

МАТЕМАТИЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ ХРОНОАМПЕРОГРАМ

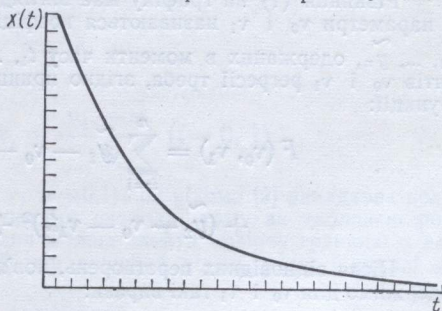
П. В. Белошицький, Ю. І. Петунін, Л. І. Якут

Відділ гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

В процесі еволюційного розвитку кисень набув виключно важливу роль у життєдіяльності організму, тому дослідження кількісних закономірностей динаміки процесу дихання є однією з першорядних проблем фізіології. Для розв'язання цієї задачі зараз широко використовується полярографічний метод визначення напруження кисню [3].

Методика досліджень

Ми проводили математичний аналіз кривих, що характеризують вичерпання запасів кисню в замкненій полярографічній комірці [1] в результаті його споживання тканинами. Індикаторним електродом служив платиновий дріт діаметром 0,1 мм з площею робочої поверхні близько 0,1 мм², а індиферентним — каломельний електрод. Змішування рідини в інкубаційній камері об'ємом 1 мл відбувалося з допомогою механічного змішувача, жорстко зв'язаного з синхронним двигуном. Температура в камері



Характерний вигляд хроноамперограми.

По вертикалі — сила дифузійного струму ум. од., по горизонталі — час (кожна поділка шкали відповідає 30 сек).

автоматично підтримувалась на рівні 38° С. Дифузійний струм реєстрували на полярографі ЛП-60. Розрахунок проводився в одиницях концентрації кисню. При цьому базувались на значенні розчинності повітря по Вінклеру ($\beta=0,0237$) з поправкою на солоність. Згідно цим розрахункам в 1 мл інкубаційного середовища міститься 0,223 мкМ О₂ (мл чи 0,446 мкАт/мл). Для зручності розрахунків цю величину переводили в розмірність наноатомів — 446 нАТ О₂/мл.

В міру зменшення запасів кисню в полярографічній комірці сила дифузійного струму знижувалась, крива змін його реєструвалась самописцем. Таким чином, одержана крива несе в собі інформацію, що перш за все характеризує зміну швидкості вичерпання запасу кисню в міру зниження рО₂. Ця інформація необхідна для вивчення тканинних процесів, їх можливих змін після попередньої адаптації до впливу гіпоксії.

Згідно прийнятій термінології, під хроноамперограмою розуміють криву, що реєструє зміну сили струму залежно від часу при постійному потенціалі індикаторного електрода [4]. Найбільш характерний вигляд хроноамперограми представлений на рисунку.

Математичні передумови статистичного аналізу хроноамперограм полягають в наступному: хай нам потрібно обчислити значення змінної y при умові, що відоме значення іншої змінної t , від якої y залежить. Найбільший інтерес як з теоретичної, так і з практичної точок зору представляють параметричні задачі: вважається, що y і t пов'язані функціональною залежністю $y=f(t)$, причому вигляд цієї функціональної залежності відомий у тому розумінні, що функція $f(t)$ має явний аналітичний вираз, що має невідомі параметри $v_0, \dots, v_{n-1}$, які потрібно визначити:

$$y = f(t; v_0, \dots, v_{n-1})$$

Якби ми спостерігали дійсні значення $f(t)$, то ця проблема зводилась би до знаходження n значень $y_1, \dots, y_n$ в точках $t_1, \dots, t_n$ і наступному розв'язанні системи n рівнянь з n невідомими $v_0, \dots, v_{n-1}$

$$y_1 = f(t_1; v_0, \dots, v_{n-1})$$

$$\dots$$

$$y_n = f(t_n, v_0, \dots, v_{n-1}).$$

Проте на практиці ніколи не спостерігаються дійсні значення y ; вони завжди спотворені деякими випадковими артефактами, так що в результаті спостережень ми маємо суперпозицію дійсних значень y і випадкових змінних z : $y = y + z$.

Звичайно приймають, що параметри v_i входять у функцію $f(t)$ лінійно

$$f(t; v_0, \dots, v_{n-1}) = \sum_{i=0}^{n-1} v_i \varphi_i(t),$$

де $\varphi_i(t)$ — відомі функції. Для нашої мети можна обмежитися випадком:

$$\varphi_i(t) = t^i \quad (i = 0, 1, 2, \dots, n-1).$$

Тобто, одержуємо схему лінійної регресії, вивченням якої займається регресивний аналіз.

В найбільш простому випадку маємо лише два невідомих параметри v_0 і v_1 , так що залежність y від t виразиться формулою:

$$y = v_0 + v_1 t. \quad (1)$$

Рівняння (1) на графіку має вигляд прямої лінії, що називається лінією регресії, а параметри v_0 і v_1 називаються коефіцієнтами регресії. Якщо маємо n спостережень $y_1, \dots, y_n$, одержаних в моменти часу $t_1, \dots, t_n$, то для знаходження невідомих коефіцієнтів v_0 і v_1 регресії треба, згідно принципу найменших квадратів, визначити мінімум функції:

$$F(v_0, v_1) = \sum_{i=1}^n (\tilde{y}_i - v_0 - v_1 t_i)^2 = (\tilde{y}_1 - v_0 - v_1 t_1)^2 + \\ + (\tilde{y}_2 - v_0 - v_1 t_2)^2 + \dots + (\tilde{y}_n - v_0 - v_1 t_n)^2.$$

Після відповідних перетворень, пов'язаних із знаходженням мінімуму цієї функції, одержимо для v_0 і v_1 такі вирази:

$$v_0 = \bar{y} - v_1 \bar{t}, \quad v_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (t_i - \bar{t})(\tilde{y}_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (t_i - \bar{t})^2}$$

$$\bar{t} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i, \quad \bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \tilde{y}_i.$$

Обчислення довірчих границь для параметрів v_0 і v_1 із заданим довірчим рівнем проводилось відповідно правилам [2].

В результаті приходимо до такого алгоритму для обчислення цих довірчих границь: обчислюється матриця

$$A = \begin{vmatrix} 1 & \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i \\ \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i & \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i^2 \end{vmatrix},$$

знаходиться обернена матриця A^{-1} до матриці A :

$$A^{-1} = \begin{vmatrix} h_{11} & \gamma \\ \gamma & h_{22} \end{vmatrix},$$

$$h_{11} = \frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i^2}{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i^2 - \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i \right)^2},$$

де

$$h_{22} = \frac{1}{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i^2 - \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i \right)^2}.$$

Введемо такі позначення:

$$Q = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\tilde{y}_i - v_0 - v_1 t_i)^2,$$

$$s^2 = \frac{Q}{n-2},$$

$$s_0^2 = h_{11} s^2, \quad s_1^2 = h_{22} s^2, \quad x_i = \frac{v_i - \bar{v}_i}{s_i} \quad (i=0, 1).$$

Хай $\bar{v}_i$ — математичне очікування оцінки v_i ($i=0,1$); як відомо [2] випадкова величина x_i має розподіл Стюдента з $n-2$ ступенями свободи; тому за таблицею розподілу Стюдента [2] для даного довірчого рівня можна знайти довірчу границю α для (x_i) . (Як правило, в біології приймається 5%-ний довірчий рівень, тому і надалі ми будемо використовувати цей довірчий рівень.)

Довірча границя для v_i обчислюється за формулою:

$$v_i - \alpha s_i \leq \bar{v}_i \leq v_i + \alpha s_i \quad (i=0, 1).$$

Результати досліджень

Наведений статистичний аналіз можна застосувати для вивчення питання про існування тканинної адаптації до гіпоксії. Експериментальна робота проведена в лабораторії В. А. Березовського. Досліджували дві групи щурів. Тварини першої групи були контрольними, щурів другої групи — на протязі місяця щоденно «піднімали» в барокамері до висоти 5000 м над рівнем моря. Після проведеної адаптації до дії розрідженого повітря наважки (75 мг) тканин мозку, печінки, серця піддослідних тварин, як і контрольних, вміщували в полірографічну комірку для запису процесу вичерпання запасів кисню в результаті його утилізації тканинами.

Аналіз одержаних хроноамперограм показує, що їх можна з достатньою точністю апроксимувати експоненціально кривою вигляду:

$$x(t) = e^{v_1 t + v_0} \quad (2)$$

де t — час, $x(t)$ — кількість кисню в комірці в момент часу t , v_0 і v_1 —

параметри, які треба визначити, виходячи з експериментальної кривої $x(t)$. Рівняння (2) є математичною моделлю хроноамперограми. Диференціюючи функцію (2) по t , маємо:

$$\frac{dx(t)}{dt} = e^{v_1 t + v_0} v_1 = v_1 x(t), \quad x(0) = e^{v_0} \quad (3)$$

Звідси робимо висновок, що процес зменшення запасів кисню в полярографічній комірці визначається головним чином значенням параметра v_1 , що є зручним при дослідженні хроноамперограм. Крім

Таблиця 1

Математичні моделі хроноамперограм

Досліджувана тканина	Контроль				Дослід			
	v_1	$v_1 \pm \Delta_1$	v_0	$v_0 \pm \Delta_0$	v_1	$v_1 \pm \Delta_1$	v_0	$v_0 \pm \Delta_0$
Серце	-0,707	-0,770	6,363	6,331	-0,441	-0,463	6,049	6,032
		-0,644		6,395		-0,419		6,066
	-0,621	-0,690	6,583	6,167	-0,480	-0,511	6,247	5,882
		-0,552		6,999		-0,449		6,512
Середнє	-0,498	-0,553	6,160	5,888	-0,324	-0,350	5,946	5,722
		-0,465		6,432		-0,298		6,170
	-0,564	-0,614	6,198	5,880	-0,487	-0,546	6,331	6,024
		-0,514		6,516		-0,428		6,638
Мозок	-0,597	-0,633	6,326	5,716	-0,433	-0,448	6,143	5,676
		-0,570		6,986		-0,418		6,610
	-0,397	-0,432	6,265	5,971	-0,262	-0,286	6,644	6,367
		-0,362		6,559		-0,238		6,921
Середнє	-0,260	-0,315	6,796	6,284	-0,402	-0,439	6,730	6,379
		-0,205		7,308		-0,365		7,081
	-0,646	-0,689	6,208	5,926	-0,373	-0,416	6,582	6,219
		-0,603		6,490		-0,330		6,945
Печінка	-0,371	-0,401	6,434	6,140	-0,491	-0,561	6,544	6,074
		-0,341		6,728		-0,421		7,014
	-0,419	-0,439	6,425	5,756	-0,383	-0,406	6,625	5,938
		-0,400		7,094		-0,360		7,312
Середнє	-0,725	-0,822	6,247	5,741	-0,286	-0,323	6,600	6,223
		-0,628		6,753		-0,249		6,967
	-0,466	-0,511	6,417	6,094	-0,526	-0,592	6,664	6,240
		-0,421		6,740		-0,460		7,088
Середнє	-0,528	-0,602	6,701	6,198	-0,443	-0,496	6,797	6,354
		-0,454		7,204		-0,390		7,240
	-0,624	-0,656	6,393	5,703	-0,520	-0,551	6,393	6,155
		-0,592		7,083		-0,489		6,631
Середнє	-0,585	-0,617	6,439	5,481	-0,444	-0,468	6,613	5,904
		-0,553		7,397		-0,420		7,322

того, з диференціального рівняння (3) видно, що швидкість вичерпання запасів кисню прямо пропорційна його концентрації в навколишньому середовищі.

Логарифмуючи функцію $x(t)$, одержимо:

$$y(t) = \ln x(t) = v_1 t + v_0.$$

Таким чином, змінюючи масштаб з допомогою логарифмування, приходимо до випадку лінійної регресії, який раніше розглядався.

Використовуючи дані експериментально одержаних хроноамперограм, складаємо таблицю з n пар значень t_i і $x(t_i)$ ($i=1, \dots, n$). Значення $x(t_i)$ в наноатомах вимірювали через кожні 0,5 хв, так що t приймало значення: 0, 0,5; 1; 1,5; 2 і т. д. В наших дослідах n варіювало в межах від 19 до 33.

На основі складених таблиць провадили розрахунок параметрів v_0 і v_1 , а також їх довірчих границь для досліду і контролю. Результати одержаних обчислень наведені в табл. 1.

Аналіз експериментальних кривих показує, що експоненціальна апроксимація хроноамперограми $x(t)$ найбільш точна на початку процесу поглинання кисню тканинами; наприкінці цього процесу змінюється характер функціональної залежності поглинання кисню від часу в силу різних біологічних та фізичних факторів. Тому при наближенні цієї зміненої залежності експоненціальної кривої одержуються інші значення параметрів v_0 і v_1 . В зв'язку з цим був проведений розрахунок значень параметрів v_0 і v_1 і їх довірчих границь для першої та другої половин хроноамперограм. В табл. 2 наведені результати одержаних обчислень.

Виходячи з вигляду функції $x(t)$ в ці два якісно різні періоди поглинання кисню тканинами в замкненій полярографічній комірці, обчислювалась точка переходу $x_{\text{пер.}}$, починаючи з якої процес вичерпання запасів кисню йшов по іншому закону. Точка переходу визначалась як ордината точки пересічення двох кривих, що апроксимують хроноамперограму на початку і наприкінці процесу. Одержані дані наведені в табл. 3.

Таблиця 3

„Точки переходу“ процесу вичерпання запасів кисню тканинами контрольних та дослідних тварин

Досліджувана тканина	Контроль		Дослід	
	Упер. $\pm \Delta$	Середнє pO_2 в „точці переходу“ в мм рт. ст.	Упер. $\pm \Delta$	Середнє pO_2 в „точці переходу“ в мм рт. ст.
Серце	$3,42 \pm 1,31$	11,01	$2,82 \pm 1,42$	5,05
Мозок	$3,24 \pm 1,91$	9,20	$3,40 \pm 1,39$	10,78
Печінка	$4,06 \pm 0,71$	20,16	$3,89 \pm 0,84$	17,61

Всі обчислення проведені на ЕЦОМ «Мир» на обчислювальному центрі Київського політехнічного інституту.

Висновки

Застосування математичних методів для пояснення фізіологічних даних дозволяє відкрити непомітні закономірності і збільшити кількість інформації. Проведені дослідження та їх математична інтерпретація

дозволяють зробити висновок про зниження швидкості вичерпання запасів кисню в полярографічній комірці тканинами (печінка, серце, мозок) адаптованих до гіпоксії щурів.

Аналіз «точок переходу» дозволив встановити, що тканини серця та печінки адаптованих до гіпоксії тварин мають тенденцію до підтримання швидкості вичерпання запасів кисню по характерному для них закону до більш низьких значень парціального тиску кисню.

Література

1. Березовский В. А.—Напряжение кислорода в тканях при адаптации к гипоксии. Автореф. дисс., К., 1972.
2. Ван дер Варден Б. Л.—Математическая статистика, М., 1960.
3. Гейровский Я.—Полярографический метод. Теория и практическое применение, Л., 1937.
4. Полярографическое определение кислорода в биологических объектах, К., 1972.

Надійшла до редакції
20.II 1974 р.

MATHEMATICAL METHODS OF CHRONOAMPEROGRAM ANALYSIS

P. V. Beloshitsky, Yu. I. Petunin, L. I. Yakut

*Department of Hypoxic States, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev*

Summary

The article deals with the mathematical analysis of curves characterizing exhaustion of the oxygen reserve in a closed polarographic cell resulted from oxygen uptake by the tissues of the control rats and those adapted to the effect of hypoxia. The studies conducted with a small group of animals and their mathematical interpretation make it possible to draw a conclusion on a decrease in the rate of oxygen reserve exhaustion by all the studied tissues of the rats adopted to hypoxia. This is precisely characterised by the corresponding mathematic models. The analysis of the «transition points» which were determined as ordinates of intersection points of two curves approximating the corresponding chronoamperogram at the beginning and at the end of the process made it possible to establish that the adapted points of the heart and liver have a tendency to maintain the rate of oxygen reserve exhaustion according to a law peculiar to them to a lower partial oxygen tension. A thesis is established mathematically on the existence of a direct proportional dependence between the rate of oxygen exhaustion in a closed polarographic cell and pO_2 which might be connected with difficulties of oxygen penetration to the cell enzymic systems as oxygen partial tension drops.