

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ИНКУБАЦИИ НА УРОВЕНЬ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА БЕЛУГИ (HUSO HUSO) С ПОМОЩЬЮ ИСКУССТВЕННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

Мартьянов А.С.¹, Бедняков Д.А.¹, Неваленный А.Н.¹

¹ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет», Астрахань, e-mail: martalex.84@list.ru

В работе произведено определение уровня активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника *Huso huso* L. в широком диапазоне температур с помощью стандартных физиолого-биохимических методов. Для аппроксимации исследуемой зависимости выбран класс искусственных нейронных сетей под названием «многослойный персептрон». Использовалась двухслойная модель с одним скрытым слоем, содержащим 8 нейронов. Среднеквадратическая ошибка обучения модели составила $6,66474 \cdot 10^{-3}$ для обучающей выборки, $4,93819 \cdot 10^{-3}$ для контрольной и $3,76494 \cdot 10^{-3}$ для тестовой. Температурный оптимум для щелочной фосфатазы белуги находится в области свыше 50°C . При этом в области оптимума, как и на большей части исследуемого температурного диапазона, кривая температурной зависимости имеет достаточно пологий характер. Качество построенной компьютерной нейросетевой модели исследовалось дополнительно с помощью построения гистограммы распределения ошибок моделирования, а также путем построения линейной регрессии значений для результатов моделирования относительно полученных экспериментальных данных. Проведенный анализ подтверждает достаточно хорошее качество обучения созданной искусственной нейронной сети с учетом объема используемой для обучения выборки. Достигнутая точность моделирования позволяет сделать вывод о существенной ценности модели как средства прогноза уровня активности пищеварительного фермента при температурном воздействии. Учитывая полученные результаты, целесообразно расширить спектр применения нейронинформационных технологий для задач экзотрофии рыб.

Ключевые слова: мембранное пищеварение, пищеварительные ферменты, нейронные сети, анализ данных, экологические факторы, температура.

MODELING OF THE INCUBATION TEMPERATURE INFLUENCE ON THE ACTIVITY LEVEL OF ALKALINE PHOSPHATASE OF INTESTINAL MUCOSA OF BELUGA (HUSO HUSO) BY MEANS OF THE ARTIFICIAL NEURAL NETWORK

Martyanov A.S.¹, Bednyakov D.A.¹, Nevalenny A.N.¹

FSBEI HPE "Astrakhan State Technical University", Astrakhan, e-mail: martalex.84@list.ru

The aim of the work is to determine the level of alkaline phosphatase activity of the intestinal mucosa *Huso huso* L. in a wide temperature range with standard physiological and biochemical methods. To approximate the selected dependence the class of artificial neural network called a multilayer perceptron was used. We used the two-layer model with one hidden layer containing 8 neurons. RMS error of the learning model was $6.67 \cdot 10^{-3}$ for the training sample, $4.94 \cdot 10^{-3}$ for the control and $3.76 \cdot 10^{-3}$ for the test. The temperature optimum for alkaline phosphatase beluga is in excess of 50°C . In the region of the optimum, as in most of the investigated temperature range, the temperature dependence curve is fairly flat in nature. Quality of a built computer neural network model was tested further by constructing a histogram of the distribution of modeling errors, and by constructing of a linear regression values for the simulation results with respect to the experimental data. The analysis confirms the quality of learning is good enough to create an artificial neural network based on the volume of the training sample. The accuracy of the simulation suggests a significant value model as a means of forecasting the level of activity of the digestive enzyme at temperature influence. Considering these results, it is advisable to extend the range of applications for the technologies based on computational algorithms of neural networks to the research field of fish exotrophy.

Keywords: membrane digestion, digestive enzymes, neural networks, data analysis, environmental factors, temperature.

В настоящее время задача моделирования воздействия факторов окружающей среды на те или иные физиологические показатели животных зачастую оказывается достаточно сложной в силу принципиально нелинейного характера зависимостей. К числу таких

сложных явлений можно отнести механизмы, реализующие процессы экзотрофии организмов на физиолого-биохимическом уровне, прежде всего с помощью организованных ансамблей пищеварительных ферментов [3]. Задача усложняется при исследовании адаптаций таких ферментных систем к действию различных экологических факторов [3; 4]. В основе таких адаптаций лежат три универсальных механизма: изменение типа молекул, изменение концентрации макромолекул и адаптивная регуляция функций макромолекул (Ночачка, Somero, 1973, цит. по [3]). Взаимодействие же таких механизмов в их конкретных проявлениях с учетом видовых особенностей, как правило, приводит к нелинейным эффектам, наблюдаемым в экспериментальной работе. В отечественной и зарубежной литературе представлено значительное количество методических подходов и базовых принципов, а также и конкретных алгоритмов для создания моделей, достаточно полно учитывающих и отражающих нелинейный характер исследуемых зависимостей и явлений [6; 9; 10]. Одним из достаточно перспективных методов, позволяющих создавать прогностические модели при достаточном объеме статистических данных поведения моделируемой системы, являются нейросетевые технологии [1; 6; 7]. Нейронные сети - весьма обширный класс моделей, в рамках которого выделяют несколько подтипов, объединяемых общностью архитектуры [2; 8]. Нейросетевой подход позволяет получить решение сразу в виде функции, удовлетворяющей требуемым условиям гладкости и, если нужно, обладающей заданным поведением на бесконечности. Важно отметить также устойчивость нейронных сетей по отношению к ошибкам в данных и естественное распараллеливание вычислений, что позволяет реализовать предлагаемые методы в случае сложной геометрии области, в которой ищется решение [1; 7].

Целью данного исследования является создание и анализ нейросетевой модели воздействия температуры инкубации на уровень активности щелочной фосфатазы белуги (*Huso huso* L.).

Материал и методы исследования

Объектами исследования служили годовики белуги, выращенные в искусственных условиях. Из слизистой оболочки, отделяемой от кишечника, с помощью специального скребка, с помощью раствора Рингера для холоднокровных животных готовился гомогенат в разведении 1:100. Все эксперименты проводились в условиях *in vitro*. Для исследования воздействия на фермент гомогенат и субстрат инкубировались в диапазоне температур от 0 до 60 °С. Уровень активности фермента определяли с использованием стандартных физиолого-биохимических методик [5].

Компьютерное моделирование осуществлялось с помощью математического пакета MATLAB 8.0.0, нейросетевые модели создавались с помощью расширения Neural Network

Toolbox. Нейронная сеть определяется правилом построения (вид сети), числом элементов и способом их соединения друг с другом (структура сети) и коэффициентами, которые определяют конкретную функцию, моделирующую исследуемую зависимость (веса сети) [7]. Выбор вида сети, а также ее структуры и числе ее элементов в данном случае производился эмпирически с учетом доказанных сведений о том, что выбранная структура относится к классу универсальных аппроксиматоров [8]. Использовалась двуслойная сеть с одним скрытым слоем, содержащим 8 нейронов. Общая структура сформированной искусственной нейронной сети изображена на рис. 1.

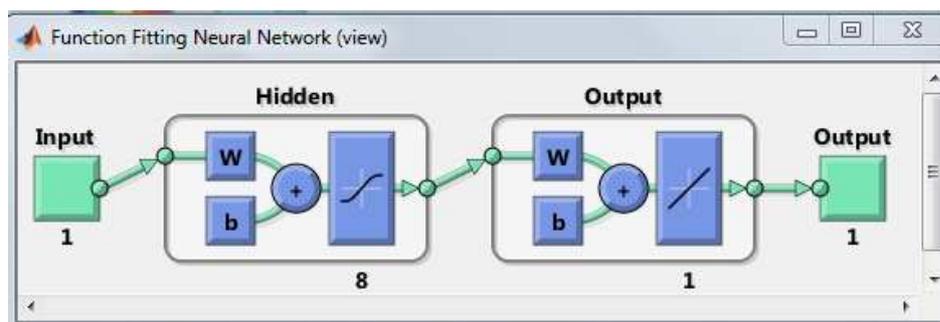


Рис. 1. Структура сформированной нейронной сети

(Input – вход сети, Output – выходной слой искусственных нейронов и выходная переменная модели, Hidden – скрытый слой искусственной нейронной сети; цифрами обозначено количество переменных/нейронов в слое)

В качестве типа используемой архитектуры был выбран многослойный персептрон, а именно двухслойная сеть с одним скрытым слоем, в котором было размещено 7 нейронов.

Результаты и обсуждение

70% исходной выборки экспериментальных данных было зарезервировано для обучения сети, по 15% выделено для тестовой и контрольной выборок. Обучение искусственной нейронной сети производилось методом Левенберга-Марквардта. Ход обучения сформированной искусственной нейронной сети изображен на рисунке 2. Обучение заняло 7 циклов (эпох), ошибка обучения составила:

- для обучающей выборки – $6,66474 \cdot 10^{-3}$;
- для контрольной выборки – $4,93819 \cdot 10^{-3}$;
- для тестовой выборки – $3,76494 \cdot 10^{-3}$.

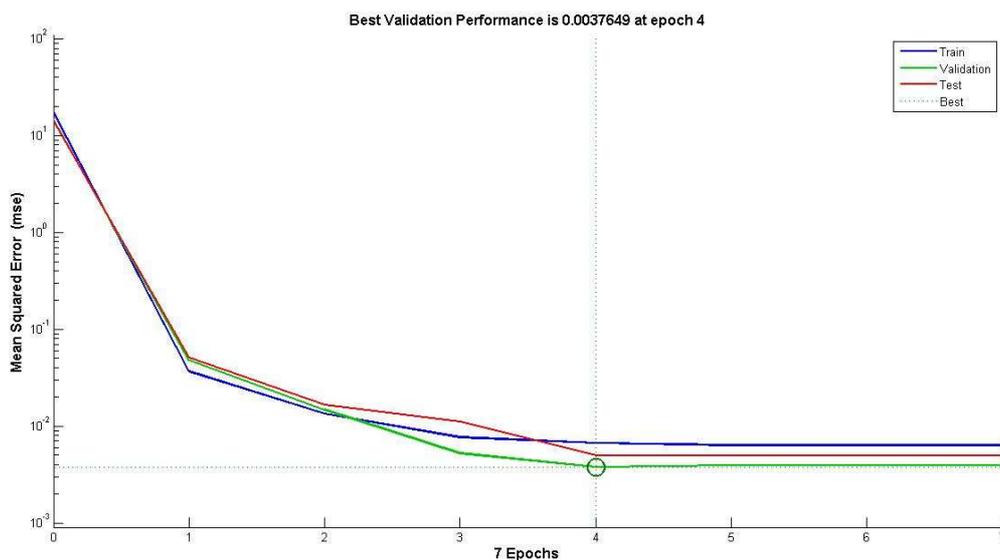


Рис. 2. Отображение хода обучения нейронной сети

(по горизонтали – количество эпох – циклов обучения, по вертикали – значения общей среднеквадратической ошибки для обучающей (train), контрольной (validation) и тестовой (test) выборок)

Результаты обучения модели в виде нелинейной зависимости изображены на рис. 3, где также отображены и точки, соответствующие исходным экспериментальным данным, формировавшим обучающую, тестовую либо контрольную выборки.

Из приведенного графика видно, что температурный оптимум для щелочной фосфатазы белуги находится в области свыше 50 °С. При этом в области оптимума, как и на большей части исследуемого температурного диапазона, кривая температурной зависимости имеет достаточно пологий характер, в силу чего, в частности, оптимум оказывается относительно «размытым». С учетом того что экспериментальное определение уровня активности в диапазоне от 50 до 70 °С проводилось с интервалом в 5 градусов, а не в 10, как в остальных случаях, данный эффект не может быть объяснен разреженностью точек измерения. Некоторое снижение уровня активности наблюдается при возрастании температуры свыше 65 °С, и на этом участке исследуемого диапазона температур относительно пологий характер функции сменяется существенно убывающим. Падение активности фермента при таком температурном воздействии часто наблюдается для пойкилотермных организмов и вызывается денатурирующим эффектом высокотемпературного воздействия.

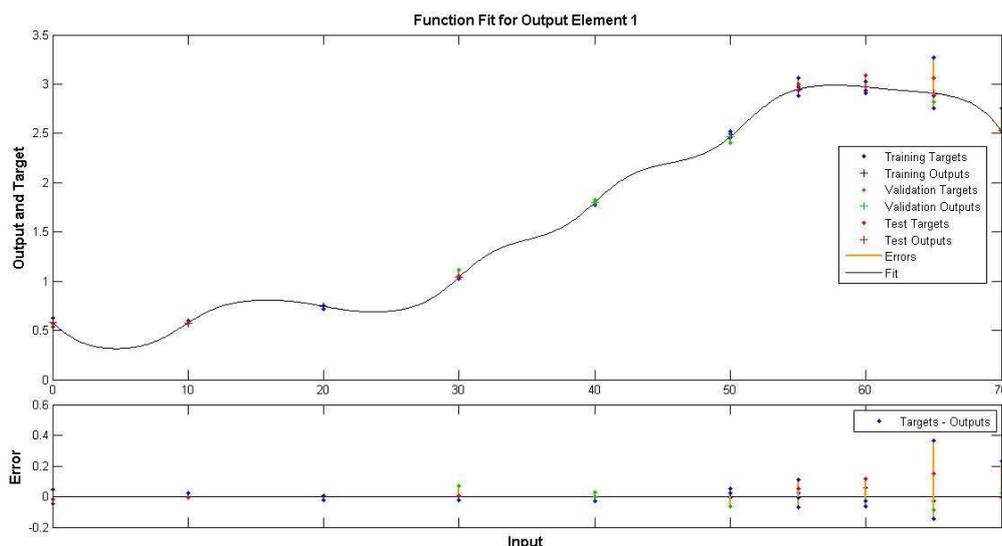


Рис. 3. Результаты обучения модели

(по горизонтали – значения температуры; по вертикали – на верхнем графике уровень активности исследуемого фермента: точками отмечены экспериментальные данные, линия – результат моделирования; на нижнем графике по вертикали – вычисленные значения ошибок)

Результат моделирования отражает значительную температурную лабильность исследуемого фермента, при этом верхний температурный диапазон (50-60 °C) оказывает существенное активирующее действие на уровень активности, это отличительная особенность данного пищеварительного фермента. Например, для ранее исследовавшейся температурной функции альфа-амилазы сибирского осетра и белуги, мальтазы белуги температуры данного диапазона оказывают угнетающее действие на активность фермента, скорее всего, как раз из-за проявляющегося в данном диапазоне денатурирующего эффекта в отношении ферментов.

Гистограмма распределения ошибок моделирования изображена на рис. 4, анализ данной гистограммы позволяет заключить, что в целом величины распределены достаточно равномерно и симметрично относительно нулевого уровня ошибок.

Для более детальной оценки качества обучения модели был проведен регрессионный анализ воспроизведенных данных в отношении к экспериментальным, результаты изображены на рис. 5.

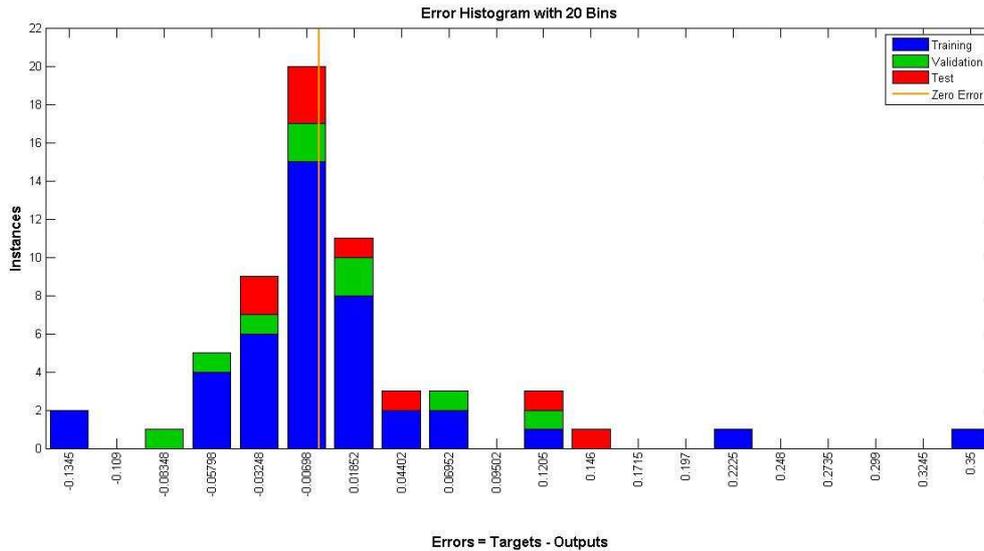


Рис. 4. Гистограмма распределения ошибок моделирования (вертикальная линия соответствует нулевому значению погрешности)

Данные, полученные в ходе экспериментальных исследований, позиционировались при этом в качестве независимой переменной (Y), а результаты моделирования для тех же значений температуры – в качестве зависимой (X).

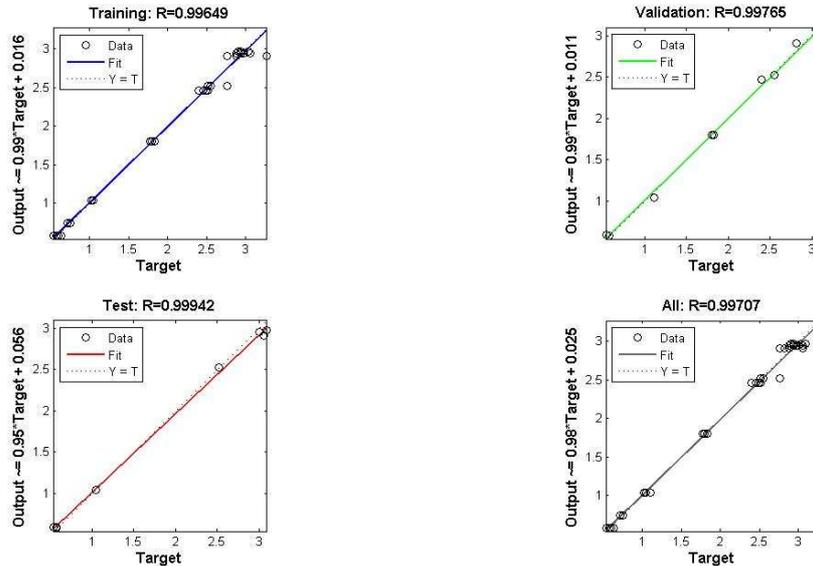


Рис. 5. Результат регрессионного анализа

(на каждом графике по горизонтали – экспериментальные данные, по вертикали – значения, полученные с помощью моделирования. Слева направо и сверху вниз изображены результаты для: обучающей выборки, контрольной выборки; общего объема выборки)

Уравнения регрессии и коэффициенты детерминации (R) для каждой из подвыборок данных и общего массива данных в целом выглядят следующим образом:

обучающая выборка: $Y = 0.99X + 0.016$; $R = 0.99649$;

контрольная выборка: $Y = 0.95X + 0.056$; $R = 0.99942$;

тестовая выборка: $Y = 0.99X + 0.011$; $R = 0.99765$;

общий массив данных: $Y = 0.98X + 0.025$; $R = 0.99707$.

Проведенный анализ подтверждает достаточно хорошее качество обучения созданной искусственной нейронной сети с учетом ограниченного объема используемой для обучения выборки. Данный показатель свидетельствует, с одной стороны, о достаточно хорошем качестве обучения, а с другой - сопоставление значений ошибки для обучающей, тестовой контрольной выборок позволяет сделать вывод об отсутствии эффекта переобучения.

Выводы:

1. Методология искусственных нейронных сетей достаточно хорошо применима при решении задач экологической физиологии пищеварения рыб. Искусственные нейронные сети уже достаточно широко применяются в биологических и экологических исследованиях, и, по-нашему мнению, с учетом полученных ранее результатов в области моделирования и многомерного статистического анализа целесообразно расширить спектр их применений и для задач экзотрофии рыб.
2. Непосредственно рассматриваемая в работе модель была создана на относительно небольшой выборке данных, что заставило использовать ряд дополнительных методов оценки ее качества. Достигнутая точность моделирования при этом позволяет сделать вывод о существенной ценности модели как средства прогноза уровня активности пищеварительного фермента при температурном воздействии.
3. С учетом сказанного выше необходимо отметить, что рассматриваемая методика по своей сути является одним из вариантов построения нелинейной регрессии. Созданную модель и результаты ее работы целесообразно в дальнейшем использовать в качестве компонента более сложных моделирующих систем, отражающих не только особенности поведения, но и структурные особенности моделируемых механизмов мембранного пищеварения.
4. Характерной особенностью температурного оптимума щелочной фосфатазы белуги является его локализация в области высоких значений температур (существенно выше физиологических значений, близких к величинам, при которых начинает проявляться денатурирующий эффект).

Список литературы

1. Васильев А.Н. Принципы и техника нейросетевого моделирования / А.Н. Васильев, Д.А. Тархов. – СПб. : Нестор-История, 2014. – 218 с.

2. Дьяконов В.П. MATLAB 6.5 SP1/7 SP1/7 SP2 + Simulink 5/6. Инструменты искусственного интеллекта и биоинформатики / В.П. Дьяконов, В.В. Круглов. – М. : СОЛОН-ПРЕСС, 2006. – 456 с.
3. Кузьмина В.В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. – М. : Наука, 2005. – 300 с.
4. Неваленный А.Н. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб / А.Н. Неваленный, А.В. Туктаров, Д.А. Бедняков. – Астрахань : ФГОУ ВПО «Астрахан. гос. техн. ун-т», 2003. – 152 с.
5. Неваленный А.Н. Энзимология / А.Н. Неваленный, Д.А. Бедняков, И.С. Держинская. – Астрахань : Изд-во АГТУ, 2005. – С. 74.
6. Розенберг Г.С. Введение в теоретическую экологию : в 2-х т. – Тольятти : Кассандра, 2013. – Т. 1 – С. 345–351.
7. Тархов Д.А. Нейросетевые модели и алгоритмы. Справочник. – М. : Радиотехника, 2014. – 352 с.
8. Хайкин С. Нейронные сети: полный курс. – М. : Издательский дом «Вильямс», 2016. – 1104 с.
9. Bloomfield V. Computer simulation and data analysis in molecular biology and biophysics: an introduction using R. – New York : Springer, 2009. – 321 pp.
10. Bolker B. Ecological models and data in R. – Princeton and Oxford : Princeton University Press, 2008. – 517 p.