

Якщо величина негативного рефлексу до або після переробки дорівнює нулю, що практично буває винятково рідко в межах секреторної методики, такий розрахунок провести неможна.

Отже, виражаючи ступінь переробки в процентах, ми можемо кількісно оцінювати переробку кожного з нервових процесів.

Для судження про загальну оцінку рухливості в ряді випадків зручно користуватися відносними величинами. З цією метою можна зіставити відношення абсолютних величин гальмівних рефлексів до і після переробки. Ряд показників, одержаних з допомогою подібного розрахунку для кожного досліду по переробці в будь-якому випадку можна обробити статистично, що не завжди можна зробити при користуванні загальноприйнятою методикою.

Література

1. Красуский В. К.— В кн.: Методики изучения типологич. особен. высш. нервн. деят. животн. «Наука», 1964, 32.
2. Сиротский В. В.— Журн. высш. нервн. деят., 1967, 17, 3, 431.
3. Трошихін В. О., Сиротський В. В., Тихомирова Л. Д.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1967, 13, 3, 291.

Надійшла до редакції
15.V 1970 р.

УДК 578.087.1

СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПОМИЛОК ПРИ ВИЗНАЧЕННІ МІКРОПЛОЩІ ТА ЇХ ЗНАЧЕННЯ В ЦИТОФОТОМЕТРІЇ

Л. М. Ліберман, В. І. Малюк

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця та Інститут зоології АН УРСР, Київ

Обов'язковою складовою частиною більшості кількісних цитофізіологічних досліджень є вимірювання розмірів клітин та її структур. Численні літературні дані свідчать про те, що об'єм клітин, ядер та інших органодів зазнає чітких змін навіть при дуже тонких зрушеннях їх функціональної активності [3—5, 8, 9].

Основну інформацію про розміри мікрооб'єктів звичайно одержують при вимірюванні їх площі. Абсолютна величина площі, як відомо, встановлюється з допомогою мікропланіметрії, планіметрії зображень фотонегативів і зарисовок, а також зважування перенесених на папір і вирізаних з нього контурів об'єкта. Усі згадані методики мають досить істотні недоліки — вони громіздкі і малопродуктивні. Тому широкого поширення дістав менш трудомісткий спосіб визначення площі S мікрооб'єкта з використанням результатів його лінійних вимірювань і наближеної геометричної моделі. Природно, що величині S , обчисленій у такий спосіб, притаманні різні за своїми походженнями похибки, без аналізу яких важко судити про достовірність результатів. Ми розглянули статистичний характер похибок цієї методики непрямого визначення мікроплощі, зумовлених недосконалістю приладу та відмінністю форми реального мікрооб'єкта від ідеального, що дозволило обґрунтувати її можливості та значення в цитофотометрії.

Нехай сукупності однотипних мікрооб'єктів властивий нормальний розподіл за S з середнім $\bar{S}$ і дисперсією σ_K^2 . Вимірюванням лінійних розмірів d притаманна випадкова похибка $\pm \Delta d$, значення якої визначаються багаторазовими повторними вимірюваннями d обраного об'єкта. Наприклад, за нашими даними, відтворюваність вимірювань d гвинтовим окуляр-мікрометром типу МОВ-1—15 («Цейс», Йена) становить 0,15—0,3 мк (± 1 —2 поділки шкали барабана при збільшенні $\times 600$). Похибки такого роду звичайно розподіляються за нормальним законом, в чому можна легко впевнитися [1]. Очевидно, аналогічно розподіляються значення похибок при прямих вимірюваннях S з допомогою згаданих раніше методик.

В ідеальному випадку мікрооб'єкт має форму кулі або частіше еліпсоїда. Легко показати, що значення відносної випадкової помилки, яку допускають при обчисленнях S внаслідок похибки Δd , визначається виразом $\frac{\Delta S}{S} = \left(1 + \frac{1}{e}\right) \frac{\Delta d}{d}$, d — менший діаметр еліпса, e — його ексцентриситет (відношення більшого діаметра до меншого). Залежність $\frac{\Delta S}{S}$ від d при різних e показана на рис. 1. Помилка розрахунку площ ядер ($S \approx 100$ мк²) становить $\pm 2,5\%$ і наближається до експериментальної похибки. Оскільки абсолютна похибка ΔS виражається сумою лінійної і квадратичної функцій Δd : $\Delta S = \frac{\pi}{4} [(d_1 + d_2) \Delta d + (\Delta d)^2]$, останнім членом виразу можна знехтувати і, отже,

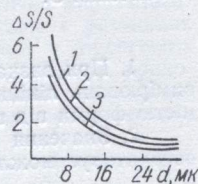
величини ΔS також розподіляються за нормальним законом з дисперсією $\sigma_1^2 = (\frac{\Delta S}{S})^2 \bar{S}^2$. Аналогічно розподіляються значення похибки ΔS при використанні іншої моделі, що неважко показати.

Істинна форма клітин та їх структур варіює і може значно відрізнятися від правильної. Тому розрахунок площі за формулами, крім випадкової помилки ΔS , спряжений також з систематичною помилкою $\eta(S)$, яку ми назвемо похибкою форми. Похибка $\eta(S)$ знижує точність визначення S , а її значення тим більше, чим значніше форма мікрооб'єкта відрізняється від моделі. Наприклад, значення $\eta(S)$ збільшуються приблизно на 4% при вимірюваннях площ витягнутих ядер нерівного профілю в порівнянні з гладкими кулястими ядрами [6].

Оскільки форма мікрооб'єктів варіює, змінюється й значення $\eta(S)$. Можна припустити, що при дослідженнях сукупності однотипних мікрооб'єктів, форма кожного з яких близька до обраної моделі $\eta(S)$ набуває значення, що розподіляється за нормальним законом, з дисперсією σ_2^2 . У вірності припущення неважко впевнитися, порівнявши результати визначень незалежних визначень S кожного об'єкта, одержаних вимірюванням лінійних розмірів і прямим способом. З такого порівняння визначається дисперсія σ_2^2 .

Рис. 1. Залежність відносної випадкової похибки визначення площі еліпсоїдальних мікрооб'єктів (%) від їх менших діаметрів.

Криві 1, 2, 3 розраховані для значень e , що дорівнюють відповідно 1, 2, 3; $\Delta d = \pm 0,15$ мк.



з урахуванням помилки безпосередніх вимірювань S . Якщо значення похибки $\eta(S)$ розподіляються за нормальним законом, то аналогічно розподіляються й значення сумарної помилки визначення S з дисперсією $\sigma_0^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2$, і експериментальні значення вимірювань S мікрооб'єктів з дисперсією $\sigma^2 = \sigma_k^2 + \sigma_0^2$. Для прикладу на рис. 2, а наведений один з розподілів такого виду.

Нормальність розподілу величин $\eta(S)$ у свою чергу доводить, що похибки ΔS і $\eta(S)$ тотожно впливають на результати вимірювань S . Тому згадані помилки можна

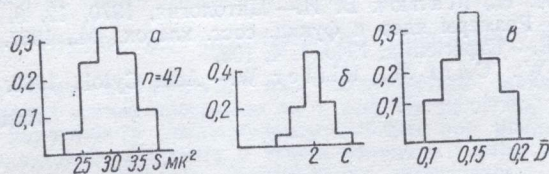


Рис. 2. Розподіл ядер малих лімфоцитів периферичної крові людини за площею (а), вмістом ДНК в умовних одиницях плодності c (б), середньою оптичною щільністю (в).

По вертикалі: відносна кількість ядер, n — кількість досліджуваних ядер.

порівнювати. Водночас нормальний розподіл значень $\eta(S)$ обґрунтовує правомочність розглядуваної методики визначення S . Питання про кількість об'єктів, які необхідно виміряти для досягнення заданої надійності, розв'язується так само, як і при аналізі клітин за оптичними щільностями D в цитофотометрії з урахуванням похибок цитофотометра [2].

Вимірювання площі мікрооб'єктів є необхідним етапом цитофотометричних досліджень вмісту речовини на приладах з нарізним вимірюванням D і S . Хоч сумарна випадкова похибка цитофотометра і окуляр-мікрометра вища, ніж похибка автоматичних скануючих мікроспектрофотометрів ($\pm 5\%$ у наших дослідках проти $\pm 1,5-2\%$ [10]), таким дослідженням притаманні певні переваги: нарізні визначення D і S дозволяють вивчати регресійну залежність між m і S . Ця обставина має важливе значення для визначення ступеня поліплоїдизації клітин [4].

Аналіз похибки форми $\eta(S)$ вказує, що її вплив на результати визначення S мікрооб'єктів аналогічний впливу похибки розподілу речовини $\eta(D)$ в однохвильовій цитофотометрії [7]. Останній висновок вірний, незважаючи на деякі відмінності між $\eta(D)$ і $\eta(S)$: позитивні і негативні значення $\eta(S)$ рівномірні, оскільки вони варіюють близько нуля, тоді як значення $\eta(D)$ варіюють близько середніх значень, які

визначають показники її параметрів, зберігаючи її постійний знак. Відзначимо, що в тих випадках, коли сукупностям мікрооб'єктів властивий нормальний розподіл як за S , так і за m , так само розподіляються і середні значення оптичних щільностей $\bar{D}$ (рис. 2, б, в), оскільки з точністю до постійної $m = \bar{D} \cdot S$. Отже, значення інших контрольованих випадкових і систематичних похибок в абсорбційній цитофотометрії також розподіляються за нормальним законом.

Розглянута методика вимірювання площі ядер була застосована нами при цитофотометричному аналізі вмісту ДНК у великій кількості об'єктів. Усього досліджено понад 8500 клітин у нормі, патології і первинній культурі тканини на 50 препаратах. Зокрема, були досліджені клітини нормальних астроцитів, зернистого шару мозочка і олігодендроглії, ендотелію і фібробластів грудної аорти, а також гладком'язові клітини міжреберних артерій людини. У всіх згаданих популяціях була виявлена низька проліферативна активність, що узгоджується з даними авторадіографії. Одержані розподіли за вмістом ДНК m виявились близькими до нормального. Отже, результати експериментів посередньо підтверджують вірність запропонованого аналізу похибок визначення S .

Висновки

1. При визначенні площі мікрооб'єктів на основі модельних уявлень і результатів вимірювань лінійних розмірів неминучі помилки приладу і похибки, зумовлені відмінністю форми від геометричної моделі.
2. Значення похибок обох видів розподіляються за нормальним законом, що обґрунтовує можливість застосування викладеної методики.

Література

1. Агекян Т. А.— Основы теории ошибок для астрономов и физиков, М., 1968.
2. Агроскин Л. С.— Цитология, 1962, 4, 5, 585.
3. Бенюш В. А.— Карио- и цитофотометрич. изуч. полиплоидизации паренхимных клеток в процессах постнатальн. и восстановит. роста печени крыс. Автореф. дисс., М., 1968.
4. Бродский В. Я.— Трофика клетки, М., 1966.
5. Коган З. М.— Цитология, 1969, 11, 8, 917.
6. Либерман Л. Н., Малюк В. И., Кандыба Л. А.— Цитология, 1969, 11, 2, 260.
7. Либерман Л. Н., Малюк В. И.— Цитология, 1970, 12, 8, 1069.
8. Хесин Я. Е.— Размеры ядер и функц. сост. клеток, М., 1967.
9. Hintzsche E.— Experientia, 1945, 1, 4, 103.
10. Sandritter W., Carl M., Ritter W.— Acta Cytol., 1966, 10, 1, 26.

Надійшла до редакції
2.XII 1969 р.

УДК 577.3

ПРО ВИМІРЮВАННЯ НАДСЛАБКИХ СВІТИНЬ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

Б. Р. Киричинський, Е. З. Рябова, Я. І. Серкіз, Є. Ю. Чеботарьов
Сектор молекулярної біології і генетики Інституту мікробіології і вірусології
АН УРСР, Київ; Київський інститут експериментальної та клінічної онкології

Можливість вивчення надслабких світіннь біологічних тканин стала реальною в останні роки, коли успіхи радіоелектроніки зробили можливою реєстрацію та вимірювання надзвичайно слабких світлових потоків. Цілком зрозуміло, що дальший прогрес у цій галузі залежатиме від досягнень у напрямку створення досить простої і надійної апаратури, призначеної для проведення аналогічних досліджень.

Власне сам термін «надслабке світіння» — є збірним і охоплює світіння різного походження, дослідження і вимірювання яких, внаслідок вкрай незначної їх інтенсивності, можливе тільки з допомогою спеціальних високочутливих пристроїв.

Розрізняють два основні види надслабких світіннь.

І. Як встановлено рядом авторів [6, 10, 11], усі життєздатні клітини тварин і рослин безперервно випускають дуже слабе світіння в синьо-зеленій частині спектра. Таке спонтанне або темнове світіння є по-суті хемілюмінесценцією і виникає в тих випадках, коли енергія хімічного перетворення достатня для збудження енергетичних рівнів проміжних або кінцевих продуктів реакції. Для виникнення світіння у видимій