

НИКИФОРОВ И.А.,

к.г.-м.н., Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, Оренбург, Россия, e-mail: ianikiforov@rambler.ru

ИВАНОВА Е.В.,

д.м.н., доцент, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, Оренбург, Россия, e-mail: walerewna13@gmail.com

МЕТОД КАРТИРОВАНИЯ РАВНОДЕЙСТВУЮЩИХ ПРИ РЕШЕНИИ ЗАДАЧ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

DOI: 10.25881/18110193_2022_3_14

Аннотация.

Одной из основных задач современной медицинской микробиологии является изучение причинно-следственных связей микробиоты с состоянием здоровья и развитием патологии в организме человека. Знание их открывают нам новые возможности для диагностических, профилактических и лечебных мероприятий ряда нозологий. В качестве дополнения к методам многомерного статистического анализа предлагается новый автоматизированный подход, который базируется на планарном проецировании многомерных аналитических данных и отличается технологической простотой и наглядностью процесса оперативной диагностики.

Цель исследования состояла в использовании нового автоматизированного подхода на основе метода картирования диагностических полей к определению информативных параметров и основных закономерностей формирования зубиоза/дисбиоза толстого кишечника человека и развития хронического простатита с потерей фертильности у мужчин.

Материалы и методы. С помощью метода картирования диагностических полей, чья геометризация базируется на многомерных наблюдениях состояния каждого обследуемого, определена размерность признакового пространства путем вычисления равнодействующих каждого вектора признаков и для расчета диаграммы Вороного — диагностической палетки. В работе использованы две выборки: первая — из 126 штаммов, выделенных от 65 обследуемых лиц (от 18 до 45 лет) на дисбиоз толстого кишечника человека, вторая — 124 теста по 73 мужчинам репродуктивного возраста (20–45 лет).

Результаты. Установлено, что метод картографии равнодействующих создает легко интерпретируемые графические документы по исходным данным и способствует оперативному распознаванию неизвестных состояний/диагнозов. Создаваемые картограммы снимают ограничения ракурсной визуализации многомерных объектов и существенно упрощают интерпретацию данных.

Выводы. Таким образом, эффективность картографической диагностики подтверждается сравнением ее результатов с клиническими. При этом могут в качестве данных могут использоваться как исходные наблюдения, так и статистически обработанный материал.

Ключевые слова: многомерный статистический анализ, метод диагностической картографии, равнодействующие векторов признаков, цитокины, зубиоз, дисбиоз кишечника, хронический простатит, бесплодие.

Для цитирования: Никифоров И.А., Иванова Е.В. Метод картирования равнодействующих при решении задач медицинской микробиологии. Врач и информационные технологии. 2022; 3: 14-23. doi: 10.25881/18110193_2022_3_14.

NIKIFOROV I.A.,

PhD, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Department of the Russian Academy of Sciences, Orenburg Federal Research Center UD of RAS, Orenburg, Russia, e-mail: ianikiforov@rambler.ru

IVANOVA E.V.,

DSc, Associate Professor, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Department of the Russian Academy of Sciences, Orenburg Federal Research Center UD of RAS, Orenburg, Russia, e-mail: walerewna13@gmail.com

METHOD OF MAPPING RESULTS IN SOLVING PROBLEMS OF MEDICAL MICROBIOLOGY

DOI: 10.25881/18110193_2022_3_14

Abstract.

Causative relationships of microbiota with the human's health and diseases are one of the most challenging issues in modern microbiology. Progress in this field could provide new tools for diagnosis, prophylaxis, and treatment. A new automated approach is proposed, as an addition to the methods of multidimensional statistical analysis. This approach is based on a planar projection of multidimensional analytical data and is distinguished by technological simplicity and clarity of the process of operational diagnostics.

Aim of the study was to apply a new automated approach based on the method of mapping diagnostic fields to determine the informative parameters and the main patterns of eubiosis / dysbiosis of the human large intestine, and the development of chronic prostatitis with fertility loss in men.

Materials and methods. Using the method of mapping diagnostic fields, whose geometrization is based on multidimensional observations of the state of each subject, the dimension of the feature space is determined by calculating the resultant of each feature vector and for calculating the Voronoi diagram - a diagnostic palette. Two samples were used in the work: the first consisted of 126 strains isolated from 65 individuals examined for colon dysbiosis (18–45 years old), the second consisted of 124 tests taken from 73 men of reproductive age (20–45 years old).

Results. The cartography method of the resultants creates easily interpretable graphic documents based on the initial data and contributes to the prompt recognition of unknown states/diagnoses. The created cartograms remove the limitations of perspective visualization of multidimensional objects and significantly simplify data interpretation.

Conclusions. The effectiveness of cartographic diagnostics has been confirmed by comparing its results with clinical ones. Both initial observations and statistically processed material can be used as data.

Keywords: *multivariate statistical analysis, diagnostic cartography method, resultant vectors of traits, cytokines, eubiosis, intestinal dysbiosis, chronic prostatitis, infertility.*

For citation: *Nikiforov I.A., Ivanova E.V. Method of mapping resultants in solving problems of medical microbiology. Medical doctor and information technology. 2022; 3: 14-23. doi: 10.25881/18110193_2022_3_14.*

ВВЕДЕНИЕ

Изменение концепции микробиологических исследований в начале 21 века, обусловленное переходом от классической (коховской) микробиологии к симбиотическому подходу, отразилось на увеличении числа научных работ по изучению роли микробиоты в поддержании здоровья и развитии патологии висцеральных органов и систем человека за последние 15 лет [1–3]. В ряде работ показана связь дисбиотических нарушений микробиоты человека с воспалительными заболеваниями кишечника, атеросклерозом, гипертонией, сердечной недостаточностью, хронической патологией почек, ожирением, сахарным диабетом и др. [4; 5]. Однако на сегодняшний день остается неясным, является ли эта связь причинно-следственной и какие факторы являются информативными? Поэтому данная проблема еще далека от своего разрешения и весьма актуальна для медицинской микробиологии.

Известно, что информационная модель состояния обследуемого базируется на множестве аналитических таблиц, текстовых комментариев и выводов, часто имеющих диагностическое значение. Все это способствует классификации наблюдений, результаты которой воплощаются в ограниченный ряд многомерных таксонов, характеризующихся одинаковыми или близкими свойствами. Формальное доказательство принадлежности аналитического теста к такому таксону будет равносильно его диагностике, что позволяет выявить взаимосвязь признака с нозологией и определить его информативность.

Оперативное решение подобных задач предполагает ясное представление о распределении и локализации аналитических тестов в многомерном признаковом пространстве. Если число признаков не превышает трех, особых сложностей не возникает, однако в противном случае все во много раз усложняется. Необходимо конструировать и обобщать многочисленные серии плоских сечений по всем сочетаниям координатных полей, что весьма затруднительно и затратно по времени. Нами предлагается новый автоматизированный подход, который базируется на планарном проецировании многомерных аналитических данных. При этом генерируются простые двумерные карты точек наблюдений, чья позиция вычислена с учетом полного вектора соответствующих им признаков.

Целью исследования явилось использование нового автоматизированного подхода на основе метода картирования диагностических полей к определению информативных параметров и основных закономерностей формирования зубиоза/дисбиоза толстого кишечника человека и развития хронического простатита с потерей фертильности у мужчин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Метод картирования равнодействующих включает алгоритм разбиения плоскости на локусы диаграммы Вороного. Таким образом, появилась возможность оконтуривания и площадного картирования диагностических полей уникальных для каждого диагностического класса. Ниже описываются два примера использования метода картирования равнодействующих (МКР). В работе использованы две выборки: первая — из 126 штаммов, выделенных от 65 обследуемых лиц (от 18 до 45 лет) на дисбиоз толстого кишечника человека, вторая — 124 теста по 73 мужчинам репродуктивного возраста (20–45 лет). Исследования проводились на базе лаборатории инфекционной симбиологии ИКВС УрО РАН, предварительные результаты которых представлены в публикациях [6; 9].

Первый пример иллюстрирует возможности диагностического моделирования непосредственно по исходным данным. Выборка составлена с целью изучения особенностей иммунорегуляторных свойств кишечных микросимбионтов в отношении антимикробных факторов иммунитета (TNF α , IFN γ , IL-6, IL-8, IL-7 и IL-10), определяющие состояние кишечного гомеостаза при зубиозе и дисбиозе. Поэтому для простоты дальнейшего изложения, обозначим нашу выборку как «цитокиновая».

Второй пример демонстрирует результаты анализа главных компонент с целью оценки диагностической значимости биологических свойств микроорганизмов и цитокинов в спермоплазме условно-здоровых, больных хроническим бактериальным простатитом, не осложненным бесплодием и с потерей фертильности. Данные были проанализированы на содержание 7 компонентов: ростовые свойства (РС) и биопленкообразование (БПО) микроорганизмов, цитокины: TNF α , IFN γ , IL-1Ra, IL-10 и IL-17. От обследуемых лиц были выделены микроорганизмы рода *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Neisseria*,

Veillonella, Enterococcus, Streptococcus, Escherichia, Klebsiella, Pseudomonas, Propionibacterium, Actinomyces, Bacillus.

Выборка (условное название — «андрологическая») составлена для изучения микробиологических и иммунологических различий следующих классов: 1. условно-здоровые (УЗ); 2. больные хроническим простатитом (ХП); 3. больные хроническим простатитом и бесплодием (БП).

Использование МКР позволяет обойти сложности визуализации многомерных наблюдений, когда число интерпретируемых факторов превышает пределы человеческого восприятия.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Моделирование диагностических полей по исходным признакам

Классификация исходного информационного массива (выборка из 126 штаммов) свелась к его разбиению на два класса: *эубиоз* и *дисбиоз*. В

качестве первичной проверки информативности выборочных признаков допустимо простое сравнение их средних по классам. Значения средних не должны быть одинаковыми, и чем сильнее они будут отличаться друг от друга — тем лучше. В нашем случае классов всего два — *эубиоз* и *дисбиоз*. Соответствующие им графики переменных не совпадают, а значения первых двух (TNF α и IFN γ) отличаются более чем в три раза (Рис. 1). На этом основании допустимо считать информативность цитокинового набора из шести признаков удовлетворительной.

В таблицах №1 и №2 приводятся основные статистические характеристики исследуемой выборки, названия штаммов кишечной микробиоты и их аббревиатуры, используемые в приводимых ниже иллюстрациях.

Задача автоматизированной диагностики тесно связана с проблемой локализации многомерных областей выборочных классов. Если бы их границы были однозначно очерчены, то

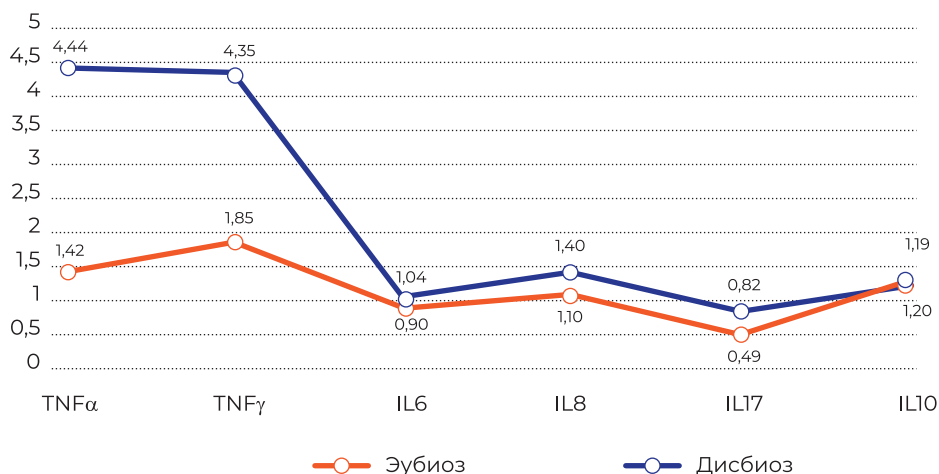


Рисунок 1 — Графики средних значений признаков по классам *эубиоз* и *дисбиоз*.

Таблица 1 — Статистические характеристики выборки

Характеристики	TNF α	IFN γ	IL-6	IL-8	IL-17	IL-10
Среднее	2.78	2.98	0.96	1.24	0.64	1.20
Стандартное отклонение	1.88	1.88	0.25	0.34	0.35	0.91
Медиана	2.86	2.79	0.96	1.20	0.57	0.98
МАКС	7.46	8.75	1.98	2.56	1.34	4.27
МИН	0.11	0.23	0.18	0.11	0.10	0.11
Асимметрия	0.38	0.80	0.09	-0.04	0.21	1.27

Таблица 2 — Обозначения штаммов и аббревиатуры

№ пп	Штаммы	Аббревиатура
1	<i>Bacteroides</i> spp.	bct
2	<i>Bifidobacterium</i> spp.	bfd
3	<i>Candida</i> spp.	cnd
4	<i>Clostridium</i> spp.	clst
5	<i>Enterococcus</i> spp.	ec
6	<i>Escherichia</i> spp.	esh
7	<i>Klebsiellae</i> spp.	klbs
8	<i>Lactobacillus</i> spp.	lct
9	<i>Pseudomonas</i> spp.	psm
10	<i>Staphylococcus</i> spp.	stf

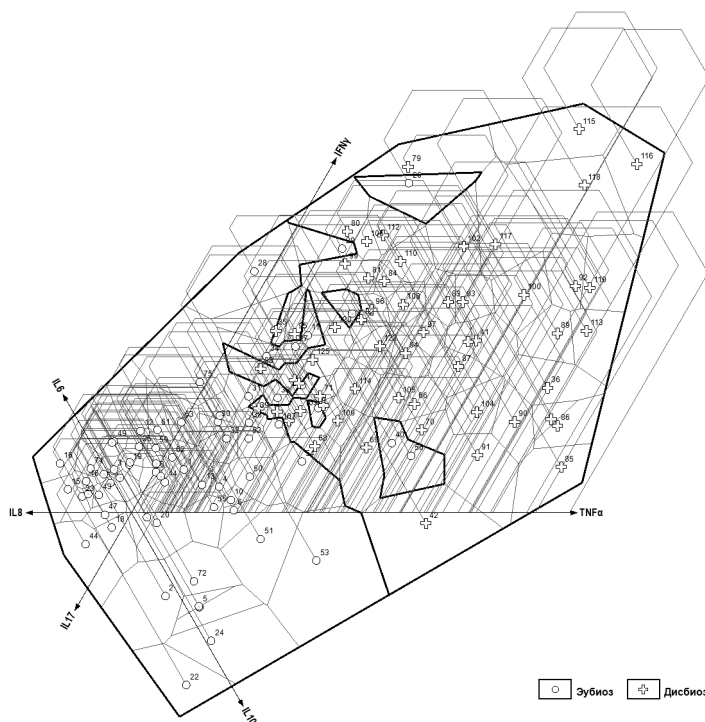


Рисунок 2 — Аналитические равнодействующие и локусы «цитокиновая» выборки.

проблема выяснения принадлежности элемента выборки к тому ли иному диагнозу стала бы тривиальной. Тогда она просто сведется к поиску поименованной диагностической области, куда попадет точка неопределенного диагноза. Сложности на этом пути связаны с оперативной визуализацией n -мерных (здесь n -число признаков) фрагментов признакового пространства, соответствующих конкретным диагнозам.

В нашем случае, эта задача решена путем несколько необычного проецирования аналитических точек из многомерного пространства признаков на плоскость. Их проекции строятся методом вычисления равнодействующих всех числовых показателей для каждого анализа, а области влияния полученных при этом фигуративных точек ограничиваются построенными на их основе локусами диаграммы Вороного.

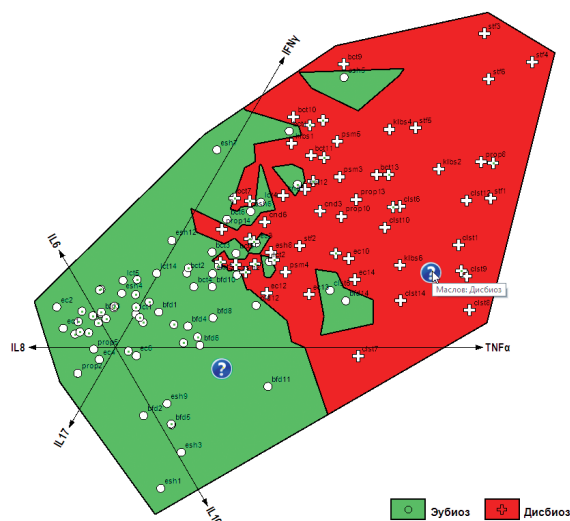


Рисунок 3 — Диагностическая палетка «цитокиновая» выборки.

Поскольку каждый аналитический тест уже имеет свою диагностическую характеристику, то границы диагностических полей определяются слиянием локусов с одинаковыми диагнозами, внутренних фигуративных точек.

Если связать каждый диагноз со специфическим тоном, крапом или цветом возникнет настоящая карта диагнозов (Рис. 3). Несмотря на ее плоскостной облик, данная карта однозначно отражает многомерное пространство точек наблюдений. Она обозреваема и отображает реальные взаимоотношения диагностических классов и локализацию аналитических точек.

Интересно, что после того, как число анализов исходной выборки достигнет некоторого критического значения, карта почти перестает изменяться. С этого момента к ней можно относиться как к *диагностической палетке*, которая является самым важным инструментом оперативной диагностики. Если при ее построении пометить любые диагнозы выборки как неизвестные, то их фигуративные точки превращаются в условный значок вопроса. Наведение на него курсора мыши сопровождается динамической подписью информационного содержания с названием диагноза (рис. 3).

Представленная диагностическая палетка отчетливо демонстрирует деление ее территории на две области, которые в реальности существуют только в 6-ти мерном пространстве

цитокиновых осей координат. Сокращение размерности аналитической модели до 2-х измерений не нарушает пространственные и логические взаимосвязи картируемых объектов. Это легко заметить по специализации состава микробиоты в зонах дисбиоза и зубиоза. В области дисбиоза преобладают комменсальные микроорганизмы (кlostридии, псевдомонады, кандиды, стафилококки и др.), тогда как в поле зубиоза, напротив, доминируют представители нормобиоты — бифидо- и лактобактерии.

Следует заметить, что задачи многомерной визуализации данных выполнимы не только для исходных данных, но и для разного рода расчетных показателей, возникающих например, при факторных решениях. Это особенно актуально в тех случаях, когда оптимальное число интерпретируемых факторов превышает пределы человеческого восприятия. Например, оно может быть выше трех как в нашей выборке, включающей 6 факторов (иммунорегуляторная активность кишечных штаммов в отношении 6 цитокинов).

Таким образом, в результате было получено существенное разделение зу- и дисбиотических штаммов по цитокиновому профилю, что позволяет выделить их в разные группы и определить информативность изученных параметров, участвующих в формировании микробиоценоза толстого кишечника человека. Интерпретация результатов анализа массива дают основание

полагать, что важным фактором поддержания кишечного гомеостаза в условиях эубиоза является способность кишечных микросимбионтов оказывать воздействие на продукцию цитокинов разных функциональных групп (провоспалительных цитокинов IL-6, IL-17, противовоспалительного цитокина IL-10 и хемокина IL-8). В условиях дисбиоза микроорганизмы чаще оказывали провоспалительный эффект, усиливая секрецию TNF α и IFN γ иммунными клетками. Полученные результаты могут быть использованы для выяснения механизмов развития воспалительных реакций в кишечнике при дисбиозе, а также могут быть полезны на этапе отбора и тестирования клинических штаммов по влиянию их на цитокиновый профиль клеток хозяина для создания новых бактериальных препаратов таргетного действия.

2. Моделирование диагностических полей по значениям главных компонент

Сложности изучения информационного массива «андрологической» выборки связаны с неоднократно отмеченными случаями синхронного протекания данной нозологии. Например, установлено, что в ряде случаев бесплодие развивается как осложнение хронического простатита [7; 8]. Это заметно при рассмотрении графиков средних по классам заболеваний, которые практически повторяют друг друга.

В этой связи, для выявления более информативных, чем исходные признаки показателей,

выборка исследована с помощью модуля «Анализ главных компонент и классификация» программного комплекса STATISTICA 10. Высокая информативность главных компонент подтверждается серией их графиков по каждому из трех диагностических классов.

Из рисунка следует, что значения главных компонент специфичны для каждого класса, т.е. они независимы друг от друга и, как следствие, объединяемые ими объекты должны различаться по свойствам. Они в свою очередь зависят от факторной структуры, которая приводится в таблице 3.

Однако для позиционирования фигуративных точек в четырехосном пространстве следует изучить их проекции уже на шесть факторных плоскостей, обозреваемых в разных ракурсах. Таким образом, традиционный анализ пространственных закономерностей по множеству ортогональных сечений весьма сложен и трудоемок.

Рассматриваемый в настоящей работе подход позволяет оперативно решить эту проблему. Для него не имеет значения исходная размерность признакового пространства, которое методом проецирования равнодействующих редуцируется до двух измерений. При этом пространственные взаимосвязи аналитических данных сохраняются и переносятся на плоскость, становясь обозримыми и доступными для геометризации. В качестве примера создадим диагностическую палетку не по четырем, а сразу по всем семи рассчитанным ранее главным компонентам (Рис. 6).

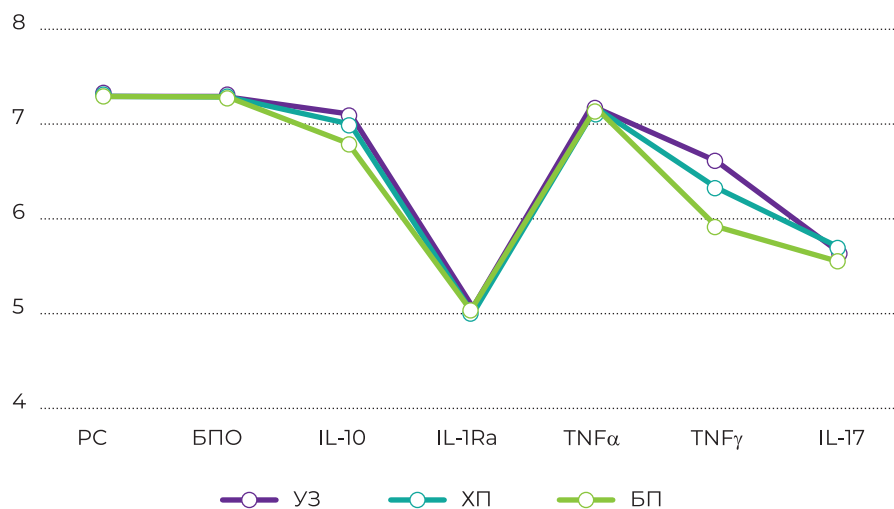


Рисунок 4 — Графики исходных средних значений признаков по классам.

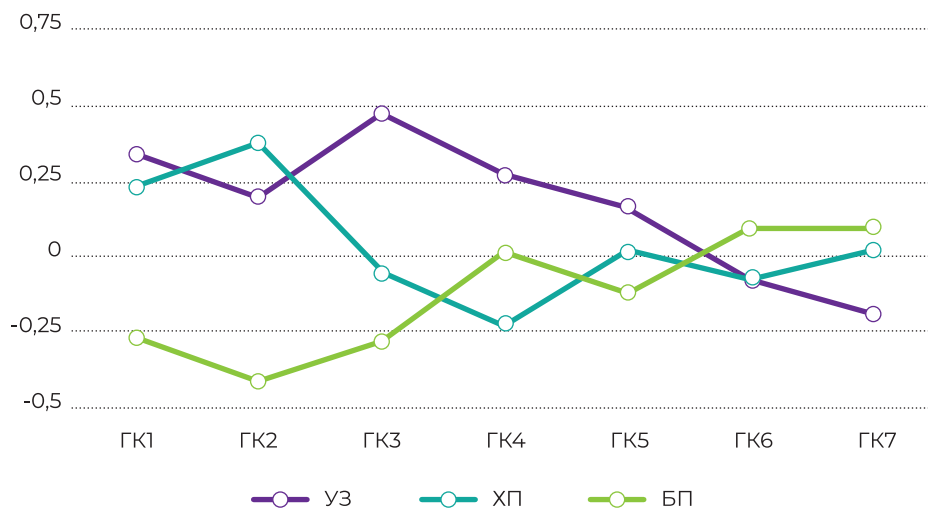


Рисунок 5 — Графики средних значений главных компонент по классам.

Таблица 3 — Факторные нагрузки на основе корреляций

Признаки	ГК1	ГК2	ГК3	ГК4	ГК5	ГК6	ГК7
РС	0,245	-0,568	0,548	-0,562	0,003	0,028	-0,011
БПО	0,240	-0,506	-0,769	-0,288	-0,109	0,002	-0,016
IL-10	-0,791	-0,014	0,089	-0,010	-0,593	0,071	0,099
IL-1Ra	0,063	0,758	-0,113	-0,635	-0,024	-0,059	0,032
TNFα	-0,862	-0,158	-0,002	-0,053	0,083	-0,468	-0,051
IFNγ	-0,857	-0,106	-0,092	-0,104	0,314	0,169	0,329
IL-17	-0,886	0,028	-0,053	-0,118	0,114	0,233	-0,361

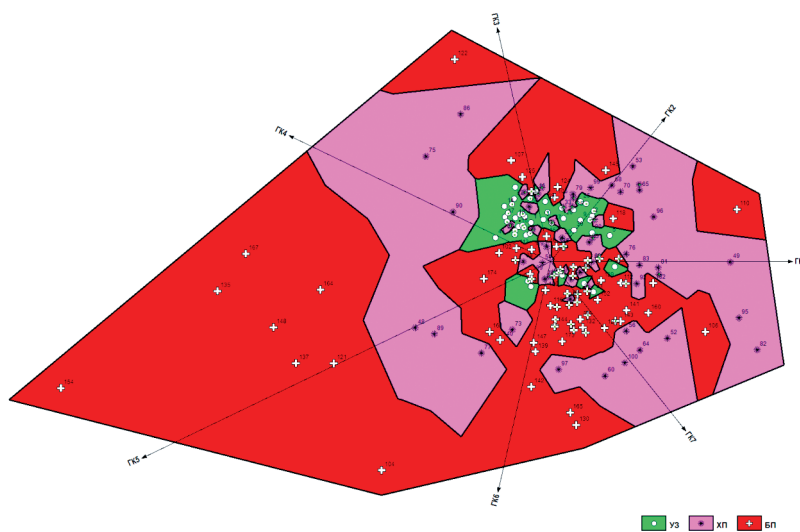


Рисунок 6 — Диагностическая палетка ГК «андронологической» выборки.

Таблица 4 — Интерпретация диагностических классов выборки

Класс	РС	БПО	IL-10	IL-1Ra	TNF α	IFN γ	IL-17
УЗ	-0,568	-0,506	-0,791	0,758	-0,862	-0,857	-0,886
ХП	-0,50	0,263	-0,791	0,9	-0,862	-0,857	-0,886
БП	≈ 0	>1,3	>1,3	-0,758	0,862	0,857	0,886

Обращает на себя внимание некоторая концентричность облика диагностических полей, возможно, связанная с последовательностью этапов развития бесплодия у мужчин. Структурный анализ полученной картограммы способствует распознаванию их содержания, детали которого раскрываются следующими фактами: во-первых — компонентный состав тестов класса УЗ весьма близок. Это подтверждается высокой плотностью их размещения в центральной части диаграммы; во-вторых — в данный момент поле УЗ прорывается множеством мелких площадок хронического простатита, что свидетельствует об их более поздней природе. Другими словами, они возникают из зоны УЗ и разрастаются за ее счет; в третьих — непосредственные границы полей УЗ и БП вероятно возникли в результате осложнений хронического простатита до состояния бесплодия. Этот процесс и уничтожил ныне отсутствующую оторочку хронического простатита между полями здоровья и бесплодия.

Интерпретация диагностических классов выборки базируется на численном сравнении таблицы 3 и графиков средних значений главных компонент (Рис. 5). Для упрощения восприятия полученных данных, положительные значения выделены жирным шрифтом.

Таким образом, в результате интерпретация классов выявились 2 важные закономерности:

1. Свойства и компонентный состав классов УЗ и ХП весьма близки, что свидетельствует о возможности обратного процесса, т.е. выздоровление пациента при адекватной терапии.
2. Класс бесплодия по компонентному составу почти зеркально отличается от двух предыдущих, что позволяет предположить трудности

лечения данного осложнения хронического простатита, делая его маловероятным.

Представленный материал — это пример инфектологического подхода изучения хронического бактериального простатита у мужчин, открывающий нам новые возможности для понимания фундаментальных и решения прикладных задач уропатологии с акцентированием внимания на роли микробного фактора при хроническом бактериальном простатите.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ массивов результатов исследований формирования зубиоза/дисбиоза толстого кишечника человека и бесплодия у мужчин с хроническим простатитом с использованием приема диагностической картографии позволил сделать следующие выводы:

1. Метод картографии равнодействующих создает легко интерпретируемые графические документы по исходным данным.
2. Диагностическая палетка МКР способствует оперативному распознаванию неизвестных диагнозов.
3. Закономерности распределения наблюдений в многомерном пространстве признаков после планарного проецирования полностью сохраняются. Это подтверждается геометрической консолидацией видов микробиты по типам зубиоза и дисбиоза.
4. МКР является полезным дополнением инструментария результатов многомерного статистического анализа. Создаваемые с помощью МКР картограммы снимают ограничения ракурсной визуализации многомерных объектов и существенно упрощают интерпретацию данных.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микросимбиоз. Екатеринбург: УрО РАН, 2014. — 257 с. [Bukharin OV, Perunova NB. Microsymbiogenesis. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2014. 257 p. (In Russ.)]
2. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В. Бифидофлора при ассоциативном симбиозе человека. Екатеринбург: УрО РАН, 2014. 212 с. [Bukharin OV, Perunova NB, Ivanova EV. Bifidoflora in human associative symbiosis. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2014. 212 p. (In Russ.)]
3. Davenport ER, et al. The human microbiome in evolution. BMC Biol. 2017; 15(1): 127.
4. Gavin PG, et al. Hamilton-Williams E.E. Intestinal metaproteomics reveals host-microbiota interactions in subjects at risk for type 1 diabetes. Diabetes Care. 2018; 41: 2178–2186.
5. Winter SE, Lopez CA, Bäuml AJ. The dynamics of gut-associated microbial communities during inflammation. EMBO Rep. 2013; 14(4): 319–327.
6. Бухарин О.В. и др. Иммунорегуляторный профиль микросимбионтов кишечного биотопа человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2018. — №4. — С.42–51. [Bukharin OV, et al. Immunoregulatory profile of microsymbionts of the human intestinal biotope. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2018; 4: 42–51. (In Russ.)]
7. Шевырин А.А. и др. Диагностика и лечение пациентов с инфертильностью, развившейся на фоне хронического простатита // РМЖ. — 2020. — №13. — С.6–9. [Shevyrin AA, et al. Diagnosis and treatment of patients with infertility that developed against the background of chronic prostatitis. RMJ. 2020; 13: 6–9. (In Russ.)]
8. Ефремов Е. А., Касатонова Е. В., Симаков В. В. Возможная роль предстательной железы в формировании идиопатического мужского бесплодия // Лечебное дело. — 2019. — №3. — С.74–80. [Efremov EA, Kasatonova EV, Simakov VV. Possible role of the prostate gland in the formation of idiopathic male infertility. Medical business. 2019; 3: 74–80. (In Russ.)]
9. Бухарин О.В. и др. Характеристика микробиоты и цитокинового профиля сперматозоидов у больных хроническим бактериальным простатитом // Урология. — 2020. — №5. — С.276–282. [Bukharin OV, et al. Characterization of the microbiota and cytokine profile of spermatozoa in patients with chronic bacterial prostatitis. Urology. 2020; 5: 276–282. (In Russ.)]