

Nelineární regrese jako nástroj hodnocení řasových biotestů

Nonlinear regression as a tool for an algal bioassay data treatment

Vladimír K o č í & Jiří B u r k h a r d

*Ústav chemie ochrany prostředí, VŠCHT, Technická 5,
166 28 Praha 6. vladimir.koci@vscht.cz*

Abstract

This article deals with statistical treatment of data obtained from algal bioassays. The main interest is focused on nonlinear regression, which is recommended as a good tool for estimate of EC50 values based on dose-response curve.

Úvod

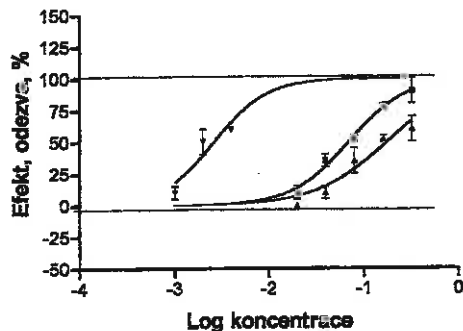
V předchozích dvou číslech Czech Phycology jsme uveřejnili krátké články zabývající se problematikou statistického hodnocení řasových biotestů (KOČÍ 2001, KOČÍ et al.2002). V tomto čísle bych rádi upozornili na vhodnou metodu statistického hodnocení křivek dávka-odpověď založenou na nelineární regresi. Jak je obecně známo, mívá většina křivek dávka-odpověď sigmoidální průběh. U řasových testů se setkáváme na rozdíl od testů s binární odpovědí se stimulací růstu řas v nižších koncentracích. Látka tedy na řasy působí ve vyšších koncentracích toxicky a v nižších stimulačně. U testování chemických individuů není principiálně problém tyto dvě oblasti, tj. stimulační a inhibiční, odlišit a pro výsledné hodnocení, např. výpočet EC50 či NOEC, použít pouze inhibiční, eventuelně stimulační část průběhu křivky. Komplikovanější otázka nastává při hodnocení směsných vzorků, např. matric životního prostředí, kde vedle sebe působí skupiny látek inhibičních i stimulačních. Řasová buňka se pak musí vypořádat se dvěma protichůdnými způsoby působení – negativním a pozitivním. To platí zejména pro oblast křivky dávka-odpověď jež slouží k výpočtu hodnoty EC50 a NOEC. Při určení toxicity vzorků ze životního prostředí, kde jsou často vedle toxických látek i nutrienty, je třeba k výpočtu parametrů jako je EC50 přistupovat obezřetně. Z téhož důvodu lze doporučit i takovou volbu testovaných koncentrací, kdy budeme schopni zaznamenat i možný stimulační účinek vzorku při vyšším naředění.

Nelineární regrese

Nelineární regrese je takový matematický model, který používá v našem případě k výpočtu hodnoty EC50 poněkud jiný přístup než dosud běžně užívané metody lineární regrese. U lineární regrese se obvykle postupuje tak, že se naměřené hodnoty odpovědí organismů matematicky upraví, např. zlogaritmují nebo převedou na probity, a pak se takto upravená data použijí v modelu lineární regrese. Jinou možností je použití polynomů vyšších stupňů. Polynomický model však nemusí svojí principiální přizpůsobivostí naměřeným datům reflektovat možné nepřesnosti v provádění experimentu významné především při srovnávání vzorků mezi sebou.

Nelineární regrese ve výpočtu postrádá jeden významný výchozí předpoklad, jenž je vlastní regresi lineární a to je právě fakt linearity závislosti naměřených dat. Je tedy nutné do nelineárního modelu vložit další, pro výpočet stejně významné předpoklady. To je v případě výpočtu sigmoidální funkce horní a dolní maximum naměřené hodnoty. Jedná se o horní a dolní hranici ke které se bude sigmoidála asymptoticky přibližovat. Pro výpočet hodnot EC50 u řasového biotestu se tedy zadávají limitní konstanty 0 a 100, jak znázorňuje graf 1. Co se použití směrnice týče, lze použít buď konstantu 1 a spokojit se s výpočtem, nebo vhodněji použít více iterací a zpřesnit si její hodnotu. Vhodný software k výpočtu nelineární regrese s výstupy do MS Excel je například GraphPad Prism ©.

Graf 1: Znáznornění limitních konstant pro vstup při výpočtu hodnoty EC50 nelineární regresi.



Rovnice popisující sigmoidální závislost křivky dávka-odpověď pomocí nelineární regrese má následující tvar:

$$Y = D + \frac{H - D}{1 + 10^{(\log EC_{50} - X)^S}}$$

Rovnice 1: Y - efekt, %; X - log koncentrace; D - dolní limitní konstanta; H - horní limitní konstanta; S - směrnice

Závěr

Nelineární regrese se ukazuje jako vhodná metoda výpočtu hodnoty IC₅₀ pro řasový biotest. Pro testování látek, které v nižších koncentracích nevykazují stimulační efekt se doporučuje jako konstanty pro výpočet IC₅₀ použít hodnoty 0 pro spodní a 100 pro horní limitu. Zůstává otázkou, jak hodnotit výsledky testů toxicity u vzorků, které v nižších koncentracích, např. v důsledku biodegradace organických látek či přítomnosti nutrientů, způsobují stimulaci růstu a tím ovlivňují i výpočet hodnoty EC₅₀.

Literatura

- KOČÍ, V. (2001) Statistické otazníky řasových biotestů. Czech Phycology, Olomouc, 1: str.121-127.
- KOČÍ, V., MLEJNEK, M., BURKHARD, J. (2002) Statistické vyhodnocování řasových biotestů. Czech Phycology, Olomouc, 2, str.139-142.
- GRAPHPAD PRISM (1999) GraphPad Software, Inc. 5755 Oberlin Drive, San Diego, CA 92121 USA.