

УДК 579.262+576.8.095.3

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ МИКРОСИМБИОЦЕНОЗА С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕЖМИКРОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

© 2011 г. **О. В. Бухарин, Б. Я. Усвятцов, *Ю. А. Хлопко,**
****А. М. Осипова**

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,

*Отдел биотехнических систем ОНЦ УрО РАН,

**Оренбургский государственный аграрный университет, г. Оренбург

Для исследования закономерностей функционирования биоценозов широко применяются методы моделирования биосистем [7, 9].

Метод кластерного анализа был использован для определения иерархической структуры микробного симбиоза: дифференциации штаммов — лидеров с высоким уровнем коммуникативной активности от штаммов со средним и низким уровнем коммуникативной активности [3].

С целью прогнозирования течения инфекционного процесса с учетом поведенческих реакций бактерий-ассоциантов в условиях микросимбиоза методом наименьших квадратов были получены регрессионные уравнения и рассчитан коэффициент функционального состояния биоценоза (Кфсб). По уровню Кфсб прогнозировали резидентное бактерионосительство, рецидив заболевания у больных хроническим тонзиллитом и риск развития болезни у здоровых лиц [2].

В работах подобного плана проводилась оценка межмикробных взаимодействий в толстой кишке методом корреляционного анализа частоты встречаемости положительных (синергетических) и отрицательных (конкурентных) связей между штаммами [6]. Было установлено, что в биоценозе здорового человека складываются положительные связи между симбионтами, а у больных с хронической почечной недостаточностью значительно увеличивается число отрицательных связей, что могло быть использовано для изучения механизмов развития дисбактериоза в кишечнике.

Целью настоящего исследования было оценить существование корреляционных связей между разнонаправленными взаимодействиями штаммов-симбионтов на слизистой оболочке миндалин человека для прогнозирования стабильности микросимбиоза.

Методы

Было исследовано 100 микробных биоценозов поверхности слизистой оболочки миндалин 50 больных острым и хроническим тонзиллитом, 12 бактерионосителей *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*, а также 38 здоровых лиц. Всего было выделено 455 штаммов разных видов, относящихся к родам *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Micrococcus*, *Neisseria*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Yersinia*, *Klebsiella* и др. Выделенные микроорганизмы идентифицированы по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. Для дифференциации по ферментативной активности использовали биохимические тесты фирмы «Lachema» (Чехия). Из разных биоценозов высевались от 2 до 6 бактерий-ассоциантов. Изучался характер связей между ассоциантами внутри каждого биоценоза. Направленность связей (усиление, подавление свойства или индифферентное действие) оценивали по модификации гемолитической (ГА), лецитовителлазной (ЛецА), лизо-

Цель исследования — анализ корреляционных связей между разнонаправленными взаимодействиями штаммов-симбионтов на слизистой оболочке миндалин человека. Исследовано 100 микробных биоценозов поверхности слизистой оболочки миндалин здоровых лиц, больных хроническим тонзиллитом и бактерионосителей *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*. Направленность связей (усиление, подавление свойства или индифферентное действие) оценивали по модификации гемолитической, лецитовителлазной, лизоцимной, антилизотимной активностей и по изменению роста. На основе корреляционного анализа особенностей межмикробных взаимодействий были составлены прогностические модели зависимости между усиливающими, подавляющими и индифферентными сигналами симбионтов, позволяющие оценивать динамику микрофлоры, определять риск развития и тяжесть течения инфекционного процесса.

Ключевые слова:

микросимбиоз, межмикробные взаимодействия, корреляционный анализ, прогностические модели.

цимной (ЛА), антилизотимной (АЛА) активностей, а также по изменению роста симбионта. Гемолитическую, лецитовителлазную, лизотимную активности определяли чашечными методами, антилизотимную активность и динамику роста — фотометрическим методом [1]. Модификацию свойств бактерий при межмикробном взаимодействии исследовали чашечным методом [8].

Обработку материала проводили методом корреляционного анализа [5]. Для анализа зависимости между усиливающими, подавляющими и индифферентными сигналами в микросимбиозе миндалин здоровых лиц, больных хроническим тонзиллитом и бактерионосителей были составлены прогностические модели [4, 10].

Результаты

Данные о зависимости между усиливающими, подавляющими и индифферентными сигналами по отношению к свойствам симбионтов у здоровых лиц показали (рис. 1) сходную корреляцию в динамике сигналов по модификации АЛА и ЛА: при максимальном числе усиливающих сигналов имело место максимальное число подавляющих, при максимальном числе индифферентных сигналов отсутствовали сигналы на повышение данных свойств. Динамика сигналов на ГА также свидетельствовала об определенном равновесии в экспрессии данного фактора: уменьшение усиливающих сигналов коррелировало с уменьшением подавляющих, при этом число индифферентных сигналов увеличивалось. Установлена сходная динамика сигналов на модификацию ЛецА: при отсутствии усиливающих сигналов имело место малое число сигналов на подавление свойства. В микросимбиозе здоровых отсутствовали сигналы на усиление роста симбионтов, было возможно любое сочетание корреляционных связей между индифферентными и подавляющими рост сигналами.

Прогностические модели зависимости между усиливающими, подавляющими и индифферентными сигналами в микросимбиозе миндалин больных хроническим тонзиллитом показали (рис. 2) сходство моделей по сигналам на экспрессию ГА, ЛецА, ЛА и рост симбионтов: увеличение числа сигналов на усиление свойства сопровождалось уменьшением количества подавляющих и индифферентных сигналов. Таким образом, в микросимбиозе больных можно было прогнозировать при низком числе индифферентных сигналов повышение числа сигналов на усиление экспрессии факторов патогенности, колонизации и роста симбионтов, что может иметь место в ходе развития инфекционного процесса. Максимальное число сигналов на усиление ГА прогнозировалось при минимальном числе индифферентных или подавляющих сигналов. Прогностическая модель динамики сигналов на модификацию АЛА имела форму «седла», что указывало на устойчивое положение модели: имело место взаимное сдерживание как усиливающих, так

и подавляющих сигналов на экспрессию фактора персистенции.

Прогностические модели зависимости между усиливающими, подавляющими и индифферентными сигналами в микросимбиозе миндалин бактерионосителей показали (рис. 3) сходство моделей прогнозирования динамики ГА, АЛА и роста. Эти модели характеризовались куполообразной формой, когда максимальное число усиливающих сигналов коррелировало с максимальным числом подавляющих и индифферентных сигналов. Модель прогноза ЛецА показала, что при возрастании числа сигналов на усиление свойства происходило возрастание сигналов на его подавление. Возрастание числа сигналов на продукцию ЛА прогнозируется при высоком числе сигналов на подавление данного фактора, а также при условии отсутствия индифферентных сигналов.

Обсуждение результатов

Полученные математические модели («поверхности отклика») позволяют прогнозировать динамику свойств симбионтов с учетом зависимости между усиливающими, подавляющими и индифферентными сигналами. В микросимбиозе здоровых динамика зависимости между сигналами по модификации факторов патогенности, персистенции и роста штаммов симбионтов свидетельствовала об относительном равновесии в микробном сообществе, когда максимальное число усиливающих сигналов соответствовало максимальному числу сигналов на подавление, а при максимальном числе индифферентных сигналов отсутствовали сигналы на повышение экспрессии изученных факторов.

Наиболее показательна модель прогноза ГА: снижение числа усиливающих сигналов коррелировало со снижением числа подавляющих, при этом возрастало число индифферентных сигналов. Такое микробное сообщество можно оценить как «спокойное», сбалансированное, что подтверждается отсутствием усиливающих сигналов на рост симбионтов. В результате можно прогнозировать стабильность микросимбиоза миндалин и состояние здоровья. В микросимбиозе миндалин больных хроническим тонзиллитом модели динамики факторов патогенности (ГА, ЛецА), колонизации (ЛА) и роста прогнозируют отсутствие равновесия в характере межмикробных взаимодействий, возможность рецидива болезни, когда увеличение числа сигналов на усиление факторов патогенности и роста сопровождалось минимальным числом подавляющих и индифферентных сигналов. Модель АЛА имела форму «седла», что указывало на взаимное сдерживание сигналов по усилению и подавлению экспрессии фактора персистенции.

Наиболее показательна динамика частоты экспрессии факторов патогенности (ГА, ЛецА и роста): увеличение числа усиливающих сигналов коррелировало с минимальным числом подавляющих и индифферентных сигналов. Следовательно, в микросимбиозе миндалин больных хроническим тон-

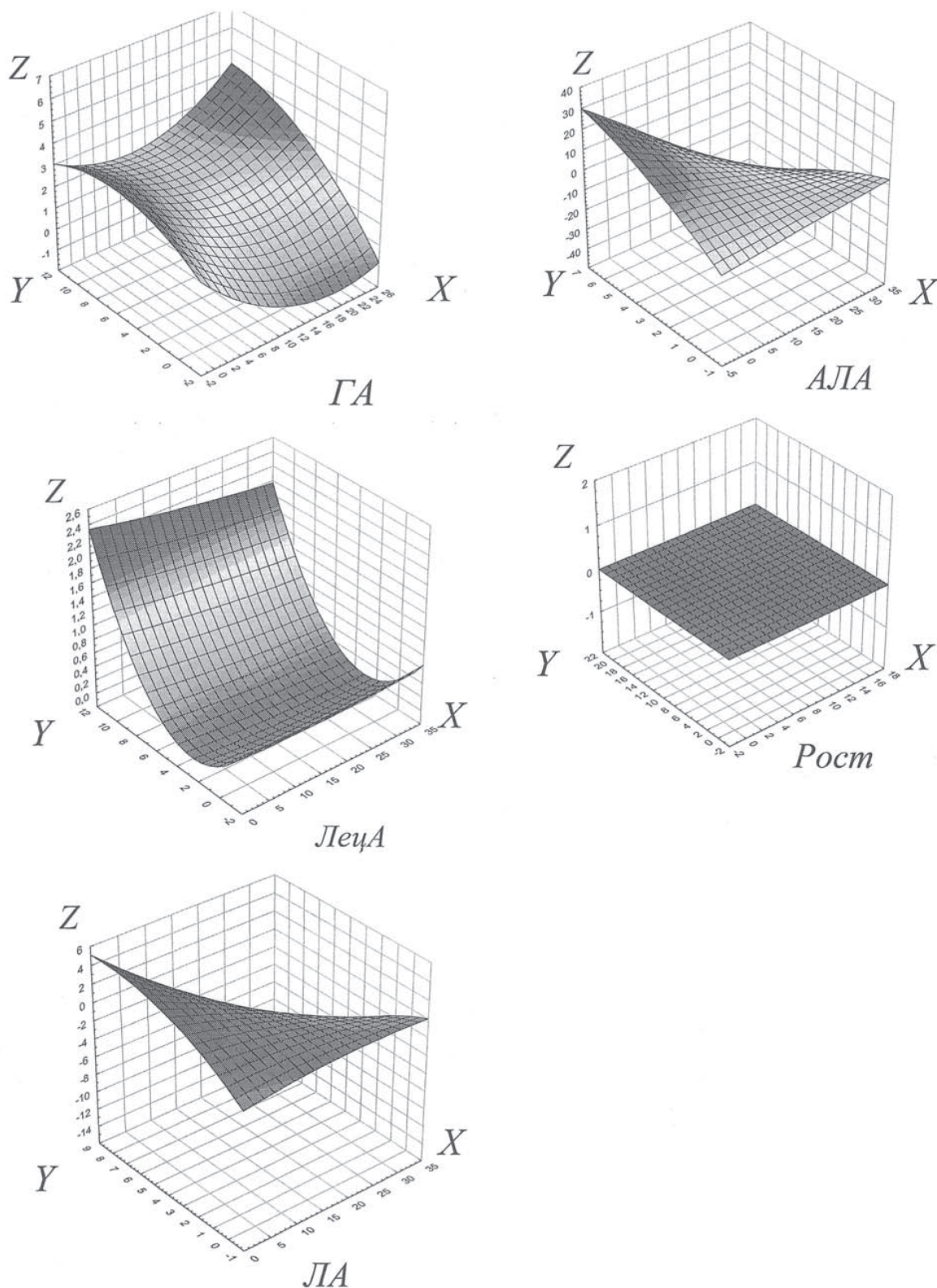


Рис. 1. Прогностические модели зависимости усиливающих (Z) сигналов от подавляющих (Y) и индифферентных (X) в микросимбиозе миндалин здоровых людей

зилитом преобладала индукция экспрессии факторов патогенности симбионтов, что является основанием для прогноза развития болезни, обострения патологического процесса.

В микросимбиозе миндалин бактерионосителей модели ГА, АЛА и роста представлены в

форме «купола»: максимальное число усиливающих сигналов наблюдалось при высоком числе подавляющих и индифферентных. Модели ЛецА и ЛА прогнозируют возрастание числа усиливающих сигналов при возрастании подавляющих, при этом могут отсутствовать индифферентные сигналы. По-

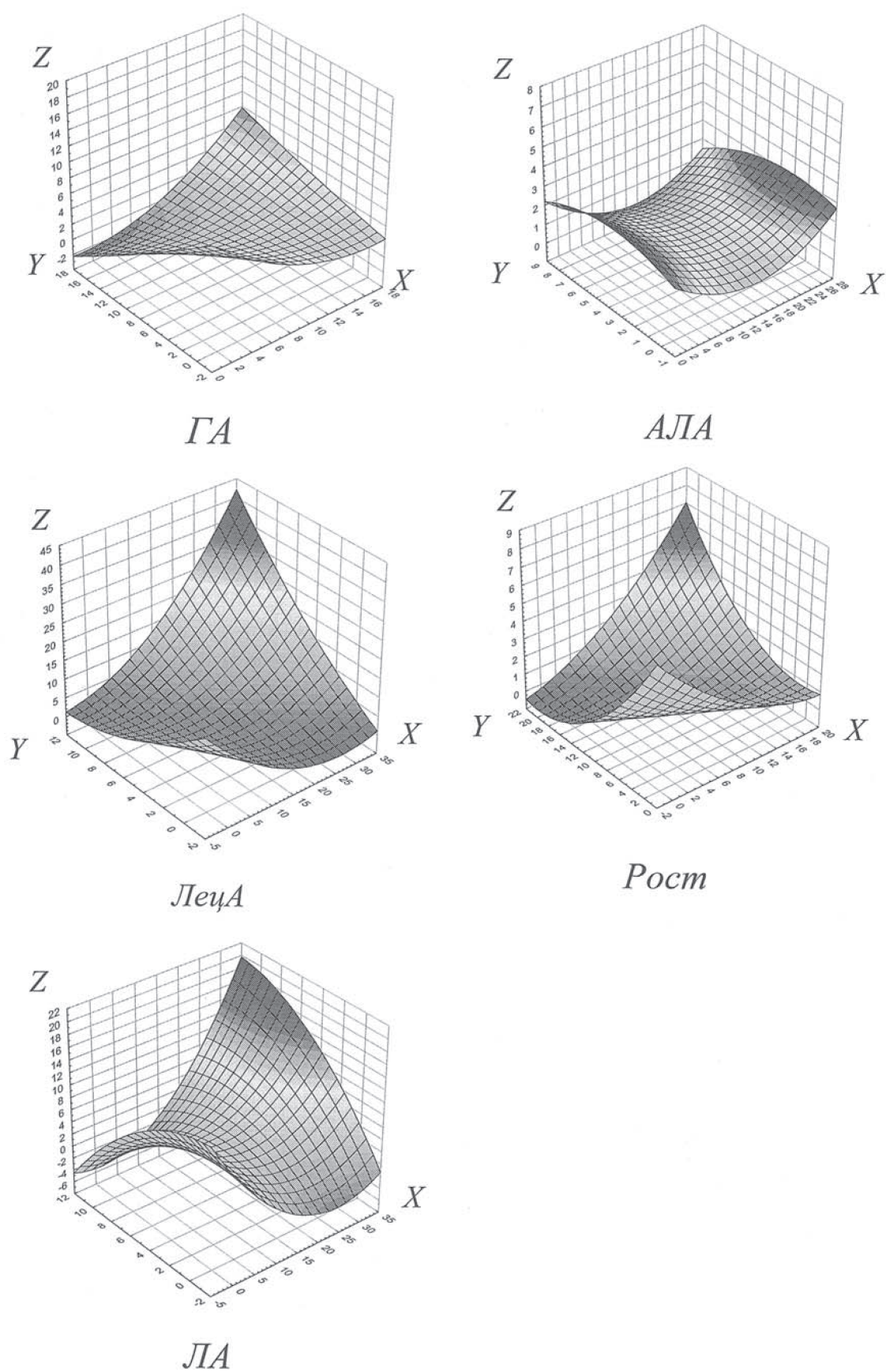
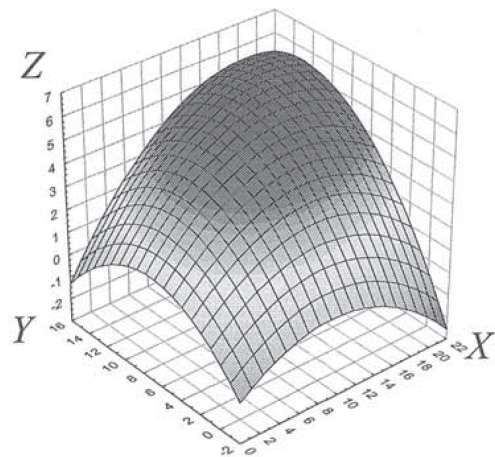
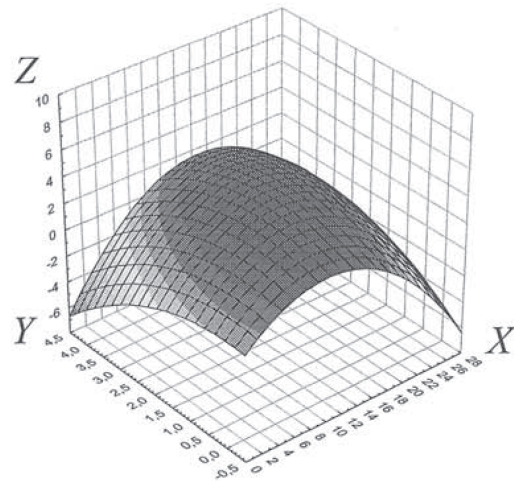


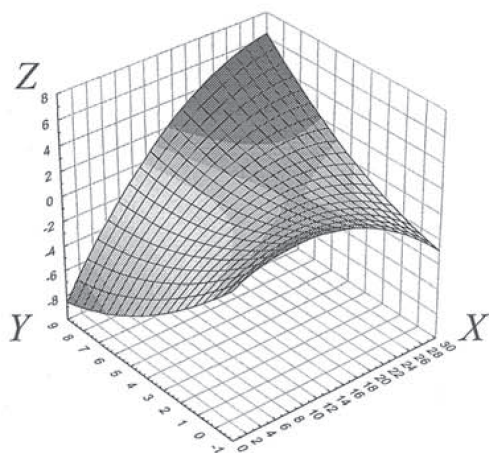
Рис. 2. Прогностические модели зависимости усиливающих сигналов (Z) от подавляющих (Y) и индифферентных (X) в микросимбиозе миндалин больных хроническим тонзиллитом



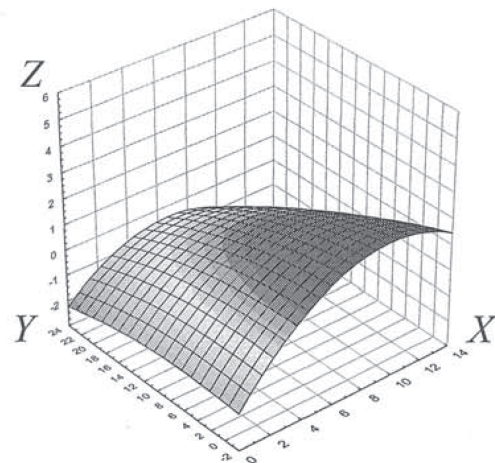
ГА



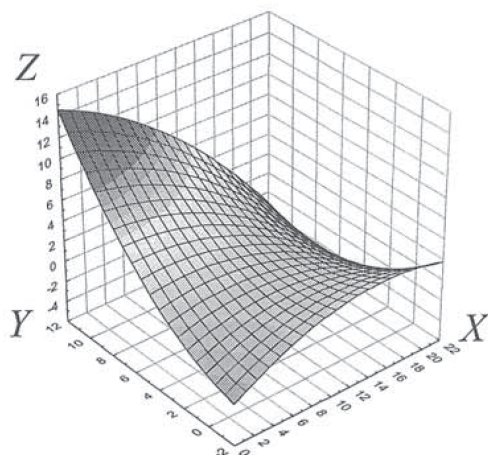
АЛА



ЛецА



Рост



ЛА

Рис. 3. Прогностические модели зависимости усиливающих (Z) воздействий на свойства штаммов-симбионтов от подавляющих (Y) и индифферентных (X) в микросимбиозе миндалин бактерионосителей

добные типы моделей свидетельствуют о неустойчивом равновесии в биоценозе: переход в норму или в патологию. Применительно к бактерионосительству можно прогнозировать транзиторную или резидентную форму.

Таким образом, создание прогностических моделей микросимбиоза биотопа с использованием корреляционного анализа особенностей межмикробных взаимодействий позволяет оценивать динамику микрофлоры, определять риск развития и тяжесть течения инфекционного процесса.

Список литературы [References]

1. Bukharin O. V., Vasil'ev N. V., Usvyatsov B. Ya. Lizotsim mikroorganizmov [Microbe lysozyme]. Tomsk: Izd-vo Tomskogo universiteta, 1985. 212 s. [in Russian]
2. Bukharin O. V., Usvyatsov B. Ya., Khlopko Yu. A. Mediko-ekologicheskie aspekty mikrosimbioznozo cheloveka [Medical-ecological aspects of human microsymbiocenosis] // *Ekologiya cheloveka*. 2010. N 8. S. 28–31. [in Russian]
3. Bukharin O. V., Usvyatsov B. Ya., Khlopko Yu. A. Strukturno-funktsional'naya kharakteristika mikrosimbioznozo cheloveka [Structural-functional characteristics of human microsymbiocenosis] // *Zhurnal mikrobiologii*. 2009. N 4. S. 4–8. [in Russian]
4. Zagoruiko N. G. Prikladnye metody analiza dannykh i znaniy [Applied methods for data and knowledge analysis]. Novosibirsk: Iz-vo Instituta matematiki, 1999. 270 s. [in Russian]
5. Loid E., Lederman U. Spravochnik po prikladnoi statistike [Guide in applied statistics]. M.: Finansy i statistika, 1990. T. 1. 635 s. [in Russian]
6. Nesvizhskii Yu. V., Vorob'ev A. A., Belonosov S. S. Analiz prostykh mezhmikrobnnykh vzaimootnoshenii v mikrobiotsenoze tolstoï kishki cheloveka [Analysis of common intermicrobial interactions in human big intestine microbiocenosis] // *Vestnik RAMN*. 1997. N 3. S. 23–26. [in Russian]
7. Pridantseva E. P. Model' dinamiki biologicheskogo soobshchestva s uchetom vnutripopulyatsionnoi struktury [Model of biological community dynamics considering intrapopulation structure] // *Modelirovanie, optimizatsiya i dekompozitsiya slozhnykh dinamicheskikh protsessov*. M.: VTs RAN, 1995. S. 79–82. [in Russian]
8. Sposob diagnostiki khronicheskogo tonzillita [Method of chronic tonsillitis diagnosis]; pat. N 2188422 Ros. Federatsiya / O. V. Bukharin, B. Ya. Usvyatsov, L. M. Khusnutdinova. 2002. 12 s. [in Russian]
9. Shakin V. V. Biosistemy v ekstremal'nykh usloviyakh [Biosystems in extreme conditions]. M.: VTs RAN, 1996. 84 s. [in Russian]
10. Neter F., Wasserman W. and Kutner M. N. Applied liner regression models (2nd ed.) // Homewood. IL6 Irwin, 1989. P. 239–256.

PREDICTION OF MICROSYMBIOCECENOSIS STATE BY MATHEMATICAL MODELLING OF INTERMICROBIAL INTERACTIONS

O. V. Bukharin, B. Ya. Usvyatsov,
*Yu. A. Khlopko, **A. M. Osipova

*Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Department of the RAS,
*Department of Biotechnical Systems of the Orenburg Scientific Center, Ural Department of the RAS,
**Orenburg State Agrarian University, Orenburg*

The goal of the study: to analyze correlation links between differently directed interactions of strains-symbionts on the human tonsils mucosal membrane.

Materials, methods and results. One hundred microbial biocenoses of the surface of the tonsils mucosal membrane in healthy subjects, patients with chronic tonsillitis, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* bacterial carriers have been investigated. Direction of links (increase, inhibition of a property or indifferent action) was estimated according to a modification of hemolytic, lecytovitellase, lysozyme, anti-lysozyme activities and according to growth change. On the basis of the correlation analysis of intermicrobial interactions, predictive models for dependence between increasing, suppressing and indifferent signals of symbionts have been developed. They made it possible to estimate the microflora dynamics, to determine risk of development and heaviness of infectious processes.

Keywords: microsymbiocenosis, intermicrobial interactions, correlation analysis, predictive models.

Контактная информация:

Усвяцов Борис Яковлевич — доктор медицинских наук, профессор, зав. лабораторией экологии микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН

Адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, д. 11
Тел. (8-3532) 77-54-17
E-mail: 140374@mail.ru