

Určení regresního modelu růstové křivky v histopatologii spánkových kostí

MUDr. Viktor Chrobok, CSc.

Oddělení otorinolaryngologie, Nemocnice Pardubice, Kyjevská 44,
532 03 Pardubice, email: chrobok@nem.pce.cz

Prof. RNDr. Milan Meloun, DrSc.,

Katedra analytické chemie, Univerzita Pardubice, 532 10 Pardubice
email: milan.meloun@upce.cz

a

MUDr. Eva Šimáková

Fingerlandův ústav patologie, Fakultní nemocnice, 500 05 Hradec Králové
email: simakeva@yahoo.cz

Souhrn:

Histologické nálezy spánkové kosti mohou být vyhodnoceny z několika hledisek. Nejdůležitější je popis patologie a abnormalit jednotlivých spánkových kostí. Důležité je také měření vybraných struktur v obsáhlém souboru spánkových kostí a především monitorování těchto struktur v čase. Výška třmínku byla měřena v výběru 40 spánkových kostí u 27 lidských plodů. Růst třmínku byl sledován od 13. do 36. týdne těhotenství. Počítačová výstavba nelineárního regresního modelu růstové křivky při současném vyšetření řady regresních diagnostik, vlivných bodů (odlehých bodů a extrému) při respektování všech Ratkowského kritérií byla provedena pro časové hodnoty výšky třmínku sledovaného období těhotenství. Bylo testováno 13 růstových modelů (Schnute, Mitscherlich, Richards, Gompertz, Logistic, Bleasdale-Nelder, Farazdaghi-Harris, Morgan-Mercer-Foldin, Weibull, a čtyři tři-parametrické modely). Parametry s biologickým významem byly odhadnuty numericky. Bylo shledáno, že největšího růstu výšky třmínku je dosaženo mezi 13. a 24. týdnem těhotenství. Výška třmínku byla 1.05 mm ve 13. týdnu a 2.6 mm ve 24. týdnu. Po 25. týdnu probíhá růst třmínku daleko pomaleji a průměrné velikosti 3.0 mm je dosaženo ve 30. týdnu.

Klíčová slova: Spánková kost, Výstavba regresního modelu, Růstová křivka, Třmínek, Embryologický vývoj, Lidský plod.

1. Úvod

Základní význam histologie spánkové kosti v klinické praxi spočívá ve sledování anatomických vztahů, jednotlivých malformací a patologie sluchově rovnovážného orgánu. V posledních letech lze využít při vyšetření spánkových kostí matematické metody a statistiku k získání znalostí v novém úhlu pohledu. Příkladem je sledování růstu vybraných parametrů nebo konečných rozměrů jednotlivých parametrů, které lze aplikovat například při výrobě protéz pro středoušní chirurgii (1).

Embryologický vývoj třmínku: středoušní kůstky jsou součástí převodního ústrojí sluchového orgánu, do kterého patří zevní a střední ucho. Z vývojového hlediska kladívko, kovadlinka a třmínek vznikají z mezodermy prvního a druhého žaberního oblouku. Z prvního oblouku se vytváří mandibulární (Meckelova) chrupavka a z druhého hyoidní (Reichertova) chrupavka. Vývoj středoušních kůstek dělí Hanson a kol. (2) na dvě části chondrogenezi a osifikaci. V průběhu chondrogenese je vytvořen primitivní chrupavčitý základ kůstek, který se později mění na vyzrálou chrupavku. Následuje proces osifikace, přeměna vyzrálé chrupavčité struktury na kostěnou. První strukturu kůstek lze spatřit ve 4. týdnu embryonálního vývoje. Jedná se o kondenzaci mezenchymální tkáně spojující dva branchiální oblouky. Primitivní chrupavčitá forma kůstek se objevuje v 6. týdnu. Ve 13. týdnu zvětšují kůstky svoji velikost třikrát. V 15. týdnu dosahují maximální velikosti v chrupavčité podobě. Ve 20. týdnu, odpovídají dospělému tvaru a velikosti, již postupně osifikují. Každá kůstka osifikuje z jednoho samostatného centra. V 16. týdnu se objevují první známky osifikace u kovadlinky o něco dříve než u kladívka. Třmínek začíná ztrácet svoji chrupavčitou strukturu v 18. týdnu. V 25. až 26. týdnu jsou kůstky plně osifikovány, kromě dolní části rukojeti kladívka a kloubních ploch mezi kůstkami.

Vývoj třmínku se skládá ze dvou samostatných částí, které se později spojí. Suprastruktury třmínku (hlavička a raménka) a středoušní část plotničky třmínku vznikají z druhého (hyoidního) oblouku Reichertovy chrupavky. Vestibulární část plotničky je původem z otické kapsuly (embryonální základ vnitřního ucha). Obě části se vyvíjejí nezávisle na sobě, Reichertova chrupavka je mezodermálního původu a otická kapsula ektodermálního původu, později dochází k fúzi obou částí.

Stapediální blastem tvořený koncentrací mezenchymálních buněk Reichertovy chrupavky lze pozorovat ve 4. týdnu vývoje. Mezenchymální buňky se postupně mění na chrupavčitý třmínek, kdy dochází k odpojení třmínku od Reichertovy chrupavky. Třmínek se dostává do kontaktu zevně s dlouhým výběžkem

kovadlinky a na vnitřní straně s otickou kapsulou. Ligamentum anulare, vazivo fixující třmínek ke stěnám oválného okénka, se vytváří z fibrózní tkáně stapediální laminy během 10. až 16. týdne (3). Chrupavčitý třmínek dosahuje dospělé podoby v 17. týdnu. Osifikace třmínku je zahájena v 18. týdnu z jednoho centra ve středoušní části plotničky. Osifikace třmínku pokračuje na raménka a později na hlavičku a je ukončena ve 25. až 26. týdnu. Třmínek je téměř celý tvořen kostí, chrupavka zůstává v oblasti kloubních ploch. Jedná se o vestibulární povrch plotničky a kontaktní plochu kovadlinko třmínkového kloubu. Ve 32. týdnu vývoje plodu třmínek dosahuje dospělého tvaru a struktury (4, 5). Před narozením dochází ke značné redukci objemu třmínku, především v oblasti ramének.

2. Teoretická část

2.1 Metodika regresní analýzy

Výstavba regresního modelu růstové křivky patří mezi závažné problémy, řešené dnes v biochemické a klinické praxi (6-11). Interaktivní přístup k výstavbě modelu lze rozdělit do následujících částí: 1. Navržení dočasné pracovní verze modelu. 2. Modifikace pracovní verze. 3. Analýza regresního tripletu. 4. Testování kvality modelu z hlediska predikce (12-13). Navržený růstový model umožňuje objektivní a přesné vyčíslení růstových parametrů, zatímco grafická analýza může vést k vychýleným odhadům zvláště pak v případech, když byl použit malý počet regresovaných bodů. Výsledný růstový model musí správně popisovat všechny oblasti růstové křivky a správně odhadnout z experimentálních dat růstové parametry. Různé matematické modely, jako polynomy (lineární, kvadratické), exponenciální a modifikované exponenciální, Gompertzovy a logistické růstové modely byly navrženy, aby aproximovaly časovou závislost charakteristik růstu kůstek (výška a šířka). Ne všechny byly vždy popsány růstovými modely (např. Weber (14), Peschel (15), Todorovic (16), Prodan (17), Wenk (18), Kuzmitshev (19)), správný růstový model musí vyhovovat řadě kritérií (20). Přehledy o růstových křivkách je možné nalézt u autorů Peschel (15) and Todorovic (16).

Tato práce se týká postupu výběru regresního modelu růstové křivky, na základě rozličných modelů, které byly nalezeny v literatuře (tabulka 1).

Tabulka 1. Přehled nelineárních regresních modelů růstové křivky

Model	Růstová křivka	Reference
A	$\beta_1 / (1 + \beta_4 \exp(\beta_3 \beta_2 - x))^{1/\beta_4}$	Schnute (21)
B	$\beta_1 (1 - \exp(\beta_3 \beta_2 - \beta_3 x))$	Mitscherlich (22)
C	$\beta_1 / (1 + \exp(\beta_2 - \beta_3 x))^{1/\beta_4}$	Richards (23)
D	$\beta_1 \exp(-\exp(\beta_2 - \beta_3 x))$	Gompertz (24)
E	$\beta_1 / (1 + \exp(\beta_2 - \beta_3 x))$	Logistic (25)
F	$\beta_1 - \beta_2 \exp(-\beta_3 x)$	(26)
G	$\beta_1 (1 - \exp(-x - \beta_2) \beta_3)$	(26)
H	$\beta_1 - \exp(-\beta_2 - \beta_3 x)$	(26)
I	$\beta_1 - \exp(-\beta_2 \beta_3^x)$	(26)
J	$\beta_1 + (\beta_2 x)^{-1/\beta_3}$	(27)
K	$1 / (\beta_1 + \beta_2 x^{\beta_3})$	(28)
L	$(\beta_2 \beta_3 + \beta_1 x^{\beta_4}) / (\beta_3 + x^{\beta_4})$	(26)
M	$\beta_1 - \beta_2 \exp(-\beta_3 x^{\beta_4})$	(26)

Uvedené regresní růstové modely obsahují 3 až 5 neznámých parametrů a popisují růst jako časovou změnu výšky třmínku v průběhu těhotenství. Volba růstového modelu není jednoduchá, je třeba respektovat pět Ratkowského kritérií (29):

1. *Úspornost*: regresní model by měl obsahovat co nejméně parametrů.
2. *Parametrizace*: jenom parametry s nejlepším odhadem lze využít.
3. *Oblast aplikovatelnosti*: data musí pokrýt veškerou oblast, který model popisuje.
4. *Stochastická specifikace*: chybový výraz musí být rovněž pokryt modelem.
5. *Interpretace*: parametry s fyzikálním významem mají přednost.

Zwietering et al. (30) zdůrazňují důležitost úspornosti parametrů. Reparametrizace nezmění těsnost proložení dotyčného souboru dat, ovšem interpretace a odhady parametrů nemusí být vždy srovnatelné (31). Nadto nemusí být vždy splněno, že výsledky pokryjí celou upotřebitelnou oblast. Chybový výraz je obvykle modelován jako aditivní nebo multiplikativní. Cílem této práce bylo 1. Učinit přehled různých růstových křivek a metod odhadů parametrů za účelem vytvoření standardního postupu výstavby růstového modelu; 2. Na základě Ratkowského kritérií vytvořit predikční regresní model a predikovat růst výšky třmínku u plodu během gravidity.

Při hledání nejlepšího růstového regresního modelu $y = f(x; \beta) + g$ byla y uvažována jako závisle proměnná o velikosti $n \times 1$ pozorování, x pak jako pevná časová proměnná, nezatížená náhodnou chybou o velikosti $n \times 1$, ($n > m$), β je $m \times 1$ vektor neznámých parametrů, g je $n \times 1$ vektor náhodných chyb, u kterých se předpokládá nezávislost a stejné rozdělení se střední hodnotou nula a konstantním rozptylem σ^2 . Užitím metody klasických nejmenších čtverců se získá vektor predikce $\hat{y}_{P,i} = f(x_i; \hat{b})$ a vektor reziduí \hat{e}

$$RSS(\hat{\$}) = \sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i; \hat{\$}))^2, \quad \text{kde } \hat{\$} = \hat{b} \quad [1]$$

a veličina

$$s^2 = RSS(\hat{\$}) / (n - m) \quad [2]$$

je nevychýlený odhad rozptylu σ^2 , a $n - m$ je počet stupňů volnosti *DF* prokládaného modelu, kde n je počet bodů dat a m je počet odhadovaných parametrů. Počet bodů n ovlivňuje sumu čtverců reziduí *RSS* a těsnost proložení. Je obecně známo, že modely s více parametry vedou k lepšímu proložení než modely s menším počtem parametrů. V literatuře je možné nalézt celou řadu vhodných regresních modelů růstové křivky, přehled vybraných přináší tabulka 1.

2.2 Rozlišovací kritéria pro výběr modelu

Rozličná rozlišovací kritéria k výstavbě a testování regresního modelu mohou být použita (12). Jedno z nejlepších je *střední kvadratická chyba predikce, MEP*, definovaná vztahem

$$MEP = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - x_i^T \mathbf{b}_{(i)})^2}{n} \quad [3]$$

kde $\mathbf{b}_{(i)}$ je odhad regresních parametrů když všechny body kromě i -tého byly použity. Veličina *MEP* může být užita k vyčíslení *predikovaného koeficientu determinace*

$$\hat{R}_p^2 = 1 - \frac{n \times MEP}{\sum_{i=1}^n y_i^2 - n \times \bar{y}^2} \quad [4]$$

kde \bar{y} je průměr ze všech n hodnot y_i , $i = 1, \dots, n$. Jiné statistické kritérium k obdobnému užití je odvozeno z teorie informační entropie (9), a nazývá se *Akaikovo informační kritérium*

$$AIC = n \ln \left(\frac{RSS(\mathbf{b})}{n} \right) + 2m \quad [5]$$

Nejvhodnější regresní model pak vykazuje nejnižší hodnotu střední kvadratické chyby predikce *MEP*, Akaikova informačního kritéria *AIC*, ale nejvyšší hodnotu predikovaného koeficientu determinace R_p^2 . Průměr absolutních hodnot reziduí *MR* a také *reziduálová směrodatná odchylka* $s(e)$ by měly dosahovat stejné velikosti jako experimentální náhodná chyba $s(g)$ závisle proměnné y , tj. $s(e) = s(g)$ nebo relativní hodnota této chyby $MR = s_{rel}(g)$.

2.3 Diagnostiky k detekci vlivných bodů

Kvalita dat silně ovlivňuje navržený regresní model. Vyšetření kvality dat totiž spočívá v detekci *vlivných bodů*, které mohou způsobit řadu problémů regresní analýzy jako je posun odhadů parametrů či zvýšení jejich rozptylu (12). Vlivné body se dělí na: 1. *Odlehlé body* O , které se liší od bodu k bodu v y -ové hodnotě, 2. *Extrémy* E , které se významně odlišují v x -ové hodnotě; a 3. *Obojí* O a E , kombinace odlehlých a extrémů dohromady. Odlehlý bod je snadno detekovatelný pomocí reziduí, jakmile je regresní model navržen a vypočten.

Jackknife residuum, definované vztahem

$$\hat{e}_{J,i} = \hat{e}_{S,i} \sqrt{\frac{n - m - 1}{n - m - \hat{e}_{S,i}^2}} \quad [6]$$

je reziduum, které za předpokladu normality náhodných chyb vykazuje Studentovo rozdělení s $(n - m - 1)$ stupni volnosti. Zde $\hat{e}_{S,i}$ je standardizované reziduum, které vykazuje jednotkový rozptyl (12). Existuje přibližné pravidlo k detekci odlehlých bodů: bod je silně vlivný, když čtverec jackknife rezidua $\hat{e}_{J,i}^2$ je větší než 10. V případě extrémů však tato rezidua v indikaci selhávají.

Velmi populární je skalární míra relativního vlivu i -tého bodu na odhady všech parametrů \mathbf{b} , nazvaná *Cookova vzdálenost* a vyjádřená vztahem

$$D_i = \frac{(\hat{\mathbf{y}} - \hat{\mathbf{y}}_{(i)})^T (\hat{\mathbf{y}} - \hat{\mathbf{y}}_{(i)})}{m \times s^2} \quad [7]$$

kde s^2 je vypočteno dle rovnice [2]. Platí přibližně pravidlo, že je-li $D_i > 1$, posun v parameterch je větší než 50% intervalu spolehlivosti a tím pádem je dotyčný bod považován za vlivný. Neovlivňuje-li i -tý bod odhady parametru významně, je D_i malé.

Jinou nelineární míru vlivu i -tého bodu na odhady parametrů představuje *věrohodnostní vzdálenost*, definovaná vztahem

$$LD_i = n \times \ln \left[\frac{RSS(\mathbf{b}_{(i)})}{RSS(\mathbf{b})} \right] \quad [8]$$

kde vektor odhadů $\mathbf{b}_{(i)}$ je vypočten tak, že i -tý bod je vypuštěn. Když platí, že $LD_{(i)} > \chi^2_{0.95}(2) = 5.99$, je i -tý bod silně vlivný na hladině významnosti $\alpha = 0.05$.

3. Experimentální část

3.1 Metodologie klinické části

Výška třmínku byla změřena u 40 spánkových kostí od 27 plodů ve věku od 13. do 36. týdne gestace. Měření bylo provedeno pod mikroskopem příložným měřítkem s přesností na 0.1 mm. Věk plodu byl určen na základě znalostí týdne gestace, s další korekcí podle velikosti a hmotnosti plodu. Všechny plody sledovaného souboru neměly žádnou vrozenou malformaci nebo genetický defekt, tedy je možné je považovat za fyziologicky se vyvíjející jedince. Výška třmínku je vzdálenost od kovádlíčko třmínkového skloubení k vestibulární ploše plotničky třmínku (obr. 1). Naměřené hodnoty výšky třmínku v milimetrech a věk plodu jsou uvedeny v tabulce 2. Získané hodnoty byly podrobeny regresní analýze ke grafickému znázornění růstové křivky.

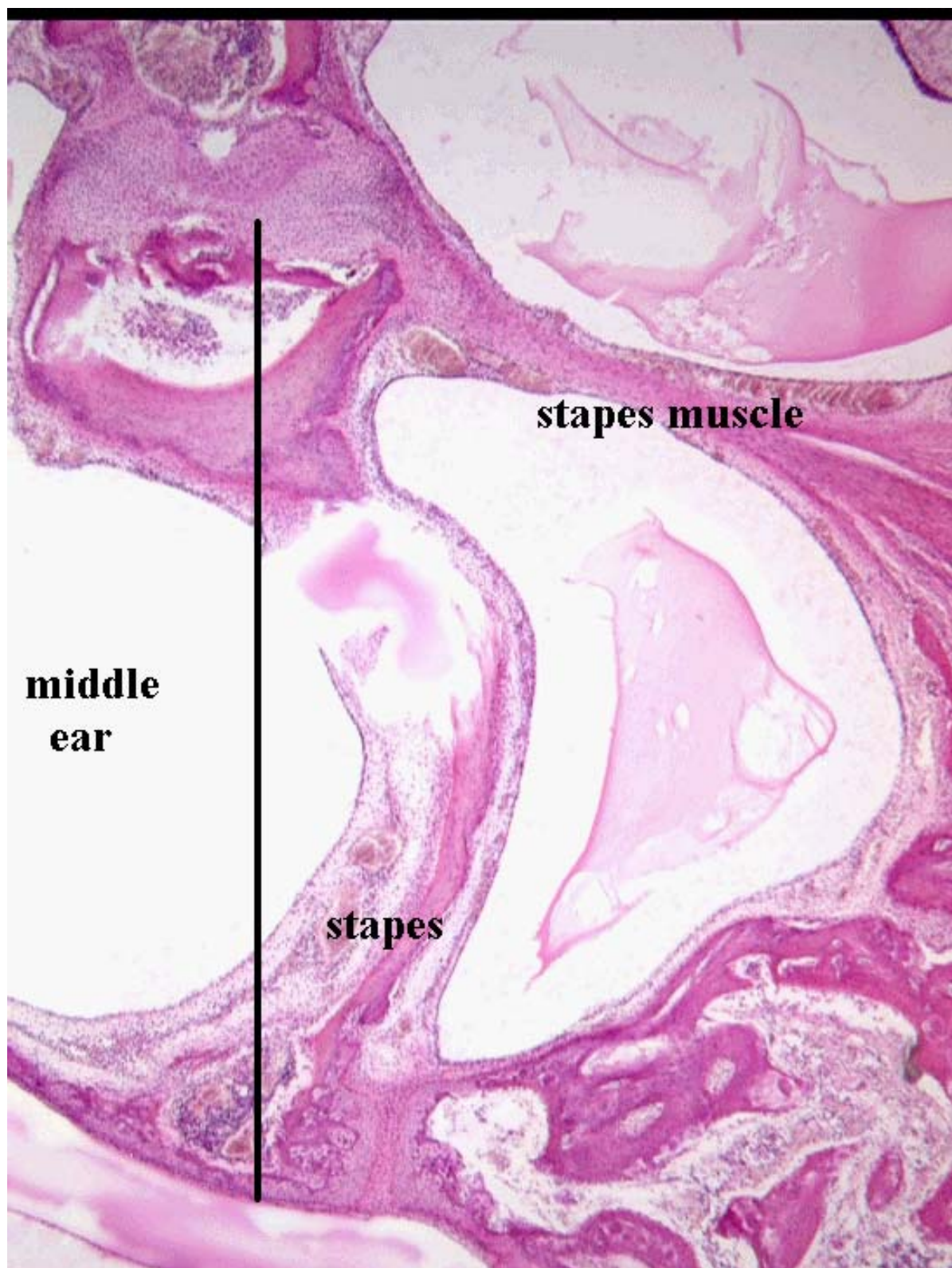
3.2 Postup výstavby regresního modelu růstové křivky

Postup výstavby regresního modelu růstové křivky obsahuje následující kroky:

1. *Návrh modelu*: výstavba vždy začíná nejjednodušším modelem.
2. *Vyšetření statistické významnosti parametrů*: pomocí Studentova t -testu je testována statistická významnost odhadů jednotlivých parametrů.
3. *Upřesnění modelu*: na základě kritérií *MEP* nebo *AIC* je vybírán nejvhodnější regresní model růstové křivky z tabulky 1. Jestliže některý parametr vyjde jako statisticky nevýznamný, model je revidován.

3.3 Software

Pro veškeré výpočty nelineární regrese, výstavbu modelu a užívání regresní diagnostiky byl použit modul nelineární regrese v systému ADSTAT (13).

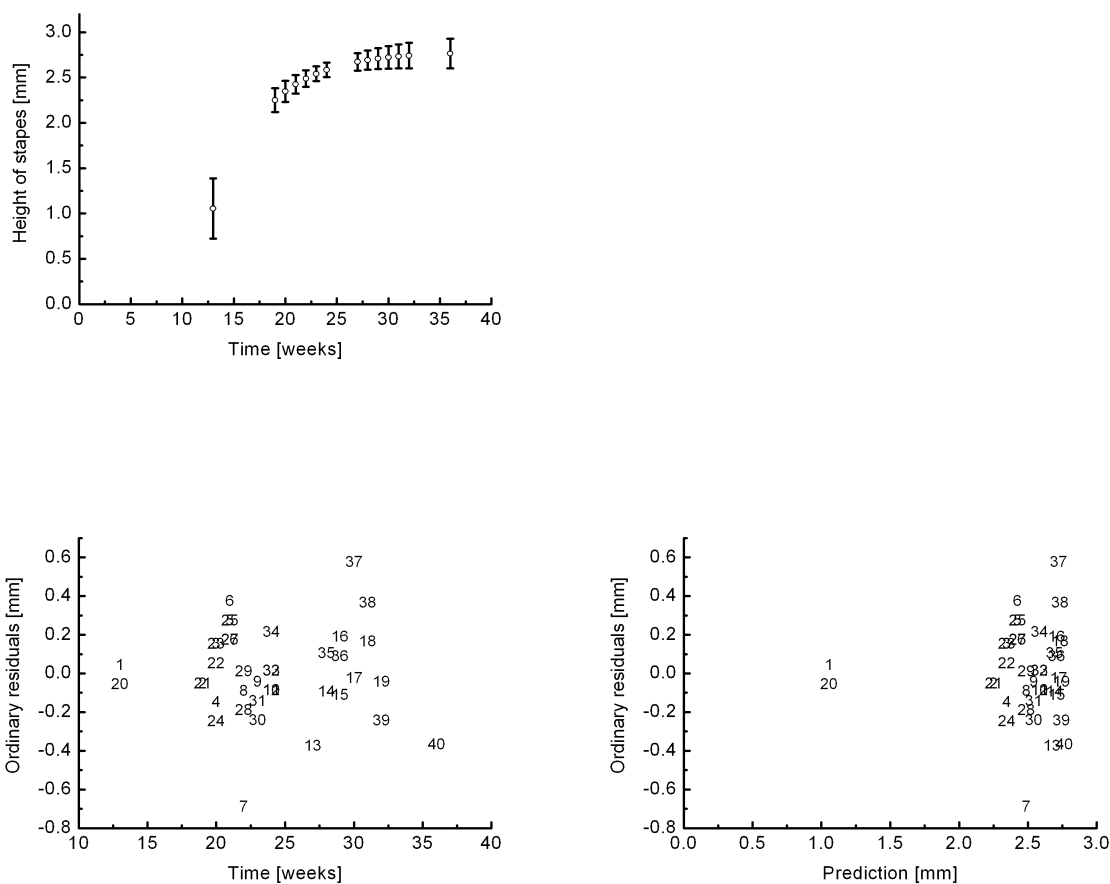


Obr. 1 Histologický pohled na výšku třmínku.

4. Výsledky a diskuse

4.1 Hledání vhodného modelu růstové křivky

Vyšetření regresních diagnostik při analýze regresního tripletu (*Data + Model + Metoda*) sledovalo odhalení vlivných bodů, tj. odlehlých a extrémů, výběr modelu růstové křivky a použití nejvhodnější modifikace nejmenších čtverců.



Obr. 2 (a) Mitscherlichova růstová křivka (model B v tabulce 1) spolu s intervalem spolehlivosti prokládá časová data výšky třmínku [mm] v závislosti na době těhotenství [týdny] z tabulky 2, (b) rozptylový graf klasických reziduí proti nezávisle proměnné (čas), a (c) rozptylový graf klasických reziduí proti predikci \hat{y}_P .

K řešení byla užita procedura MINOPT v systému ADSTAT (13) a při analýze bylo postupováno dle Ratkowského kritérií. Za terminační kritérium minimalizace residuální sumy čtverců RSS bylo užito jednoho z následujících kritérií:

(a) terminace při zanedbatelné změně paramateru, (b) terminace při dosažení deklarovaného počtu iterací, (c) terminace při zanedbatelné změně sledované funkce $RSS(\mathbf{b})$.

Table 2. Data růstové křivky, vyjadřující výšku třmínku y [mm] v závislosti na době těhotenství x [weeks], měřené pro 40 spánkových kostí od 27 plodů; $\{x \ y;\}$

Pravá strana:											
13	1.1;	19	2.2;	20	2.5;	20	2.2;	21	2.7;	21	2.8;
22	1.8;	22	2.4;	23	2.5;	24	2.5;	24	2.5;	24	2.5;
27	2.3;	28	2.6;	29	2.6;	29	2.9;	30	2.7;	31	2.9;
32	2.7;										
Levá strana:											
13	1.0;	19	2.2;	20	2.4;	20	2.5;	20	2.1;	21	2.7;
21	2.6;	21	2.6;	22	2.3;	22	2.5;	23	2.3;	23	2.4;
24	2.6;	24	2.6;	24	2.8;	28	2.8;	29	2.8;	30	3.3;
31	3.1;	32	2.5;	36	2.4;						

Minimalizační proces nelineární regrese začal vždy z nultého přiblížení odhadovaných parametrů $b_1^{(0)} = 1$, $b_2^{(0)} = 1$, $b_3^{(0)} = 1$ pro Mitscherlichův model, a data z Tabulky 2. Bylo nalezeno minimum $RSS(\mathbf{b}) = 2.0687$ s nejlepšími odhady parametrů $b_1 = 2.784$ (0.098), $b_2 = 10.575$ (0.761), $b_3 = 0.1963$ (0.0400). Nízké hodnoty směrodatných odchylek (uvedených u odhadů v závorce) dokazují statistickou významnost jednotlivých parametrů.

Obr. 2 prokazuje, že Mitscherlichův model velice těsně prokládá experimentální data. Výtečná těsnost proložení je v tomto případě doložena i reziduálovou směrodatnou odchylkou $s(e) = 0.2365$ pro model B (Mitscherlich) v Tabulce 3, regresním rabatem $D = R^2 = 71.106\%$, a průměrem relativních reziduí $MR = 7.054\%$. Graf klasických reziduí proti nezávisle proměnné (Obr. 2b) a proti predikci (Obr. 2c) dokazuje, že body 7, 37, 6 a 38 jsou podezřelé a měly by být vyšetřeny, zda se jedná o body vlivné.

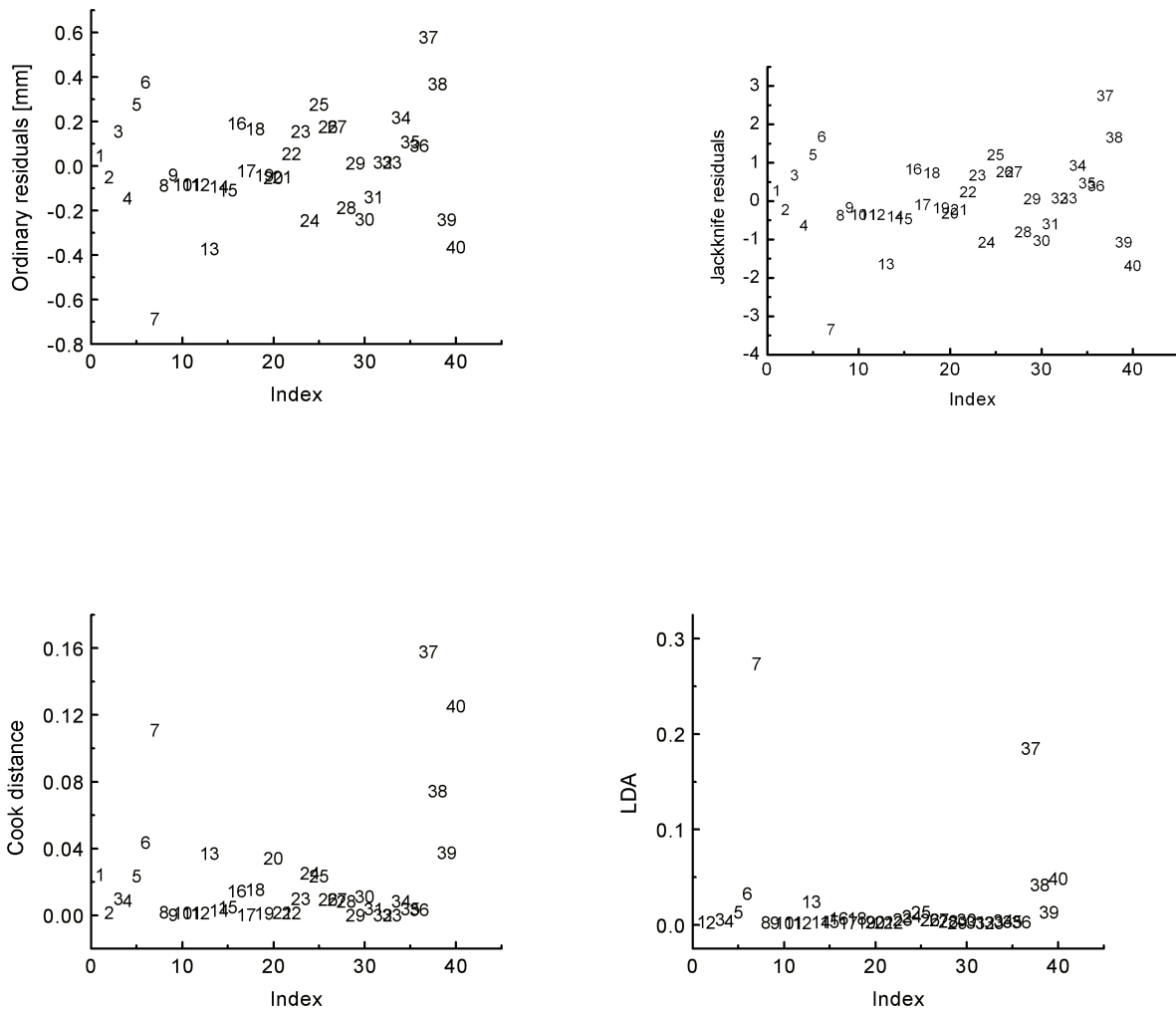
Table 3. Hledání regresního modelu růstové křivky pro data z tabulky 2.

Model	RSS	D [%]	AIC	MR [%]	$s(e)$	$MEP \times 100$	Outliers
A	$y = 0.13282 / (1 - 1.9472 \exp(0.15129 (7.5505 - x)))^{(1/1.9472)}$						
	2.066	71.16	-110.55	7.07	0.2395	6.2477	7, 37
B	$y = 2.7840 (1 - \exp((0.19627 \cdot 10.575) - (0.19627 \cdot x)))$						

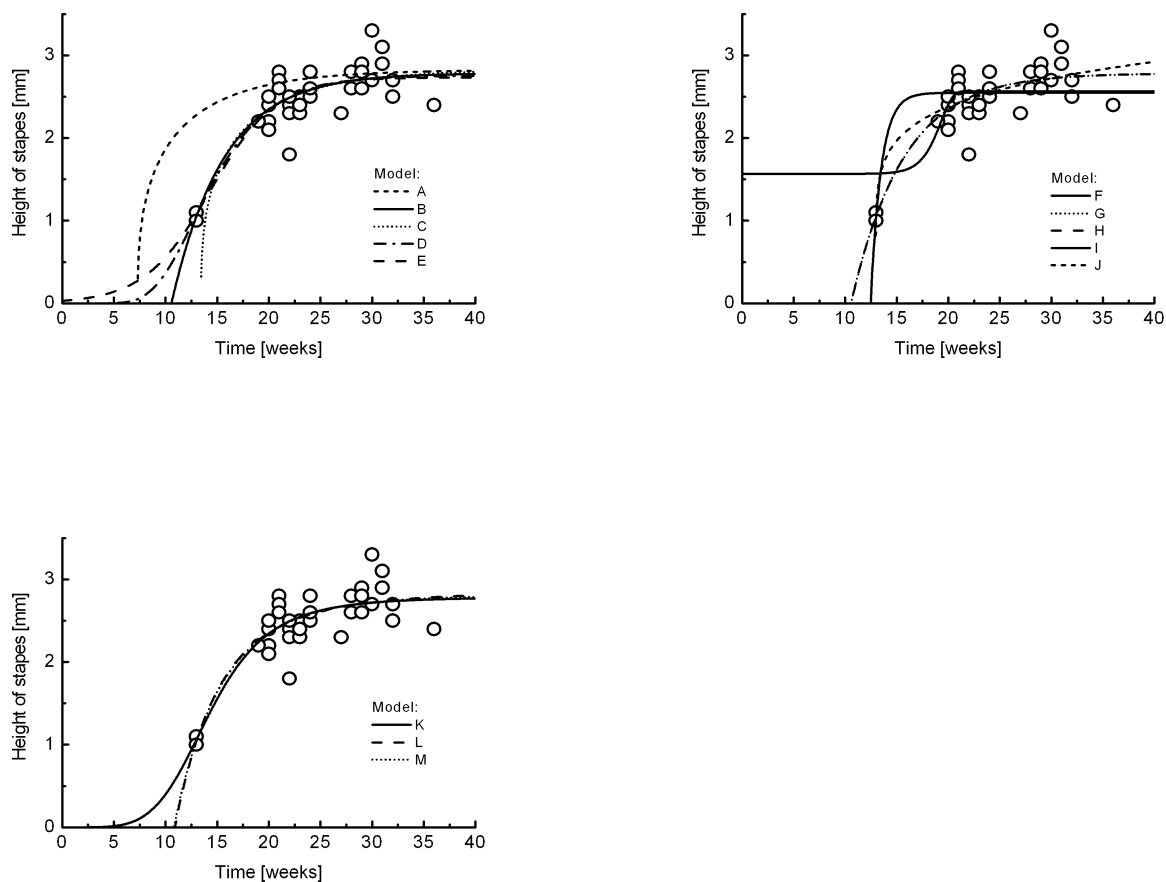
	2.069	71.106	-112.48	7.054	0.2365	5.8505	7, 37
C	$y = 1.0/(1+(\exp((-8.1455-(0.20182 x))))^{(1/2.4343E-05)})$						
	2.158	69.86	-108.79	7.592	0.2448	6.8497	7, 36, 37
D	$y = 2.7551 \exp(-\exp(3.2084-(0.25082 x)))$						
	2.082	70.92	-112.22	7,04	0.2372	5,8688	7, 37
E	$y = 2.7328/(1+(\exp(4.4723-(0.31162 x))))$						
	2.106	70.59	-111.76	7,047	0.2386	5,9285	7, 37
F	$y = 2.7840-(22.140 (\exp(-0.19624 x)))$						
	2.069	71.11	-112.48	7,056	0.2365	5,8509	7, 37
G	$y = 2.5479 (1-(\exp(-x+4.3303) 3426.8))$						
	2.892	59.61	-99.08	8,176	0.2796	0,0052273	7, 37
H	$y = 2.7840-(\exp(3.0973-(0.19617 x)))$						
	2.069	71.11	-112.48	7,054	0.2365	5,8508	7, 37
I	$y = 2.5669-(\exp(-5.5950E-08 (2.3754^x)))$						
	2.987	58.28	-97.79	9,505	0.2841	8,2824	7, 37
J	$y = (-528.04+(40.724 x)^{(1/6.5297)})$						
	2.104	70.61	-111.79	7,133	0.2385	6,0286	7, 37
K	$y = 1/(0.35887+(2.0855E+05 (x^{-4.9867})))$						
	2.079	70.97	-112.29	7,044	0.237	5,8645	7, 37
L	$y = ((-8.7664 745.71)+(2.8637 (x^{3.2372}))) / (745.71+(x^{3.2372}))$						
	2.069	71.1	-110.47	7,067	0.2398	6,2735	7, 37
M	$y = 2.8098-(106.91 (\exp(-0.76370 (x^{0.65597}))))$						
	2.068	71.12	-110.5	7,06	0.2397	6,3488	7, 37
	3.272	54.3	-86.14	10,42	0.3149	0,1271	

Čtyři indexové grafy na obr. 3 zřetelně indikují vlivné body. Zatímco indexový graf klasických reziduí (obr. 3a) je schopen nalézt pouze podezřelé body, indexový graf Jackknife reziduí (obr. 3b) prokazuje dva odlehlé body, 7 a 37. Indexový graf Cookovy vzdálenosti (obr. 3c) and graf věrohodnostní vzdálenosti (obr. 3d) indikují, že tyto body jsou pouze podezřelé. Uvedené čtyři grafy jsou užitečné k lékařskému diagnostikování abnormálních hodnot, jež určitě nepatří do populace vyšetřovaného souboru. Vyšetřované regresní modely tabulky 1 byly aplikovány ve dvou krocích: v první byly vyšetřovány komplexnější

a klasičtější modely (Schnutheho (A), Mitscherlichův (B), Richardův (C), Gompertzův (D), nebo logistický (E)) a v druhém kroku pak modely od F do M. Pro každý model byly odhadnuty parametry a vyšetřena těsnost proložení vypočtenou regresní růstovou křivkou danými experimentálními body (obr. 4).



Obr. 3 Kvalita těsnosti proložení a indikace vlivných bodů pro regresovaná data z tabulky 2 je posuzována z indexových grafů (a) klasických reziduí, (b) Jackknife reziduí, (c) Cookovy vzdálenosti a (d) věrohodnostní vzdálenosti (LDA).



Obr. 4 Grafická prezentace hledání optimálního regresního modelu růstové křivky pro regresovaná časová data výšky třmínku [mm] v závislosti na době těhotenství [týdny] z tabulky 2 (a) pro modely A, B, C, D a E, (b) modely F, G, H, I a J, a (c) modely K, L, M, N a P. Regresní diagnostiky a test těsnosti proložení je v tabulce 3.

Na základě získání růstové křivky výšky třmínku lze sledovat vývoj velikosti třmínku v čase. Prudký růst třmínku byl patrný v průběhu 13. až 24. týdne vývoje plodu. Průměrná výška třmínku ve 13. týdnu byla 1,05 mm a ve 24. týdnu 2,6 mm. Růst třmínku po 25. týdnu byl výrazně pomalejší a průměrná výška třmínku ve 30. týdnu byla 3,0 mm. Schuknecht uvedl ve své monografii (32) průměrnou výšku třmínku u dospělého 3,26 mm. Výška třmínku dospělého jedince však může značně kolísat, minimální výška byla 2,56 mm a maximální výška 3,78 mm. Rozptyl měřených hodnot v naší studii mohl být ovlivněn dvěma faktory. Ve světelné mikroskopii vyšetřujeme každý desátý řez spánkovou kostí, tloušťka jednoho řezu je 12 μm . Tedy ne vždy byla zachycena výška třmínku v největším rozměru. Druhý faktor je rovina krájení spánkové kosti, v případě nedokonalé horizontální roviny řezu může být částečně

ovlivněn měřený parametr. Většina prací a monografií konstatuje, že růst velikosti třmínku je ukončen kolem 32. týdne gestace (4), (5). Dle našich výsledků je patrné, že výška třmínku se zvětšuje i po 32. týdnu vývoje plodu. Obdobně Olszewski (33) na základě měření rozměrů a hmotnosti středoušních kůstek u 100 plodů a u 20 dospělých jedinců ve věku 18 až 40 let zjistil, že kompletní vývoj kladívka, kovadlinky a třmínku není ukončen před narozením jedince a velikost se mění i po narození.

5. Závěr

Matematické metody a regresní analýza přináší nové možnosti v histologii spánkových kostí. Znalosti o fyziologickém růstu třmínku mohou pomoci v určení abnormální velikosti třmínku u dalších vyšetřovaných jedinců. Měření velikosti středoušních kůstek a struktur přináší podklady pro výrobu chirurgických nástrojů a středoušních implantátů.

6. Poděkování

Práce vznikla za podpory grantové studie: IGA MZ 6189-3

7. Literatura

- (1) Pauw BKH, Pollak AM, Fisch U. Utricule, saccule, and cochlear duct in relation to stapedotomy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991; 100: 966-970.
- (2) Hanson J.R., Anson B.J. et al.: Branchial sources of auditory ossicles in man. Part II: Observation of embryonic stages from 7 mm to 28 mm. *Arch. Otolaryngol.*, 1962; 76: 200-215.
- (3) Kočka J.: Vrozené atrézie okének labyrintu. *Čs. Otolaryng.*, 1973; 22: 198-201.
- (4) Nandapalan V, Tos M. Isolated congenital stapes ankylosis: an embryologic survey and literature review. *American J. of Otology* 2000; 21: 71-80.
- (5) Anson BJ, Donaldson JA. *Surgical anatomy of the temporal bone*. Raven Press, New York: 1992, part II 26-30.
- (6) Suslick SB, Harris DP, Allan LHE. SERFIT: An algorithm to forecast mineral trends. *Computers and Geosciences* 1995; 21: 703-713.
- (7) Bardsley WG, Ackerman RA, Bukhari NAS, Deming DC, Ferguson MWJ. Mathematical models for growth in alligator embryos developing at different incubation temperatures. *J. of Anatomy* 1995; 187: 181-190.
- (8) Elfving B, Kiviste A. Construction of site index equations for *Pinus sylvestris* L. Using permanent plot data in Sweden. *Forest Ecology and Management* 1997;

98: 125-134.

- (9) Schepers AW, Thibault J, Lacroix Ch. Comparison of simple neural networks and nonlinear regression models for descriptive modeling of *Lactobacillus helveticus* growth in pH-controlled batch cultures. *Enzyme and Microbial Technology* 2000; 26: 431-445.
- (10) Lebert I, Robles-Olvera V, Lebert A. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas* spp. and *Listeria* in meat. *International J. of Food Microbiology* 2000; 61: 27-39.
- (11) Dalgaard P, Koutsoumanis K. Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. *J. of Microbiological Methods* 2001; 43: 183-196.
- (12) Meloun M, Militký J, Forina M. *Chemometrics for analytical chemistry, Vol 1, PC-Aided statistical data analysis*. Chichester: Ellis Horwood, 1992.
- (13) Adstat 2.0 Statistical package, Pardubice: TriloByte Statistical Software, 1999.
- (14) Weber R. Heber die Gesetzmässigkeit im Zuwachsgange einiger Holzarten, auf Grund neuerer Ertragstefeln. *Allg. Forst. U. Jagdztg* 1897; 185-196.
- (15) Peschel W. Die mathematische Methoden zur Herleitung der Wachstumsgesetze von Baum and bestand und die Ergebnisse ihrer Anwendung. *Tharandter Forstl. Jahrb.* 1938; 89: 169-247.
- (16) Todorovic D. Tree growth laws and their mathematical equations. Thesis. 1961; Beograd, p. 206.
- (17) Prodan M. *Forest Biometrics*. London: 1968, p. 447.
- (18) Wenk G. Mathematische Formulierung von Wachstumsprozessen. *Biom. Z.* 1973; 15: 345-362.
- (19) Kuzmitshev VV. Stand growth regularities, Novosibirsk: 1977, p. 160 (in Russian).
- (20) Clutter JL, Fortson JC, Pienaar LV, Brister GH, Bailey RL. *Timber Management: A Quantitative Approach*. New York: Wiley, 1983, p. 333.
- (21) Schnute J. A versatile growth model with statistically stable parameters. *Can J Fish Aquat Sci* 1981; 38: 1128-1140.
- (22) Mitscherlich EA. Das Gesetz des Pflanzenwachstums. *Landwirtsch Jahrb.* 1919; 53: 167-182.
- (23) Richards FJ. A flexible growth function for empirical use. *J Exp Bot* 1959; 10: 290-300.
- (24) Gompertz B. *Philos T Roy Soc London* 1825; 115: 513.
- (25) Ratkowski DA. *Nonlinear regression modeling: a unified practical approach*. New York: Marcel Dekker, 1983.

- (26) Meloun M. Militký J. Sbíрка úloh, Statistické zpracování experimentálních dat, Pardubice: Universita Pardubice, 1996.
- (27) Reynolds K. Forest height growth modelling. Forest ecology and Management. 1995; 71: 217-255.
- (28) Gamito S. Growth models and their use in ecological modelling. Ecological modelling. 1998; 113: 83-94.
- (29) Ratkowski DA. Principles of nonlinear regression modeling. J Ind Microbiol 1993; 12: 195-9.
- (30) Zwietering MH, Jongenburger I, Rombouts FM, Van't Riet K. Modeling of the bacterial growth curve. Appl Environ Microbiol 1990; 56: 1875-81.
- (31) Berkman T, Bozoglu TF, Özilgen M. Mixed culture growth kinetics of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus. Enzyme Microb Technol 1992; 12: 138-40.
- (32) Schuknecht HF. Pathology of the ear. Lea&Febiger, Malvern, 1993, 33.
- (33) Olszewski J.: Zur Morphometrie der Gehörknöchelchen beim Menschen im Rahmen der Entwicklung. Anat. Anz. Jena, 171; 190: 187-191.