

Фетисов С.О., Алексеева Н.Т., Никитюк Д.Б.

**ПРИМЕНЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИОННО-РЕГРЕССИОННОГО АНАЛИЗА
ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ СЕНСОРНЫХ НЕЙРОНОВ ПРИ
РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ СТИМУЛЯЦИИ
РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖНОЙ РАНЫ**

*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко,
г. Воронеж, Россия*

В статье рассматриваются вопросы оценки зависимости планиметрических показателей от состояния белковосинтетической активности нейронов спинномозговых узлов крысы в процессе заживления кожной раны в эксперименте. На основании корреляционно-регрессионного анализа отмечена различная степень выраженности связей изучаемых характеристик. Анализ формы регрессионных кривых при этом позволяет оценить эффективность экспериментальных лечебных воздействий на восстановление состояния афферентного звена иннервации поврежденных тканей.

Ключевые слова: нейроны, кожная рана, тромбоцитарный концентрат, гидроимпульсная санация, ядро-цитоплазматический индекс, оптическая плотность РНК.

Fetisov S. O., Alexeeva N. T., Nikityuk D. B.

**THE USE OF CORRELATION AND REGRESSION ANALYSIS TO ASSESS
THE STATE OF SENSORY NEURONS AT VARIOUS WAYS TO
STIMULATE REGENERATION OF SKIN WOUNDS**

Voronezh state medical university named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

The article discussed about the questions of evaluations based on planimetric data from the state of protein-synthesis activity of the rat's dorsal root ganglion neurons during the healing process of skin wounds in the experiment. On the basis of correlation-regression analysis revealed varying degrees of severity relationships of the studied characteristics. The analysis of the shape of the regression curves allows to evaluate the effectiveness of experimental treatment effects on the recovery status of the afferent link of innervation of the damaged tissues.

Keywords: sensory neurons, skin wound, platelet-rich blood plasma, hydropressive sanitation, nucleo-cytoplasmic index, optical density of RNA.

В эксперименте на 300 белых крысах измеряли морфометрические характеристики, значения ядерно-цитоплазматического индекса и уровня белковосинтетической активности нейронов спинномозговых узлов (СМУ) в процессе регенерации раневого дефекта в зоне их иннервации. Измерения производились как при спонтанном заживлении асептических (АР) и

инфицированных (ГН) ран, так и при селективном и комплексном местном применении обогащенной тромбоцитами плазмы крови (ОТПК) и гидроимпульсной обработки раневого дефекта высоконапорным потоком антисептика (ГИС). Для моделирования раневого процесса крысе наносили линейный разрез на передней поверхности бедра размерами 1,0x0,5 см, гнойный процесс формировали внесением суточной культуры *Staphylococcus aureus* с концентрацией 10^{10} микробных тел[1]. Животные выводились из эксперимента на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е, 28-е сутки равными группами, включая группу интактного контроля. Производили иссечение поясничных ганглиев L_{II}-L_V как соответствующих нервам, иннервирующим область нанесенной раны. РНК в нейронах выявляли окрашиванием азуром В по методу S. Shea и производили цитофотометрию. На основе литературных данных и бимодального характера распределения морфометрических показателей нейронов СМУ, мы выделяли 2 основные популяции нейронов: А-клетки со средним поперечником более 30 мкм, светлым перикарионом и глыбчатым распределением субстанции Ниссля; В-клетки со средним поперечником меньше или равным 30 мкм, округлые клетки с темным перикарионом и диффузным распределением вещества Ниссля[2, 4]. Внутри обеих популяций нейронов выделяли клетки без выраженных на светооптическом уровне изменений – интактные (Инт); нейроны с признаками дезагрегации хроматофильного вещества, вакуолизацией, пикнозом – реактивные (Реакт) и нейроны в стадии необратимой деструкции (для них измерения не проводили) [3,5]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Statistica 6.0.

С целью оценки зависимости планиметрических показателей от состояния белковосинтетической активности был проведен двумерный регрессионный анализ изменения в цитоплазме оптической плотности РНК от изменения ядерно-цитоплазматического индекса (ЯЦИ). При этом в качестве независимого предиктора выступал ЯЦИ, увеличение которого, как известно, является маркером повышения активности пластических процессов в клетке.

По результатам проведенного анализа установлено, что имеется прямая зависимость между данными параметрами: при увеличении ЯЦИ выявляется общая тенденция к увеличению как оптической плотности РНК. Тем не менее, в различных экспериментальных группах степень выраженности данной связи была различной. При оценке регрессионных моделей в качестве критерия мы использовали значение коэффициента регрессии при непрерывном предикторе, как отражение угла наклона результирующей кривой. При больших значениях данного критерия отмечались более выраженные изменения зависимой переменной, таким образом, даже незначительные изменения ЯЦИ сопровождалась значительными изменениями оптической плотности продуктов реакции на РНК. Подобное сопоставление показало, что наиболее пологий ход кривых выявлялся при спонтанном течении раневого процесса, в то время как применение различных методов регионального воздействия приводило к значительному увеличению коэффициента регрессии, при этом ГИС занимала среднее положение между естественным течением и применением ОТПК. Необходимо отметить, что указанная закономерность была универсальной, вне зависимости от субпопуляций нейронов (рис. 1).

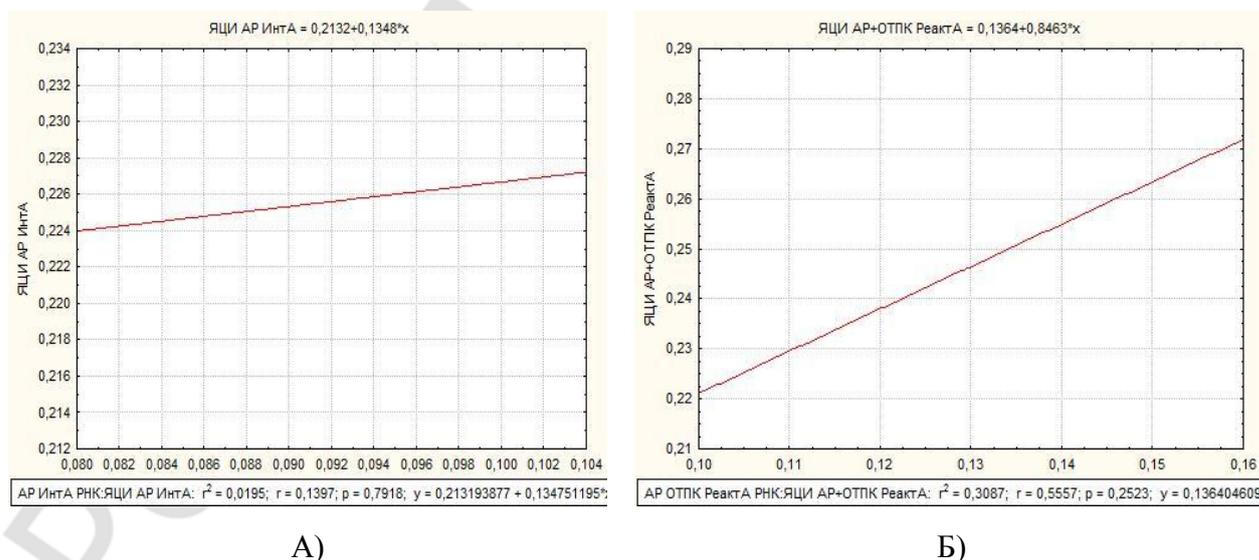
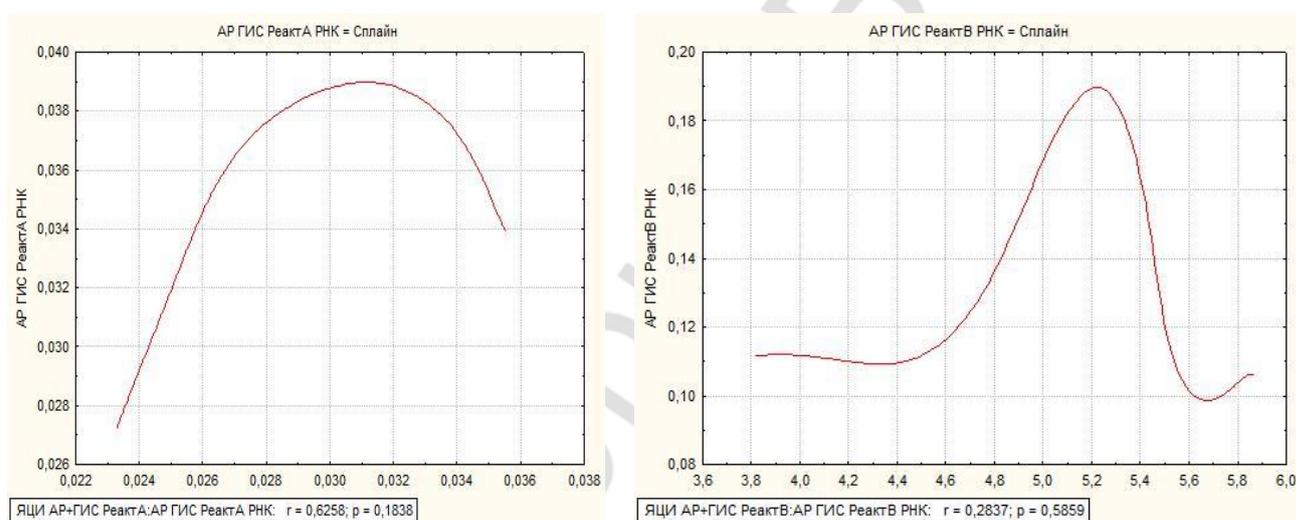


Рис. 1. Результаты регрессионного анализа зависимости оптической плотности РНК и показателя ЯЦИ в зависимости от вида регионального воздействия при асептическом течении. А) Спонтанное заживление, интактные А-нейроны; Б) Применение ОТПК, реактивно измененные нейроны А-типа.

Тем не менее, в случае реактивных нейронов, в особенности В-типа, при спонтанном течении и применении гидроимпульсной санации выявлялся

нелинейный ход результирующих кривых (рис. 2). Кроме того сопоставление выявленных зависимостей с классической морфологической картиной показало, что найденные участки нелинейности в зависимости можно было сопоставить с крайними формами, а именно нейронами с деструктивными изменениями: с одной стороны гиперхромными клетками, с явлениями пикноза, большим ядром и наблюдающейся ретракцией цитоплазмы; и с другой стороны – гипохромными отечными нейронами. При этом средняя часть кривой, приближающаяся к квадратичной, соответствовала, по всей видимости, нейронам в состоянии оптимальной функциональной активности.



А)

Б)

Рис. 2. Результаты регрессионного анализа зависимости оптической плотности РНК и показателя ЯЦИ в зависимости от вида регионального воздействия при асептическом течении. А) Применение ГИС, реактивные А-нейроны; Б) Применение ГИС, реактивно измененные нейроны В-типа.

При инфицированном течении раневого процесса в зоне иннервации изучаемых СМУ отмечались в целом подобные закономерности, отражавшие фундаментальную биологическую взаимосвязь между изменением морфологических параметров и синтетической активности. Тем не менее, наличие инфицирования отражалось в более пологом ходе регрессионных прямых при спонтанном течении гнойной раны и, в особенности, при изолированном использовании ОТПК (рис. 3). При использовании ГИС ход регрессионной кривой приближался к асептическому спонтанному течению, однако вариабельность значений была существенно выше, что проявлялось в

уменьшении коэффициента корреляции и меньшем значении коэффициента регрессии. Применение комплексного воздействия приводило к появлению более тесных корреляционных зависимостей и сопровождалось значительным ростом коэффициента регрессии, в особенности для интактных нейронов А- и В-типа. В случае реактивных субпопуляций указанных типов нейронов подобная зависимость была менее выражена, причем наибольшее отклонение от неё отмечалось для реактивных В-нейронов.

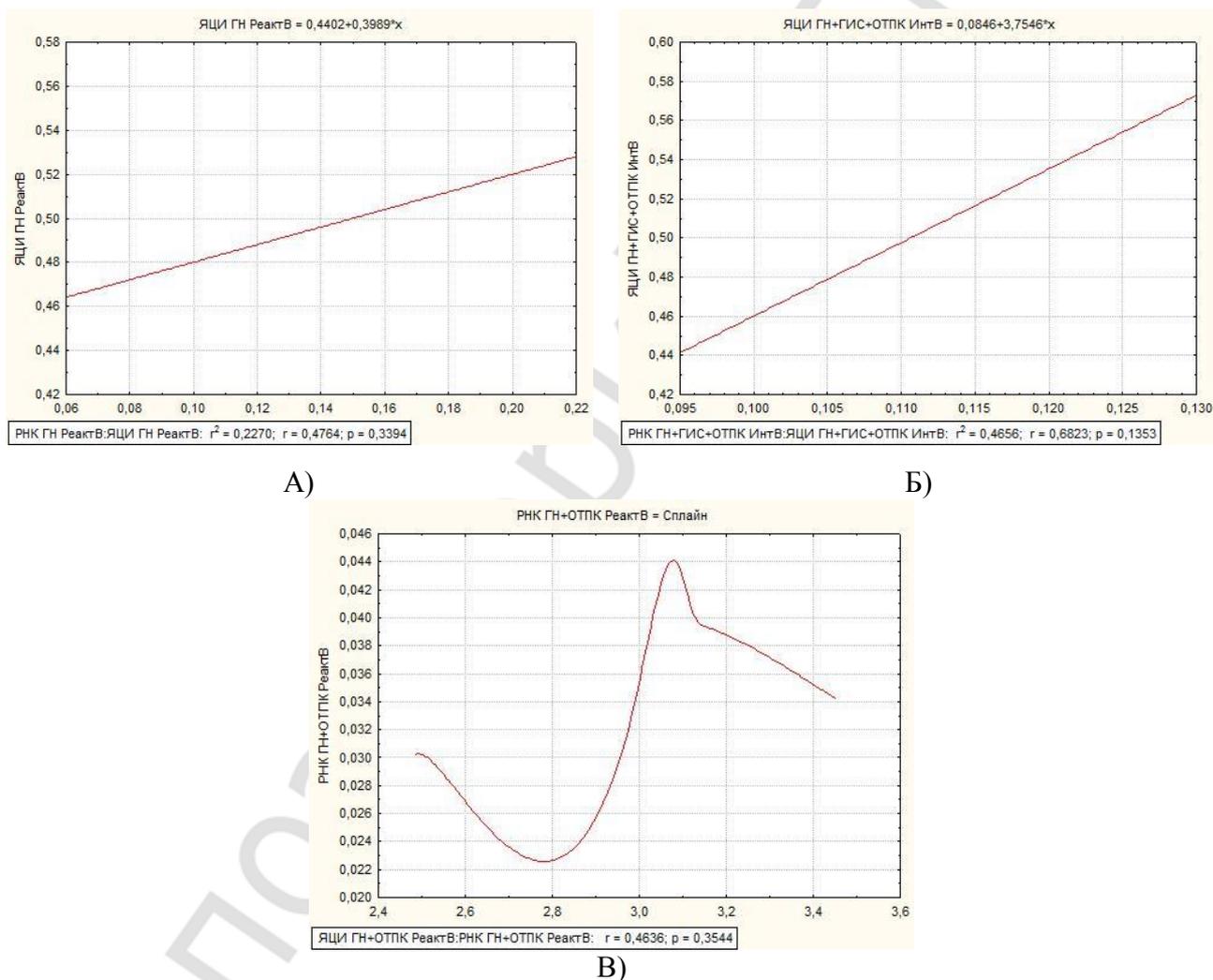


Рис. 3. Результаты регрессионного анализа зависимости оптической плотности РНК и показателя ЯЦИ в зависимости от вида регионального воздействия при гнойном течении. А) Естественное заживление, реактивные В-нейроны; Б) Комплекс ГИС+ОТПК, интактные нейроны В-типа; В) Селективное применение ОТПК, реактивные нейроны В-типа.

Однако результирующая кривая в данном случае, в отличие от асептического течения, была полифазной: отмечалось дополнение квадратичной кривой дополнительным нисходящим сегментом, когда отмечалось значительное увеличение оптической плотности РНК при

прогрессирующем снижении ЯЦИ, что приближало клетки с подобными изменениями к деструктивным формам нейронов, в которых, на фоне высокой базофилии, начинали отмечаться процессы пикноза ядра и его дезагрегации.

Таким образом, основываясь на результатах проведенного анализа можно оценить степень влияния экспериментальных факторов на состояние афферентного звена иннервации поврежденных тканей. Отмечается заметное изменение характеристик при комплексной терапии поврежденного участка и ускорение синтетических процессов при использовании ОТПК в случае неинфицированной раны. Использование регрессионных моделей в морфологических исследованиях нам видится обоснованным для выявления закономерностей при анализе большого массива данных, в особенности при наличии разнонаправленных изменений в отдельных экспериментальных подгруппах.

Список литературы:

1. Алексеева Н.Т. Морфологическая оценка регенерата при заживлении гнойных кожных ран под влиянием различных методов регионального воздействия/ Н.Т. Алексеева // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2014. – Т. 3, №2 (10). – С. 14-18.
2. Выживание и фенотипическая характеристика аксотомированных нейронов спинальных ганглиев / Ю.А. Чельшев [и др.] // Морфология. –2004. –Т. 125, №3. –С. 45-49.
3. Фетисов С.О. Качественная морфологическая оценка состояния нейронов спинномозговых узлов при регенерационном процессе в гнойной ране кожи / С.О. Фетисов, Н.Т. Алексеева, Д.Б. Никитюк // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – Т4. №1. – С. 31-37.
4. Digital morphometric characterization of lumbar dorsal root ganglion in rats / R. Bosco [et al.]// The J of Histotech. – 2010. – Vol. 33, N 3. – P. 113-118.
5. Morphological identification of cell death in dorsal root ganglion neurons following peripheral nerve injury and repair in adult rat / M. Atlasi [et al.] // Iranian biomedical journal. – 2009. – Vol. 13. No. 2. – P. 65-72.