГН в найбільшій мірі пов'язано з 6-ти імуногістохімічними показниками. При цьому, при збільшенні значень показників субепітеліальної депозиції комплементу С3, субендотеліальної депозиції комплементу С3 вірогідність МКГН збільшується ($r_{\text{partial}}=0,339$, $p=0,043$ і $r_{\text{partial}}=0,483$, $p=0,003$, відповідно). Вірогідність МКГН також підвищується при зниженні депозиції фракцій комплементу С3 в циліндрах, С1q в вогнищах склерозу ($r_{\text{partial}}= -0,777$, $p < 0,001$ і $r_{\text{partial}}= -0,359$, $p=0,032$, відповідно).

Підсумок

Таким чином, проведений аналіз із залученням математичного моделювання свідчить про те, що при диференційній діагностиці між МКГН І типу та ДВГН, виявленні факторні ознаки, які мають найбільше значення – це депозиція ІgМ в стромі, субепітеліальна, субендотеліальна депозиція фракцій комплементу С3, депозиція фракцій комплементу С3 в циліндрах, депозиція фракції комплементу С1q в тубулярній базальній мембрані, вогнищах склерозу, що в випадках складної діагностики треба використовувати в

практичній роботі морфолога.

Перспективи подальших розробок

При вивченні даної проблеми перспективним є подальше комплексне морфологічне дослідження ниркових біоптатів, яке направлене на відокремлення інформативних імуногістохімічних параметрів, щодо удосконалення та поліп-

шення диференційної морфологічної діагностики у випадках МКГН I типу та дифузному ВГН. У подальшому перспективним є й встановлення та відокремлення клініко-імуногістохімічних співвідношень, які можливо б було використовувати у якості показників прогресування МКГН I типу та ДВГН та оцінки патогенетичної терапії.

Літературні джерела References

1. Нефрология : [руководство для врачей] / под ред. И. Е. Тареева. – Москва, 2000. – С. 228-231.

Tareyeva IYe, editor. Nefrologiya [Nephrology]: guideline for medical practitioners. 2nd ed, rev. and enl. Moscow: Meditsina; 2000. p. 228-31. Russian.

2. Дядык А. И. Поражение органов и систем при СКВ / А. И. Дядык, А. Э. Багрий // Системная красная волчанка : [А. И. Дядык, Н. А. Колесник, И. В. Василенко и др.]. - Ч. 6 : Почки. – Донецк : КП «Регион», 2003. - С. 210-268.

Diadyk AI. [Systemic and organ lesions in SLE]. Pt 6: [Kidneys]. Donetsk, Ukraine: KP Region; 2003. p.210-68. Russian. ([Diadyk AI, Kolesnyk NA, Vasilenko IV, et al. [Systemic lupus erythematosus]).

3. Striker G. The renal biopsy: major problem in pathology / G. Striker, L. J. Striker, V. D'Agati. – [3-d ed.]. – Philadelphia, London : W.B. Saunders, 1997. – 306 p.

Striker G, Striker LJ, D'Agati VD. The Renal Biopsy. 3rd ed. Philadelphia, London: WB Saunders; 1997. 306 p. [Major Problems in Pathology; vol. 8]

4. Walker P. D. Renal biopsy / P. D. Walker // Arch. Pathol. Lab. Med. - 2009. - Vol. 133. - P. 181-188.

Walker PD. The renal biopsy. Arch Pathol Lab Med. 2009 Feb;133(2):181-8. doi: 10.1043/1543-2165-133.2.181. Cited in: PubMed; PMID: 19195962.

5. Можливості застосування сучасних методів морфологічної діагностики прижиттєвого дослідження нирок хворих на різні форми гломерулонефриту / О. О. Дядик, І. В. Василенко, Т. В. Шатохіна [та ін.] // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2009. – Т. 1, № 10. - С.45-48.

Dyadyk OO, Vasilenko IV, Shatokhina TV, Ivanova MD, Khmara OV. [Possibilities of using modern methods of morphological diagnostics of vital research of kidneys of patients with various forms of glomerulonephritis]. Achievements of Clinical and Experimental Medicine. 2009; (1): 45-8. Ukrainian.

6. Лях Ю. Е. Математическое моделирование при решении задач классификации в биомедицине / Ю. Е. Лях, В. Г. Гурьянов // Український журнал телемедицини та медичної телематики. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 69-76.

Liakh YuYe, Guryanov VG. [Mathematical modeling for solving classification problems in biomedicine]. Ukr z telemed med telemat [Ukrainian Journal of Telemedicine and Medical Telematics]. 2012; 10 (2): 69-76. Russian.

Хмара Е.В., Дядык Е.А., Яровая Н.Ф., Лях Ю.Е., Гурьянов В.Г. Использование методов математического моделирования при решении проблемы морфологической дифференциальной диагностики мезангиокапиллярного гломерулонефрита I типа и диффузного волчаночного гломерулонефрита.

Реферат. Цель – проанализировать и обобщить данные о прижизненном исследовании биопсии почек у пациентов с волчаным диффузным гломерулонефритом и мезангиокапиллярным гломерулонефритом I типа и выявление наиболее важных морфологических признаков с помощью систематического патоморфологического исследования и статистических методов. Анализ биопсий окрашенных иммуногистохимическими методами проводился с помощью нейросетевых моделей. Было выявлено ряд морфологических данных, которые играют наиболее важную роль в сложных случаях дифференциальной диагностики между мезангиокапиллярным типом I и диффузным волчаночным гломерулонефритами, такие как: отложения IgM в строме, субэпителиальная и субэндотелиальная депозиция фракции комплемента C3, отложение комплемента C3 внутри цилиндров, отложение комплемента фракций C1q в тубулярной базальной мембране в фокусе склероза. Иммуногистохимический анализ с методом нейросетевого математического моделирования позволил выявить наиболее важные свидетельства фактором для дифференциальной диагностики гломерулонефрита.

Ключевые слова: математическое моделирование, иммуногистохимическое исследование, мезангиокапиллярный гломерулонефрит I типа, диффузный волчаночный гломерулонефрит.