

УДК [597.442-113.32:639.371.2.041.2/045.3]:[004.946:004.8.032.26]

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

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ИНКУБАЦИИ НА УРОВЕНЬ АКТИВНОСТИ КАЗЕИНЛИТИЧЕСКИХ ПРОТЕИНАЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА БЕЛУГИ С ПОМОЩЬЮ ИСКУССТВЕННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

Работа посвящена моделированию зависимости уровня активности казеинлитических протеиназ слизистой оболочки кишечника белуги (*Huso huso* L.) от величины температуры инкубации в широком диапазоне. Уровень активности фермента определяли 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 9 нейронов. Среднеквадратичная ошибка обучения модели составила 0,336 для обучающей выборки, 0,576 для контрольной и 0,23 для тестовой. Температурный оптимум для исследуемого фермента белуги находится в области свыше 45–50 °С. При этом в области оптимума 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. Анализ подтверждает достаточно хорошее качество обучения созданной искусственной нейронной сети с учетом объема выборки, используемой для обучения. Достигнутая точность моделирования позволяет сделать вывод о существенной ценности модели как средства прогноза уровня активности пищеварительного фермента при температурном воздействии. Результаты исследований свидетельствуют о возможности существенного расширения применения нейросетевых моделей при исследованиях в области экологии питания рыб.

Ключевые слова: мембранное пищеварение, пищеварительные ферменты, нейронные сети, машинное обучение, температура.

Введение

Одной из достаточно сложных задач современной экзотрофии рыб является моделирование воздействия тех или иных факторов окружающей среды на процессы пищеварения. Эта проблема с трудом поддается решению даже на уровне физиолого-биохимических адаптаций элементарных функций, механизмы реализации которых описываются в терминах биохимии [1]. В основе таких адаптаций лежат три универсальных механизма: изменение типа молекул, изменение концентрации макромолекул и адаптивная регуляция функций макромолекул (Nochachka, Someo, 1973, цит. по [1]). 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 конкретных алгоритмов для создания моделей, достаточно полно учитывающих и отражающих нелинейный характер исследуемых зависимостей и явлений [3–6]. Однако кроме методов классического математического моделирования в данной области в ряде случаев целесообразно применять технологии машинного обучения, позволяющие создавать предсказательные модели при достаточном объеме экспериментальных данных относительно моделируемого явления [6]. Одной из наиболее перспективных технологий данного направления являются так называемые нейронные сети [6–8]. Это класс моделей, в рамках которого выделяют существенное число подклассов, объединяемых общностью архитектуры и алгоритма настройки параметров модели [9, 10]. 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 ведется поиск решения [7, 8].

Целью данного исследования являлось создание компьютерной нейросетевой модели воздействия температуры инкубации на уровень активности казеинлитических протеиназ белуги (*Huso huso*).

Материал и методы исследования

Объектами исследования служили годовики белуги (*Huso huso*), 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 значений температуры 0–70 °С. Уровень активности фермента определяли с использованием стандартных физиолого-биохимических методик – активность фермента, в частности, определяли модифицированным методом Лоури: во время гидролиза казеина ферментами, содержащимися в ферментативно-активном препарате, образуются продукты, растворимые в трихлоруксусной кислоте, содержащие тирозина в которой затем определяется измерением оптической плотности [11].

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) [8]. Выбор вида сети, а также ее структуры и числа ее элементов в данном случае производился эмпирически, с учетом доказанных сведений о том, что выбранная структура относится к классу универсальных аппроксиматоров [9]. Общая структура сформированной искусственной нейронной сети изображена на рис. 1.

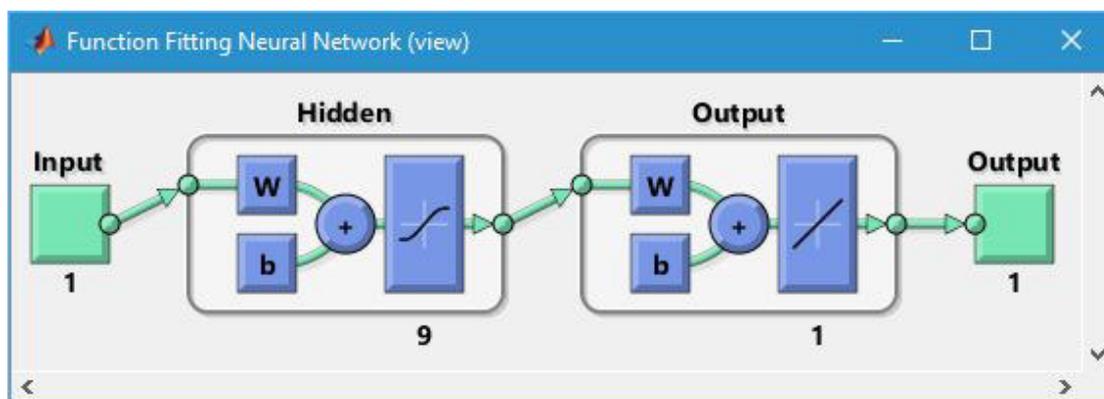


Рис. 1. Структура сформированной нейронной сети:
Input – вход сети, Output – выходной слой искусственных нейронов
и выходная переменная модели, Hidden – скрытый слой искусственной нейронной сети;
цифрами обозначено количество переменных/нейронов в слое

В качестве типа используемой архитектуры был выбран многослойный персептрон, а именно двухслойная сеть с одним скрытым слоем, в котором было размещено 9 нейронов.

Результаты исследований и их обсуждение

Для обучения сети было зарезервировано 70 % исходной выборки экспериментальных данных, по 15 % выделено для тестовой и контрольной выборок. Обучение искусственной нейронной сети производилось методом Левенберга – Марквардта. Ход обучения сформированной искусственной нейронной сети изображен на рис. 2. Обучение заняло 4 цикла, результирующее значение среднеквадратичной ошибки обучения составило:

- для обучающей выборки – 0,336;
- для контрольной выборки – 0,576;
- для тестовой выборки – 0,23.

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

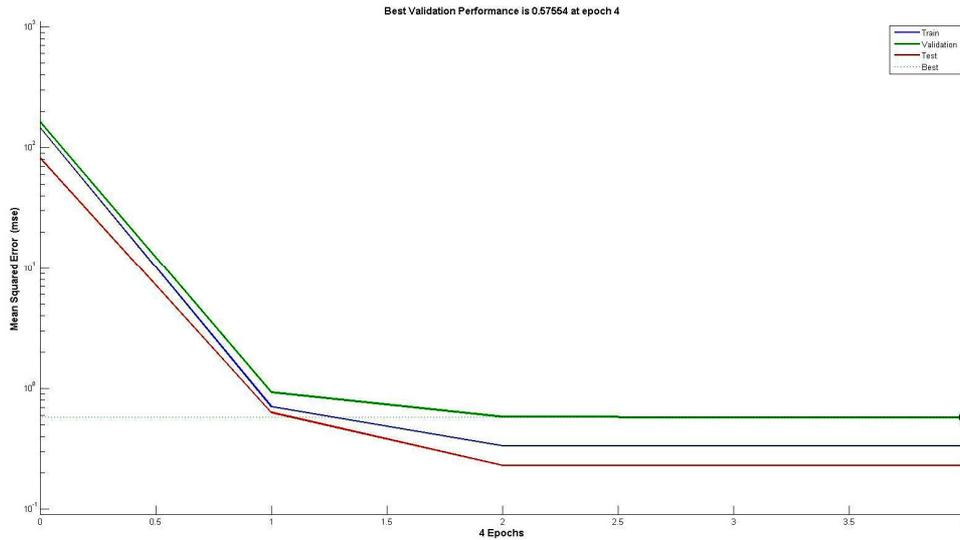


Рис. 2. Отображение хода обучения нейронной сети: по горизонтали – количество эпох – циклов обучения, по вертикали – значения общей среднеквадратичной ошибки для обучающей (train), контрольной (validation) и тестовой (test) выборок

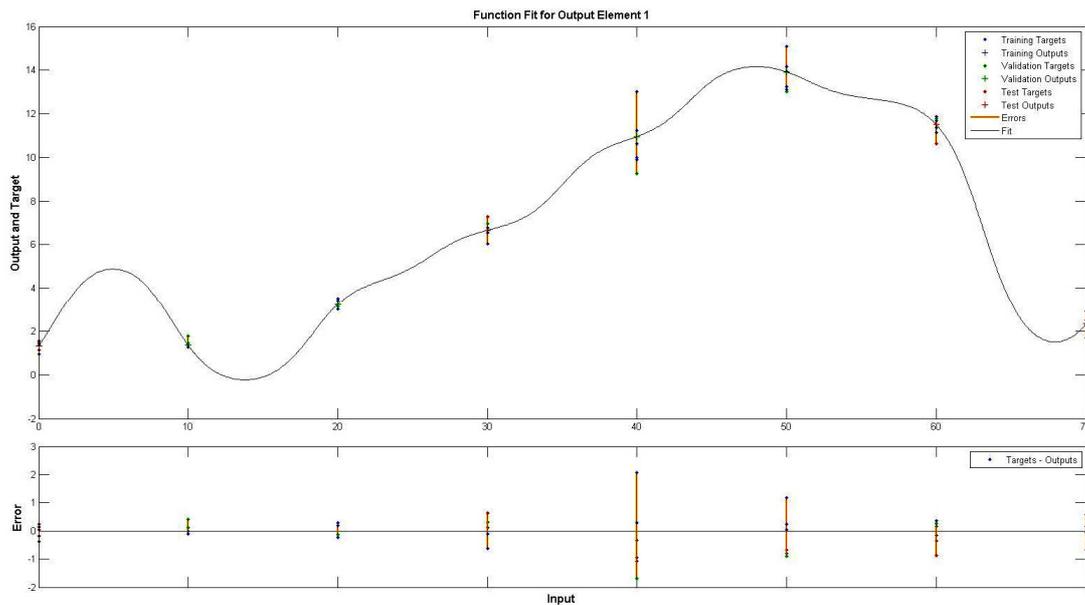


Рис. 3. Результаты обучения модели: по горизонтали – значения температуры; по вертикали – на верхнем графике уровень активности исследуемого фермента: точками отмечены экспериментальные данные, линия – результат моделирования; на нижнем графике по вертикали – вычисленные значения ошибок

Согласно данным на рис. 3, температурный оптимум для казеинлитических протеиназ белуги находится в области 45–50 °С. При этом в области оптимума кривая температурной зависимости имеет достаточно пологий характер, в силу чего, в частности, оптимум оказывается относительно «размытым», тогда как и на большей части исследуемого температурного диапазона более низких значений (за исключением области значений температуры от 0 до 10 °С) данная кривая является монотонно возрастающей функцией температуры. При этом рост активности фермента в зависимости от температуры довольно существенный. Существенное снижение уровня активности наблюдается при возрастании температуры свыше 60 °С, и на этом участке исследуемого диа-

пазона значений температурная функция оказалась существенно убывающей. Падение активности фермента при таком температурном воздействии часто наблюдается для пойкилотермных организмов и вызывается денатурирующим эффектом высокотемпературного воздействия.

Результат моделирования отражает значительную зависимость уровня активности исследуемого фермента от температуры окружающей среды в условиях инкубации, при этом верхний температурный диапазон (60–70 °С) оказывает существенное угнетающее действие на уровень активности, сравнимое с действием нижнего диапазона (0–10 °С).

Гистограмма распределения ошибок моделирования изображена на рис. 4. Анализ данной гистограммы позволяет заключить, что в целом величины распределены существенно асимметрично относительно нулевого уровня ошибок, особенно это касается среднеквадратичной ошибки на обучающей выборке.

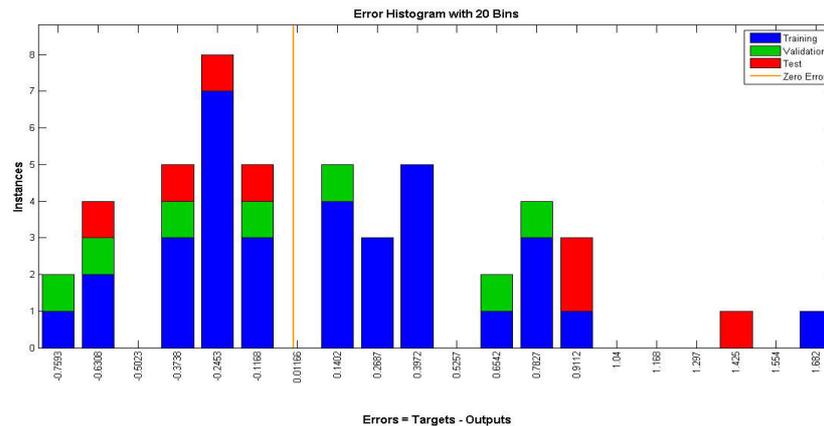


Рис. 4. Гистограмма распределения ошибок моделирования. Вертикальная линия соответствует нулевому значению погрешности

Для более детальной оценки качества обучения модели был проведен регрессионный анализ воспроизведенных данных по отношению к экспериментальным (рис. 5).

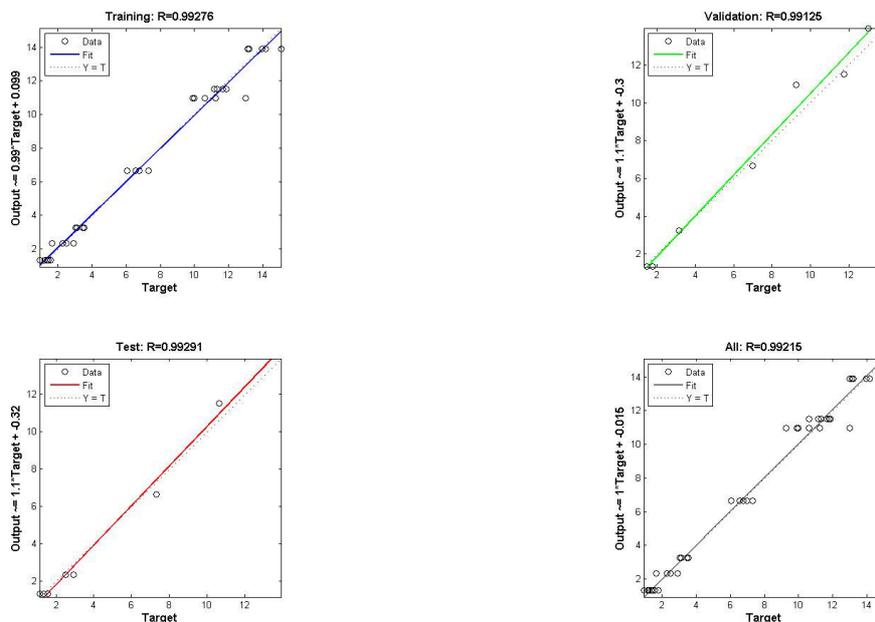


Рис. 5. Результат регрессионного анализа.

На каждом графике по горизонтали – экспериментальные данные, по вертикали – значения, полученные с помощью моделирования. Слева направо и сверху вниз изображены результаты для обучающей, контрольной, тестовой выборки, а также общего объема выборки

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

- обучающая выборка: $Y = 0,99X + 0,099$; $R = 0,99$;
- контрольная выборка: $Y = 1,1X - 0,3$; $R = 0,99$;
- тестовая выборка: $Y = 1,1X - 0,32$; $R = 0,99$;
- общий массив данных: $Y = 0,97X + 0,24$; $R = 0,99$.

Результаты анализа подтверждают приемлемое качество обучения созданной искусственной нейронной сети с учетом ограниченного объема используемой для обучения выборки. Данный показатель свидетельствует о достаточно хорошем качестве обучения, а сопоставление значений ошибки для обучающей, тестовой и контрольной выборок позволяет сделать вывод об отсутствии эффекта переобучения.

Выводы

1. Методология искусственных нейронных сетей достаточно хорошо проявила себя при решении задач экологической физиологии пищеварения рыб, что подтверждается достигнутыми значениями точности моделирования и ошибок обучения. Следует отметить, что больший объем выборки, по всей вероятности, позволил бы улучшить результат моделирования, но и достигнутые значения позволяют сделать вывод о существенной ценности модели как средства прогноза изменений функциональных характеристик пищеварительного фермента при воздействии по крайней мере абиотических факторов среды.

2. Поскольку рассмотренный алгоритм моделирования по своему конечному результату близок к исследованию путем построения нелинейной регрессии, нужно отметить, что результаты целесообразно в дальнейшем использовать в качестве компонента более сложных моделирующих систем, отражающих не только особенности поведения, но и структурные особенности моделируемых механизмов мембранного пищеварения.

3. Температурный оптимум для казеинлитических протеиназ белуги оказался по результатам исследования и моделирования лежащим в области значений температуры, значительно превышающих физиологические. Температурная функция уровня активности в области температурного оптимума имеет достаточно пологий характер, тогда как для диапазона более низких значений температуры характерен монотонно возрастающий, а для более высоких – существенно убывающий характер.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузьмина В. В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб / В. В. Кузьмина. М.: Наука, 2005. 300 с.
2. Неваленный А. Н. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб / А. Н. Неваленный, А. В. Туктаров, Д. А. Бедняков. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2003. 152 с.
3. Bolker B. Ecological models and data in R / B. Bolker. Princeton and Oxford: Princeton University Press, 2008. 517 p.
4. Bloomfield V. Computer simulation and data analysis in molecular biology and biophysics: an introduction using R / V. Bloomfield. New York: Springer, 2009. 321 p.
5. Borcard D. Numerical ecology with R / D. Borcard, G. Francois, P. Legendre. New York: Springer, 2011. 319 p.
6. Розенберг Г. С. Введение в теоретическую экологию: в 2 т. / Г. С. Розенберг. Тольятти: Кассандра, 2013. Т. 1. С. 345–351.
7. Васильев А. Н. Принципы и техника нейросетевого моделирования / А. Н. Васильев. СПб.: Нестор-История, 2014. 218 с.
8. Тархов Д. А. Нейросетевые модели и алгоритмы. Справочник / Д. А. Тархов. М.: Радиотехника, 2014. 352 с.
9. Хайкин С. Нейронные сети: полный курс / С. Хайкин. М.: Изд. дом «Вильямс», 2006. С. 219–341.
10. 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.
11. Неваленный А. Н. Энзимология / А. Н. Неваленный, Д. А. Бедняков, И. С. Дзержинская. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2005. 74 с.

Статья поступила в редакцию 20.05.2016

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Мартьянов Александр Сергеевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; канд. биол. наук; доцент кафедры «Гидробиология и общая экология»; martalex.84@list.ru.

Бедняков Дмитрий Андреевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, доцент; профессор кафедры «Экологический туризм»; bednyakovd@rambler.ru.

Неваленный Александр Николаевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, профессор; профессор кафедры «Гидробиология и общая экология»; nevalennyu@rambler.ru.



A. S. Martyanov, D. A. Bednyakov, A. N. Nevalennyu

**MODELING OF THE INCUBATION TEMPERATURE INFLUENCE
ON THE ACTIVITY LEVEL OF THE CASEINLYTIC PROTEINASES
OF THE INTESTINAL MUCOUS MEMBRANE
OF THE BELUGA BY MEANS OF ARTIFICIAL NEURAL NETWORK**

Abstract. The work is devoted to modeling of the dependence of the activity level of caseinlytic proteinases of intestinal mucous of the beluga (*Huso huso* L.) on the value of the incubation temperature in a wide range. The level of enzyme activity was determined using standard physiological and biochemical methods. To approximate the studied dependence, the class of artificial neural network called a multilayer perceptron was chosen. We used the two-layer model with one hidden layer containing 9 neurons. RMS error of the learning model was 0.336 for the training sample, 0.576 for the control and 0.23 for the test. The temperature optimum for the researched enzyme is above within the range 45–50 °C. At the same time within the optimum the curve of the temperature dependence is rather flat. The quality of the designed computer neural network model was examined further by constructing a histogram of the distribution of modeling errors, and a linear regression values for the simulation results with respect to the experimental data. The analysis confirms rather good educational quality of the created artificial neural network based on the volume of the training sample. The accuracy of the simulation suggests a significant value of the model as a means of forecasting the level of activity of the digestive enzyme at temperature impact. The research results indicate the possibility of the significant expansion of the application of neural network models for the research on fish nutrition ecology.

Key words: membrane digestion, digestive enzymes, neural networks, machine learning, environmental factors, temperature.

REFERENCES

1. Kuz'mina V. V. *Fiziologo-biokhimicheskie osnovy ekzotrofii ryb* [Physiological and biochemical bases of fish exotrophy]. Moscow, Nauka Publ., 2005. 300 p.
2. Nevalennyi A. N., Tuktarov A. V., Bedniakov D. A. *Funktsional'naiia organizatsiia i adaptivnaia reguliatsiia protsessov pishchevarenii u ryb* [Functional organization and adaptive regulation of fish digestive processes]. Astrakhan, Izd-vo AGTU, 2003. 152 p.
3. Bolker B. *Ecological models and data in R*. Princeton and Oxford: Princeton University Press, 2008. 517 p.
4. Bloomfield V. *Computer simulation and data analysis in molecular biology and biophysics: an introduction using R*. New York: Springer, 2009. 321 p.
5. Borcard D., Francois G., Legendre P. *Numerical ecology with R*. New York: Springer, 2011. 319 p.
6. Rozenberg G. S. *Vvedenie v teoreticheskuiu ekologiiu* [Introduction to theoretical ecology]. V 2 t. Tolliyatti, Kassandra Publ., 2013. Vol. 1, pp. 345–351.
7. Vasil'ev A. N. *Printsipy i tekhnika neirosetevogo modelirovaniia* [Principles and techniques of neural network modeling]. Saint-Petersburg, Nestor-Istoriia Publ., 2014. 218 p.
8. Tarkhov D. A. *Neirosetevye modeli i algoritmy. Spravochnik* [Neural network models and algorithms. Reference]. Moscow, Radiotekhnika Publ., 2014. 352 p.

9. Khaikin S. *Neironnye seti: polnyi kurs* [Neural networks: full course]. Moscow, Izdatel'skii dom «Vil'iams», 2006. P. 219–341.

10. D'iaconov V. P., Kruglov V. V. *MATLAB 6.5 SP1/7 SP1/7 SP2 + Simulink 5/6. Instrumenty iskusstvennogo intellekta i bioinformatiki* [MATLAB 6.5 SP1/7 SP1/7 SP2 + Simulink 5/6. Tools of artificial intellect and bioinformation science]. Moscow, SOLON-PRESS, 2006. 456 p.

11. Nevalennyi A. N., Bedniakov D. A., Dzerzhinskaia I. S. *Enzimologiya* [Enzymology]. Astrakhan, Izd-vo AGTU, 2005. 74 p.

The article submitted to the editors 20.05.2016

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Martyanov Alexander Sergeevich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Candidate of Biology; Assistant Professor of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; martalex.84@list.ru.

Bednyakov Dmitriy Andreevich – Russia, 414056, Astrakhan; State Technical University; Doctor of Biology, Assistant Professor; Professor of the Department "Environmental Tourism"; bednyakovd@rambler.ru.

Nevalennyi Alexander Nickolaevich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Professor; Professor of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; nevalennyi@rambler.ru.

