

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ РАЗЛИЧИЙ В РАЗВИТИИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА ПУТЕМ КЛАСТЕРИЗАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛГОРИТМА kMEANS

Марнаутов Н.А., Елфимов А.Б., Комиссарова Л.Х.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ; e-mail: nmarnautov@gmail.com

Поступила в редакцию 25.07.2022. DOI: 10.20930/rusjbpс.2022.0562

**Аннотация.** В работе исследована возможность кластеризации мышей на основе динамики развития опухолевого процесса. Исследование проводили на мышах линии C57Bl/6, с перевитой карциномой Льюис. Контрольной группе (группа №1) введение препаратов не осуществляли. Опытным группам проводили химиотерапию с использованием рубомицина (группа №2) / магнитолипосомального рубомицина (группы №3 - №4). Группу №4 дополнительно подвергали воздействию внешнего магнитного поля на область опухоли в течение 1 часа после введения препарата. Введение препаратов осуществляли на 10, 14, 18 сутки после перевивки опухоли. Достоверность различий между группами определяли с использованием U-критерия Манна-Уитни. Кластеризацию полученных данных осуществляли с использованием алгоритма k-средних (kMeans). Было обнаружено, что при кластеризации уверенно выделяется кластер мышей, не получавших химиотерапию. Так же было обнаружено, что при кластеризации на три кластера, большая часть мышей из групп №3 и №4 были отнесены к одному кластеру, не смотря на то, что на 21 сутки после перевивки опухоли между данными группами наблюдаются статистически достоверные различия ( $p < 0.05$ ).

**Ключевые слова:** кластеризация, k-means, метод k-средних, метод главных компонент, PCA, магнитные липосомы, наночастицы магнетита, магнитоуправляемые носители, направленная доставка, химиотерапия, рубомицин, карцинома Льюис.

Задача кластеризации – классическая задача обучения без учителя, позволяющая группировать объекты, на основе различных признаков, что часто является важнейшим шагом для дальнейшего анализа данных. Одним из наиболее распространенных алгоритмов кластеризации является алгоритм **k-средних (kMeans)**, который был предложен еще в 1957 году [1,2]. В данной статье мы исследуем возможность кластеризации с использованием алгоритма kMeans для выявления различий в динамике развития опухолевого процесса. Для эффективного лечения рака наблюдение за динамикой развития опухолевого процесса является одним из ключевых факторов, который часто является определяющим при выборе стратегии и методов лечения [3,4]. Потенциально, кластеризация пациентов на основе динамики опухолевого процесса, может позволить выявлять схожие по течению болезни случаи, что может обеспечить более эффективное принятие решений при лечении пациента.

В работе использовали мышей-опухоленосителей линии C57Bl/6 с перевитой карциномой Льюис. Подопытные животные были разделены на 4 группы, группа №1 – контрольная, группы №2-№4 получали противоопухолевую терапию. Каждая группа содержала 6 мышей. Введение противоопухолевых препаратов осуществлялось внутривенно. Мышам из **группы №1 (К-1)** введение препарата не осуществлялось, мышам из **группы №2 (Рбц)** осуществляли введение раствора рубомицина (3,75 мг/кг), мышам из **группы №3 (Млп-Рбц)** и **№4 (Млп-Рбц + МП)** осуществляли введение гидрозоля магнитолипосомального рубомицина (3,75 мг/кг). Мышей из группы №4 дополнительно подвергали воздействию внешнего магнитного поля (600 мТл) на область опухоли в течение часа сразу после введения препарата [5]. Введение химиотерапевтических препаратов осуществляли на 10, 14 и 18 сутки после перевивки опухоли. На рисунке 1 представлена динамика роста карциномы Льюис в исследуемых группах животных.

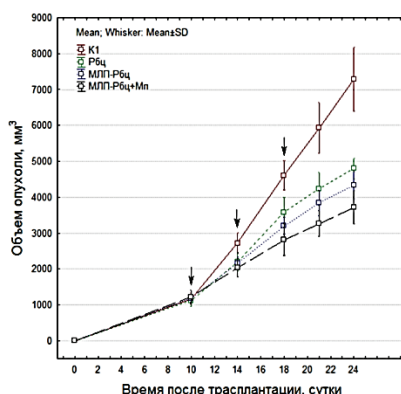


Рисунок 1. Динамика роста карциномы Льюис в исследуемых группах животных

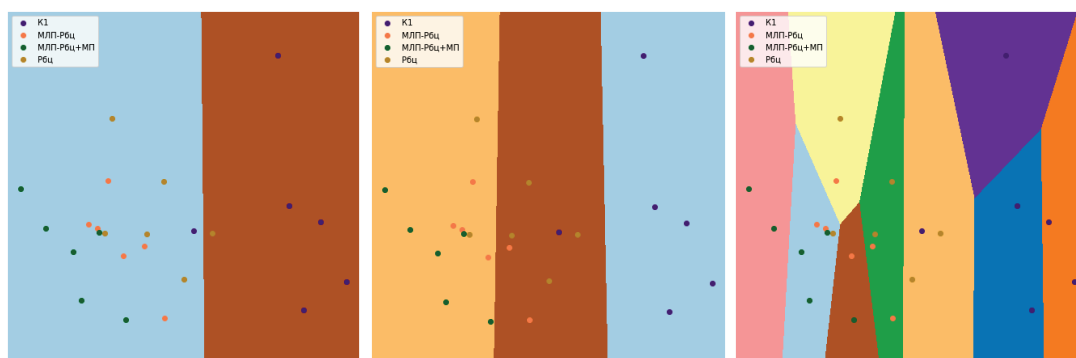
**Таблица 1.** Результат кластеризации мышей на основе динамики развития опухолевого процесса с использованием алгоритма kMeans

	Группа №1, К1 (6 мышей)	Группа №2, Рбц (6 мышей)	Группа №3, МЛП-Рбц (6 мышей)	Группа №4, МЛП-Рбц+МП (6 мышей)	Всего
Кластеризация на 2 кластера					
Кластер №1	5	1	0	0	6
Кластер №2	1	5	6	6	18
Кластеризация на 3 кластера					
Кластер №1	5	0	0	0	5
Кластер №2	1	4	2	0	7
Кластер №3	0	2	4	6	12
Кластеризация на 4 кластера					
Кластер №1	5	0	0	0	5
Кластер №2	1	4	2	0	7
Кластер №3	0	2	4	4	10
Кластер №4	0	0	0	2	2

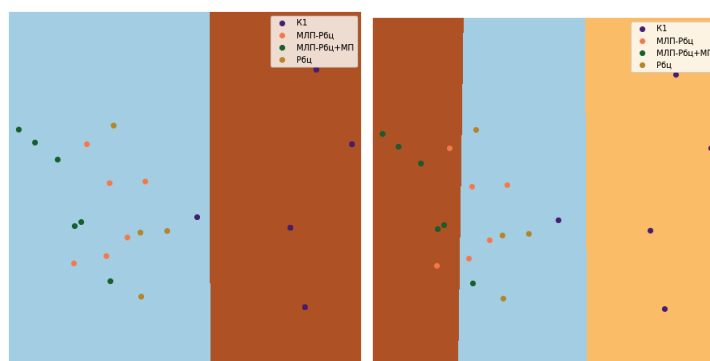
Достоверные различия (U-критерий Манна-Уитни;  $p < 0,05$ ) наблюдаются между группами №2-4 и группой №1 начиная с 14 суток после трансплантации опухоли (4 сутки после первого введения химиопрепарата), между группой №2-3 и группой №4 начиная с 18 суток после трансплантации опухоли. Между группой №2 и группой №3 достоверных различий не наблюдалось. Более подробно о дизайне эксперимента написано в работе [5]. У мышей были индивидуальные пометки, что позволило наблюдать индивидуальную динамику опухоли. Данные по динамике опухоли для каждой мыши были представлены в виде вектора  $V(v_1, v_2, v_3, v_4)$  размерности 4, где  $v_1, v_2, v_3, v_4$  – средний размер опухоли данной мыши измеренный на 10, 14, 18 и 21 сутки, соответственно.

В первом эксперименте не использовали объем опухоли, измеренный на 24 сутки, т.к. на 24 сутки после перевивки опухоли уже наблюдалась гибель животных (группа №1 – 1 мышь, группа №2 – 2 мыши). Исследовали кластеризацию на 2, 3 и 4 кластера. Результаты представлены в таблице 1.

При кластеризации на 2 кластера в первый кластер вошло 5 мышей из группы №1 и одна мышь из группы №2, все остальные мыши были отнесены ко второму кластеру (табл. 1). Полученный результат указывает на то, что удалось достаточно уверенно выделить кластер мышей, получающих химиотерапию и кластер мышей, лечение которых не осуществлялось. При кластеризации на 3 кластера мыши, так же уверенно выделяется кластер мышей не получающих химиотерапию (кластер №1), интересно отметить, что почти все мыши из групп №3 и №4 (лечение которых осуществлялось магнитолипосомальным препаратом с/без воздействия магнитного поля) отнесены к одному кластеру (кластер №3), а большая часть мышей из группы №2 отнесены к другому кластеру (кластер №2), не смотря на то, что между группами №2 и №3 не наблюдалось статистически достоверной разницы на 21 сутки после перевивки опухоли, а между группами №3 и №4 наблюдалась (U-критерий Манна-Уитни;  $p < 0,05$ ). Вероятно, это происходит вследствие того, что при оценке U-критерия Манна-Уитни мы учитываем данные лишь одного дня наблюдений, а при кластеризации учитываются данные 4 дней. Косвенно полученный результат указывает на то, что динамика опухолевого процесса для групп получающих магнитолипосомальный препарат является схожей. При кластеризации на 4 кластера результаты совпадают с результатами кластеризации на 3 кластера, за исключением того, что выделился дополнительный подкластер из 2х мышей группы №4.



**Рисунок 2.** Визуализация результатов кластеризации с применением алгоритма kMeans. Эксперимент №1. (а) Кластеризация на 2 кластера. (б) Кластеризация на 3 кластера. (в) Пример кластеризации на большее число кластеров (9 кластеров)



**Рисунок 3.** Визуализация результатов кластеризации с применением алгоритма kMeans. Эксперимент №2. (а) Кластеризация на 2 кластера. (б) Кластеризация на 3 кластера

Для визуализации результатов кластеризации размерность вектора  $V$  ( $v_1, v_2, v_3, v_4$ ) уменьшали методом главных компонент (РСА) [6,7]. Полученные вектора с уменьшенной размерностью так же кластеризовали с использованием алгоритма kMeans. На рисунке 2 представлена визуализация результатов кластеризации.

Во втором эксперименте данные по динамике опухоли для каждой мыши были представлены в виде вектора  $V(v_1, v_2, v_3)$  размерности 3, где  $v_1, v_2, v_3$  – средний размер опухоли данной мыши измеренный на 18, 21 и 24 сутки, соответственно. Животные погибшие на 24 сутки были исключены. При кластеризации на 2 кластера так же, как и в первом эксперименте выделяется кластер мышей, получавший химиотерапию и кластер мышей, не получавший химиотерапию. При кластеризации на три кластера можно обнаружить, что образуются кластера, которые можно трактовать, как кластер мышей, не получавших химиотерапию, кластер мышей лечение, которых осуществлялось рубомицином и магнитолипосомальным рубомицином без воздействия внешнего магнитного поля, а также кластер мышей, лечение которых осуществлялось магнитолипосомальным рубомицином с последующим воздействием внешнего магнитного поля. Визуализацию данных осуществляли аналогично эксперименту №1

Полученные результаты показывают, что при кластеризации мышей линии C57Bl/6 с перевитой карциномой Льюис на основе динамики развития опухолевого процесса с использованием алгоритма kMeans можно выделять кластера отражающие различия в развитие опухолевого процесса.

#### Список литературы / References:

1. Ghosal A., Nandy A., Das A.K., Goswami S., Panday M. A short review on different clustering techniques and their applications. *Emerging technology in modelling and graphics*, 2020, pp. 69-83.
2. Omran M.G.H., Engelbrecht A.P., Salman A. An overview of clustering methods. *Intelligent Data Analysis*, 2007, vol. 11, no. 6, pp. 583-605.
3. Bruno R., Bottino D., De Alwis D.P., Fojo A.T., Guedj J., Liu C., Jin J.Y. Progress and Opportunities to Advance Clinical Cancer Therapeutics Using Tumor Dynamic Models Tumor Dynamics Modeling to Advance Clinical Cancer Treatment. *Clinical Cancer Research*, 2020, vol. 26, no. 8, pp. 1787-1795.
4. Cunningham J.J., Brown J.S., Gatenby R.A., Stankova K. Optimal control to develop therapeutic strategies for metastatic castrate resistant prostate cancer. *Journal of theoretical biology*, 2018, vol. 459, pp. 67-78.
5. Марнаутов Н.А., Комиссарова Л.Х., Ерохин В.Н., Семенов В.А., Елфимов А.Б., Голощапов А.Н. Исследование действия магнитных липосом, нагруженных рубомицином, на динамику роста карциномы льюис у мышей. *Вестник новых медицинских технологий*, 2020, т. 27, № 4, с. 60-64. [Marnautov N.A., Komissarova L.Kh., Erohin V.N., Semenov V.A., Elfimov A.B., Goloshchapov A.N. Investigating the action of magnetic liposomes loaded with rubomycin on the dynamics of Lewis carcinoma growth in mice. *Journal of new medical technologies*, 2020, vol. 27, no. 4, pp. 60-64. (In Russ.)]
6. Daffertshofer A., Lamoth C.J., Meijer O.G., Beek P.J. PCA in studying coordination and variability: a tutorial. *Clinical biomechanics*, 2004, vol. 19, no. 4, pp. 415-428.
7. Zhao Y., Luo F., Chen M., Wang Y., Xia J., Zhou F., Chen W. Evaluating multi-dimensional visualizations for understanding fuzzy clusters. *IEEE transactions on visualization and computer graphics*, 2018, vol. 25, no. 1, pp. 12-21.

**A STUDY OF THE POSSIBILITY OF DETECTING DIFFERENCES IN DYNAMICS OF TUMOR GROWTH BY CLUSTERING USING k-MEANS ALGORITHM****Marnautov N.A., Elfimov A.B., Komissarova L.Kh.**

Institute of Biochemical Physics, N.M. Emanuel RAS

*Ulitsa Kosygina, 4, Moscow, 119334, Russia; e-mail: nmarnautov@gmail.com*

Received 25.07.2022. DOI: 10.20930/rusjbp.2022.0562

**Abstract.** The paper investigates the possibility of clustering mice based on the dynamics of the development of the tumor process. The study was carried out on mice of the C57Bl/6 line, with an intertwined Lewis carcinoma. The control group (group No. 1) was not administered drugs. The experimental groups were treated with chemotherapy using rubomycin (group No. 2) / magnetoliposomal rubomycin (groups No. 3 - No. 4). Group No. 4 was additionally exposed to an external magnetic field on the tumor area for 1 hour after administration of the drug. The drugs were administered on the 10th, 14th, 18th day after the tumor was transplanted. The reliability of the differences between the groups was determined using the Mann-Whitney U-test. Clustering of the obtained data was carried out using the k-means algorithm (kMeans). It was found that clustering confidently distinguishes a cluster of mice that have not received chemotherapy. It was also found that when clustering into three clusters, most of the mice from groups No. 3 and No. 4 were assigned to the same cluster, despite the fact that statistically significant differences were observed between these groups on the 21st day after tumor transplantation ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** *clustering, k-means, k-means method, principal component analysis, PCA, magnetic liposomes, magnetite nanoparticles, magnetically controlled carriers, targeted delivery, chemotherapy, rubomycin, Lewis carcinoma.*