

УДК: 51-76

Цитокины как индикаторы состояния организма при инфекционных заболеваниях. Анализ экспериментальных данных

А. А. Яковлев^{1,a}, А. И. Абакумов^{1,3,b},
А. В. Костюшко^{2,c}, Е. В. Маркелова^{2,d}

¹ Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Россия, 690041, г. Владивосток, ул. Радио, д. 5

² Тихоокеанский государственный медицинский университет,
Россия, 690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, д. 2

³ Дальневосточный федеральный университет, Россия, 690922, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, д. 10

E-mail: ^a yakovlev.anatol@mail.ru, ^b abakumov@iacp.dvo.ru, ^c avkostyushko@gmail.com, ^d markev2010@mail.ru,

Получено 27.02.2020, после доработки — 08.10.2020.

Принято к публикации 09.10.2020.

При заболеваниях человека в результате бактериального заражения для наблюдения за ходом болезни используются различные характеристики организма. В настоящее время одним из таких индикаторов принимается динамика концентраций цитокинов, вырабатываемых в основном клетками иммунной системы. В организме человека и многих видов животных присутствуют эти низкомолекулярные белки. Исследование цитокинов имеет важное значение для интерпретации нарушений функциональной состоятельности иммунной системы организма, оценки степени тяжести, мониторинга эффективности проводимой терапии, прогноза течения и исхода лечения. При заболевании возникает цитокиновый отклик организма, указывающий на характеристики течения болезни. Для исследования закономерностей такой индикации проведены эксперименты на лабораторных мышках. В работе анализируются экспериментальные данные о развитии пневмонии и лечении несколькими препаратами при бактериальном заражении мышей. В качестве препаратов использовались иммуномодулирующие препараты «Ронколейкин», «Лейкинферон» и «Тинростим». Данные представлены динамикой концентраций двух видов цитокинов в легочной ткани и крови животных. Многосторонний статистический и нестатистический анализ данных позволил выявить общие закономерности изменения концентраций цитокинов в организме и связать их со свойствами лечебных препаратов. Исследуемые цитокины «Интерлейкин-10» (ИЛ-10) и «Интерферон Гамма» (ИФНγ) у зараженных мышей отклоняются от нормального уровня интактных животных, указывая на развитие заболевания. Изменения концентраций цитокинов в группах лечимых мышей сравниваются с этими показателями в группе здоровых (не зараженных) мышей и группе зараженных нелеченных особей. Сравнение делается по группам особей, так как концентрации цитокинов индивидуальны и значительно отличаются у разных особей. В этих условиях только группы особей могут указать на закономерности процессов течения болезни. Эти группы мышей наблюдались в течение двух недель. Динамика концентраций цитокинов указывает на характеристики течения болезни и эффективность применяемых лечебных препаратов. Воздействие лечебного препарата на организмы отслеживается по расположению указанных групп особей в пространстве концентраций цитокинов. В этом пространстве используется расстояние Хаусдорфа между множествами векторов концентраций цитокинов у особей, основанное на евклидовом расстоянии между элементами этих множеств. Выяснено, что препараты «Ронколейкин» и «Лейкинферон» оказывают в целом сходное между собой и отличное от препарата «Тинростим» воздействие на течение болезни.

Ключевые слова: обработка данных, эксперимент, цитокин, иммунная система, пневмония, статистика, аппроксимация, расстояние Хаусдорфа

© Анатолий Александрович Яковлев, Александр Иванович Абакумов,
Анна Валерьевна Костюшко, Елена Владимировна Маркелова

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Unported License.

Чтобы получить текст лицензии, посетите веб-сайт <http://creativecommons.org/licenses/by-nd/3.0/>
или отправьте письмо в Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA.

UDC: 51 – 76

Cytokines as indicators of the state of the organism in infectious diseases. Experimental data analysis

A. A. Yakovlev^{1,a}, A. I. Abakumov^{1,3,b},
A. V. Kostyushko^{2,c}, E. V. Markelova^{2,d}

¹ Institute of Automation and Control Processes FEB RAS, 5 Radio st., Vladivostok, 690041, Russia

² Pacific State Medical University, 2 Ostryakova ave., Vladivostok, 690002, Russia

³ Far Eastern Federal University, 10 Ajax Bay, Russky Island, Vladivostok, 690922, Russia

E-mail: ^ayakovlev.anatol@mail.ru, ^babakumov@iacp.dvo.ru, ^cavkostyushko@gmail.com, ^dmarkev2010@mail.ru,

Received 27.02.2020, after completion — 08.10.2020.

Accepted for publication 09.10.2020.

When person's diseases is result of bacterial infection, various characteristics of the organism are used for observation the course of the disease. Currently, one of these indicators is dynamics of cytokine concentrations are produced, mainly by cells of the immune system. There are many types of these low molecular weight proteins in human body and many species of animals. The study of cytokines is important for the interpretation of functional disorders of the body's immune system, assessment of the severity, monitoring the effectiveness of therapy, predicting of the course and outcome of treatment. Cytokine response of the body indicating characteristics of course of disease. For research regularities of such indication, experiments were conducted on laboratory mice. Experimental data are analyzed on the development of pneumonia and treatment with several drugs for bacterial infection of mice. As drugs used immunomodulatory drugs "Roncoleukin", "Leikinferon" and "Tinrostim". The data are presented by two types cytokines' concentration in lung tissue and animal blood. Multy-sided statistical ana non statistical analysis of the data allowed us to find common patterns of changes in the "cytokine profile" of the body and to link them with the properties of therapeutic preparations. The studies cytokine "Interleukin-10" (IL-10) and "Interferon Gamma" (IFN γ) in infected mice deviate from the normal level of infact animals indicating the development of the disease. Changes in cytokine concentrations in groups of treated mice are compared with those in a group of healthy (not infected) mice and a group of infected untreated mice. The comparison is made for groups of individuals, since the concentrations of cytokines are individual and differ significantly in different individuals. Under these conditions, only groups of individuals can indicate the regularities of the processes of the course of the disease. These groups of mice were being observed for two weeks. The dynamics of cytokine concentrations indicates characteristics of the disease course and efficiency of used therapeutic drugs. The effect of a medicinal product on organisms is monitored by the location of these groups of individuals in the space of cytokine concentrations. The Hausdorff distance between the sets of vectors of cytokine concentrations of individuals is used in this space. This is based on the Euclidean distance between the elements of these sets. It was found that the drug "Roncoleukin" and "Leukinferon" have a generally similar and different from the drug "Tinrostim" effect on the course of the disease.

Keywords: data processing, experiment, cytokine, immune system, pneumonia, statistics, approximation, Hausdorff distance

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2020, vol. 12, no. 6, pp. 1409–1426 (Russian).

Введение

Иммунная система является одной из наиболее быстро реагирующих при инфекционных заболеваниях. Обработка данных новых наблюдений и экспериментов необходима для проведения расчетов и построения математических моделей их прогноза.

Активированные клетки иммунной системы выделяют цитокины, которые определяют динамику патологического процесса и являются индикатором состояния иммунной системы [Muehlstedt et al., 2001; Holmes et al., 2002, Manderscheid et al., 2004]. Цитокины — это низкомолекулярные белки, гликопротеины, которые вырабатываются активными клетками иммунной системы, а также некоторыми вспомогательными клетками: эндотелиальными клетками, альвеолоцитами в том числе. Основная масса цитокинов образуется фагоцитами и лимфоцитами. Цитокины вырабатываются клетками для того, чтобы помогать активировать другие клетки. Они регулируют интенсивность обменных процессов в организме и выраженность воспаления при заболевании. Совокупность концентраций цитокинов в организме мы представляем в виде вектора концентраций цитокинов по видам в заранее определенном месте (органе) организма. Предполагается, что виды цитокинов предварительно упорядочены, соответственно упорядочены компоненты вектора. Видов цитокинов существует достаточно много [Симбирцев, 2018]. При исследованиях динамики состояния организма фиксируется перечень видов изучаемых цитокинов. Вектор концентраций цитокинов, конечно же, зависит от локализации в организме места его наблюдения (сбора данных). Концентрации цитокинов меняются во времени. И у здорового организма они не остаются неизменными. А при патологии скорость выработки цитокинов существенно изменяется. Возникает цитокиновый отклик организма, указывающий на характеристики течения болезни. Цитокины можно разделить на провоспалительные и противовоспалительные. Провоспалительные цитокины стимулируют воспаление, его активность. Противовоспалительные цитокины преимущественно оказывают противоположный эффект, стимулируя клетки к регенерации для ликвидации последствий воспаления [Симбирцев, 2018].

Исследование цитокинов имеет важное значение для интерпретации нарушений функциональной состоятельности иммунной системы организма, оценки степени тяжести, мониторинга эффективности проводимой терапии, прогноза течения и исхода лечения.

Наше исследование сфокусировано на одном из широко распространенных заболеваний — пневмонии, причем в такой тяжелой форме, как нозокомиальная (госпитальная) пневмония (НП).

Исследования, проведенные рядом авторов [Muehlstedt et al., 2001, Кузнецов и др., 2002], свидетельствуют об эффективности использования иммуотропных (воздействующих на иммунную систему) препаратов заместительного действия в комплексном лечении пациентов с НП. Для эффективного лечения необходимо располагать информацией о собственном эффекте воздействия иммуномодулятора на организм в условиях развития пневмонии, о дозах, кратности и предпочтительном пути его введения.

Наша работа содержит результаты обработки данных экспериментов, проведенных на лабораторных мышах, о динамике цитокинов при бактериальном заражении с развитием пневмонии. Цель данной работы состоит в изучении закономерностей изменения концентраций цитокинов при возникновении пневмонии и различных способах лечения. Следуя идеям модельных описаний близких процессов разными средствами формализации [Устинин и др., 2013], мы применили разнообразные средства обработки данных для получения новых знаний из экспериментальных данных [Киселев и др., 2015; Гриневиц и др., 2013; Описательная статистика..., 2010]. Это классические статистические методы, не всегда классические нестатистические методы, а также специфические методы обработки медицинских данных.

Специфика эксперимента состоит в том, что разные измерения концентраций цитокинов берутся у разных особей. При этом в одинаковых условиях экспериментов разные организмы показывают значительные различия в концентрациях цитокинов. Это приводит к необходимости рассматривать эти данные не как упорядоченные по номерам особей векторы, а как неупорядоченные множества. Это привело нас к задаче вычисления расстояний между множествами

неупорядоченных элементов в пространстве концентраций цитокинов, при этом мы использовали расстояния между множествами по Хаусдорфу [Crowner, 1995] с опорой на обычную евклидову метрику.

Материал и методика

Схема эксперимента, его характеристики

Целью проведенного исследования является сравнительная характеристика воздействия иммуностропных препаратов с заместительно-иницирующим действием на динамику локальных легочных цитокинов и цитокинов крови в условиях развития экспериментальной бактериальной пневмонии, вызванной госпитальным штаммом микроорганизма [Костюшко, Маркелова, 2010]. Эксперименты выполнены на белых нелинейных мышах массой 18–20 г, находившихся на стандартной диете в боксированных помещениях, с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах. В каждой серии экспериментов участвовало по 5 мышей. В исследованиях были использованы патогенные штаммы *Staphylococcus aureus*, выделенные из бронхоальвеолярной жидкости больных с установленным диагнозом НП. В качестве иммуномодулирующих препаратов использовались «Ронколейкин» (А), «Лейкинферон» (В) и «Тинростим» (С). В ходе эксперимента сравнивались три схемы применения иммуностропных препаратов: лечебная схема № 1 (профилактическая) (начало введения препарата — за 2 суток до заражения микроорганизмом, вызывающим развитие пневмонии), лечебная схема № 2 (препарат вводится в тот же день, в который произошло заражение), лечебная схема № 3 (препарат начинают вводить спустя 2 суток с момента заражения). Иммуномодулирующие препараты вводились в разных режимах: только системное (в зависимости от вводимого препарата — внутримышечно (в/м), подкожно (п/к) или внутрь (п/о) соответственно) и системное в сочетании с локальным воздействием (ультразвуковые ингаляции вводимого препарата).

Заражение проводилось интраназальным (в нос) методом. Снимались данные о концентрациях двух цитокинов (в пикограммах на миллилитр) в супернатанте ткани легких и в крови. Индексированный в наших экспериментах ИЛ-10 относится к противовоспалительным. Из провоспалительных цитокинов мы исследуем ИФН γ . Данные о концентрациях цитокинов ИЛ-10 и ИФН γ измерялись в динамике после заражения штаммами *Staphylococcus aureus*, вызывающими пневмонию, и после введения иммуномодулирующих препаратов. При каждом измерении фиксировались данные о концентрациях цитокинов в супернатанте легких и крови для 5 мышей, таких измерений в течение двух недель осуществлялось шесть (через 1, 3, 5, 7, 10, 14 суток после воздействия). Концентрации цитокинов измеряются в пг/мл. Группы мышей при каждом способе заражения и лечения будем обозначать как леченые (Л). Таким образом, группы леченых мышей различаются лечебной схемой и лечебным препаратом. Данные о состоянии организма различаются еще местом их сбора: супернатант ткани легких (далее — легкие) или сыворотка крови (далее — кровь).

Для предварительного анализа данных обо всех леченых мышах была проведена кластеризация результатов в программе IBM SPSS Statistics 19. При кластеризации данных применялся метод межгрупповых связей [Наследов, 2011] с евклидовым расстоянием между объектами кластеризации.

Для анализа данные по всем лечебным схемам, иммуностропным препаратам были собраны в один массив. Объектами кластеризации являются двумерные векторы с координатами, равными концентрациям цитокинов ИЛ-10 и ИФН γ . Обозначения на рис. 1 трех- или четырехсимвольные. Первый символ обозначает препарат (А, В или С), второй — схему лечения (№ 1, 2, 3), третий — место (орган) сбора данных (легкие или кровь), четвертый, если присутствует, обозначает применение ингаляции при лечении. Результаты кластеризации приведены на рис. 1 в виде дендрограммы.

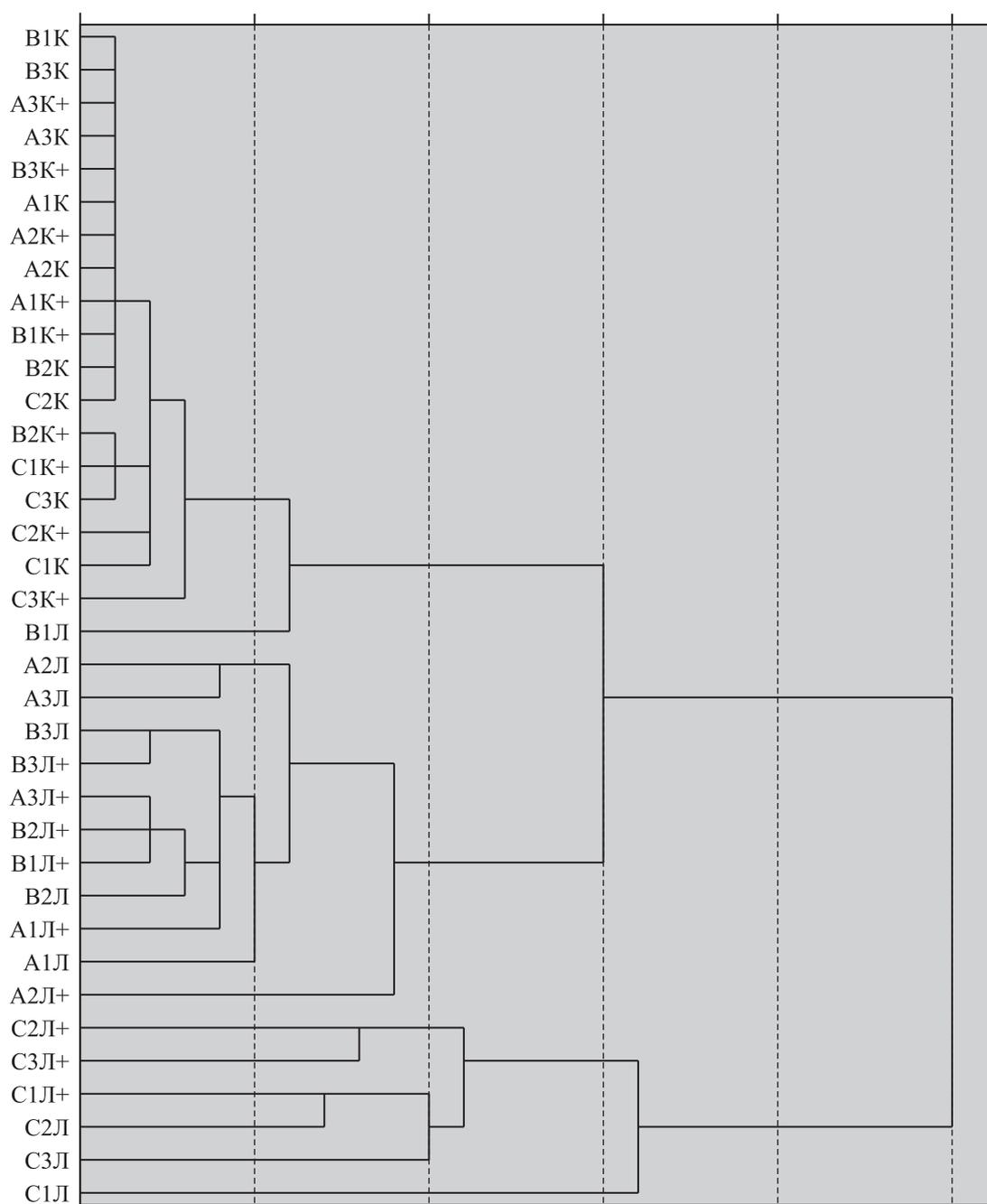


Рис. 1. Кластеризация экспериментальных данных о концентрациях цитокинов (ИЛ-10, ИФН γ) у леченых мышей по лечебным препаратам, схемам лечения, органам сбора данных

Кластеризация результатов опытов по динамике концентраций цитокинов ИЛ-10 и ИФН γ естественно разделила данные на две большие группы по показателям концентраций в легочной ткани и крови мышей. С точки зрения действия препаратов при кластерном анализе данные по легким, в свою очередь, образовали два больших кластера, в один из которых в большинстве случаев вошел только препарат «Тинростим» с различными схемами лечения. Во второй укрупненный кластер вошли в большей части препараты «Ронколейкин» и «Лейкинферон».

Данные по крови также имеют некоторую отделенность препарата «Тинростим» от двух других препаратов, но в целом эти данные более однородны (верхняя половина рисунка).

Перейдем к детальному анализу экспериментальных данных.

Характеристика экспериментальных данных

Группы леченых особей обозначим как Л. Для сравнения с экспериментальными данными по лечению больных сформировано множество из 30 здоровых мышей, которых не заражали и которым не вводили лечебный препарат (здоровые — З).

В группе здоровых мышей (З) однократно сняты данные ИЛ-10 и ИФН γ из супернатанта легкого и сыворотки крови. Эти данные иллюстрируют большое индивидуальное разнообразие концентраций цитокинов (рис. 2) у здоровых особей. При этом концентрации обоих цитокинов в легких примерно одинаковы и держатся в пределах от 20 до 150 пг/мл, а в крови они существенно ниже, меньше 25 пг/мл, причем для ИФН γ , как правило, меньше 10 пг/мл.

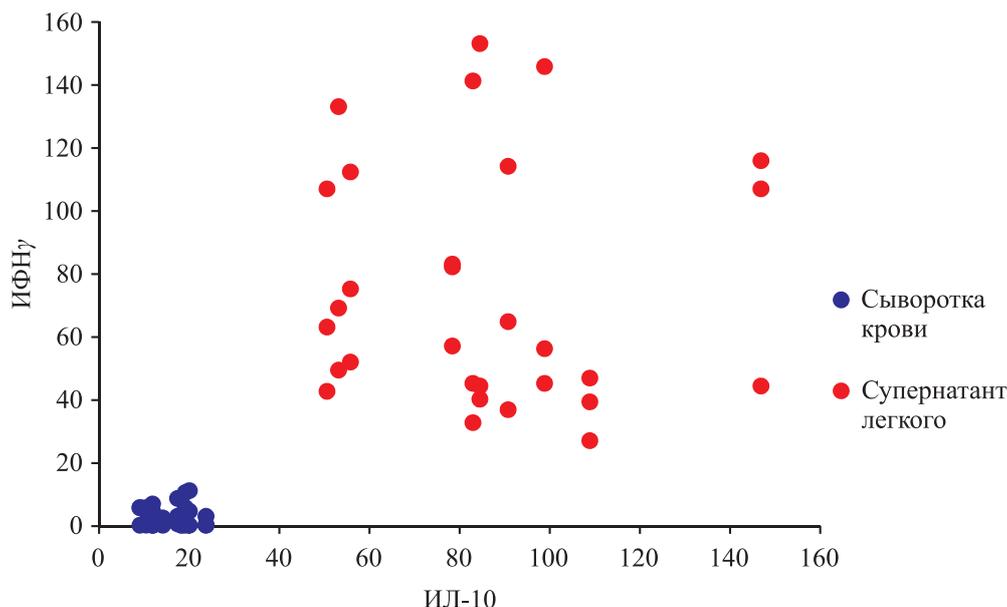


Рис. 2. Концентрации цитокинов в группе здоровых мышей. По осям указываются концентрации цитокинов в пг/мл

Кроме того, по схеме эксперимента отслеживалось множество зараженных и нелеченых мышей (больные без терапии — Б). Аналогично группам леченых при каждом измерении фиксировались данные о концентрациях цитокинов ИЛ-10 и ИФН γ в супернатанте легких и крови для 5 мышей, таких измерений в течение двух недель осуществлялось шесть (в 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки после начала эксперимента).

Константная группа здоровых (З) и динамичная группа зараженных и нелеченых мышей (Б) составляют опорные данные в дальнейших схемах обработки.

На рис. 3 приведена динамика концентраций цитокинов для группы Б в сравнении с группой З. Использована популярная в медицине разбивка данных по квартилям [Описательная статистика..., 2010]. Данные были разделены на квартили в зависимости от дня исследования и введенного препарата по значению концентрации цитокина. Черточками указаны наименьшее и наибольшее значения, а также 50%-ный квартиль. Утолщенный вертикальный отрезок соответствует значениям второго и третьего квартиля. Ломаной линией соединены средние значения. Аналогичные представления приведены на рис. 4 и 5.

Концентрации цитокинов группы Б более изменчивы во времени в легких. В крови вариация сравнительно мала. Для групп З и Б из всех вариантов концентрации цитокинов различаются только для ИЛ-10 в легких. Концентрации цитокинов в крови и концентрация ИФН γ в легких для этих групп З и Б различаются мало. Еще одна особенность состоит в том, что наиболее заметная вариация концентраций по времени происходит в середине периода наблюдений, на 7-й день.

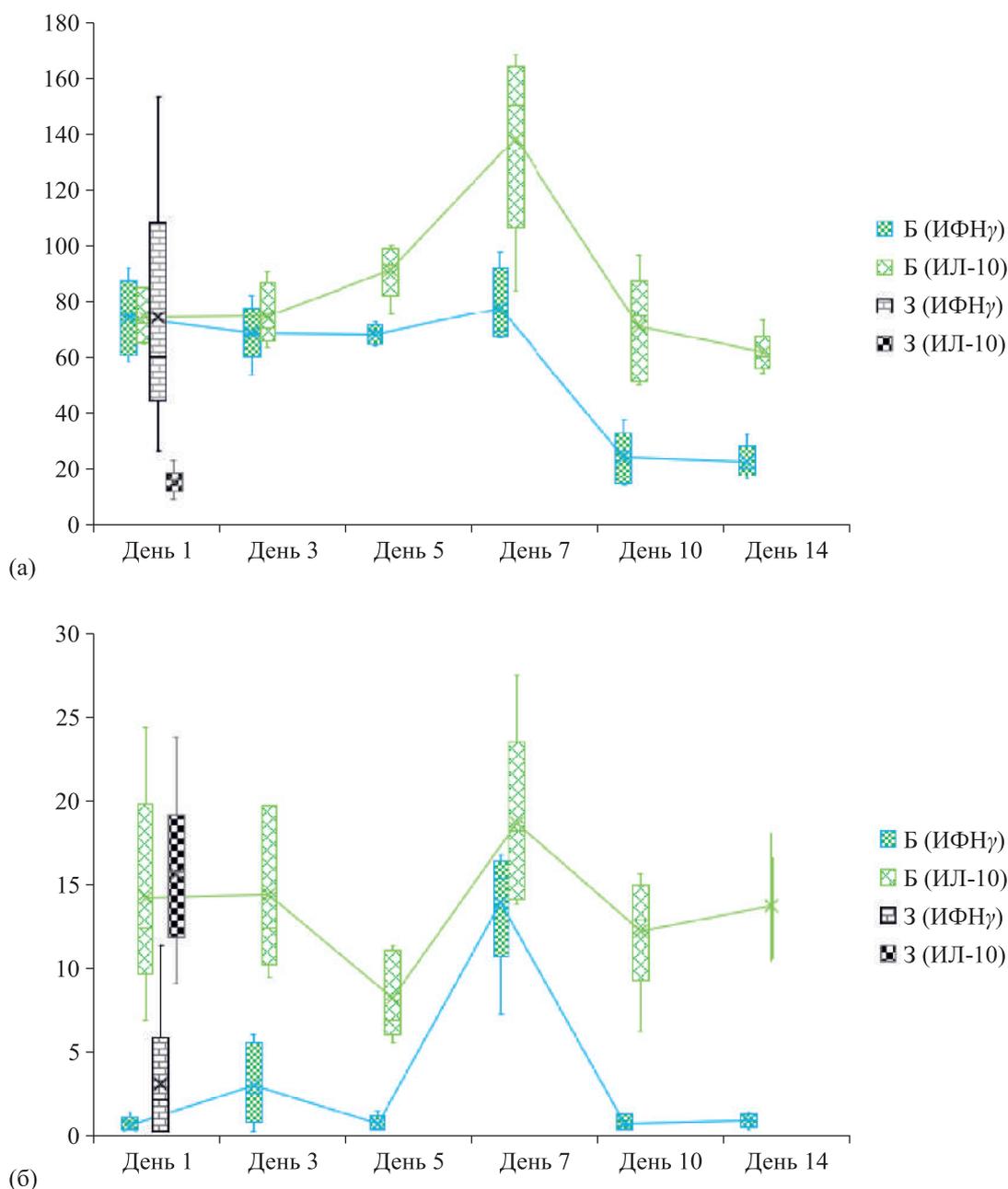


Рис. 3. Концентрации цитокинов для групп Б и З в легких (а) и крови (б). По горизонтальной оси указаны дни сбора данных, исчисляемые от начала эксперимента. По вертикальной оси — концентрации цитокинов в пг/мл

Для анализа концентрации цитокинов в легких и в крови при лечении были построены графики для каждой схемы лечения и каждого применяемого иммуностропного препарата. Схема эксперимента оказала влияние на результат: концентрации цитокинов существенно изменялись в зависимости от схемы лечения и типа препарата. Типичные примеры динамики представлены на рис. 4, 5.

Для анализа были взяты данные концентрации цитокина ИЛ-10 при лечении по схеме № 1 с системным вводом препарата без ингаляции (рис. 4). Материал для исследования брался из супернатанта легкого. На этом рисунке и далее синим цветом обозначен препарат А, красным — препарат В, зеленым — препарат С.

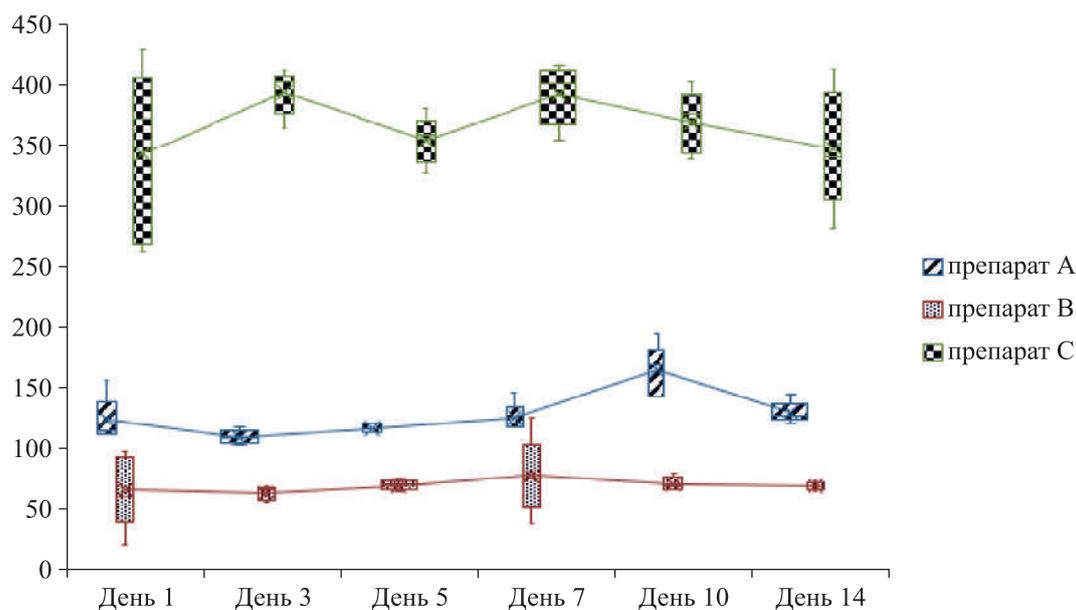


Рис. 4. Сравнительное изменение концентраций цитокина ИЛ-10 в легких в зависимости от лечебного препарата при лечении по схеме № 1 с системным вводом препарата без ингаляции. Обозначения аналогичны рис. 3

По препарату А большой разброс данных возникает на 10-й день, по препарату В он велик в 1-й и 7-й день, а далее нивелируется. Препарат С воздействует, сохраняя разнообразие. Концентрации ИЛ-10 для всех препаратов остаются на примерно постоянном уровне во все дни измерений, выделяется опять же 10-й день для препарата А. При этом препарат С сохраняет более высокие концентрации цитокина, чем препараты А, В. Это еще раз показывает, что препарат С имеет иное воздействие на организм, чем препараты А, В.

Для схемы лечения № 2 приведем такой же анализ с обоими цитокинами (рис. 5).

В ткани легких концентрации цитокинов, в зависимости от препарата, изменялись несущественно. Некоторую особенность дал препарат А по уровню ИФН γ . В крови явно выделяется препарат С, сохраняя более высокие концентрации цитокинов. Заметим, что это лишь четыре примера динамики концентраций цитокинов из большого числа всех вариантов. Пока остановимся на констатации этих фактов и перейдем к анализу данных. Для анализа данных и моделирования применяются кластерный анализ и статистические методы, пространственно-множественные характеристики из математического анализа.

Анализ динамики концентраций цитокинов

Расстояние Хаусдорфа

Специфика эксперимента состоит в том, что измерения в разные дни берутся у разных мышей. То есть мыши по дням независимы друг от друга. Хотя они пронумерованы, но одинаковые номера относятся в разные дни к совершенно не связанным друг с другом организмам. Учитывая высокую вариабельность концентраций цитокинов в организмах (рис. 2), необходимо воспринимать данные по каждому дню как неупорядоченные, не привязанные к номерам особей. Мы попытались создать схему анализа данных, в которой мыши одного дня собраны в неупорядоченные множества, это привело к задаче вычисления расстояний между множествами, и мы использовали расстояния по Хаусдорфу [Crowpower, 1995].

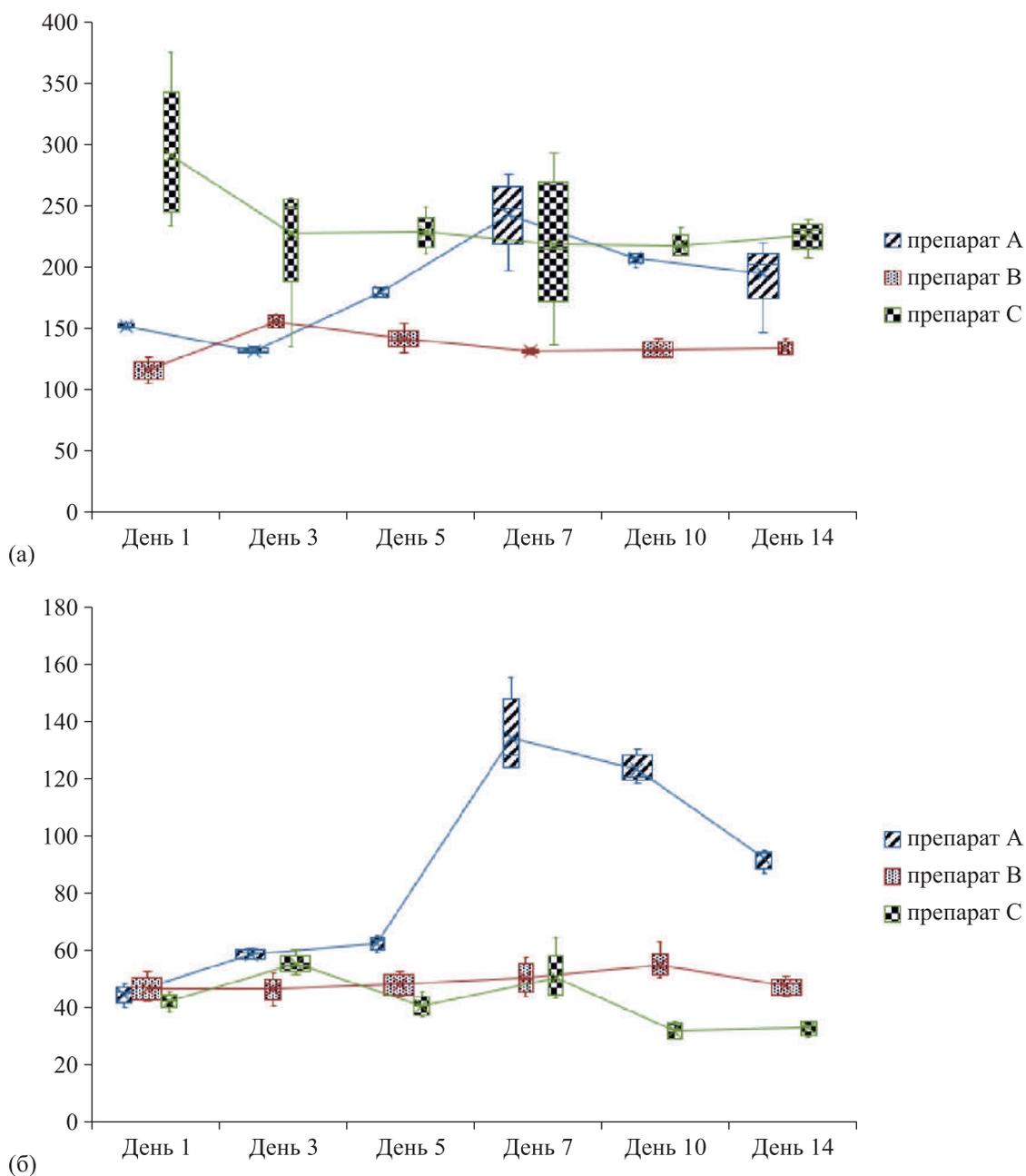


Рис. 5. Концентрации цитокина при схеме лечения № 2, методе ввода с ингаляцией в супернатанте легкого ИЛ-10 (а), ИФН γ (б). Обозначения аналогичны рис. 3

В пространстве R^n расстояние ρ между элементами x и y вычисляется как евклидово:
 $\rho(x, y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n x_i^2}$ (где x_i — компонента вектора x). Расстояние между двумя множествами вычисляется по формуле

$$\rho(D, G) = \max \left\{ \sup_{x \in D} \rho(x, G), \sup_{y \in G} \rho(D, y) \right\}, \quad (1)$$

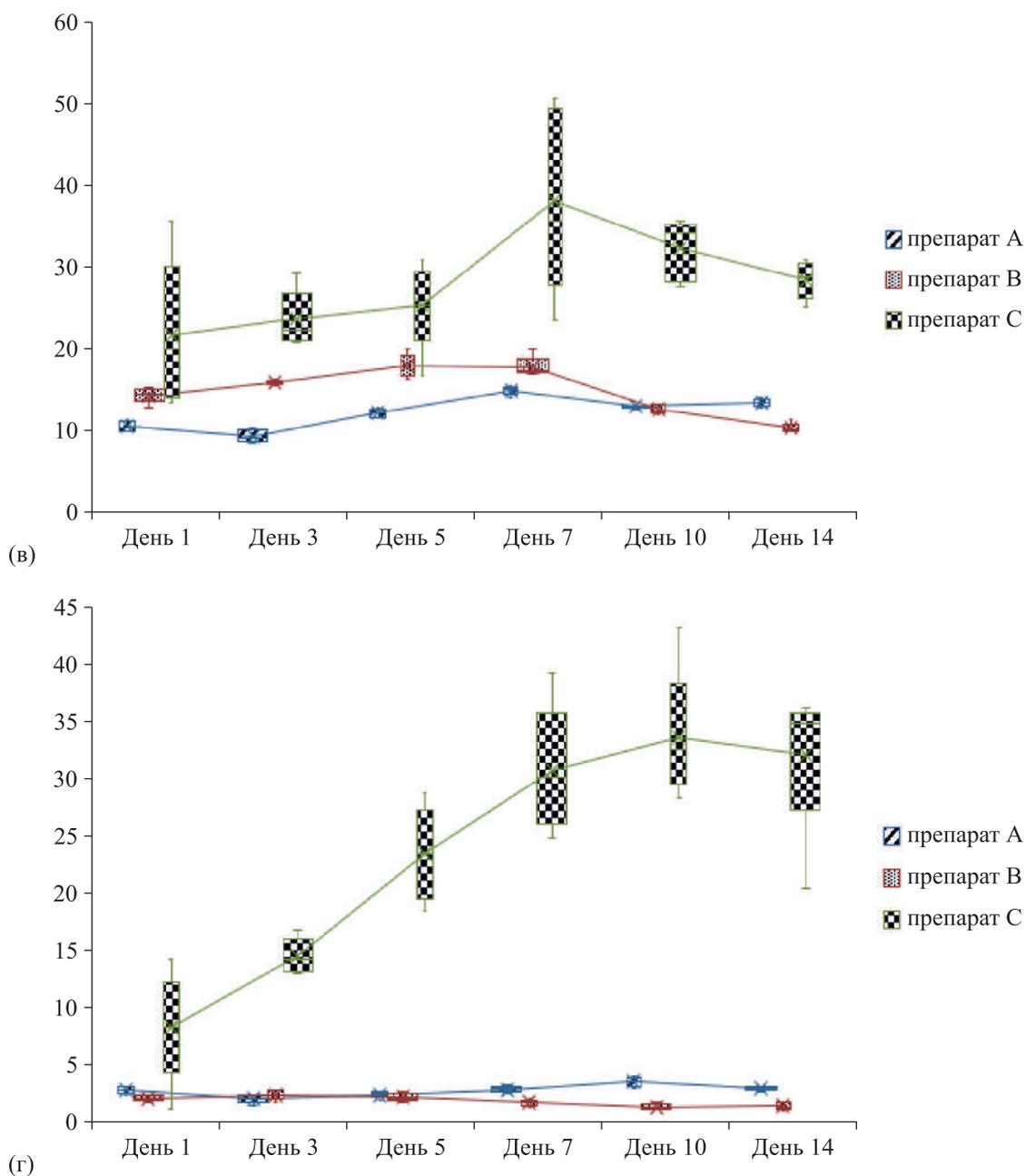


Рис. 5. Концентрации цитокина при схеме лечения № 3, методе ввода с ингаляцией в сыворотке крови ИЛ-10 (в), ИФН γ (г). Обозначения аналогичны рис. 3 (окончание)

где

$$\rho(x, G) = \inf_{y \in G} \rho(x, y), \quad \rho(D, y) = \inf_{x \in D} \rho(x, y).$$

В нашем случае множества D, G конечны, все указанные операции корректно выполнимы.

Взаимная динамика трех групп

Концентрации противовоспалительных и провоспалительных цитокинов на разных этапах болезни организма различны. Изучение динамики каждого цитокина в отдельности при заболевании не может дать полную картину процесса, происходящего в организме. Ряд авторов [Сис-

тема цитокинов..., 2005; Костюшко, Маркелова, 2010] в своих исследованиях оперируют понятиями «система цитокинов», «цитокиновый профиль». Традиционный анализ динамики концентрации цитокинов тем не менее подразумевает исследование динамики одного цитокина. Такой подход, к сожалению, упускает из вида комплексный взгляд на оценку состояния организма, поэтому авторы предлагают метод, основанный на расчете расстояний между неупорядоченными множествами.

Множества мышей Б и Л сформированы по 5 особей в каждый день эксперимента отдельно по анализу ткани легких и крови. Из мышей З сформированы множества по 30 особей по анализу ткани легких и крови. Во всех множествах каждая особь представлена вектором концентрации цитокинов ИЛ-10 и ИФН γ .

Ниже анализируются данные для схемы лечения № 1 (профилактической), проба из супернатанта легкого. Данные по рассчитанным расстояниям Хаусдорфа представлены в таблице 1.

Таблица 1. Расстояние Хаусдорфа для исследуемых препаратов при схеме лечения № 1 (профилактической), проба из супернатанта легкого

		День 1	День 3	День 5	День 7	День 10	День 14
«Ронколейкин» (А)	З–Л	124.84	136.17	134.23	131.71	133.79	131.06
	Б–Л	67.85	68.39	58.55	96.34	21.86	13.73
«Лейкинферон» (В)	З–Л	82.62	82.04	81.83	83.84	99.32	91.95
	Б–Л	69.85	39.64	36.64	51.06	99.41	98.34
«Тинростим» (С)	З–Л	280.63	326.91	286.35	316.64	300.84	266.74
	Б–Л	341.79	321.41	281.98	277.92	321.12	359.11
	З–Б	66.53	71.34	81.62	86.39	115.72	123.66

Группу З будем считать эталоном здоровья. Отметим прежде всего, что расстояние между «эталонным» множеством З здоровых и «эталонным» множеством Б нелеченных больных с каждым днем увеличивается, что может говорить об общем ухудшении состояния организма при отсутствии лечения. Введение же лечебного препарата для мышей группы Л сразу меняет концентрации цитокинов, причем эти концентрации можно оценивать как специфичные для каждого препарата. В течение всех дней измерений расстояния З–Л варьируют незначительно. Препарат С наиболее сильно отклоняет концентрации от группы З. Меньшее влияние оказывает препарат А, еще меньшее — препарат В. Расстояния Б–Л более вариабельны, и для каждого препарата имеют некоторый минимум с последующим возрастанием. Для препарата А минимум достигается на конце промежутка измерений, на 10-й и 14-й дни. Для препарата В он приходится на 3-й–7-й дни измерений. Для препарата С минимум расстояний проявляется на 5-й и 7-й дни. Этот минимум может указывать на время качественного изменения течения болезни. В целом можно отметить, что воздействие препаратов остается существенным в течение всех двух недель наблюдений. Наиболее далекими от групп З и Б оказались группы Л при лечении препаратом С.

И все же для более точной ориентации групп Л относительно «эталонных» групп З и Б ниже сконструируем расстояния относительно этих групп так, чтобы в этих относительных расстояниях учитывалось изменение расстояний между группами З и Б.

Динамика в относительных расстояниях

Здесь приведен сравнительный анализ на четырех примерах для разных схем лечения с пробами из легких и крови. Компактное представление динамики концентраций цитокинов осуществлено следующим образом. Для каждой группы экспериментов вычисляются два относительных расстояния: отношение расстояний от группы Л до группы З и от Л до Б к расстоянию между группами З и Б. На рис. 6 по горизонтальной оси отложены относительные расстояния от Л до З, а по вертикальной оси — от Л до Б. Синяя линия (короткий пунктир) обозначает

динамику при лечении препаратом А, красная линия (сплошная) — препаратом В, зеленая линия (пунктир с точкой) — препаратом С. Числа на маркерах указывают дни снятия проб. Из определения относительных расстояний следует, что позитивная зона с точки зрения выздоровления находится выше биссектрисы первой четверти координатной плоскости. В этом случае группа Л расположена ближе к группе З здоровых особей по сравнению с группой Б больных особей.

Отметим, что на рисунках (в) и (г) графики лежат выше биссектрисы, поэтому для компактности рисунков она не показана.

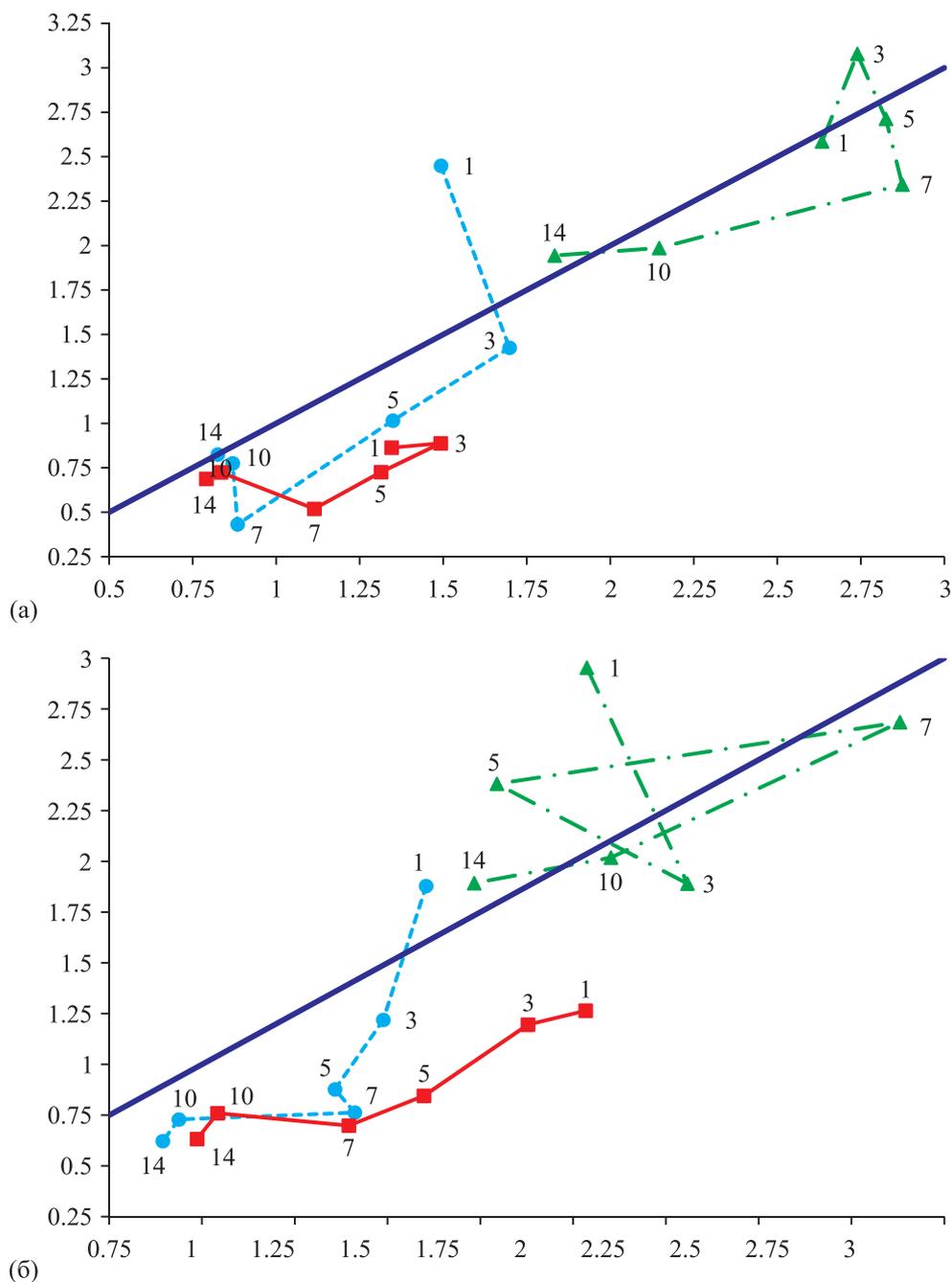


Рис. 6. Динамика концентраций цитокинов в относительных расстояниях: а) схема лечения № 2, легкие; б) схема лечения № 1, ингаляция, легкие

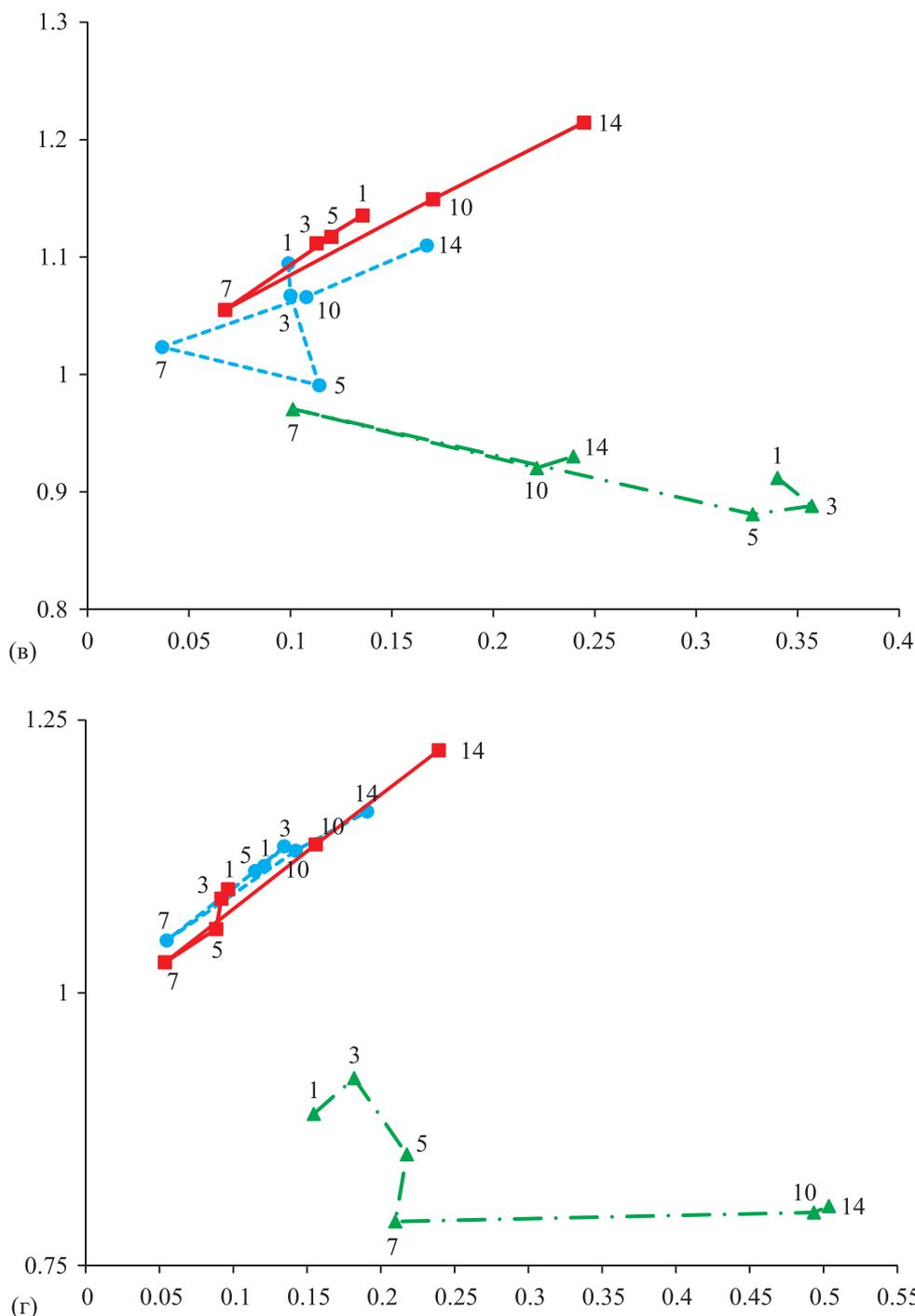


Рис. 6. Динамика концентраций цитокинов в относительных расстояниях: в) схема лечения № 1, кровь; г) схема лечения № 3, ингаляция, кровь (окончание)

В относительных расстояниях становятся видны несколько иные свойства групп Л, чем в абсолютных расстояниях (таблица 1). Оказалось, что при всех способах заражения и лечения в ткани легких концентрации цитокинов в группе Л в относительных расстояниях, как правило, сближаются с группами З и Б, оставаясь примерно равноудаленными от них (рис. 6, а). Изредка цитокины группы Л остаются на примерно одинаковом относительном расстоянии от групп З и Б (рис. 6, б).

Концентрации же цитокинов в крови для группы Л ведут себя противоположным образом, удаляясь от групп З и Б (рис. 6, в, з). Если концентрации цитокинов в легких равноудалены от групп З и Б, то концентрации цитокинов в крови всегда ближе к группе З. Это позволяет предполагать, что реакция системы крови на инфекцию происходит с запаздыванием по отношению к легким как органу-мишени. Вероятно, отражение заболевания в крови в основном можно было бы увидеть позднее двух недель наблюдений. Если сравнить препараты, то по своим воздействиям препараты А и В достаточно близки, а препарат С иным образом воздействует на организмы.

Совокупная характеристика препаратов

Последний расчет (рис. 7) сделан для всех препаратов и всех схем лечения в абсолютных расстояниях (1). Соберем в одно множество все данные о концентрациях цитокинов для каждого лечебного препарата и каждой схемы лечения. В результате расчетов получили расстояния между множествами З–Б, З–Л, Б–Л в каждый день эксперимента. Полученные значения были нанесены на координатную плоскость. За начало отсчета было принято множество здоровых мышей (З). Множество больных мышей (Б) откладывалось по вертикальной оси. Множество леченых мышей (Л) перемещается в плоскости в зависимости от расстояний между множествами З–Л и Б–Л.

(а) Супернатант легкого

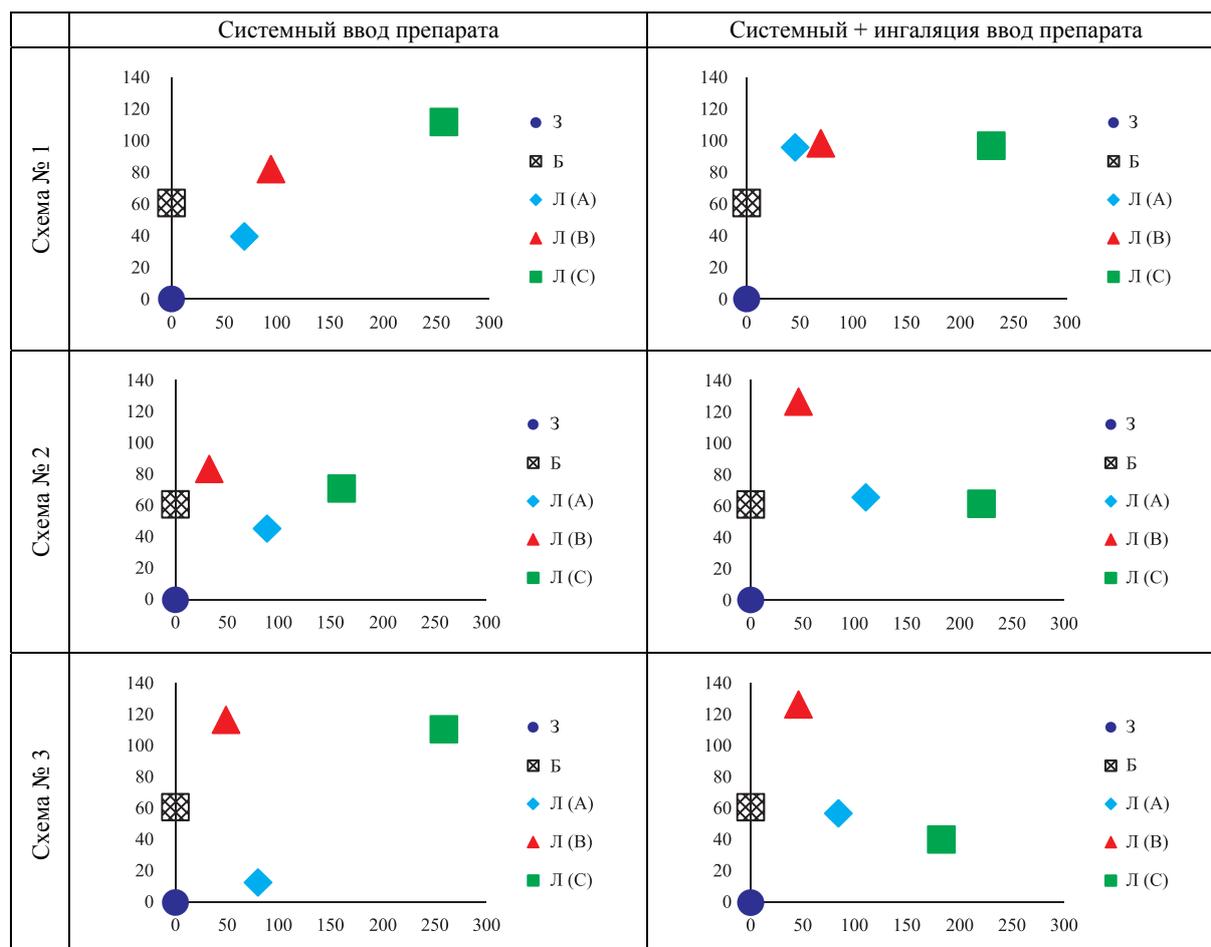


Рис. 7. Хаусдорфовы расстояния по лечебным препаратам и схемам лечения: а) супернатант легкого. Группа З помещена в начало координат, а группа Б определяет направления вертикальной оси. Группы леченых помечены соответственно типу препарата

(б) Сыворотка крови

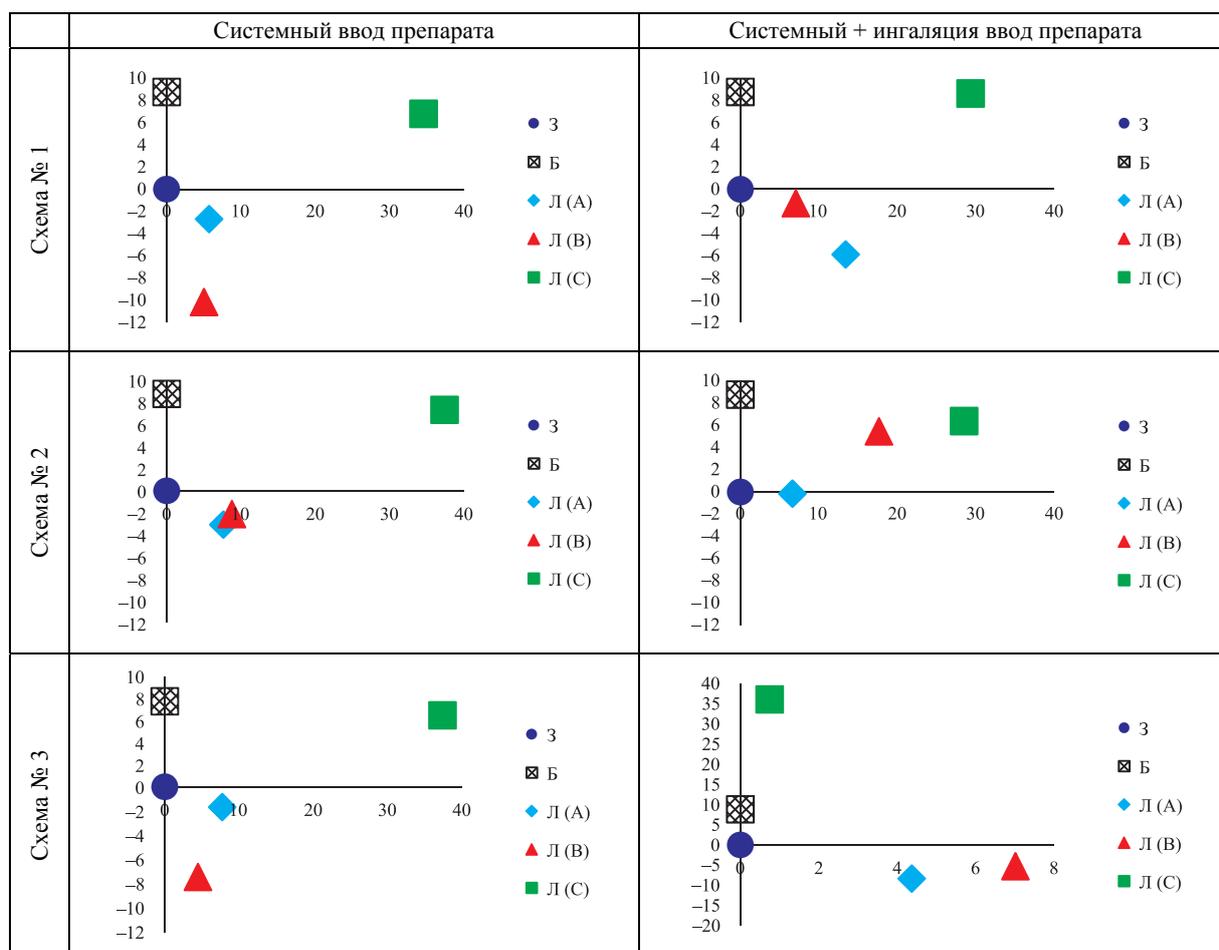


Рис. 7. Хаусдорфовы расстояния по лечебным препаратам и схемам лечения: б) сыворотка крови. Группа 3 помещена в начало координат, а группа Б определяет направления вертикальной оси. Группы леченых помечены соответственно типу препарата (*окончание*)

При всех схемах лечения группа Л в целом наиболее близко находится к группе 3 при лечении препаратом А. Препарат С оказывается наиболее удален, имеет более высокие концентрации цитокинов. Препарат В занимает промежуточное положение при большей близости к препарату А. Это согласуется с другими вышеприведенными представлениями экспериментальных результатов.

Обсуждение

При изменении состояния организма, например при инфекционном заболевании, концентрации цитокинов в организме изменяются. В зависимости от течения болезни эти изменения имеют некоторые особенности, которые могут сформироваться в закономерности. На примере заболевания бактериальной пневмонией мы попытались выявить такие возможные закономерности, применяя стандартные и нестандартные методы обработки и представления данных.

Кластеризация результатов опытов по динамике концентраций цитокинов ИЛ-10 и ИФН γ естественно разделила данные на две большие группы по показателям концентраций в легочной ткани и крови мышей. Все остальные примененные методы анализа данных также показали разное поведение концентраций цитокинов в ткани легких и в крови.

С точки зрения действия препаратов при кластерном анализе данные по легким, в свою очередь, образовали два больших кластера, в один из которых в большинстве случаев вошел только препарат «Тинростим» с различными схемами лечения. Во второй укрупненный кластер вошли в большей части препараты «Ронколейкин» и «Лейкинферон». При выделении квартилей по цитокину ИЛ-10 для препаратов «Ронколейкин», «Лейкинферон» разбросы со временем в целом уменьшаются. Препарат «Тинростим» воздействует, сохраняя разнообразие. Концентрации цитокина для всех препаратов остаются на примерно постоянном уровне во все дни измерений. При этом препарат «Тинростим» характеризуется более высокими концентрациями цитокина, чем препараты «Ронколейкин», «Лейкинферон». Это еще раз показывает, что препарат «Тинростим» имеет иное воздействие на организм, чем препараты «Ронколейкин», «Лейкинферон».

Данные по крови более размыты. Здесь образован один большой кластер. Концентрации же цитокинов крови для группы леченых (Л) ведут себя противоположным образом, удаляясь от групп здоровых (З) и больных (Б). Цитокины крови всегда ближе к группе здоровых (З). Это позволяет предполагать, что инфекция воздействует на кровь с некоторым запозданием по отношению к тканям легких. Вероятно, отражение заболевания в крови произойдет позднее двух недель наблюдений.

Особенности экспериментов связаны с высокой вариабельностью концентраций цитокинов от одной особи к другой и независимостью особей при разных измерениях. Это приводит к идее рассмотрения объектов экспериментов в виде неупорядоченных множеств мышей, скомпонованных по разным признакам. В частности, так получены множества З, Б и Л. В этом случае полезной характеристикой взаимного расположения таких множеств являются расстояния между ними, а именно расстояния по Хаусдорфу. В результате получились картины взаимного движения множеств З, Б и Л относительно друг друга, характеризующие действия применяемых лечебных препаратов. Таким образом выявлены особенности динамики концентраций цитокинов у групп Л в относительных и абсолютных расстояниях относительно групп З, Б. В этом представлении достаточно определенно проявилось влияние препаратов «Ронколейкин», «Лейкинферон». В относительных расстояниях (рис. 6) эти препараты обеспечивают большую близость к группе З по сравнению с группой Б. Препарат «Тинростим» больше поддерживает высокие концентрации цитокинов и удаленность от групп З и Б. Дальнейшие исследования могут показать устойчивость этих особенностей и привести к выявлению закономерностей динамики концентраций цитокинов при различных воздействиях на организм.

Проблема исследования цитокинов является важной частью изучения реакции организма на инфекцию. В этих исследованиях существенную роль могут сыграть математические модели. В реакциях организма определяющее значение имеет иммунная система. Моделирование иммунной системы, в том числе формирование иммунного ответа на инфекционное заражение, является предметом активных исследований [Day et al., 2009; Smith et al., 2011; Eckhoff, 2012; Романюха, 2015]. Математические модели реализации иммунного ответа при разных заболеваниях были созданы и исследованы Г. И. Марчуком с коллегами [Белых, Марчук, 1982; Марчук, 1985]. Следующие шаги могут быть связаны с математическим моделированием процессов в организме с участием цитокинов.

Список литературы (References)

- Абакумов А. И., Яковлев А. А. Иммунный ответ на вирусное заражение // Информатика и системы управления. — 2018. — № 3 (57). — С. 3–9. — DOI:10.22250/isu.2018.57.3-9
- Abakumov A. I., Yakovlev A. A. Immunnyy otvet na virusnoye zarazheniye [The immune response to viral infection] // Information Science and Control Systems. — 2018. — No. 3 (57). — P. 3–9. — DOI:10.22250/isu.2018.57.3-9 (in Russian).
- Белых Л. Н., Марчук Г. И. Качественный анализ простейшей математической модели инфекционного заболевания // Математическое моделирование в иммунологии и медицине. — Новосибирск: Наука, 1982. — С. 5–27.

- Belykh L. N., Marchuk G. I.* Kachestvennyy analiz prosteyshy matematicheskoy modeli infektsionnogo zabolevaniya [Qualitative analysis of the simplest mathematical model of an infectious disease] // *Mathematical modeling in immunology and medicine*. — Novosibirsk: Nauka, 1982. — P. 5–27 (in Russian).
- Гриневиц А. А., Танканаг А. В., Чемерис Н. К.* Исследование зависимости амплитудно-частотных спектров сердечного ритма человека от контролируемой частоты дыхания // *Математическая биология и биоинформатика*. — 2013. — Т. 8, № 2. — С. 537–552. — URL: https://www.matbio.org/article.php?journ_id=16&id=170 (дата обращения: 05.09.2019).
- Grinevich A. A., Tankanag A. V., Chemeris N. K.* Issledovaniye zavisimosti amplitudno-chastotnykh spektrov serdechnogo ritma cheloveka ot kontroliruyemoy chastoty dykhaniya [Investigation of the dependence of the amplitude-frequency spectra of a person's heart rate on a controlled respiratory rate] // *Mathematical Biology & Bioinformatics*. — 2013. — Vol. 8, No. 2. — P. 537–552 (in Russian). — Available at: https://www.matbio.org/article.php?journ_id=16&id=170 (accessed: 05.09.2019).
- Киселев И. Н., Бибердорф Э. А., Баранов В. И., Комлягина Т. Г., Мельников В. Н., Суворова И. Ю., Кривошеков С. Г., Колпаков Ф. А.* Персонализация параметров и валидация модели сердечно-сосудистой системы человека // *Математическая биология и биоинформатика*. — 2015. — Т. 10, № 2. — С. 526–547. — URL: https://www.matbio.org/article.php?journ_id=22&id=257 (дата обращения: 19.11.2019). — DOI: 10.17537/2015.10.526
- Kiselev I. N., Biberdorf E. A., Baranov V. I., Komlyagina T. G., Mel'nikov V. N., Suvorova I. Yu., Krivoshchekov S. G., Kolpakov F. A.* Personalizatsiya parametrov i validatsiya modeli serdechno-sosudistoy sistemy cheloveka [Parameters personalization and the model validation of the human cardiovascular system] // *Mathematical Biology & Bioinformatics*. — 2015. — Vol. 10, No. 2 — P. 526–547 (in Russian). — Available at: https://www.matbio.org/article.php?journ_id=22&id=257 (accessed: 19.11.2019). — DOI: 10.17537/2015.10.526
- Костюшко А. В., Маркелова Е. В.* Цитокиновый профиль при энтеробактериальной пневмонии в эксперименте // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. — 2010. — № 4. — С. 27–30.
- Kostyushko A. V., Markelova E. V.* Tsitokinovyy profil' pri enterobakterial'noy pnevmonii v eksperimente [The cytokine profile in enterobacterial pneumonia in an experiment] // *Pathological physiology and experimental therapy*. — 2010. — No. 4. — P. 27–30 (in Russian).
- Кузнецов В. П., Маркелова Е. В., Силич Е. В., Беляев Д. Л.* Динамика цитокинов и роль иммунокоррекции при нозокомиальной пневмонии // *Российский иммунологический журнал*. — 2002. — Т. 7, № 2. — С. 151–160.
- Kuznetsov V. P., Markelova E. V., Silich E. V., Belyaev D. L.* Dinamika tsitokinov i rol' immunokorreksii pri nozokomial'noi pnevmonii [The dynamics of cytokines and the role of immunocorrection in nosocomial pneumonia] // *Russian Journal of Immunology*. — 2002. — Vol. 7, No. 2. — P. 151–160 (in Russian).
- Марчук Г. И.* Математические модели в иммунологии. — М.: Наука, 1985.
- Marchuk G. I.* Matematicheskiye modeli v immunologii [Mathematical models in immunology]. — Moscow: Nauka, 1985 (in Russian).
- Наследов А.* SPSS 19: профессиональный статистический анализ данных. — СПб.: Питер, 2011.
- Nasledov A.* SPSS 19: professional'nyy statisticheskiy analiz dannykh [SPSS 19: professional statistical data analysis]. — St. Petersburg: Piter, 2011 (in Russian).
- Описательная статистика и графическое представление данных в медицинской литературе [Электронный ресурс]. — URL: <http://boris.bikbov.ru/2010/08/09/opisatel'naya-statistika-i-graficheskoe-predstavlenie-dannyh-v-meditsinskoj-literature/> (дата обращения: 14.02.2019).
- Opisatel'naya statistika i graficheskoye predstavleniye dannykh v meditsinskoj literature [Descriptive statistics and graphical representations of data in medical literature] [Electronic resource]. — Available at: <http://boris.bikbov.ru/2010/08/09/opisatel'naya-statistika-i-graficheskoe-predstavlenie-dannyh-v-meditsinskoj-literature/> (accessed: 14.02.2019) (in Russian).
- Романюха А. А.* Математические модели в иммунологии и эпидемиологии инфекционных заболеваний. — М.: БИНОМ, 2015.
- Romanyukha A. A.* Matematicheskiye modeli v immunologii i epidemiologii infektsionnykh zabolevaniy [Mathematical models in immunology and epidemiology of infectious diseases]. — Moscow: Binom, 2015 (in Russian).
- Симбирцев А. С.* Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. — СПб.: Фолиант, 2018.
- Simbirtsev A. S.* Tsitokiny v patogeneze i lechenii zabolevaniy cheloveka [Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases]. — St. Petersburg: Foliant, 2018 (in Russian).

- Система цитокинов и болезни органов дыхания / ред. Б. И. Гельцер. — Владивосток: Дальнаука, 2005.
Sistema tsitokinov i bolezni organov dykhaniya [System of cytokines and respiratory diseases] / red. B. I. Gel'tser. — Vladivostok: Dalnauka, 2005 (in Russian).
- Устинин Д. М., Коваленко И. Б., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. Сопряжение различных методов компьютерного моделирования в комплексной модели фотосинтетической мембраны // Компьютерные исследования и моделирование. — 2013. — Т. 5, № 1. — С. 65–81. — DOI: 10.20537/2076-7633-2013-5-1-65-81
Ustinin D. M., Kovalenko I. B., Riznichenko G. Yu., Rubin A. B. Sopryazheniye razlichnykh metodov komp'yuternogo modelirovaniya v kompleksnoy modeli fotosinteticheskoy membrany [Combination of different simulation techniques in the complex model of photosynthetic membrane] // Computer Research and Modeling. — 2013. — Vol. 5, No. 1. — P. 65–81. — DOI: 10.20537/2076-7633-2013-5-1-65-81
- Crownower R. M. Introduction to Fractals and Chaos. — Boston, London: Jones and Bartlett Publ., 1995. — 306 p.
- Day J., Friedman A., Schlesinger L. S. Modeling the immune rheostat of macrophages in the lung in response to infection // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2009. — Vol. 106 (27). — P. 11246–11251. — <https://doi.org/10.1073/pnas.0904846106>
- Eckhoff P. P. falciparum infection durations and infectiousness are shaped by antigenic variation and innate and adaptive host immunity in a mathematical model // PLoS One. — 2012. — Vol. 7 (9). — <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044950>
- Holmes M. C., Zhang P., Nelson S. et al. Neutrophil modulation of the pulmonary chemokine response to lipopolysaccharide // Shock. — 2002. — Vol. 18. — P. 555–560.
- Manderscheid P. A., Bodkin R. P., Davidson B. A. Bacterial clearance and cytokine profiles in a murine model of postsurgical nosocomial pneumonia // Clinical and diagnostic laboratory immunology. — 2004. — Vol. 11, No. 4. — P. 742–751.
- Muehlstedt S. G., Richardson C. J., West M. A. et al. Cytokines and the pathogenesis of nosocomial pneumonia // Surgery. — 2001. — Vol. 130. — P. 602–611.
- Smith A. M., McCullers J. A., Adler F. R. Mathematical model of a three-stage innate immune response to a pneumococcal lung infection // Journal of theoretical biology. — 2011. — Vol. 276 (1). — P. 106–116. — DOI: 10.1016/j.jtbi.2011.01.052