

М.И. Онищенко

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ ПРИ
ИЗУЧЕНИИ ФОРМЫ СЕЛЕЗЕНКИ БЕЛЫХ КРЫС**

Научный руководитель: д-р мед. наук, проф. В.Н. Волошин

*Кафедра анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии
Луганский государственный медицинский университет имени святителя Луки,
г. Луганск*

M.I. Onyshchenko

**APPLICATION OF THE GEOMETRIC MORPHOMETRY METHODS IN
STUDYING THE SHAPE OF THE WHITE RATS SPLEEN**

Tutor: MD, professor V.N. Voloshin

*Department of Human anatomy, operative surgery and topographic anatomy
Saint Luka Lugansk State Medical University, Lugansk*

Резюме. В представленной работе впервые применены методы геометрической морфометрии для изучения формы селезенки белых крыс. Проведено изучение формы селезенки при разной продолжительности наблюдения – от 10 до 90 дней. Получены распределение форм селезенки в координатах первых двух компонент и деформационные решетки, характеризующие изменчивость формы органа.

Ключевые слова: селезенка, крыса, геометрическая морфометрия.

Resume. The article presents, for the first time, methods of geometric morphometry that were applied to study the shape of the spleen of white rats. The study of the shape of the spleen was carried out at different time of observation - from 10 to 90 days. The distribution of spleen shapes in the coordinates of the first two components and deformation lattices characterizing the organ shape variability are obtained.

Keywords: spleen, rat, geometric morphometry.

Актуальность. За последние десятилетия произошло быстрое расширение и внедрение количественных методов, предназначенных для захвата и описания сложных двух- и трехмерных объектов [2, 7, 8]. Главными среди них была группа методов, составляющих геометрическую морфометрию (ГМ). Хотя ее методы основаны на относительно новых теоретической и математической основах, инструменты ГМ в значительной степени полагаются на общих статистических методах. Последние помогают сделать эти методы интуитивно понятными и удобными для пользователя. Более того, постоянно растущая вычислительная мощность персональных компьютеров сделала эти инструменты более доступными, чем когда-либо. ГМ применялась повсеместно в тех областях научных знаний, в которых особый интерес представляет количественная оценка морфологической изменчивости (палеонтология, антропология, биология и медицина). Эти исследования решают широкий круг вопросов, включая оценку фенетических различий между таксонами [3], исследуя взаимосвязь между формой и филогенезом [6] или формой и ее распространение в географическом пространстве [4]. Методы ГМ нелегко применять к оценке биомеханических гипотез, потому что они исследуют корреляции между формами двух- или трехмерных объектов и функцией, а не

проверяют гипотезы о конкретных механических отношениях и функциях, обычно задаваемых конкретными линейными измерениями.

Несмотря на то, что методы ГМ применяются уже достаточно давно, в литературе отсутствуют сведения о формах селезенки белых крыс.

Цель: изучить разнообразие форм селезенки белых крыс инфантильного возраста с использованием методов ГМ.

Задачи:

1. Получить графическое изображение распределения форм селезенки в координатах первой и второй главной компоненты и визуально оценить их отличия.

2. Изучить деформационные решетки селезенки, расположенные на концах осей главных компонент.

3. Получить данные относительно вклада компонент в изменение формы селезенки.

4. Провести дисперсионный анализ влияния продолжительности наблюдения на форму изучаемого органа.

Материалы и методы. Работа проведена на 36 крысах-самцах инфантильного возраста с исходной массой тела 40-50 г, находившихся в стандартных условиях вивария от 10 до 90 дней. Животные были разделены на 6 групп по 6 крыс в каждой. Полученные при проведении органометрии файлы с расширением .jpeg с изображением селезенки при помощи программы tpsUtil 1.76 были преобразованы в файлы изображений с расширением .tps. На оцифрованных изображениях каждой селезенки с помощью экранного дигитайзера tpsDig2 2.31 наносились 8 меток. Установлено, что при повторной расстановке меток на изображениях селезенки возникающая ошибка являлась незначительной. Это позволяет использовать метки в качестве точек, регистрирующих форму селезенки как морфологического объекта. Для характеристики изменчивости формы селезенки определяли размер их центроидов (квадратный корень из суммы квадратов расстояний от центра селезенки до каждой из меток). Процедуру суперимпозиции конфигураций меток выполнили методом генерализованного прокрустового анализа, основанного на использовании метода наименьших квадратов с использованием программы MorphoJ 1.06d. Определяли прокрустовы координаты, характеризующие изменчивость формы селезенки. Оценка соответствия варьирования выборочных размеров центроида нормальному закону распределения проведена на основе определения критерия Шапиро – Уилка (W). Однородность выборочных дисперсий оценивали на основе теста Левена.

Результаты дисперсионного анализа прокрустовых расстояний и показателей размера центроида получены с помощью Procrustes ANOVA, реализованного в программе MorphoJ 1.06. В качестве факторов влияния рассматривалась продолжительность наблюдения за животными. Кроме того, проводилась визуальная оценка распределения форм селезенки в пространстве первых двух канонических переменных, позволяющая судить о характере и степени структурированности анализируемого разнообразия форм. Полученные данные обрабатывались с помощью программ MorphoJ и Statistica 10. Достоверной считали статистическую ошибку менее 5% ($p < 0,05$).

Проведение исследования одобрено комиссией по биоэтике ГУ ЛНР «ЛГМУ им. Святителя Луки». При выполнении эксперимента руководствовались статьями Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [5], руководством по лабораторным животным [1] и Принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ 33044-2014).

Результаты и их обсуждение. Графическое изображение распределения форм селезенки крыс вдоль первой и второй главных компонент представлено на рисунке 1, на котором хорошо видно, что наибольшая дисперсия форм изучаемого органа присуща животным 3-й и 5-й групп, а наименьшая – крысам 2-й группы. Также можно отметить тот факт, что все точки, соответствующие формам селезенки крыс, находившихся под наблюдением 20 дней, расположены на положительном отрезке первой главной компоненты. На деформационных решетках, расположенных на отрицательном и положительном концах оси первой главной компоненты, видно, что наибольшая изменчивость формы селезенки наблюдается на ее переднем и заднем концах, а также – в средней части. Отмечаются минимальные «смещения» меток 5 и 7, расположенные в передней части органа. Деформационная решетка, расположенная на положительном конце второй главной компоненты свидетельствует о смещении меток 5 и 7 в сторону переднего конца селезенки, а меток 3, 4, 6 и 8 – в сторону заднего. Таким образом, в центральном отделе решетка выглядит растянутой, а ближе к концам селезенки – сжатой.

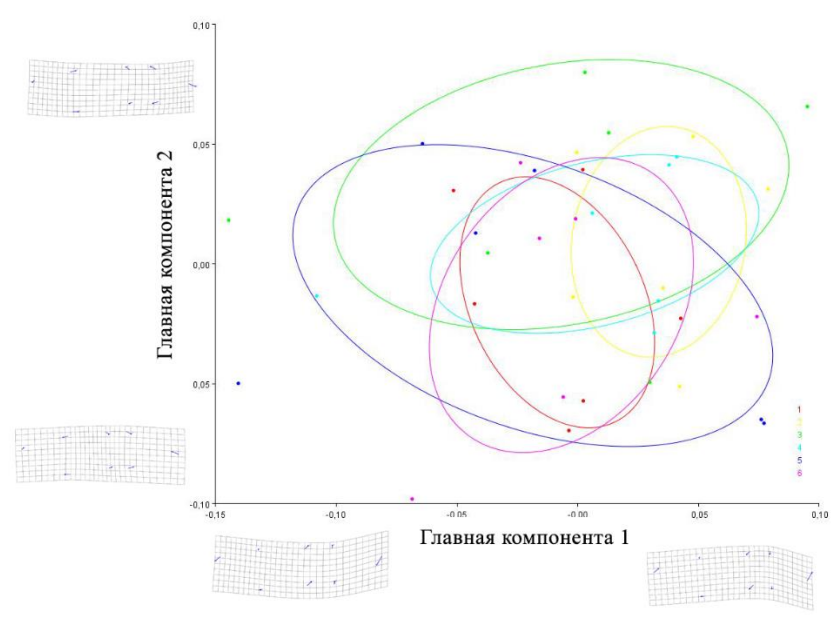


Рис. 1 – Распределение форм селезенки крыс вдоль первой и второй главных компонент. Эллипсы содержат 50% форм селезенки соответствующей группы животных.

Первые пять главных компонент объясняют 94,513% дисперсии формы селезенки крыс инфантильного возраста контрольной серии. При этом вклад в общую дисперсию первой и второй главных компонент составил соответственно 40,547 и 23,973% (рисунок 2).

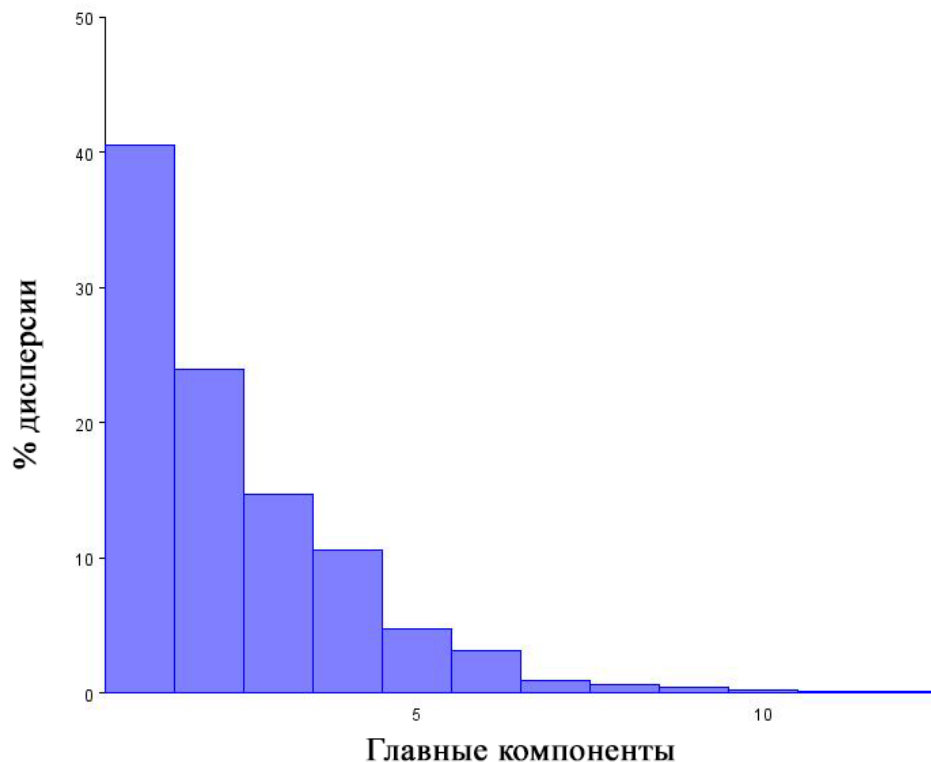


Рис. 2 – Вклад главных компонент в изменчивость формы селезенки крыс.

В результате проведенного дисперсионного анализа влияния фактора «группа животных» установлено выраженный эффект последнего на центроидный размер селезенки ($F_{5,30}=3,71$; $p=0,0099$), а также на ее форму ($F_{60,360}=1,36$; $p=0,0472$).

Выводы:

1. Все эллипсы, содержащие 50% форм селезенок крыс отдельных групп, пересекаются друг с другом. Явно выраженных отличий в форме селезенок визуально установить не удалось.
2. На деформационных решетках селезенок хорошо видны изменения формы органов в зависимости от знака осей первой и второй главных компонент.
3. Первые пять главных компонент объясняют 94,513% дисперсии формы селезенки.
4. Дисперсионный анализ влияния фактора продолжительности наблюдения показал выраженный эффект последнего на центроидный размер селезенки.

Литература

1. Каркищенко, Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачев. – М.: Профиль-2С, 2010. – 358с.
2. Adams D.C. Geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data / D.C. Adams, E. Otárola-Castillo // *Methods in ecology and evolution*. – 2013. – Vol. 4. – P. 393–399.
3. Baab K.L. The shape of human evolution: a geometric morphometrics perspective / K.L. Baab, K.P. McNulty, F.J. Rohlf // *Evolutionary anthropology*. – 2012. – Vol. 21. – P. 151–165.

4. Cranial allometry, phylogeography, and systematics of largebodied papionins (primates: Cercopithecinae) inferred from geometric morphometric analysis of landmark data / S.R. Frost, L.F. Marcus, F.L. Bookstein et al. // *The anatomical record.* - 2003. – Vol. 275. – P. 1048–1072.
5. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe (ETS No. 123) 18.03.1986 – Strasbourg, 1986. – 52 p.
6. Gilbert C.C. Phylogenetic analysis of the African papionins basicranium using 3-D geometric morphometrics: the need for improved methods to account for allometric effects / C.C. Gilbert // *American Journal of Physical Anthropology.* – 2010. – Vol. 144. – P. 60–71.
7. O’Higgins P. Applying geometric morphometrics to compare changes in size and shape arising from finite elements analyses / P. O’Higgins, N. Milne // *Hystrix, the Italian journal of mammalogy.* – 2013. – Vol. 24. – P. 126–132.
8. Rohlf FJ, Marcus L. 1993. A revolution in morphometrics / F.J. Rohlf, L. Marcus // *Trends in ecology & evolution.* – 1993. – Vol. 8. – P. 129–132.