

## РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ БОЛЕЗНЕЙ, ВЫЗВАННЫХ РНК-ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СТЕХИОМЕТРИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Виноградов К.А., Сергеева И.В., Шадрин К.В.

*ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф.Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, Россия (660022, Красноярск, ул.Партизана Железняка, 1), e-mail: rector@krasgmu.ru*

Быстрое определение степени тяжести течения инфекционного заболевания позволяет разработать адекватную схему лечения. Цель работы: разработка алгоритма определения степени тяжести инфекционного заболевания с использованием стехиометрического моделирования метаболической активности лимфоцита. В данной работе был предложен алгоритм определения степени тяжести течения инфекционного заболевания с использованием стехиометрического моделирования. Стехиометрическая модель построена с учетом метаболических особенностей лимфоцита, что позволяет включать в модель метаболиты, легко измеряемые в клинике, такие как глюкоза, лактат, кислород и углекислый газ. Применение разработанного алгоритма позволит существенно сократить время определения степени тяжести инфекционного заболевания. Разработанный алгоритм можно использовать не только метаболических цепочек лимфоцитов. Его можно использовать для анализа степени тяжести и характера течения других заболеваний человека, вызванных, например, ДНК-вирусными инфекциями.

Ключевые слова: метаболические ферменты, ОРВИ, тяжесть течения, стехиометрическое моделирование.

## THE DEVELOPMENT OF AN ALGORITHM FOR DETERMINING THE SEVERITY OF DISEASES CAUSED BY RNA VIRUS INFECTIONS USING STOICHIOMETRIC MODELING

Vinogradov K. A., Sergeeva I. V., Shadrin K. V.

*Krasnoyarsk State Medical University. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia (660022, Krasnoyarsk, street Partizan Zheleznyaka, 1), e-mail: rector@krasgmu.ru.*

Rapid determination of the degree of severity of the infection allows the development of an adequate regimen. In this paper, it was proposed an algorithm for determining the degree of severity of the infectious disease with the use of stoichiometric modeling. Objective: To develop an algorithm determine the severity of infectious disease modeling using stoichiometric metabolic activity of lymphocytes. The stoichiometric model is built based on metabolic characteristics of lymphocytes, which allows to include in the model metabolites easily measured in the clinic, such as glucose, lactate, oxygen and carbon dioxide. The use of the algorithm will significantly reduce the time of determining the severity of the infection. The developed algorithm can be used not only metabolic chains lymphocytes. It can be used to analyze the severity and nature of the flow of other human diseases caused by, for example, DNA viral infections.

Keywords: metabolic enzymes, acute respiratory viral infection, severity, stoichiometric modeling.

В настоящее время в медицинских учреждениях отсутствуют алгоритмы и компьютерные системы, позволяющие на основе анализа активности внутриклеточных ферментов определять степень тяжести протекания болезни.

Сергеевой и соавт. [3,4] экспериментально разработан подход к определению тяжести течения болезней, вызванных вирусными инфекциями, на основе анализа активности внутриклеточных ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ), НАД- и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназ (НАДГДГ и НАДФГДГ), НАД- и НАДФ-зависимой

малатдегидрогеназ (НАДМДГ и НАДФМДГ), а также глутатионредуктазы (ГР). Данный метод позволяет определить степень тяжести инфекционного заболевания (средней тяжести или тяжелое течение ОРВИ) по величине активности фермента Г6ФДГ. Использование такого метода связано с большими материальными и временными затратами, что может привести к несвоевременному оказанию необходимой медицинской помощи. Задачу определения степени тяжести инфекционного заболевания можно существенно облегчить с использованием математического моделирования, которое в настоящее время часто применяется в медицине [2].

Цель работы: разработка алгоритма определения степени тяжести инфекционного заболевания с использованием стехиометрического моделирования метаболической активности лимфоцита.

### **Материалы и методы**

#### *Экспериментальные группы*

Для построения модели использовали энзиматические показатели лимфоцитов, полученные экспериментально от 37 здоровых людей (контроль) и 33 больных с диагнозом «ОРВИ» (ОРВИ средней степени тяжести – 12 больных, ОРВИ высокой степени тяжести – 21) в возрасте от 18 до 42 лет [3].

#### *Метод баланса стационарных метаболических потоков*

Для описания метаболических процессов в клетке наиболее часто используют методы стехиометрического моделирования [3], одним из которых является метод баланса стационарных метаболических потоков [1,10]. Данный подход к моделированию требует наименьшего количества начальной информации (знание стехиометрии исследуемой системы и точное значение (или диапазон изменений) хотя бы одного метаболического потока). Указанный метод позволяет вычислять величины метаболических потоков в клетке, которые являются неизвестными в модели. По соотношениям величин потоков можно определять направление метаболизма.

В основе стехиометрического моделирования лежит метод линейного программирования [10]. Полагают, что клетка очень быстро достигает стационарного состояния, т.е. концентрации клеточных метаболитов не изменяются с течением времени [6]. Поскольку в метаболической системе количество биохимических реакций много больше, чем число метаболитов, то необходимо ввести дополнительные ограничения на метаболические потоки, обусловленные или термодинамикой биохимических реакций, или экспериментальными данными.

#### *Построение стехиометрической модели*

Стехиометрическую модель строили на основе биохимических реакций, протекающих в лимфоците. В модель были включены гликолиз, цикл Кребса, жировой обмен, обмен аминокислот, пентозофосфатный путь.

Вычисление внутриклеточных потоков производили по алгоритму, описанному в [5,8]. Скорость изменения концентрации клеточных метаболитов может быть представлена в виде произведения стехиометрической матрицы  $S$  на вектор величин метаболических потоков:

$$\frac{dx}{dt} = S \cdot v, \quad (1)$$

где каждый элемент  $x_i$  вектора  $x$  является концентрацией внутриклеточного метаболита  $i$ ,  $S$  является стехиометрической матрицей, где каждый элемент  $s_{ij}$  является коэффициентом метаболита  $i$  в реакции  $j$ , а элемент  $v_j$  вектора  $v$  является скоростью реакции  $j$ .

Метаболиты, для которых построена стехиометрическая модель, представлены в таблице 1.

Полагали, что все концентрации всех метаболитов находятся в квазистационарном состоянии (изменение концентрации метаболитов является более быстрым процессом по сравнению с изменениями внешних условий [10]), поэтому (1) можно переписать в виде

$$S \cdot v = 0. \quad (2)$$

В построенной метаболической сети метаболических потоков больше, чем метаболитов (40 метаболических потока и 30 метаболитов). Это означает, что система сильно недоопределена. Доопределить систему можно путем введения дополнительных ограничений на величины метаболических потоков  $v_j^{\min} \leq v_j \leq v_j^{\max}$ , которые определяются исходя из термодинамики процесса или из экспериментальных данных. В нашем случае систему доопределяли путем введения ограничений на потоки, катализируемые ферментами ГЗФДГ, ЛДГ, НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ, НАДГДГ, НАДФГДГ, НАДМДГ, НАДФМДГ, полученные из [9]). Таким образом, задача вычисления неизвестных метаболических потоков сводится к решению задачи оптимизации, для формулирования которой необходимо определить целевую функцию, которую необходимо или максимизировать, или минимизировать.

Целевая функция  $Z$ , которая может быть записана:

$$Z = c^T \cdot v, \quad (3)$$

где  $Z$  является целевой функцией,  $c$  – вектор, каждый элемент которого  $c_j$  определяет коэффициент или вес для каждого потока  $v_j$  из  $v$ .

**Таблица 1**

Метаболиты

№	Метаболиты
1.	Глюкоза
2.	Глюкозо-6-фосфат
3.	Фруктозо-6-фосфат
4.	Фруктозо1-6-бифосфат
5.	Глицеральдегидфосфат
6.	1,3-бифосфоглицелат
7.	3-фосфоглицерат
8.	Фосфоэнолпируват
9.	Пируват
10.	Лактат
11.	Оксалоацетат
12.	Ацетил-КоА
13.	Цитрат
14.	Изоцитрат
15.	а-кетоглутарат
16.	Сакцинил-КоА
17.	Сукцинат
18.	Фумарат
19.	Малат
20.	Окисленный глутамат
21.	Восстановленный глутамат
22.	Глутамат
23.	O <sub>2</sub>
24.	CO <sub>2</sub>
25.	АТФ
26.	НАДН
27.	ФАДН <sub>2</sub>
28.	НАДФН
29.	Жирные кислоты
30.	Триацилглицериды

#### *Выбор целевой функции*

Показано, что степень тяжести инфекционного заболевания зависит от величины активности Г6ФДГ [3]. Этот фермент отражает интенсивность реакций в пентозофосфатном пути и степень того, с какой интенсивностью лимфоциты могут осуществлять синтетические, пластические и пролиферативные процессы. Поэтому сумма реакций пентозофосфатного цикла, где образуется клеточный НАДФН, может быть выбрана в качестве целевой функции.

Кроме того, в критических состояниях, таких, как болезнь, в лимфоцитах происходит увеличение интенсивности реакций цикла Кребса и, в частности, возрастает активность фермента сукцинатдигидрогеназы [3,4]. Цикл Кребса обеспечивает цепь переноса электронов макроэргическими соединениями, необходимыми для производства АТФ. Поэтому активность указанного фермента может быть выбрана в качестве целевой функции.

При определении величин метаболических потоков указанные особенности функционирования лимфоцитов могут быть учтены при формулировке задачи

многокритериального программирования с максимизацией суммы реакций пентозофосфатного цикла, где образуется клеточный НАДФН и величины активности сукцинатдигидрогеназы. Для решения поставленной задачи в работе использовали метод  $\epsilon$ -ограничений [9], который максимизирует основную целевую функцию при ограничениях, накладываемых на дополнительную целевую функцию. Здесь в качестве основной целевой функции использовали величину активности сукцинатдигидрогеназы, а в качестве дополнительной – сумму реакций пентозофосфатного цикла.

Многокритериальную оптимизационную задачу решали отдельно для каждой экспериментальной группы.

## **Результаты**

### *Стехиометрическая модель метаболизма лимфоцита*

Распределение метаболических потоков в лимфоците для контрольной группы и для групп больных ОРВИ средней и высокой степени тяжести представлено на рисунке 1. Из результатов стехиометрического моделирования видно, что величины активности Г6ФДГ, указывающей на степень тяжести течения ОРВИ (поток 33), в контрольной группе и в группе больных ОРВИ высокой степени тяжести схожи, и ниже, чем у больных ОРВИ средней степени тяжести. Величины метаболических потоков согласуются с экспериментальными данными [3].

### *Определение степени тяжести инфекционного заболевания*

Алгоритм определения степени тяжести инфекционного заболевания с использованием стехиометрической модели описан ниже.

1. Калибровка стехиометрической модели по известным данным активностей ферментов для каждой экспериментальной группы. Входными данными для модели на этапе калибровки являются активности ферментов для каждой группы, а на выходе получают значения концентраций глюкозы, лактата, парциальных давлений кислорода и углекислого газа. В процессе калибровки устанавливается соответствие между активностью внутриклеточных ферментов и концентрациями глюкозы, лактата, парциальными давлениями кислорода и углекислого газа в крови для каждого состояния.

2. После калибровки входные и выходные данные модели меняются местами. Теперь на вход подаются значения концентраций глюкозы, лактата, парциальных давлений кислорода и углекислого газа, полученных у пациента. Модель вычисляет распределение метаболических потоков согласно построенной стехиометрической матрице и выдает значение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, которая и указывает на степень тяжести течения ОРВИ (рис.2).

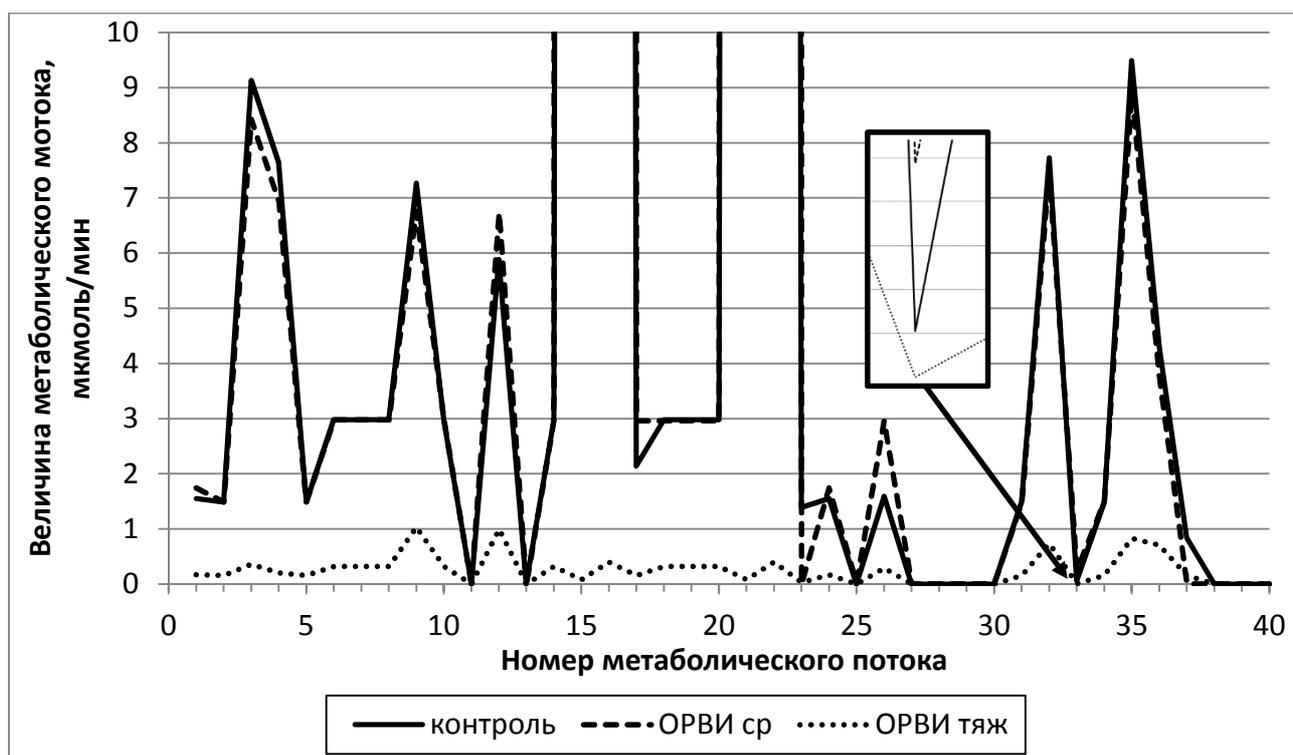


Рис. 1. Распределение метаболических потоков в лимфоците для контрольной группы ( $n=37$ ), для больных ОРВИ средней степени тяжести ( $n=12$ ), для больных ОРВИ высокой степени тяжести ( $n=21$ )

Откалибровав модель единожды на данных, полученных для конкретного вида клеток иммунной системы, можно использовать ее для определения степени тяжести течения ОРВИ.

### Заключение

Быстрое определение степени тяжести течения инфекционного заболевания позволяет разработать адекватную схему лечения. В данной работе был предложен алгоритм определения степени тяжести течения инфекционного заболевания с использованием стехиометрического моделирования. Стехиометрическая модель построена с учетом метаболических особенностей лимфоцита, что позволяет включать в модель метаболиты, легко измеряемые в клинике, такие как глюкоза, лактат, кислород и углекислый газ. Применение разработанного алгоритма позволит существенно сократить время определения степени тяжести инфекционного заболевания.

Разработанный алгоритм можно использовать не только для метаболических цепочек лимфоцитов. Его можно использовать для анализа степени тяжести и характера течения других заболеваний человека, вызванных, например, ДНК-вирусными инфекциями.

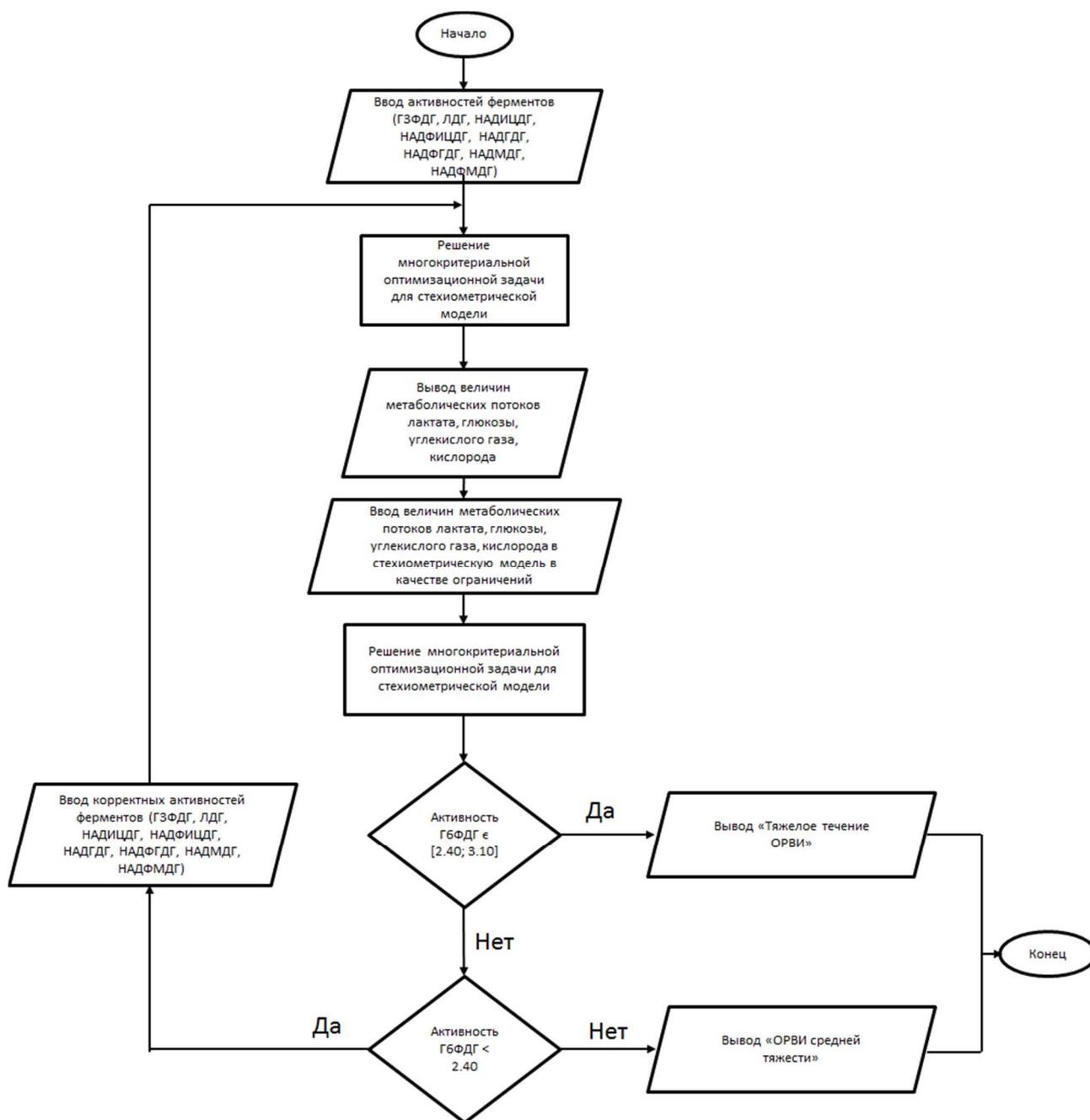


Рис. 2. Алгоритм определения степени тяжести течения ОРВИ с использованием стехиометрического моделирования

### Список литературы

1. Дроздов-Тихомиров Л.Н., Серганова В.В., Скурида Г.И. Внутренние стационарные метаболические потоки в мультферментных системах: Синтез лизина из ацетата продуцентом *Corynebacterium glutamicum* // Биотехнология. – 1986. – № 2 (8). – С. 28-37.
2. Наркевич А.Н., Виноградов К.А., Корецкая Н.М., Наркевич А.А. Использование прогностических математических моделей для выявления больных туберкулезом легких // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – Т. 91, № 9. – С. 44-45.

3. Сергеева И.В., Тихонова Е.П., Камзалакова Н.И., Булыгин Г.В. Особенности метаболических процессов в лимфоцитах при острых респираторных вирусных инфекциях // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 1. – С. 60-64.
4. Солончук Ю.Р. Особенности метаболических механизмов иммунного ответа у больных абсцессом легких и атопической бронхиальной астмой / Ю.Р. Солончук, Н.И. Камзалакова, М.М. Петрова // Сибирское медицинское обозрение. – 2009. – № 6. – С. 15-19.
5. Kauffman K.J., Prakash P., Edwards J.S. Advances in flux balance analysis // Current Opinion in Biotechnology. – 2003. – Vol. 14, № 5. – P. 491–496.
6. Lee K., Berthiaume F., Stephanopoulos G.N., Yarmush D.M., Yarmush, M.L. Metabolic flux analysis of postburn hepatic hypermetabolism // Metab. Eng. – 2000. – Vol. 2. – P. 312–327.
7. Machado D., Costa R.S., Rocha M., Ferreira E.C., Tidor D., Rocha I. Modeling formalisms in Systems Biology // AMB Express. – 2011. – Vol. 1, No. 45. – P. 70.
8. Raman K., Chandra N. Flux balance analysis of biological systems: applications and challenges // Briefings in Bioinformatics. – 2009. – Vol. 10, No. 4. – P. 435-449.
9. Sharma N.S., Ierapetritou M.G., Yarmush M.L. Novel quantitative tools for engineering analysis of hepatocyte cultures in bioartificial liver systems // Biotechnol. Bioeng. – 2005. – Vol. 92. – P. 321–335.
10. Varma A., Boesch B.W., Palsson B.O. Biochemical production capabilities of Escherichia coli // Biotechnology and Bioengineering. – 1993. – Vol. 42, № 1. – P. 59-73.

**Рецензенты:**

Винник Ю.С., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск;

Бакшеева С.С., д.б.н., доцент, заместитель директора ИПДО Красноярского аграрного университета, г. Красноярск.