УДК 51-76:514.124:573.2:615.015.2

МАТЕМАТИЧЕСКИЕ ОСНОВАНИЯ МЕТОДА ИЗОБОЛ

© 2024 **В. Г. Панов**

Институт промышленной экологии УрО РАН,
ул. С. Ковалевской, 20, г. Екатеринбург 620137, Россия

E-mail: vpanov@ecko.uran.ru

Поступила в редакцию 08.11.2022 г.; после доработки 03.09.2024 г.;
принята к публикации 29.10.2024 г.

Предлагаются более точные определения понятий и конструкций, используемых в медико-биологических науках для анализа совместного действия факторов с помощью изобологр926грамм. Приведены формальные определения понятий нулевого взаимодействия, масштабно эквивалентных дозо-ответных функций, многообразия нулевого взаимодействия. Предложена общая конструкция, формализующая условия применимости и основные методы анализа комбинированного действия с помощью изобол. Получены уравнения многообразий нулевого взаимодействия как в случае масштабно эквивалентных, так и для произвольных функций отклика. Приведены примеры.

Ключевые слова: комбинированное (совместное) действие факторов, изобола, дозо-ответная функция, нулевое взаимодействие, супераддитивность, субаддитивность, коммутативная диаграмма.

DOI: 10.33048/SIBJIM.2024.27.406

ВВЕДЕНИЕ

Феномен нетривиальности совместного действия нескольких факторов состоит в том, что имеет место несовпадение наблюдаемой величины отклика от воздействия этих факторов и ожидаемой его величины, которая вычисляется каким-либо образом на основе информации об изолированном воздействии факторов. Например, хорошо известно, что совместное действие нескольких лекарственных препаратов может иметь не тот эффект, который можно было бы ожидать, зная изолированный эффект каждого из них. Тем не менее до сих пор нет общепринятого стандарта терминологического описания этого явления. Общепризнанно, что имеются различные типы совместного действия биологически активных агентов, но названия этих типов, способы их идентификации, и даже то, является ли тот или иной вид совместного действия действительно особым видом, остаются предметом многочисленных дискуссий [1–3].

Метод изобол является одним из основных методов оценки типа совместного (комбинированного) действия факторов в медицине, и особенно, в токсикологии и фармакологии. Несмотря на то, что он был предложен около 150 лет назад (первыми считаются работы T. R. Fraser 1870–1872 гг.), его предпосылки остаются сформулированными недостаточно строго, что не мешает его широкому использованию как в практических, так и в теоретических исследованиях в этих науках. Первоначально этот метод рассматривался как вычислительная процедура для оценки типа совместного действия агентов. Долгое время его развитие было направлено на распространение области возможных приложений метода. К настоящему времени разнообразие приложений метода изобол подтверждает его универсальность как способа исследования комбинированного действия биологически активных агентов [4–8].

Приложения метода естественно порождали необходимость его развития и модификации, что нашло отражение в обзорах [1, 9–11]. Однако основные понятия и принципы метода остаются неизменными, общепринятыми и всё же сформулированными недостаточно строго.

Важной особенностью метода изобол является оперирование только наблюдаемыми характеристиками изучаемого явления. Он не апеллирует к механизму, приводящему к тому изменению состояния живой системы, которое происходит при воздействии данных факторов. Сложность таких механизмов требует обращения к таким наукам как биофизика, биохимия, молекулярная биология и др. Для рассматриваемого метода выводы основаны только на знании функциональной зависимости регистрируемого отклика от каждого изолированно действующего агента и такой же зависимости от всех действующих агентов вместе. Как следствие, исследователь получает только качественные выводы о том, отличается ли совместное действие агентов от некоторого гипотетического, которое постулируется как совместное действие, представляющее отсутствие взаимодействия агентов.

Таким образом, здесь биологический объект рассматривается как «чёрный ящик», внутренняя структура которого неизвестна и исследуется по принципу «воздействие-отклик». Это исследование использует только изолированные дозо-ответные зависимости действующих агентов и такую же зависимость при их совместном воздействии. Математически эти зависимости представляется некоторыми монотонными функциями одной или нескольких переменных. В этой ситуации естественным является предположение о том, что все действующие факторы различны, хотя это не является необходимым для изложенного ниже формализма (см. ниже замечание 1 и аксиому (A3) в п. 3).

Очень кратко анализ совместного действия факторов с помощью изобол можно описать как задачу определения такого геометрического объекта (многообразия) в пространстве всевозможных наборов значений действующих агентов (дозовых комбинаций), все точки которого *по определению* являются комбинациями *без взаимодействия* (в терминологии работы [12] они называются *комбинациями с нулевым взаимодействием*; соответственно, точки нулевого взаимодействия образуют некоторое множество, которое, как правило, является дифференцируемым многообразием). Предполагая, что дозы агентов задаются неотрицательными числами, можно считать, что пространство дозовых комбинаций n действующих агентов образует гипероктант (ортант) в $\mathbb{R}^n$. Многообразие нулевого взаимодействия разделяет гипероктант дозовых комбинаций на две области — ограниченную внутреннюю, содержащую точку 0 и неограниченную внешнюю. Тогда точки, лежащие в ограниченной части, представляют супераддитивное совместное действие агентов (или синергизм), а точки внешней области — субаддитивное совместное действие (или антагонизм). Ключевым элементом этого анализа является определение понятия нулевого взаимодействия и вывод уравнения многообразия нулевого взаимодействия. До сих пор общепринятым остаётся представление о линейности многообразия нулевого взаимодействия, подкрепляемое работой [12], в которой это было доказано при выполнении некоторых предположений (см. ниже следствие 3 из теоремы). Как в самой работе [12], так и в последующих работах [4–11], эти предположения считаются выполняющимися всегда, так что линейность изоболы нулевого взаимодействия *de facto* является общепринятым постулатом, на котором основываются модификации метода изобол [1].

Более подробно постановка задачи состоит в задании переменных $(x_1, \ldots, x_n)$ (представляющих действующие факторы), воздействие каждой из которых описывается зависимостью $y = f_i(x_i)$, $i = 1, 2, \ldots, n$. Эти функции практически всегда предполагаются монотонными, а при нарушении монотонности область изменения аргументов ограничивают так, чтобы на каждой части монотонность имела место. Здесь x_i выражает некоторую меру действующего агента, например, его концентрацию, а значения всех функций отклика $f_i(x_i)$ имеют один и тот же смысл, т. е. измеряются в одних и тех же единицах. Например, это может быть количество гемоглобина в крови г/л), масса печени подопытного животного г, или г/100 г массы животного), коэффициент де Ритиса (безразмерная величина) и т. п. Совместное (одновременное, комбинированное, сочетанное) действие данных переменных описывается полной функцией отклика $Y = Y(x_1, \ldots, x_n)$, которая измеряется в тех же единицах, что и функции $f_i(x_i)$. При этом функции $f_i(x_i)$ и полная функция отклика $Y(x_1, \ldots, x_n)$ обычно связаны равенством

$$f_i(x_i) = Y(0, \ldots, 0, x_i, 0, \ldots, 0), \quad i = 1, 2, \ldots, n. \tag{1}$$

Замечание 1. Каждая переменная x_i фактически является «помеченным числом», где метка отражает химические, физические или иные специфические свойства связанного с ней действующего фактора. Обычная метка такого рода — химическая формула вещества. Однако это могут быть и другие характеристики действующего агента: магнитное поле, действующее на подопытных животных (соответствующая переменная задаёт напряжённость поля, которая была в эксперименте), физическая нагрузка (переменная задаёт её интенсивность), пылевая нагрузка (переменная — плотность пылевой нагрузки) и т. д.

Обозначим метки агентов символами θ_i, $i = 1, \ldots, n$, и будем считать, что количество меток совпадает с числом действующих агентов. Гипотетически возможно, что некоторые переменные представляют один и тот же действующий агент (с одной и той же меткой). Однако в этом случае, как принято в токсикологии и фармакологии, такие переменные должны редуцироваться до одной переменной с этой меткой. Например, если первые $m \leqslant n$ переменных представляют один и тот же агент с меткой θ_1, то должно выполняться равенство

$$\begin{gathered} Y\left(x_1(\theta_1), \ldots, x_m(\theta_1), x_{m+1}(\theta_2), \ldots, x_n(\theta_{n-m+1})\right) = \\ = Y\left(\sum_{j=1}^{m} x_j(\theta_1), 0, \ldots, 0, x_{m+1}(\theta_2), \ldots, x_n(\theta_{n-m+1})\right). \end{gathered}$$

В частности, если $x_j(\theta_k)$ — значения одной и той же переменной с меткой θ_k, то выполняется равенство

$$Y\left(x_1(\theta_k), x_2(\theta_k), \ldots, x_n(\theta_k)\right) = Y\left(0, \ldots, 0, \sum_{j=1}^{n} x_j(\theta_k), 0, \ldots, 0\right) = f_k\left(\sum_{j=1}^{n} x_j(\theta_k)\right). \tag{2}$$

В этом случае функция Y фактически будет зависеть от меньшего числа переменных (для формулы (2) это будет функция одной переменной). Напротив, $Y(x(\theta_1), x(\theta_2), \ldots, x(\theta_n))$ остаётся функцией n переменных, несмотря на то, что все аргументы равны.

Кроме того, функция $Y\left(x_1(\theta_1), x_2(\theta_2), \ldots, x_n(\theta_n)\right)$ инвариантна по отношению к порядку следования аргументов

$$Y\left(x_1(\theta_1), x_2(\theta_2), \ldots, x_n(\theta_n)\right) = Y\left(P\left(x_1(\theta_1), x_2(\theta_2), \ldots, x_n(\theta_n)\right)\right),$$

где P — произвольная перестановка n-элементного множества.

1. ПОНЯТИЕ НУЛЕВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Понятие нулевого, или аддитивного, взаимодействия представляет собой тот тип совместного действия факторов, относительно которого оцениваются другие его типы. Первое определение этого понятия было дано в работе [12] и там же оно было использовано для доказательства линейности изоболы нулевого взаимодействия при некоторых дополнительных предположениях на функции отклика изолированных агентов. Минимальное уточнение этого определения связано с необходимостью введения явной зависимости этого понятия от функции f_k.

Определение 1. Пусть даны n (помеченных) вещественных переменных x_i, $i = 1, 2, \ldots, n$, $x_i \in [0; a_i]$, $a_i > 0$, и функция $Y(x_1, \ldots, x_n)$, определённая на $\prod\limits_{i=1}^{n} [0; a_i]$. Обозначим через $f_i\,(x_i)$ функцию одной переменной, определяемую равенством (1). Пусть все функции $f_i(x_i)$ монотонны в одном и том же смысле. Аргументы $\{x_1, \ldots, x_n\}$ назовём имеющими *нулевое* (*аддитивное*) совместное действие в точке $\left(x_1^0, \ldots, x_n^0\right)$ относительно k-го агента $k \in \{1, 2, \ldots, n\}$, если существуют такие значения $x_k^{(1)}, \ldots, x_k^{(n)}$ аргумента x_k, что выполняются равенства

$$f_k(x_k^{(j)}) = f_j(x_j^0), \quad j = 1, 2, \ldots, n, \quad x_k^{(k)} = x_k^0, \quad Y(x_1^0, \ldots, x_n^0) = Y_0,$$
$$Y(x_1^0, \ldots, x_n^0) = Y\left(0, \ldots, 0, \sum_{j=1}^{n} x_k^{(j)}, 0, \ldots 0\right) = f_k\left(\sum_{j=1}^{n} x_k^{(j)}\right) = Y_0.$$

Замечание 2. Это определение предлагает считать нулевое взаимодействие не отсутствием взаимодействия (в каком бы то ни было смысле), а таким взаимодействием, которое может быть эффективно представлено как совместное действие одного и того же агента в различных дозах. Иначе говоря, это определение полагает взаимодействие агента с самим собой прототипом любого нулевого взаимодействия. Поэтому, представляется очевидным, что это понятие должно зависеть от конкретного действующего агента и его функции отклика. Однако до сих пор выводы о характере совместного действия формулируются в литературе безотносительно к какому-либо агенту, т. е. как свойство всего множества данных агентов.

Определение 2. Для полной функции отклика $Y(x_1, \ldots, x_n)$ изоболой (изоболограммой), соответствующей уровню отклика (или эффекту) Y_0 называется множество точек, удовлетворяющих уравнению

$$Y(x_1, \ldots, x_n) = Y_0. \tag{3}$$

Если функция $Y(x_1, \ldots, x_n)$ — гладкая и её градиент невырожден на множестве уровня $\{(x_1, \ldots, x_n) \mid Y(x_1, \ldots, x_n) = Y_0\}$, то, как следует из теоремы о неявной функции, изобола (3) будет гладким многообразием.

Для более формального изложения введём зависимость переменных $x_1, \ldots, x_n$ от идентифицирующих их «меток» θ_i, $\theta_i \neq \theta_j$, $i \neq j$. Эти метки образуют некоторый «алфавит», «буквы» которого задают идентификаторы действующих агентов, величина каждого из которых выражается обычным числом. Набор этих меток образует алфавит $\mathcal{A} = \{\theta_1, \ldots, \theta_n\}$, последовательность символов в котором будем считать фиксированной, как и в обычном алфавите.

2. ФОРМАЛИЗАЦИЯ ПОНЯТИЯ НУЛЕВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Пусть для каждой метки θ_i из алфавита $\mathcal{A}$ задана *монотонная* функция f_{θ_i}, определённая на некотором множестве $D_{\theta_i} \subset \mathbb{R}$. Как правило, эти функции определены на $\mathbb{R}_+ = \{x \in \mathbb{R} \mid x \geqslant 0\}$, на отрезке $[0; a]$, $a > 0$, на отрезке $[a_{\theta_i}, b_{\theta_i}]$ или таких же открытых справа полуинтервалах. Пространство n-наборов аргументов (дозовых комбинаций) определим как произведение $\prod_{i=1}^{n} D_{\theta_i}$.

Введём следующие обозначения:

- $\mathcal{A}$ будет обозначать не только упорядоченный алфавит меток действующих факторов, но и слово длины n, образованное всеми буквами этого алфавита, расположенными в естественном порядке: $\mathcal{A} = \theta_1\theta_2 \cdots \theta_n$. Все рассматриваемые ниже слова w над алфавитом $\mathcal{A}$ будут иметь вид $w = \mathcal{A} = \theta_1\theta_2 \cdots \theta_n$ или $w = \theta_i$, $i = 1, 2, \ldots, n$.

- $D^n_{\mathcal{A}} = \prod\limits_{\alpha\in\mathcal{A}} D_\alpha$ — пространство (n-мерных) наборов, соответствующих слову $\mathcal{A}$. Аналогично, $D^n_{\theta_i} = \prod\limits_{j=1}^{n} D_{\theta_i}$ — пространство n-мерных наборов переменной $x_i\left(\theta_i\right) \in D_{\theta_i}$, $\theta_i \in \mathcal{A}$.
- $\boldsymbol{f}_{\mathcal{A}} = \left(f_{\theta_1}, f_{\theta_2}, \ldots, f_{\theta_n}\right)$ — n-мерное отображение, соответствующее слову $\mathcal{A}$. При этом в силу монотонности функций f_{θ_i} определено обратное отображение $\boldsymbol{f}^{-1}_{\mathcal{A}} = \left(f^{-1}_{\theta_1}, f^{-1}_{\theta_2}, \ldots, f^{-1}_{\theta_n}\right)$; $\boldsymbol{f}_{\mathcal{A}} \colon D^n_{\mathcal{A}} \to \mathbb{R}^n$, $\boldsymbol{f}^{-1}_{\mathcal{A}} \colon \mathcal{E}\left(\boldsymbol{f}_{\mathcal{A}}\right) \to D^n_{\mathcal{A}}$, где $\mathcal{E}\left(\boldsymbol{f}_{\mathcal{A}}\right)$ — область значений отображения $\boldsymbol{f}_{\mathcal{A}}$. Аналогично для каждого θ_i, $i = 1, \ldots, n$, определено обратимое отображение $\boldsymbol{f}_{\theta_i} = \left(f_{\theta_i}, f_{\theta_i}, \ldots, f_{\theta_i}\right) \colon D^n_{\theta_i} \to \mathbb{R}^n$.

Будем также предполагать выполнение следующих аксиом.

(A1) Все функции $f_{\theta_i} \colon D_{\theta_i} \to \mathbb{R}$ монотонны в одном и том же смысле.

(A2) Для каждого пространства D^n_w определена функция отклика $Y_w \colon D^n_w \to \mathbb{R}$.

(A3) Для каждого $\theta_i \in \mathcal{A}$ определена *ретракция* $\sigma_{\theta_i} \colon D^n_{\theta_i} \to D_{\theta_i}$ пространства $D^n_{\theta_i}$, удовлетворяющая равенству $Y_{\theta_i} = f_{\theta_i} \circ \sigma_{\theta_i}$.

(A4) Все функции f_{θ_i} имеют одну и ту же область значений, которая содержится в области значений функции $Y_{\mathcal{A}}$. т. е. выполняется равенство $\mathcal{E}(f_{\theta_i}) = \mathcal{E}(f_{\theta_j})$ для всех $i, j = 1, 2, \ldots, n$ и включение $\mathcal{E}(Y_{\mathcal{A}}) \supseteq \mathcal{E}(f_{\theta_i})$.

Замечание 3. С точки зрения токсикологии/фармакологии ретракции σ_α осуществляют свёртывание многокомпонентного воздействия с одним и тем же веществом в разных дозах в однокомпонентное воздействие этого же вещества в дозе, равной $\sigma_\alpha(x_1(\alpha), \ldots, x_n(\alpha))$. Естественная свёртка в этих науках представляет собой суммирование, что определяет ведущую роль в вопросах описания комбинированного воздействия функции $\sigma(x_1, \ldots, x_n) = \sum\limits_{i=1}^{n} x_i$. Однако, если дозы заданы в логарифмической шкале, то такая свёртка будет произведением аргументов.

Следующее отображение определяет естественное преобразование пространств n-мерных наборов.

Определение 3. Для любой пары слов (w, w') над алфавитом $\mathcal{A}$ определено отображение $\varphi_{ww'} \colon D^n_w \to D^n_{w'}$, определяемое следующей суперпозицией:

$$\varphi_{ww'} = \boldsymbol{f}^{-1}_{w'} \circ \boldsymbol{f}_w.$$

В силу того, что метки алфавита $\mathcal{A}$ попарно различны, их можно опустить, сохраняя только зависимость от номера i и порядок следования, соответствующий порядку в алфавите $\mathcal{A}$. Тогда можно ввести следующие упрощённые обозначения (обозначим также $\overline{n} = 12\ldots n$; для полной функции отклика $Y_{\mathcal{A}} = Y_{\overline{n}}$ будет использоваться обозначение Y без индексов):

$$D_{\theta_i} = D_i, \quad D^n_{\mathcal{A}} = D^n_{\overline{n}}, \quad Y_{\mathcal{A}} = Y, \quad Y_{\theta_i} = Y_i,$$
$$\boldsymbol{f}_{\mathcal{A}} = \boldsymbol{f}_{\overline{n}}, \quad \boldsymbol{f}_{\theta_i} = \boldsymbol{f}_i, \quad \sigma_{\theta_i} = \sigma_i, \quad Y_i = f_i \circ \sigma_i.$$

Следовательно, имеем отображения (здесь и ниже $w = \overline{n}$ или $w \in \{1, \ldots, n\}$; то же для w')

$$f_i \colon D_i \to \mathbb{R}, \quad \boldsymbol{f}_w \colon D^n_w \to \mathbb{R}^n,$$
$$\varphi_{ww'} \colon D^n_w \to D^n_{w'}, \quad \sigma_i \colon D^n_i \to D_i.$$

В этих обозначениях определения отображения $\varphi_{ww'}$ и ретракции σ_i есть условия коммутативности диаграмм

$$\begin{tikzcd} D_w^n \arrow[rr, "\varphi_{ww'}"] \arrow[dr, "\boldsymbol{f}_w"'] & & D_{w'}^n \\ & \mathcal{E}(\boldsymbol{f}_w) \arrow[ur, "\boldsymbol{f}_{w'}^{-1}"'] & \end{tikzcd} \quad \text{и} \quad \begin{tikzcd} D_i^n \arrow[rr, "\sigma_i"] \arrow[dr, "Y_i"'] & & D_i \arrow[dl, "f_i"] \\ & \mathbb{R} & \end{tikzcd}$$

соответственно.

Тогда понятие нулевого взаимодействия можно сформулировать следующим образом. Пусть

$$\boldsymbol{x}^0 = \left(x_1^0, x_2^0, \ldots, x_n^0\right) \in D_{\overline{n}}^n,$$

и зафиксировано некоторое $k \in \{1, 2, \ldots, n\}$. В силу аксиомы (A4) для любого $j \in \{1, 2, \ldots, n\}$ найдётся такое $x_k^{(j)}(\theta_k) = x_k^{(j)} \in D_k$, что выполняются равенства $f_k\left(x_k^{(j)}\right) = f_j\left(x_j^0\right)$, а именно, $\boldsymbol{x}_k^0 = \left(x_k^{(1)}, x_k^{(2)}, \ldots, x_k^{(n)}\right) = \varphi_{\overline{n}k}\left(\boldsymbol{x}^0\right)$.

Тогда условие нулевого взаимодействия в точке $\boldsymbol{x}^0$ есть требование выполнения равенства

$$Y\left(\boldsymbol{x}^0\right) = Y_k\left(\boldsymbol{x}_k^0\right),$$

что можно выразить как условие коммутативности диаграммы

$$\begin{tikzcd} \boldsymbol{x}^0 \arrow[r, "\varphi_{\overline{n}k}"] \arrow[d, "Y"'] & \boldsymbol{x}_k^0 \arrow[d, "\sigma_k"] \\ \mathbb{R} & D_k \arrow[l, "f_k"] \end{tikzcd}$$

Здесь $\varphi_{\overline{n}k} = \boldsymbol{f}_k^{-1} \circ \boldsymbol{f}_{\overline{n}} = \left(f_k^{-1} \circ f_1, f_k^{-1} \circ f_2, \ldots, f_k^{-1} \circ f_n\right)$.

Таким образом, условие нулевого взаимодействия в точке $\boldsymbol{x}^0$ принимает вид

$$Y\left(\boldsymbol{x}^0\right) = \left(f_k \circ \sigma_k \circ \varphi_{\overline{n}k}\right)\left(\boldsymbol{x}^0\right) \tag{4}$$

или, учитывая аксиому (A3), $Y\left(\boldsymbol{x}^0\right) = \left(Y_k \circ \varphi_{\overline{n}k}\right)\left(\boldsymbol{x}^0\right)$.

Более полно понятие нулевого взаимодействия представлено в следующем определении.

Определение 4. Пусть даны монотонные (в одном смысле) функции одной переменной f_i, $i = 1, 2, \ldots, n$ и функция $Y(x_1, \ldots, x_n)$ от n переменных. Пусть для этих функций выполняются аксиомы (A1)–(A4). Будем говорить, что в точке $\boldsymbol{x}^0 = \left(x_1^0, x_2^0, \ldots, x_n^0\right)$ выполняется условие нулевого взаимодействия относительно k-го агента, если

(1) $Y(\boldsymbol{x}^0) \in \mathcal{E}(f_k)$;

(2) для точки $\boldsymbol{x}_k^0 = \varphi_{\overline{n}k}\left(\boldsymbol{x}^0\right) \in D_k^n$ выполняется равенство $Y\left(\boldsymbol{x}^0\right) = f_k\left(\sigma_k\left(\boldsymbol{x}_k^0\right)\right)$.

Замечание 4. С учётом приведённых свойств условие нулевого взаимодействия вместе с определением ретракции можно изобразить в виде следующей коммутативной диаграммы.

$$\begin{tikzcd} \boldsymbol{x}^0 \arrow[r, "\varphi_{\overline{n}k}"] \arrow[dr, "Y"'] & \boldsymbol{x}_k^0 \arrow[r, "\sigma_k"] \arrow[d, "Y_k"] & D_k \arrow[dl, "f_k"] \\ & \mathbb{R} & \end{tikzcd} \tag{5}$$

Коммутативность левой части диаграммы (5) означает условие нулевого взаимодействия в точке $\boldsymbol{x}^0$, а коммутативность правой части следует из аксиомы (A3).

В результате проведённой формализации теорема о строении многообразия нулевого взаимодействия становится тривиальной.

Теорема. *Если в точке $\boldsymbol{x}^0$ выполняется условие нулевого взаимодействия относительно k-го агента, то для координат этой точки имеет место равенство*

$$(\sigma_k \circ \varphi_{\overline{n}k}) \left(\boldsymbol{x}^0\right) = X_k, \tag{6}$$

где X_k — значение k-й переменной, соответствующее величине отклика $Y(\boldsymbol{x}^0)$ для функции f_k, т. е. $f_k\left(X_k\right) = Y\left(\boldsymbol{x}^0\right)$.

Доказательство. Равенство (6) сразу следует из равенства (4), благодаря монотонности функции f_k и аксиоме (A4). □

Определение 5. Пространством нулевого взаимодействия относительно k-ой переменной, соответствующим величине отклика $Y_0 \in \mathcal{E}(f_k)$ называется множество точек $\boldsymbol{x} \in D_{\overline{n}}^n$, удовлетворяющих равенству

$$(f_k \circ \sigma_k \circ \varphi_{\overline{n}k}) (\boldsymbol{x}) = Y_0. \tag{7}$$

Как правило, функции f_k, σ_k гладкие и если градиент суперпозиции $f_k \circ \sigma_k \circ \varphi_{\overline{n}k}$ невырожден на пространстве нулевого взаимодействия, то уравнение (7) определяет гладкое многообразие. Дальше эти условия будут предполагаться выполненными и будет использоваться термин *многообразие нулевого взаимодействия.*

Следствие 1. Многообразие нулевого взаимодействия относительно k-ой переменной, соответствующее уровню отклика $Y_0 \in \mathcal{E}\left(f_k\right)$, задаётся уравнением

$$(\sigma_k \circ \varphi_{\overline{n}k}) (\boldsymbol{x}) = f_k^{-1}\left(Y_0\right). \tag{8}$$

Приведём вид уравнения (8) при обычной ретракции, заданной равенством

$$\sigma_i(x_1, \ldots, x_n) = \sum_{j=1}^{n} x_j, \quad i = 1, 2, \ldots, n. \tag{9}$$

Следствие 2. Пусть в условиях теоремы выполняется равенство (9). Тогда уравнение многообразия нулевого взаимодействия (8) относительно k-го агента при величине отклика $Y_0 \in \mathcal{E}\left(f_k\right)$ принимает вид

$$\sum_{j=1}^{n} f_k^{-1}\left(f_j(x_j)\right) = X_k \tag{10}$$

или

$$\sum_{j=1}^{n} \frac{f_k^{-1}\left(f_j(x_j)\right)}{f_k^{-1}\left(f_j(X_j)\right)} = 1, \tag{11}$$

где X_j — величина j-го агента, удовлетворяющая равенству $f_j\left(X_j\right) = Y_0$.

Следствие 2 сводится к известному результату из работы [12] при дополнительном условии масштабной эквивалентности (см. определение 6 ниже). Следующее свойство дозо-ответных функций приведено в работе [12] без названия, но существенно использовано там при выводе уравнения многообразия нулевого взаимодействия (см. [12], Appendix 1).

Определение 6. Пусть $f_i(x_i), i = 1, \ldots, n$ монотонные (в одинаковом смысле) функции, определённые на отрезках $[0, a_i), a_i > 0$. Назовём эти функции *масштабно эквивалентными*, если существует такая монотонная функция $g(x)$, определённая на промежутке $[0, A)$, $A > 0$, что для любого $i \in \{1, 2, \ldots, n\}$ существует такое положительное число λ_i, что $\lambda_i[0, a_i) \subset [0, A)$ и для всех $x_i \in [0, a_i)$ выполняется равенство

$$f(x_i) = g(\lambda_i x_i). \tag{12}$$

Из равенства (12) следует, что, при необходимости сужая область определения функций f_i, можно добиться выполнения равенств $\mathcal{E}(f_i) = \mathcal{E}(f_j)$ для любых $i, j \in \{1, 2, \ldots, n\}$. Кроме того, здесь предполагается справедливость равенств (1), что гарантирует выполнение аксиомы (A4). Из условия (12) следуют равенства

$$f_j^{-1}(y) = \frac{1}{\lambda_j} g^{-1}(y), \quad \forall j = 1, 2, \ldots, n, \quad f_j^{-1}(f_i(x_i)) = \frac{\lambda_i}{\lambda_j} x_i.$$

В частности, из равенства $f_i(x_i) = f_j(x_j)$ вытекает равенство $\lambda_i x_i = \lambda_j x_j$. Отсюда следует, что для масштабно эквивалентных функций (12) уравнение многообразия нулевого взаимодействия является уравнением гиперплоскости.

Следствие 3 [12]. Пусть в условиях теоремы выполняется равенство (9) и условие масштабной эквивалентности (12). Тогда уравнение многообразия нулевого взаимодействия (6) не зависит от агента, определено однозначно и имеет вид

$$\sum_{j=1}^{n} \frac{x_j}{X_j} = 1, \tag{13}$$

где X_k — величина k-ой переменной, соответствующая величине отклика Y_0.

3. ПРИМЕРЫ

3.1. Изоболы нулевого взаимодействия могут не быть линейными

Рассмотрим гипотетический пример, в котором функции отклика для каждого из двух агентов выбраны так, что условие (12) не выполняется. А именно, пусть функции f_1, f_2 определены на отрезке $[0; 1]$ и заданы равенствами

$$f_1(x_1) = x_1, \quad f_2(x_2) = x_2^2.$$

Так как эти функции, очевидно, не связаны равенством (12), то уравнение нулевого взаимодействия для них имеет вид (10) (или в симметричной форме (11)), что приводит к следующим уравнениям (при ретракции (9)):

$$k = 1: \ x_1 + x_2^2 = const, \quad k = 2: \ \sqrt{x_1} + x_2 = const.$$

Соответствующие изоболы аддитивности имеют *различный вид* и зависят от k (см. рис. 1).

В работе [12] оспаривается мнение S. W. Loewe о том, что изобола нулевого взаимодействия *может не быть линейной*, если функции $f_i(x_i)$ сильно различны. Напротив, автор работы [12] считает, что *независимо* от вида функций $f_i(x_i)$, нулевое взаимодействие представляется гиперплоскостью, выражаемой уравнением (13). Это действительно так при выполнении условия (12). Однако в общем случае многообразие нулевого взаимодействия описывается уравнением (10), которое не будет линейным при произвольных функциях $f_i(x_i)$. Приведённый пример подтверждает справедливость этого заключения.

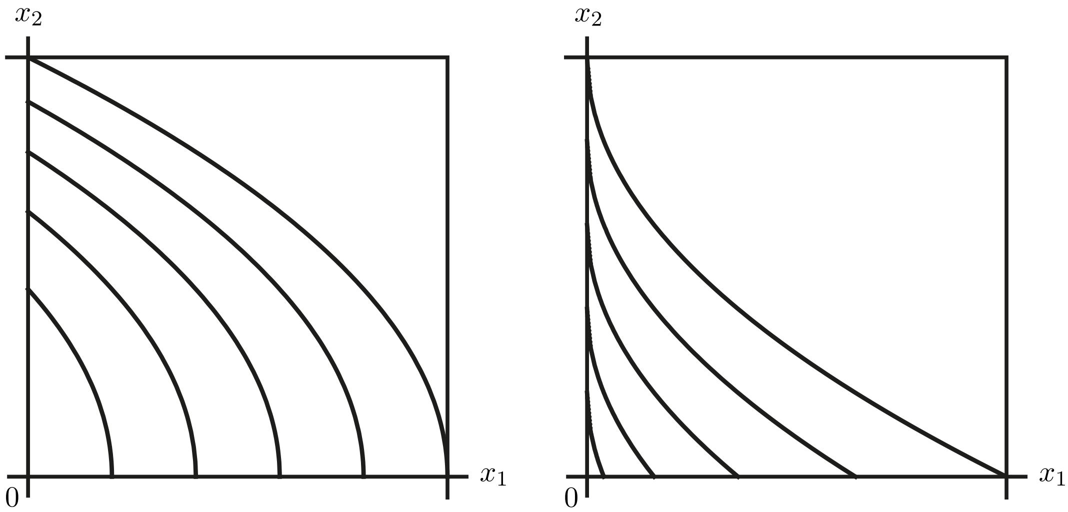

Рис. 1. Нелинейные изоболы нулевого взаимодействия: слева — относительного первой переменной; справа — относительно второй

3.2. Некоторые модели полной функции отклика

Практическое применение метода изобологрммм предполагает знание полной функции отклика $Y(x_1, \ldots, x_n)$, что редко случается. Вместо этого имеются экспериментальные данные, которые позволяют построить ту или иную аппроксимацию этой функции. Качество выводов, полученных с помощью такой аппроксимации, прямо зависит от качества этой аппроксимации. При этом, как правило, ограничиваются небольшим числом переменных [13], так как чем больше действующих факторов, тем труднее интерпретировать тип их совместного действия.

Наиболее часто встречаются полиномиальные аппроксимации, в частности, так называемая модель главных эффектов с взаимодействием

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^{p} b_i x_i + \sum_{i,j=1, i<j}^{p} b_{ij} x_i x_j + \varepsilon \tag{14}$$

и квадратическая модель

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^{p} b_i x_i + \sum_{i,j=1, i<j}^{p} b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{p} b_{ii} x_i^2 + \varepsilon, \tag{15}$$

где ε — ошибка модели.

Важным вопросом является проверка того, выполняется ли для выбранной модели условие масштабной эквивалентности (12), которое гарантирует линейность и единственность многообразия нулевого взаимодействия (при заданной величине отклика Y_0). Если условие (12) не выполняется, то характеризация типа совместного действия будет зависеть от того, относительно какой переменной выполняется определение 1. Рассмотрим выполнимость этого условия для моделей (14) и (15) от двух переменных, предполагая, что функции f_1, f_2 задаются равенством (1).

3.3. Линейная модель с взаимодействием

Пусть в модели (14) $p = 2$ и $b_1 \neq 0$, $b_2 \neq 0$. В этом случае при одинаковых знаках коэффициентов b_1, b_2 условие (12) выполняется, так что выводы о характере совместного действия, полученные на основании уравнения (13), корректны.

Действительно, без ограничения общности можно считать, что $b_0 = 0$. Тогда

$$f_1(x_1) = b_1 x_1, \quad f_2(x_2) = b_2 x_2.$$

Значит, $g(x) = x$, если $b_1 > 0$, $b_2 > 0$ и $g(x) = -x$, если $b_1 < 0$, $b_2 < 0$. В обоих случаях $\lambda_i = |b_i|$, $i = 1, 2$.

3.4. Квадратическая модель

Для квадратической модели (15) при $p = 2$ функции отклика каждой переменной задаются равенствами

$$f_1(x_1) = b_0 + b_1 x_1 + b_{11} x_1^2, \tag{16}$$

$$f_2(x_2) = b_0 + b_2 x_2 + b_{22} x_2^2. \tag{17}$$

Следовательно, эти функции будут монотонны только в определённой области значений независимых переменных x_1 и x_2 и условие (12) может не выполняться. Кроме того, даже если эти функции имеют одинаковую монотонность на некоторых промежутках $x_1 \in [0; a_1]$, $x_2 \in [0; a_2]$, необходимо также проверять, что их области значений совпадают.

Нетрудно проверить, что равенство (12) для функций (16), (17) будет выполняться тогда и только тогда, когда b_1, b_2 одного знака и имеет место равенство

$$\left(\frac{b_1}{b_2}\right)^2 = \frac{b_{11}}{b_{22}}. \tag{18}$$

Таким образом, для квадратической модели (15) даже при наличии промежутков одинаковой монотонности функций (16), (17) и одинаковой области значений функций f_1, f_2 на этих промежутках, условие (12) может не выполняться.

3.5. Практический пример

Рассмотрим пример из работы [14], в которой исследовалось влияние очищенной пшеничной муки (Refined Wheat Flour, далее будет использоваться сокращение RWF, обозначается переменной x_1) и отрубей из проса (Barnyard Millet Bran, BMB, переменная x_2) на различные характеристики хлеба. Эксперимент был построен по центральному композиционному плану, в котором x_1 изменялось от 70 до 100 г, а x_2 — в пределах 5–30 г. В ортогональной кодировке изменение переменных было от -1 до 1. В качестве отклика y были взяты 10 разных характеристик качества хлеба, из которых мы рассмотрим только «Overall acceptability» (общая приемлемость). Для аппроксимации отклика использовалась модель (15), причём коэффициент детерминации модели составлял 0.88. Уравнение модели имеет вид (в ортогональной кодировке)

$$y = 5.2 + 0.3x_1 - 0.91x_2 + 0.21x_1x_2 + 0.21x_1^2 - 0.25x_2^2.$$

Как и ранее, будем считать, что функции отклика для каждой переменной задаются равенством (1). Сделаем линейное преобразование переменных x_1, x_2, чтобы новые переменные были определены на отрезке $[0; 1]$. Получим уравнение (сохранены старые обозначения для независимых переменных)

$$y = 5.98 - 0.66x_1 - 1.24x_2 + 0.84x_1x_2 + 0.84x_1^2 - x_2^2, \tag{19}$$

в котором переменные x_1, x_2 принимают значения на $[0, 1]$. Соответствующие функции (16), (17) задаются уравнениями

$$f_1(x_1) = 5.98 - 0.66x_1 + 0.84x_1^2,$$

$$f_2(x_2) = 5.98 + 1.24x_2 - x_2^2.$$

Изоболы как линии уровня для уравнения (19) можно построить без дальнейших вычислений, однако корректно трактовать их для определения характера совместного действия можно только при выполнении аксиом (A1)–(A4), в частности при монотонности функций (16), (17). Это приводит к необходимости поиска такой области $D_1 \times D_2$ в пространстве $[0;1]^2$, в которой эти условия будут выполняться. Заметим также, что для функций (16), (17) не выполняется равенство (18), так что уравнение (10) определяет две изоболы нулевого взаимодействия.

Нетрудно проверить, что отрезках $[0;0.3929]$ и $[0;0.09697]$ функции $f_1(x_1)$ и $f_2(x_2)$ соответственно имеют одинаковую монотонность (убывают) и одинаковую область значений (отрезок $[5.85;5.98]$). При этом на произведении $[0,0.3929] \times [0,0.09697]$ область значений функции (19) равна $[5.75;5.98]$. На отрезке $[5.85,5.98]$ определены обратные функции $f_1^{-1}(y_1)$ и $f_2^{-1}(y_2)$, уравнения которых имеют вид

$$f_1^{-1}(y_1) = 0.0119048\left(33 - 1.73205\sqrt{2800y_1 - 16381}\right),$$
$$f_2^{-1}(y_2) = 0.02\left(-31 + \sqrt{15911 - 2500y_2}\right).$$

Возьмём в области $[5.85;5.98]$ значения 5.86, 5.885, 5.91, 5.935, 5.96., для которых построим изоболы функции y (по уравнению (19)) и гипотетические изоболы нулевого взаимодействия, определяемые уравнением (10), предполагая, что ретракция задаётся равенством (9). Из уравнения (8) получим следующие уравнения относительно каждой из функций $f_1(x_1)$ и $f_2(x_2)$:

$$k = 1: \ x_1 + f_1^{-1}\left(f_2(x_2)\right) = const_1,$$
$$k = 2: \ f_2^{-1}\left(f_1(x_1)\right) + x_2 = const_2,$$

где $const_1$, $const_2$ принимают значения 0.286, 0.190, 0.126, 0.075, 0.032 и 0.090, 0.072, 0.054, 0.035, 0.016 соответственно.

Расположение изобол нулевого взаимодействия для $k = 1$ и $k = 2$ показано на рис. 2.

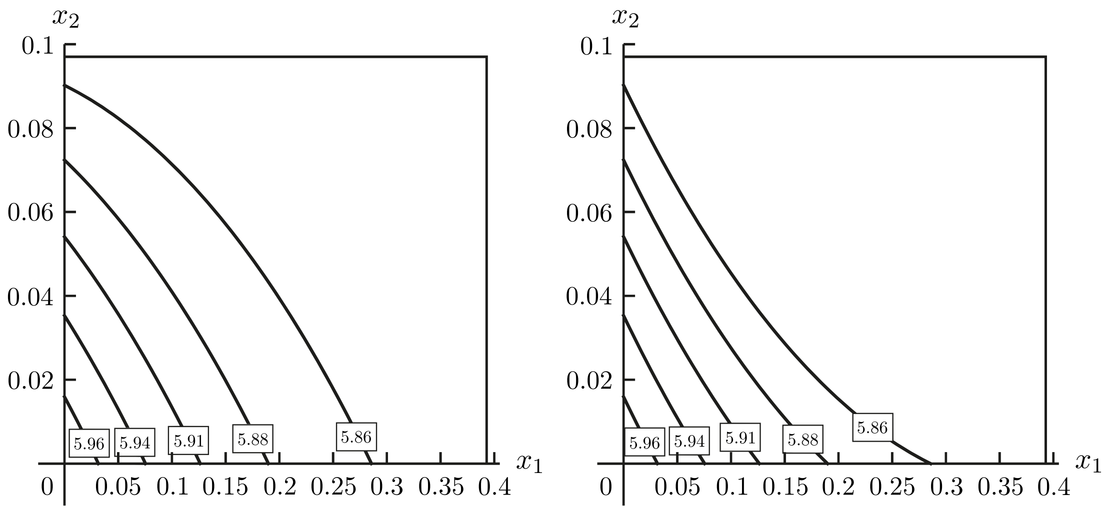

Рис. 2. Изоболы нулевого взаимодействия относительно первого (слева) и второго (справа) действующих факторов для уравнения (19). Числа у каждой изоболы равны выбранным значениям функции отклика (19)

Таким образом, в зависимости от того, относительно какой переменной выполняется определение 4, выводы о типе совместного действия будут различны. Единственный случай, при котором заключение можно сделать однозначно, возникает при расположении изоболы модели (19) выше или ниже обеих изобол на рис. 2. Однако в данном случае это не так. Например, изобола модели (19), соответствующая уровню 5.86 находится между изоболами нулевого взаимодействия, соответствующими этой же величине отклика (см. рис. 3).

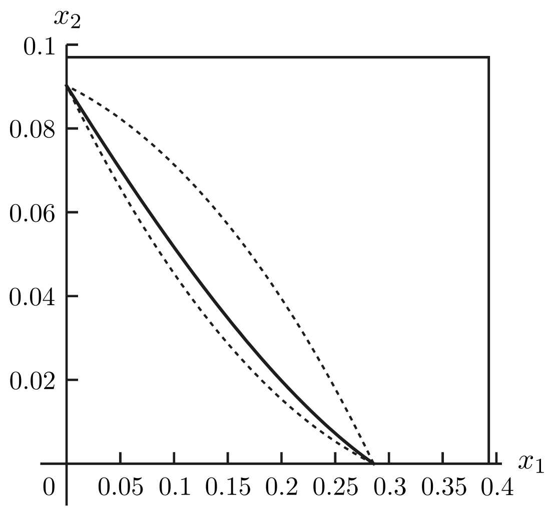

Рис. 3. Изоболы нулевого взаимодействия уровня эффекта 5.86 относительно первого и второго действующих факторов для уравнения (19) (пунктирные линии) и изобола этого же уровня для модели (19) (сплошная линия)

Следовательно, для уровня отклика 5.86 и модели (19) совместное действие факторов x_1, x_2 следует считать супераддитивным относительно первого фактора и субаддитивным относительно второго. Можно проверить, что аналогичный вывод справедлив для любого значения из отрезка $[5.85; 5.98]$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение типа комбинированного (совместного) действия факторов представляет одну из важный задач медико-биологических наук. Однако несмотря на широкое применение метода изобол для такого анализа его основания остаются недостаточно формализованными, что ограничивает возможности развития метода и может приводить к ошибкам в его применении. Изложенная в статье абстрактная схема метода изобол позволяет не только рассматривать этот метод с точки зрения математики, но и распространить его на ситуации, не охватываемые условием масштабной эквивалентности.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор хотел бы выразить благодарность анонимному рецензенту и ответственному секретарю редакции за ценные замечания и рекомендации.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено за счет субсидий Минобрнауки РФ на выполнение научной темы FUMN-2024-0002. Других источников финансирования проведения или руководства данным конкретным исследованием не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор данной работы заявляет, что у него нет конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Greco W. R., Bravo G., Parsons J. C.* The Search for Synergy: A Critical Review from a Response Surface Perspective // Pharmacol. Rev. 1995. V. 47, N 2. P. 331–385.
2. *Tang J., Wennerberg K., Aittokallio T.* What is synergy? The Saariselkä agreement revisited // Front. Pharmacol. 2015. V. 6, N 1. Article 181; DOI: 10.3389/fphar.2015.00181
3. *Huang R.-Y., Pei L., Liu Q., Chen S., Dou H., Shu G., Yuan Z.-X., Lin J., Peng G., Zhang W., Fu H.* Isobologram Analysis: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research // Front. Pharmacol. 2019. V. 10, N 29. Article 1222; DOI: 10.3389/fphar.2019.01222
4. *van den Berg J. P., Vereecke H. E. M., Proost J. H., Eleveld D. J., Wietasch J. K. G., Absalom A. R., Struys M. M. R. F.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions in anaesthesia. A review of current knowledge and how it can be used to optimize anaesthetic drug administration // Br. J. Anaesth. 2017. V. 118, N 1. P. 44–57; DOI: 10.1093/bja/aew312
5. *Short T. G., Hannam J. A.* Pharmacology and Physiology for Anesthesia. Philadelphia: Elsevier. 2019.
6. *Basting R. T., Spindola H. M., de Oliveira Sousa I. M., Queiroz N. C. A., Trigo J. R., de Carvalho J. J. E., Foglio M. A.* Pterodon pubescens and Cordia verbenacea association promotes a synergistic response in antinociceptive model and improves the anti-inflammatory results in animal models // Biomed. Pharmacother. 2019. V. 112. Article 108693; DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108693
7. *Atwal N., Casey S. L., Mitchell V. A., Vaughan C. W.* THC and gabapentin interactions in a mouse neuropathic pain model // Neuropharmacology. 2019. V. 144. P. 115–121; DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.10.006
8. *Luszczki J. J., Wlaz A.* Isobolographic analysis of interactions — a pre-clinical perspective // J. Pre-Clin. Clin. Res. 2023. V. 17, N 4. P. 238–241; DOI: 10.26444/jpccr/177246.
9. *Foucquier J., Guedj M.* Analysis of drug combinations: current methodological landscape // Pharmacol. Res. Perspect. 2015. V. 3, N 3. Article e00149; DOI: 10.1002/prp2.149
10. *García M. A. M., Lage M. A. P.* Dose-response analysis in the joint action of two effectors: A new approach to simulation and identification and modelling of some basic interactions // PLoS One. 2013. V. 8, N 4. Article e61391; DOI: 10.1371/journal.pone.0061391
11. *Rodea-Palomares I., González-Pleiter M., Martin-Betancor K., Rosal R., Fernández-Piñas F.* Additivity and Interactions in Ecotoxicity of Pollutant Mixtures: Some Patterns, Conclusions, and Open Questions // Toxics. 2015. V. 3, N 4. P. 342–369; DOI: 10.3390/toxics3040342
12. *Berenbaum M. C.* The Expected Effect of a Combination of Agents: the General Solution // J. Theor. Biol. 1985. V. 114, N 3. P.413–431; DOI: 10.1016/s0022-5193(85)80176-4
13. *Myers R. H., Montgomery D. C., Anderson-Cook C. M.* Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. New Jersey: Hoboken, 2016.
14. *Nazni P., Gracia J.* Application of Response Surface Methodology in the Development of Barnyard Millet Bran Incorporated Bread // Int. J. Innov. Res. Sci. Eng. Technol. 2014. V. 3, N 9. Article 16041; DOI: 10.15680/IJIRSET.2014.0309038

SIBERIAN JOURNAL OF INDUSTRIAL MATHEMATICS

UDC 51-76:514.124:573.2:615.015.2

MATHEMATICAL FOUNDATIONS OF THE ISOBOLOGRAPHIC METHOD

© 2024 **V. G. Panov**

Institute of Industrial Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620137 Russia

E-mail: vpanov@ecko.uran.ru

Received 08.11.2022, revised 03.09.2024, accepted 29.10.2024

Abstract. More precise definitions of concepts and constructs used in biomedical sciences are proposed to analyze the joint action of factors using isobolograms. Formal definitions of concepts of zero interaction, scale-equivalent dose—response functions, and zero-interaction manifold are given. A general construction is proposed that formalizes the conditions of applicability and the basic methods for analyzing the combined action using isoboles. Equations of zero interaction manifolds are derived both in the case of scale-equivalent and arbitrary dose—response functions.

Keywords: combined (joint) action of factors, isobole, dose—response function, zero interaction, superadditivity, subadditivity, commutative diagram.

DOI: 10.33048/SIBJIM.2024.27.406

REFERENCES

1. W. R. Greco, G. Bravo, and J. C. Parsons, "The search for synergy: A critical review from a response surface perspective," Pharmacol. Rev. **47** (2), 331–385 (1995).
2. J. Tang, K. Wennerberg, and T. Aittokallio, "What is synergy? The SaariselkBËa agreement revisited," Front. Pharmacol. **6** (1), 181 (2015). https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00181
3. R.-Y. Huang, L. Pei, Q. Liu, S. Chen, H. Dou, G. Shu, Z.-X. Yuan, J. Lin, G. Peng, W. Zhang, and H. Fu, "Isobologram analysis: A comprehensive review of methodology and current research," Front. Pharmacol. **10** (29), 1222 (2019). https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01222
4. J. P. van den Berg, H. E. M. Vereecke, J. H. Proost, D. J. Eleveld, J. K. G.Wietasch, A. R. Absalom, and M. M. R. F. Struys, "Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions in anaesthesia. A review of current knowledge and how it can be used to optimize anaesthetic drug administration," Br. J. Anaesth. **118** (1), 44–57 (2017). https://doi.org/10.1093/bja/aew312
5. T. G. Short and J. A. Hannam, *Pharmacology and Physiology for Anesthesia* (Elsevier, Philadelphia, 2019).
6. R. T. Basting, H. M. Spindola, I. M. de Oliveira Sousa, N. C. A. Queiroz, J. R. Trigo, J. J. E. de Carvalho, and M. A. Foglio, "Pterodon pubescens and Cordia verbenacea association promotes a synergistic response in antinociceptive model and improves the anti-inflammatory results in animal models," Biomed. Pharmacother. **112**, 108693 (2019). https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108693
7. N. Atwal, S. L. Casey, V. A. Mitchell, and C. W. Vaughan, "THC and gabapentin interactions in a mouse neuropathic pain model," Neuropharmacology **144**, 115–121 (2019). https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.10.006
8. J. J. Luszczki and A. Wlaz, "Isobolographic analysis of interactions — a pre-clinical perspective," J. Pre-Clin. Clin. Res. **17** (4), 238–241 (2023). https://doi.org/10.26444/jpccr/177246

English translation is published in Journal of Applied and Industrial Mathematics, 2024, Vol. 18, No. 4, pp. 801–812.

9. J. Foucquier and M. Guedj, “Analysis of drug combinations: Current methodological landscape,” Pharmacol. Res. Perspect. **3** (3), e00149 (2015). https://doi.org/10.1002/prp2.149

10. M. A. M. Garcia and M. A. P. Lage, “Dose—response analysis in the joint action of two effectors: A new approach to simulation and identification and modelling of some basic interactions,” PLoS One **8** (4), e61391 (2013). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061391

11. I. Rodea-Palomares, M. González-Pleiter, K. Martin-Betancor, R. Rosal, and F. Fernández-Piñas, “Additivity and interactions in ecotoxicity of pollutant mixtures: Some patterns, conclusions, and open questions,” Toxics **3** (4), 342–369 (2015). https://doi.org/10.3390/toxics3040342

12. M. C. Berenbaum, “The expected effect of a combination of agents: The general solution,” J. Theor. Biol. **114** (3), 413–431 (1985). https://doi.org/10.1016/s0022-5193(85)80176-4

13. R. H. Myers, D. C. Montgomery, and C. M. Anderson-Cook, *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments* (Wiley, Hoboken, NJ, 2016).

14. P. Nazni and J. Gracia, “Application of response surface methodology in the development of Barnyard Millet Bran incorporated bread,” Int. J. Innov. Res. Sci. Eng. Technol. **3** (9), 16041 (2014). https://doi.org/10.15680/IJIRSET.2014.0309038