



ФИЗИКА

УДК 537.86:519.2

СИНХРОННАЯ ДИНАМИКА НЕФРОННЫХ АНСАМБЛЕЙ

О. Н. Павлова, А. А. Анисимов, А. И. Назимов, А. Н. Павлов

Саратовский государственный университет
E-mail: pavlov.lesha@gmail.com

В работе изучается эффект синхронизации колебаний в динамике ансамблей нефронов. Показано, что в формировании кластеров синхронизации принимает участие большое число структурных элементов, расположенных на поверхности почки. Установлено, что размер кластеров меняется во времени и захват частот ритмов колебаний в коллективной динамике нефронов происходит только на определенных участках экспериментальных записей.

Ключевые слова: синхронизация, ритмические процессы, вейвлет-анализ.

Synchronous Dynamics of Nephrons Ensembles

O. N. Pavlova, A. A. Anisimov, A. I. Nazimov, A. N. Pavlov

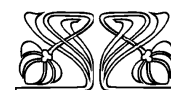
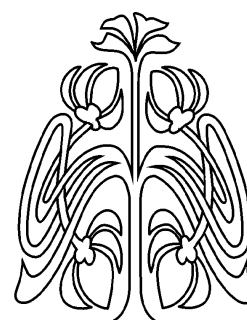
In this work, the phenomenon of synchronization of oscillations in the dynamics of nephronic ensembles is studied. It is shown that a large number of structural units on the kidney's surface participate in the formation of synchronous clusters. It is stated that the cluster's size changes in time and the frequency locking for rhythmic processes in the cooperative dynamics of nephrons occurs only during some parts of experimental recordings.

Key words: synchronization, rhythmic processes, wavelet-analysis.

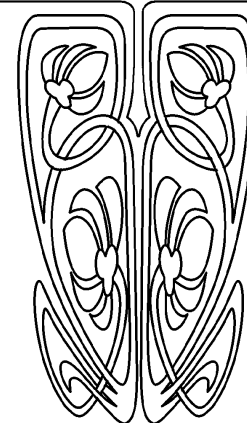
Введение

Синхронизация колебаний представляет собой наиболее важный механизм самоорганизации в динамике взаимодействующих систем [1–3]. Данный механизм проявляется в подстройке ритмов колебаний, которые приводят к эффектам захвата частот и фаз [4, 5]. С точки зрения классических представлений синхронизация состоит либо в стабилизации фазового сдвига между взаимодействующими колебательными процессами, либо в подавлении собственной динамики одной из систем. Взаимодействие нелинейных систем с хаотическим поведением способно демонстрировать значительно более широкий спектр явлений, которые можно рассматривать как частные случаи синхронной динамики.

Примерами служат полная синхронизация, обобщенная синхронизация, фазовая синхронизация и так называемая *lag*-синхронизация [3]. Поскольку любые системы в природе функционируют в присутствии шума, который может играть как негативную, так и конструктивную роль, приводя к качественно новым эффектам, в последние годы значительное внимание уделяется обобщению явления синхронизации на случай стохастических систем, в динамике которых принципиальное значение отводится флуктуациям [6]. Сегодня ясно, что синхронизация автоколебательных систем в присутствии шума представляет собой важный эффект с точки зрения биомедицинских приложений, давая ключ к разработке новых методов диагностики.



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Эффекты синхронизации играют важную роль в функционировании нефронов – структурных элементов почки. Нефрон представляет собой объект размером порядка 100 мкм, принимающий участие в фильтрации крови, регуляции кровяного давления, контроле уровня электролитов и метаболитов, а также в поддержании постоянного уровня рН [7]. Для сравнения можно отметить, что почка человека содержит примерно 1000000, а почка крысы – около 30000 нефронов. Расположение нефронов визуально напоминает дерево [8], на «ветках» которого обычно находятся от одного до трех таких элементов. Организация нефронных «деревьев» в виде параллельных структур приводит к тому, что общий почечный кровоток делится между большим числом нефронов и на каждый из них приходится только очень малая часть потока крови, поступающего через почечную артерию [9].

Известно несколько механизмов авторегуляции почечного кровотока на уровне отдельных нефронов, одним из которых является так называемая канальцево-гломерулярная обратная связь (КГОС) [10, 11]. Данный механизм приводит к генерации автоколебаний с периодом примерно 30–40 с, которые регистрируются как в малых кровеносных сосудах (артериолах), так и в фильтрате, протекающем по канальцам нефрона. Согласно результатам экспериментальных исследований на крысах, соответствующие колебания отличаются в норме и при гипертонии – при нормальном артериальном давлении они являются почти периодическими, а при повышенном давлении (генетическая форма гипертонии или искусственно вызванная гипертония Голдблетта) эти колебания становятся сильно нерегулярными (хаотическими) [12–15].

Наряду с отличиями режима колебаний существенно отличаются и эффекты синхронизации в динамике парных нефронов нормотензивных и гипертензивных крыс – при повышенном давлении длительность участков захвата частот уменьшается примерно в 3–4 раза: с 12 периодов колебаний до 3–4 периодов [16, 17]. Кроме того, режим полной синхронизации, типичный для случая нормы,

меняется режимом частичной синхронизации при патологии [17]. Учитывая существенные изменения, которые происходят в почечной авторегуляции кровотока при гипертонии, хаотизация колебаний нефронов и изменение эффектов взаимодействия ритмов их колебаний в последние годы вызывали значительный интерес исследователей. Однако до сих пор рассмотрение синхронизации в функционировании структурных элементов почки ограничивалось малыми ансамблями (парные нефроны и триплеты). Попытки изучения функционирования больших групп нефронов (в рамках нефронного дерева) осуществлялись лишь в рамках математического моделирования процесса авторегуляции [8]. Это объясняется сложностью экспериментальной процедуры одновременной регистрации сигналов большого числа структурных элементов.

В настоящей работе впервые предпринята попытка изучения синхронизации нескольких десятков нефронов, расположенных на поверхности почки. Показано, что эффект подстройки частот больших групп нефронов носит кратковременный характер, и впервые приведены данные экспериментов, согласно которым в формировании кластеров синхронной динамики принимают участие нефроны, относящиеся к различным «деревьям».

1. Методика исследования

1.1. Регистрация сигналов

Для изучения коллективного поведения больших ансамблей в институте Панум (университет Копенгагена, Дания) под руководством N.-H. Holstein-Rathlou была проведена серия экспериментов на крысах, в рамках которых проводилась регистрация динамики структурных элементов на поверхности почки. С этой целью использовалась инфракрасная камера, позволяющая по изменению температурного режима регистрировать скорость потока крови в артериолах. В результате получалась видеозапись динамики значительной части верхней поверхности почки (около 2/3); время эксперимента составляло 30 минут. Сложность извлечения информации из полученного видеофайла связана с



тем, что по нему нельзя установить, где находятся отдельные нефроны. Чтобы корректно идентифицировать расположение структурных элементов на поверхности почки, с помощью микроскопа была сделана фотография этой поверхности, позволяющая их идентифицировать. Путем наложения фотографии на изображение, регистрируемое видеокамерой, можно установить координаты расположения нефронов (в пикселях) и тем самым получить информацию, какие координаты выбрать для извлечения из видеофайла временной динамики, соответствующей каждому обнаруженному нефрону.

В ходе такой довольно сложной процедуры идентифицировались сигналы больших групп структурных элементов почки (от 40 до 100 в зависимости от эксперимента). Были зарегистрированы данные для 12 нормотензивных крыс с тем, чтобы вначале исследовать эффекты синхронизации и образования структур для случая нормы. Шаг дискретизации был выбран равным 1 с, поэтому на характерный период колебаний (ритм КГОС) приходилось от 30 до 40 отсчетов. Длительность записи (порядка 50 характерных периодов) была достаточной для отслеживания эволюции характеристик колебаний во времени. Данные были предоставлены для анализа проф. N.-H. Holstein-Rathlou и проф. D.J. Marsh.

1.2. Вейвлет-анализ экспериментальных данных

В качестве инструмента численного исследования структуры экспериментальных данных был выбран вейвлет-анализ. В отличие от классического спектрального анализа, основанного на преобразовании Фурье и оперирующего с гармоническими функциями, он допускает значительное разнообразие выбора базиса, по которому проводится разложение сигнала. В рамках широко используемой интерпретации вейвлет-анализа как метода «математического микроскопа» можно говорить о том, что выбор солитоноподобной функции $\psi(t)$, рассматриваемой в качестве базисной, аналогичен заданию разрешения для объектива микроскопа: если выбранное разрешение позволяет увидеть нужные детали, то вейвлет подходит для целей проводимого исследования.

Гармонические функции, применяемые в классическом спектральном анализе, заданы в диапазоне $t \in (-\infty, +\infty)$ и не позволяют изучать локальные изменения структуры сигналов. Расчет спектра мощности сигнала $x(t)$ обеспечивает возможность определения частотного состава рассматриваемого процесса и выявления характерных ритмов колебаний. Такой расчет позволяет установить сам факт наличия колебаний определенной частоты, но не дает ответа на вопрос: когда существовали эти колебания – на протяжении всего времени регистрации сигнала или только на каком-то участке? Бесконечно осциллирующие функции не могут использоваться при проведении локализованного спектрального анализа [18, 19].

Вейвлеты обладают рядом характерных признаков, включающим: 1) локализацию функции и по времени, и по частоте; 2) конечную энергию; 3) автомодельность (самоподобие) базиса. Эти признаки определяют большой класс вещественных и комплексных функций, которые применяются при решении различных задач. Например, при проведении локального спектрального анализа процессов с меняющимися во времени характеристиками применяют комплексные вейвлеты, наиболее популярным из которых является вейвлет Морле, хорошо локализованный как по времени, так и по частоте:

$$\psi(t) = \frac{1}{\pi^{1/4}} e^{j2\pi f_0 t} e^{-t^2/2}. \quad (1)$$

В этой формуле f_0 – параметр, называемый центральной частотой. После выбора «материнского вейвлета» $\psi(t)$ на его основе формируется базис путем масштабных преобразований и смещений данной функции:

$$\psi_{a,b}(t) = \frac{1}{\sqrt{a}} \psi\left(\frac{t-b}{a}\right), \quad (2)$$

где $a \in R$, $a \neq 0$ – масштабный коэффициент, $b \in R$ – параметр смещения. Множитель $1/\sqrt{a}$ осуществляет нормировку энергии каждой функции $\psi_{a,b}(t)$ для обеспечения неизменного значения энергии при изменении масштаба.



Непрерывное вейвлет-преобразование сигнала $x(t)$, определенного во временной области $-\infty < t < \infty$, имеет следующий вид:

$$W(a, b) = \frac{1}{\sqrt{a}} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \psi^* \left(\frac{t-b}{a} \right) dt = \quad (3)$$

$$= \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \psi_{a,b}^*(t) dt.$$

В результате преобразования (3) получается поверхность коэффициентов $W(a, b)$ в трехмерном пространстве. Чтобы получить информацию об особенностях структуры исследуемого сигнала, используют разные варианты ее визуализации. Традиционный подход состоит в рассмотрении проекции поверхности коэффициентов на плоскость ab и изображении интенсивности амплитуд вейвлет-преобразования различными оттенками цвета. Более простой (но весьма информативный) способ визуализации применяется для идентификации мгновенных характеристик (амплитуды, частоты, фазы) ритмических процессов. Его называют построением «хребтов» вейвлет-преобразования [19]. Хребты строятся для поверхности плотности энергии сигнала $E(a, b) = |W(a, b)|^2$, представляя собой линии локальных максимумов этой поверхности (идентифицируемые в каждый фиксированный момент времени $b = t^*$).

При анализе динамики мгновенных частот вместо поверхности $E(a, b)$ удобно рассматривать $E(f, b)$, то есть осуществлять переход к частотному представлению энергетического спектра. В случае вейвлета Морле (1) выполняется приближенное равенство $f \approx f_0 / a$, если $f_0 \gg 0$. Так как каждая точка хребта ассоциируется с локальным энергетическим спектром, нахождение мгновенных частот колебательных процессов одновременно обеспечивает и определение мгновенных амплитуд этих процессов. Именно такой вариант визуализации вейвлет-преобразования будет использоваться в данной работе.

2. Результаты

2.1. Формирование кластеров когерентных колебаний

Рассмотрим вначале усредненную динамику – поведение средних частот генерации колебаний различными нефронами, рас-

положенными на поверхности почки. На рис. 1 изображена плотность распределения вероятности частоты КГОС для одного из экспериментов, в ходе которого были зарегистрированы данные 63 структурных элементов почки. Процедура построения плотности распределения вероятности состояла в следующем: вначале по экспериментальным данным вычислялись энергетические спектры (с помощью вейвлет-преобразования), затем определялось положение максимума каждого энергетического спектра (пика на частоте колебаний КГОС), после чего полученные значения использовались для построения функции $P(f)$.

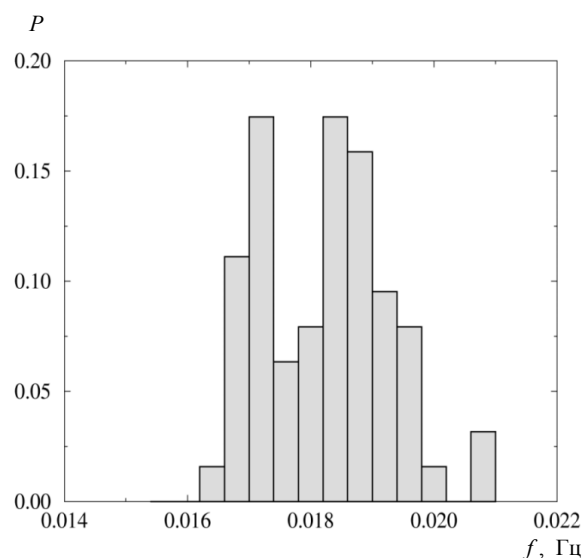


Рис. 1. Распределение частоты TGF-колебаний для 63 нефронов, расположенных на поверхности почки

Согласно рис. 1 можно идентифицировать, по крайней мере, две группы нефронов, которые демонстрируют колебания с разными частотами. Однако рис. 1 не дает оснований говорить о наличии синхронной динамики для этих двух групп. Чтобы вести речь о синхронизации, необходимо проиллюстрировать наличие эффекта захвата частот или фаз колебаний (что будет сделано позднее). Поэтому на данном этапе целесообразно использовать терминологию когерентности рассматриваемых колебаний.

Наличие двух четко выраженных пиков в распределении позволяет провести разделение нефронов на две группы (кластеры, в



пределах которых наблюдается когерентная динамика). Это можно сделать либо вручную, задав диапазон частот для каждого кластера, либо воспользовавшись стандартными алгоритмами кластеризации, например методом k -средних [20]. Отметим, что воспользовавшись этими подходами, мы получили идентичные результаты, представленные на рис. 2. На этом рисунке по осям отложены координаты нефронов на поверхности почки в пикселях (идентифицируемые по фотографии, сделанной с помощью микроскопа), а разными символами показаны нефроны, демонстрирующие колебания с отличающимися средними значениями частоты ритма, обусловленного механизмом КГОС. Изображенная на рис. 2 область включает значительную часть верхней поверхности почки (примерно 2/3).

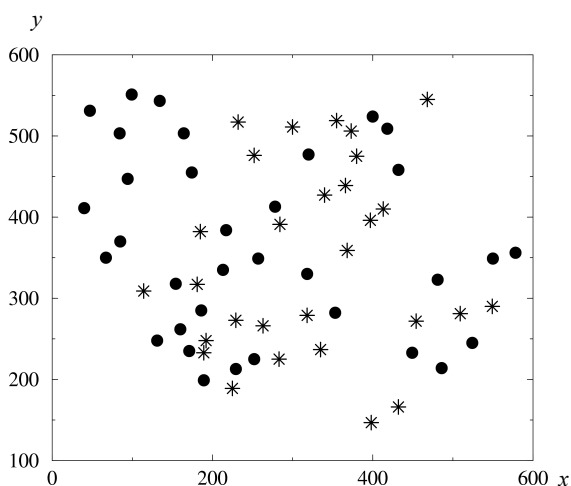


Рис. 2. Идентификация двух кластеров когерентной динамики с помощью алгоритма k -средних. Кластеры обозначены разными символами

Обращают на себя внимание следующие обстоятельства:

1) кластеры когерентной динамики нефронов не являются локализованными на поверхности почки и могут включать нефроны, расположенные на значительном расстоянии друг от друга;

2) в формировании одного кластера участвует большое количество нефронов (несколько десятков).

Отмеченные эффекты до сих пор были неизвестны – считалось, что подстройка ритмов колебаний возможна лишь для соседних

элементов, расположенных на одном нефронном «дереве». Обнаружение когерентных колебаний больших ансамблей нефронов свидетельствует о возможном существовании механизмов взаимодействия между разными «деревьями». Разделение нефронов на кластеры синхронной динамики может сталкиваться с некоторыми проблемами (на самом деле принадлежность нефронов различным кластерам может меняться в зависимости от правил, по которым мы разделяем структурные элементы). Однако это не принципиально влияет на выводы проводимых исследований.

Анализ средних значений частоты ритма КГОС является не очень показательным, поскольку не позволяет установить, как ведут себя во времени мгновенные характеристики колебательных процессов, и демонстрируют ли они эффект подстройки своих значений. В связи с этим далее рассмотрим динамику мгновенных частот колебаний.

2.2. Анализ эффекта синхронизации нефронных ансамблей

Поведение во времени мгновенных значений частоты колебаний, обусловленных механизмом КГОС, и коллективное поведение ансамблей нефронов изучались с помощью вейвлет-анализа, включая описанную в параграфе 1.2 методику вычисления энергетических спектров и построения «хребтов». На рис. 3 для наглядности изображен пример вычислений только для трех нефронов из числа тех, для которых наблюдаются когерентные колебания. Как видно из этого рисунка, мгновенные частоты меняются случайным образом на участке до 600 с и показывают синхронную динамику на временах более 600 с.

Наряду с иллюстрацией динамики отдельных нефронов важно провести статистический анализ, показывающий, какая часть нефронов может принимать участие в синхронизации колебаний и насколько длительные участки синхронной динамики могут быть зарегистрированы в экспериментах.

На рис. 4 изображена динамика 40 выделенных нефронов с поверхности почки (данные другого эксперимента). Черными точками показан случай синхронного режима, а имен-

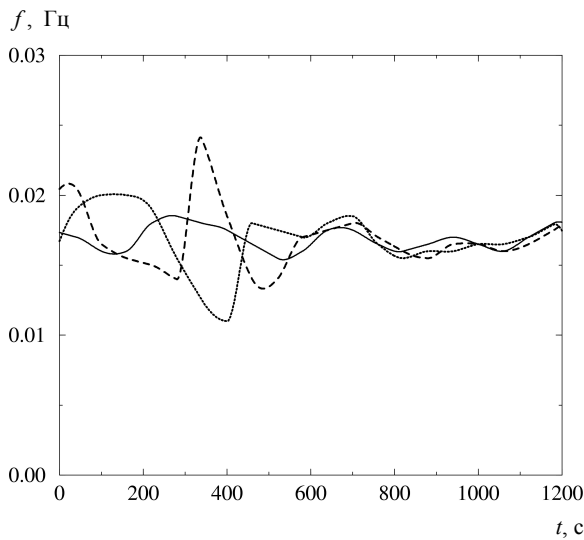


Рис. 3. Динамика мгновенных частот трех нефронов, расположенных на поверхности почки

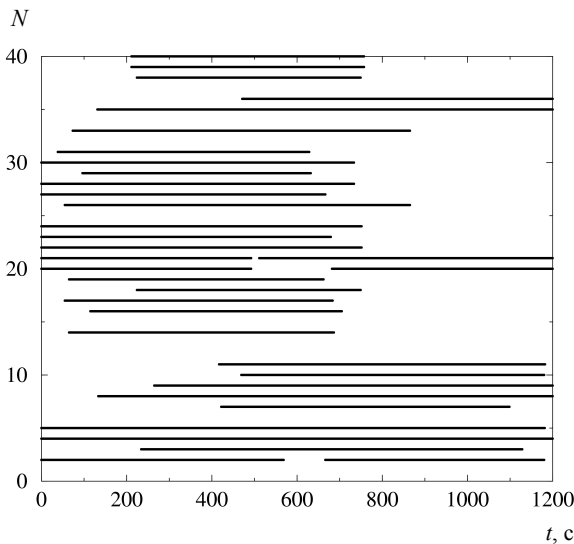


Рис. 4. Длительности участков синхронизации для каждого индивидуального нефрона (черные линии). По оси ординат отложен номер нефрона

но ситуация, когда каждый индивидуальный нефрон синхронизирует колебания, по крайней мере, еще с одним нефроном в течение не менее 10 периодов колебаний (при этом возможно, что синхронизация наблюдается с несколькими нефронами или даже несколькими десятками нефронов). Отметим, что большинство нефронов принимает участие в формировании синхронных кластеров. Полностью несинхронное поведение структурных элементов почки представляет собой редкий случай.

Рассмотрим теперь поведение мгновенных частот колебаний для большой группы нефронов (всех, которые удается зарегистрировать в эксперименте). Пример динамики большого ансамбля представлен на рис. 5, где показано, что в рассматриваемом случае (в отличие от эксперимента, результаты которого были изображены на рис. 1), можно говорить о существовании одного кластера, который формируется в окрестности 400 с и 900 с. Причем важно отметить, что в его формировании участвуют несколько десятков нефронов (около 40–50 из сигналов 58 зарегистрированных структурных элементов почки). Это служит основанием для того, чтобы считать, что в синхронизации колебаний участвуют нефроны, относящиеся к разным «деревьям». Кроме того, из результатов, представленных на рис. 5, следует, что формирование кластеров и их разрушение может происходить с определенной периодичностью, приблизительно соответствующей диапазону очень медленных ритмов авторегуляции кровотока [21, 22].

Подход, основанный на выделении мгновенных частот ритмов колебаний с помощью вейвлетов для группы нефронов, является весьма информативным и эффективным. Он позволяет определить длительность участков синхронизации для больших групп нефронов, интервалы времени между последовательными группировками (подстройкой) мгновенных частот ритмов колебаний. Учи-

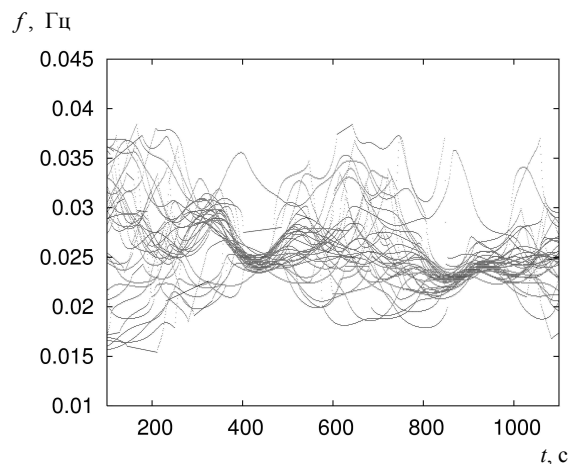


Рис. 5. Эволюция во времени мгновенных частот колебаний ансамбля нефронов. Четко видно формирование кластеров синхронных колебаний в окрестности 400 и 900 с



тывая, что периоды между участками синхронизации (см. рис. 5) приближенно соответствуют периодике очень медленных ритмов, отмеченных в работе [22], можно предложить возможную интерпретацию очень медленных колебательных процессов как ритмов, вызванных коллективной динамикой больших нефронных ансамблей. Обоснование данной гипотезы требует более детального дальнейшего исследования и набора статистики.

Заключение

В рамках данной работы проводилось исследование коллективной динамики больших групп нефронов, расположенных на поверхности почки. В ходе специальных экспериментов, проводившихся в институте Панум (университет Копенгагена, Дания), были зарегистрированы сигналы потока крови в артериолах нефронов с помощью инфракрасной камеры, позволившие выделить по 40–100 нефронов в каждом эксперименте. Далее с помощью метода вейвлет-анализа были получены частотно-временные спектры, по которым можно было выделить мгновенные частоты ритмов колебаний, обусловленных механизмом КГОС. Построение полученных частотных зависимостей на одном графике позволяет определить участки времени, в течение которых часть нефронов синхронизует свои колебания, и мгновенные частоты соответствующих ритмов подстраиваются. Основные результаты проводившихся исследований состоят в следующем:

1) установлено существование кластеров синхронной динамики нефронов на поверхности почки, в формировании которых участвуют структурные элементы, относящиеся к разным нефронным «деревьям»;

2) показано, что размер кластеров меняется во времени, и захват частот ритмов колебаний в коллективной динамике нефронов происходит только на определенных участках экспериментальных записей;

3) показано, что формирование кластеров может происходить с некоторой периодичностью, приближенно соответствующей динамике очень медленных ритмов колебаний [22].

Это позволяет выдвинуть гипотезу о том, что появление очень медленных ритмов почечной авторегуляции может быть обусловлено коллективной динамикой больших нефронных ансамблей.

Авторы выражают признательность N.-H. Holstein-Rathlou и D. J. Marsh за предоставленные данные, а также О. В. Сосновцевой за многочисленные дискуссии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по образованию в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

Список литературы

1. Блехман И. И. Синхронизация динамических систем. М. : Наука, 1971.
2. Kuramoto Y. Chemical oscillations, waves and turbulence. Berlin : Springer-Verlag, 1984.
3. Pikovsky A., Rosenblum M., Kurths J. Synchronization: a universal concept in nonlinear sciences. Cambridge nonlinear science. Ser. 12. Cambridge : Cambridge University Press, 2001.
4. Anishchenko V. S., Vadivasova T. E., Postnov D. E., Safonova M. A. Synchronization of Chaos // Intern. J. of Bifurcation and Chaos. 1992. Vol. 2. P. 633–644.
5. Rosenblum M., Pikovsky A., Kurths J. Phase synchronization of chaotic oscillations // Phys. Rev. Lett. 1996. Vol. 76. P. 1804–1807.
6. Anishchenko V. S., Astakhov V. V., Neiman A. B., Vadivasova T. E., Schimansky-Geier L. Nonlinear dynamics of chaotic and stochastic systems. Berlin : Springer-Verlag, 2002.
7. Физиология человека / под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. М. : Мир, 1996.
8. Marsh D. J., Sosnovtseva O. V., Mosekilde E., Holstein-Rathlou N.-H. Vascular coupling induces synchronization, quasiperiodicity, and chaos in a nephron tree // Chaos. 2007. Vol. 17. P. 015114.
9. Layton H. E., Pitman E. B., Moore L. C. Limit-cycle oscillations and tubuloglomerular feedback regulation of distal sodium delivery // Amer. J. Physiol. Renal Physiol. 2000. Vol. 278. P. F287–F301.
10. Leyssac P.P. Further studies on oscillating tubuloglomerular feedback responses in the rat kidney // Acta Physiol. Scand. 1986. Vol. 126. P. 271–277.
11. Dilley J.R., Arendshorst W.J. Enhanced tubuloglomerular feedback activity in rats developing spontaneous hypertension // Amer. J. Physiol. Renal Fluid Electrolyte Physiol. 1984. Vol. 247. P. F672–F679.
12. Holstein-Rathlou N.-H., He J., Wagner A. J., Marsh D. J. Patterns of blood pressure variability in normotensive and hypertensive rats // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 1995. Vol. 269. P. R1230–R1239.
13. Holstein-Rathlou N.-H., Leyssac P. P. TGF-mediated oscillations in the proximal intratubular pressure : differences between spontaneously hypertensive rats and Wistar-Kyoto rats // Acta Physiol. Scand. 1986. Vol. 126. P. 333–339.



14. Yip K.-P., Holstein-Rathlou N.-H., Marsh D. J. Chaos in blood flow control in genetic and renovascular hypertensive // Amer. J. Physiol. Renal Fluid Electrolyte Physiol. 1991. Vol. 261. P. F400–F408.
15. Yip K.-P., Marsh D. J., Holstein-Rathlou N.-H. Low dimensional chaos in renal blood flow control in genetic and experimental hypertension // Physica D. 1995. Vol. 80. P. 95–104.
16. Sosnovtseva O. V., Pavlov A. N., Mosekilde E., Holstein-Rathlou N.-H. Synchronization phenomena in multimode dynamics of coupled nephrons // Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2003. Т. 11, № 3. С. 133–147.
17. Sosnovtseva O. V., Pavlov A. N., Mosekilde E., Yip K.-P., Holstein-Rathlou N.-H., Marsh D. J. Synchronization among mechanisms of renal autoregulation is reduced in hypertensive rats // Amer. J. Physiol. Renal Physiol. 2007. Vol. 293. P. F1545–F1555.
18. Mallat S. G. A wavelet tour of signal processing. N. Y. : Academic Press, 1998.
19. Addison P. S. The illustrated wavelet transform handbook : applications in science, engineering, medicine and finance. Bristol ; Philadelphia : IOP Publishing, 2002.
20. Hartigan J. A. Clustering algorithms. N. Y. : John Willey & Sons, 1975.
21. Pavlov A. N., Makarov V. A., Mosekilde E., Sosnovtseva O. V. Application of wavelet-based tools to study the dynamics of biological processes // Briefings in Bioinformatics. 2006. Vol. 7. P. 375–389.
22. Pavlov A. N., Sosnovtseva O. V., Pavlova O. N., Mosekilde E., Holstein-Rathlou N.-H. Characterizing multimode interaction in renal autoregulation // Physiological Measurement. 2008. Vol. 29. P. 945–958.