

УДК: 611.636:57.044:51.76

І.С. Волошина ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ГЕОМЕТРИЧНОЇ МОРФОМЕТРІЇ У ДОСЛІДЖЕННІ СІМ'ЯНИХ ПУХИРЦІВ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ

Державний заклад «Луганський державний медичний університет»

Волошина І.С. Застосування методу геометричної морфометрії у дослідженні сім'яних пухирців статевозрілих щурів // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 13, № 4. – С. 8-10.

У представленій роботі наведені дані про візуалізацію мінливості форми сім'яних пухирців статевозрілих щурів в контролі та у віддалені терміни після інгаляційного впливу на організм тварин епіхлоргідрину. В ході проведеного дослідження було створено графічне зображення аналізу головних компонент усіх конфігурацій сім'яних пухирців щурів контрольної та експериментальної серій, дендрограми розподілу форм сім'яного пухирця, а також виділено 3 та 4 кластери форми сім'яних пухирців контрольної та експериментальної серій відповідно.

Ключові слова: сім'яні пухирці, геометрична морфометрія, щур.

Волошина І.С. Применение метода геометрической морфометрии в исследовании семенных пузырьков половозрелых крыс // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 13, № 4. – С. 8-10.

В представленной работе приведены данные о визуализации изменчивости формы семенных пузырьков половозрелых крыс в контроле и в отдаленные сроки после ингаляционного воздействия на организм животных эпихлоргидрина. В ходе проведенного исследования было создано графическое изображение анализа главных компонент всех конфигураций семенных пузырьков крыс контрольной и экспериментальной серий, дендрограммы распределения форм семенного пузырька, а также выделено 3 и 4 кластера формы семенных пузырьков контрольной и экспериментальной серий соответственно.

Ключевые слова: семенные пузырьки, геометрическая морфометрия, крыса.

Voloshina I.S. Application of the method of geometric morphometric study of the seminal vesicles of mature rats // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 13, № 4. – С. 8-10.

The present work presents data of visualization on variability of the shape of the seminal vesicles of mature rats in the control and After long time of inhalation exposure to epichlorohydrin. In the course of the study was to create a graphic image of a principal components analysis of all configurations of the seminal vesicles of rats of control and experimental series, to create a dendrograms of forms distribution of the seminal vesicle, and allocated 3 and 4 forms of the cluster of seminal vesicles of control and experimental series, respectively.

Key words: seminal vesicles, geometric morphometrics, rat.

Вступ. Важливими базовими характеристиками органів є їх форма і розмір. Останнім часом в дослідженнях морфологічних об'єктів активно розвивається суттєво новий підхід до вивчення різноманітності форми морфологічних об'єктів - геометрична морфометрія [8, 10, 12], що представляє собою особливий аналітичний інструмент, який дозволяє оцінювати різноманітність форми, повністю виключаючи вплив розмірного фактора [6]. Можливість кількісного порівняння об'єктів за їх формою незалежно від розмірів досягається насамперед нетривіальністю способу опису форми за допомогою точок координат замість відстаней між ними [5]. В основі даного підходу лежить концепція багатовимірного простору форм, вісями якого є змінні форми. Кожен окремих об'єкт (окрема форма) представляється як точка цього простору [7].

Під геометричною морфометрією слід розуміти новий підхід до порівняння форм, що з'єднує метод трансформаційних решіток зі специфічними кількісними методами. Він являє собою сукупність методів алгебри багатовимірного айген-аналізу координат міток, що в сукупності описують конфігурацію морфологічних об'єктів. Основними завданнями геометричної морфометрії в морфологічних дослідженнях є об'єктивізація оцінки форми органів і розробка методів, які виявляють відмінності між цими формами [1].

Зв'язок з науковими темами і планами.

Презентована робота виконана у відповідності з

планом наукових досліджень ДЗ «ЛугДМУ» та є частиною наукової теми кафедри анатомії людини «Морфогенез органів ендокринної, імунної та кісткової систем під хронічним впливом летучих компонентів епоксидних смол» (номер державної реєстрації – 0109U004615).

Мета дослідження встановити морфологічну мінливість сім'яних пухирців статевозрілих щурів у віддалені терміни після інгаляційного впливу епіхлоргідрину з використанням методів геометричної морфометрії.

Матеріал і методи. Експериментальне дослідження виконано на 60 білих щурах-самцях, які були введені в експеримент у віці 12-тижнів та початкова маса яких становила 130-150 г. Тварини були отримані з віварію ДЗ «ЛугДМУ». Утримання та маніпуляції над тваринами виконувалися відповідно до основних етичних принципів у сфері біоетики, що викладені у положенні «Общих етических принципов экспериментов на животных», затверджених I Національним конгресом з біоетики [4], у «Європейській конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», що була ратифікована у 1985 році у Страсбурзі [11], згідно стандарту ідентичному міжнародному документу OECD Test № 421 «Reproduction / Developmental Toxicity Screening Test» (ОЕСР Тест № 421 «Скринінгове дослідження репродуктивної/ембріональної токсичності») [2] та вимогам Міжнародного комітету з лабораторних тварин, Міжнародної фе-

дерації з захисту тварин та вітчизняними інструктивними документами [9], а також відповідно до рекомендацій «Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових морфологічних досліджень» [3].

Щури були розділені на контрольну та експериментальну серії (серія II). Контрольну серію (К) склали інтактні щури. Серія I була представлена щурами, які зазнавали інгаляційного впливу толуолу у концентрації 10 мг/м³ протягом 60 днів, 5 днів на тиждень, 5 годин на добу. Епіхлоргідрин – вироблено на Merck-Schuchardt (Schuchardt, 8011, Hohenbrunn bei München, Deutschland). Art. 803296. WGK-3. VbFA II. Spezifikation 0279189. R: 45-10-E23/24/25-34-43. S: 53-9-44. Такі умови створювалися за допомогою спеціальної установки, яка складається з затравочної камери та камери, у якій створювалася та підтримувалася необхідна концентрація діючої речовини; датчика епіхлоргідрину та допоміжного оснащення. Кожна серія тварин була розділена на п'ять груп (по 6 щурів в кожній) у відповідності з терміном виведення тварин з експерименту на 1, 7, 15, 30 та 60 доби після припинення впливу епіхлоргідрину.

Після закінчення дослідів тварин зважували на лабораторних вагах та виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом, дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту». Органи вилучали єдиним комплексом з навколишньою жировою тканиною і ретельно препарували та фотографували.

За допомогою утиліти tpsUtil отримували файли існуючих фотознімків сім'яних пухирців з розширенням .tps. Гомологічні мітки-лендмарки загальною кількістю 12 на поздовжню вісь органу виставляли за допомогою екранного дигітайзера tpsDig2. Кожній з точок давали пару значень x, y-координат в ортогональній системі осей. Для отримання масштабу можливого зміщення оцінок міжгрупових морфологічних розбіжностей, що зумовлені розстановкою гомологічних міток та процесом оцифрування зображень, розстановка міток проводилася двічі. Головною властивістю аналізу з використанням методу геометричної морфометрії є можливість кількісної оцінки розбіжностей у формі морфологічних об'єктів. Для проведення канонічного аналізу прокрустових координат та аналізу головних компонент використовували програму MorphoJ. Після Прокрустового накладення отримували форму, що базується на коваріаційному матриці Прокрустових координат. Отримували значення суми квадратів відхилення міток від центроїду. Після цього визначали відсоток дисперсії, що пояснює варіабельність форми органу у кожній з головних компонент. Здійснювали кластерний аналіз форми сім'яних пухирців, що було реалізовано у програмі PAST.

Результати дослідження. Після Прокрустового накладення було отримано форму, що базується на коваріаційному матриці Прокрустових координат. При цьому значення суми квадратів відхилення міток від центроїду склали 0,553. Пер-

ша головна компонента пояснює 46,12% дисперсії. Друга та третя компоненти відображають різні рівні, що разом пояснюють 41,57% дисперсії. Кожна з головних компонент після третьої пояснює менш, ніж 5% загальної дисперсії (рівень, асоційований з шумовими векторами). Близько 96,5% дисперсії акумулюється на шостій головній компоненті. У той час, як перший вектор, пояснюючи значну частку дисперсії, показує велику статистичну стабільність, наступні вісі – градієнт, який асоційований з менш стабільними компонентами (рис. 1). Перша компонента залучає скорочення гачка СП та зміщення верхівки останнього у бік переходу «тіло-гачок». Крім того, зміщення дистальної та проксимальної ділянок тіла у протилежних напрямках сприяють зменшенню кривизни поздовжньої вісі тіла СП. Друга головна компонента залучає збільшення довжини гачка СП та відхилення його верхівки вбік від поздовжньої вісі. При цьому значних змін з боку форми тіла не спостерігається за винятком скорочення проксимальної частки останнього. Третя головна компонента залучає зменшення кривизни вигину тіла СП, що залежить від векторів, направлених із середньої ділянки тіла в бік гачка. До того ж сам гачок «наближається» до тіла, про що свідчать вектори, направлені в іншому напрямку. Наступна компонента характеризується відхиленням проксимальної ділянки тіла від гачка і, навпроти – зближенням дистальної ділянки тіла з гачком. Таким чином, поздовжня вісь тіла набуває S-подібної форми. Цікавим є форма СП, яку пояснює п'ята компонента. Зміщення верхівки гачка та переходу «тіло-гачок» в одному напрямку (в бік тіла) та направлення векторів міток середини гачка – зумовлює форму органу у вигляді незамкнутого кільця, яке утворене дистальною ділянкою тіла та гачком СП. В результаті кластерного аналізу було виділено 3 кластери форм СП.

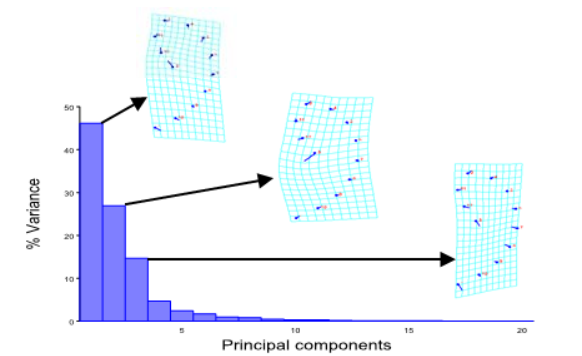


Рис. 1. Графічне зображення аналізу головних компонент усіх конфігурацій сім'яних пухирців щурів контрольної серії. Розподіл дисперсії вздовж головних компонент та деформаційні решітки для перших трьох головних компонент.

В результаті Прокрустового накладення, що базується на коваріаційному матриці Прокрустових координат, було отримано форму СП щурів, які в експерименті зазнавали впливу ЕХГ. Так, значення суми квадратів відхилення міток від центроїду склали 0,881. Перша головна компонента, маючи власне значення 0,015, пояснює 52,81%

дисперсії. Друга головна компонента, в свою чергу, виявилась на рівні 0,006, що пояснює 21,93% дисперсії. Таким чином, кумулятивне значення дисперсії зазначених вище компонент складало 74,74%. Починаючи з четвертої головної компоненти кожна з них пояснює менш, ніж 5% загальної дисперсії. На дев'ятнадцятому компоненті кумулюється близько 99,996% дисперсії.

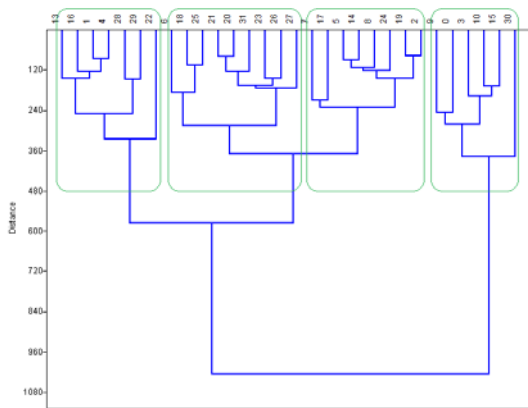


Рис. 2. Дендрограма розподілу форм сім'яного пухирця щурів, які зазнавали впливу епіхлорідрину. Виділено 4 кластери форми СП.

В результаті проведеного аналізу головних компонент встановлено, що загальна дисперсія форми СП щурів, які зазнавали впливу епіхлорідрину, виявилась на рівні 0,029. Розраховані коефіцієнти головних компонент дозволили використати їх для подальшого аналізу форми СП. Перша головна компонента залучає скорочення довжини гачка СП та наближення верхівки останнього до переходу «тіло-гачок». При цьому вектори дистальної та проксимальної частин тіла СП мають різне направлення. Таким чином орган стає більш видовженим та має відносно коротший гачок по відношенню до довжини тіла. Друга головна компонента, в свою чергу, залучає незначне видовження тіла СП. При цьому вектори зміщення верхівки та середини гачка направлені у бік дистальної частини тіла, формуючи таким чином утворення, схоже на незамкнуте коло. Основними характерними ознаками третьої головної компоненти є направлення векторів міток середини тіла у бік гачка. Верхівка ж останнього зміщується у напрямку проксимальної частини тіла. Вектор переходу «тіло-гачок» має практично протилежний напрям. Четверта головна компонента залучає більш значні зміни форми середини та проксимальної частини тіла СП у той час, як форма гачка практично не змінюється. В результаті проведеного кластерного аналізу були отримані деякі групи форм СП. Слід звернути увагу на те, що кількість кластерів у цій серії щурів по відношенню до контролю зросло до 4 (рис. 2).

Висновки: В ході проведеного дослідження ми встановили, що при інгаляційному впливі на організм статевозрілих щурів епіхлорідрину існує 4 кластери форми СП: скорочення довжини гачка СП та наближення його верхівки до переходу «тіло-гачок»; незначне видовження тіла СП зі зміщенням верхівки та середини гачка у

бік дистальної частини тіла; СП з вектором переходу «тіло-гачок» у протилежному напрямку; зміни форми середини та проксимальної частини тіла СП без зміни форми гачка.

Перспективи подальших досліджень. Наступним дослідженням буде вивчення ультрамікроскопічної будови сім'яників та передміхурової залози статевозрілих щурів після інгаляційного впливу в експерименті епіхлорідрину та толуолу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Злобін Ю.А. Концепція морфометрії у сучасній ботаніці / Ю.А. Злобін, В.Г. Скляр, А.М. Бондарева, К.С. Кирильчук // Чорноморський ботан. журн. – 2009. – Т. 5, № 1. – С. 5–22.
2. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод) // Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС). – Москва, Стандартиформ. – 2013. – 18 с.
3. Мішалов В.Д. Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових морфологічних досліджень / В.Д. Мішалов, Ю.Б. Чайковський, І.В. Твердохліб // Морфологія. – 2007. – Т. 1, № 2. – С. 108–115.
4. Общие этические принципы экспериментов на животных: мат. I Национального конгресса по биоэтике. – К.: НАНУ. – 2001. – 16 с.
5. Павлинов И.Я. Анализ изменчивости формы третьего верхнего коренного у скальных полевок рода *Alticola* (Cricetidae) методами геометрической морфометрии / И.Я. Павлинов // Зоол. журн. – 1999. – Т. 78, № 1. – С. 78–83.
6. Павлинов И.Я. Геометрическая морфометрия – новый аналитический подход к сравнению компьютерных образов / И.Я. Павлинов // Информационные и телекоммуникационные ресурсы в зоологии и ботанике. – СПб., 2001. – С. 65–90.
7. Павлинов И.Я. Геометрическая морфометрия черепа мышевидных грызунов (Mammalia, Rodentia): связь формы черепа с пищевой специализацией / И.Я. Павлинов // Журн. общ. биол. – 2000. – Т. 61, № 6. – С. 583–600.
8. Павлинов И.Я. Разнообразие формы: новые подходы / И.Я. Павлинов // Стратегия изучения биоразнообразия наземных животных. – М., 1995. – С. 44–50.
9. Севко О.Л. Етичні аспекти біомедичних досліджень з використанням експериментальних тварин / О.Л. Севко // Третій національний конгрес з білетики з міжнародною участю (8-11 жовтня 2007 р., м. Київ, Україна). – К., 2007. – С. 139–140.
10. Adams D.C. Geometric morphometrics: ten years of progress following the «revolution» / D.C. Adams, F.J. Rohlf, D.E. Slice. – 2002. – [Electronic resource]. Mode of access: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/review/review.html>
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes // Coun. of Europe, Strasbourg, 1986. – 53p.
12. Rohlf F.J. Relative warps analysis and example of its application to mosquito wings / F.J. Rohlf. – Contributions to morphometrics. – Madrid: C.S.C.I., 1993. – P. 131–160.

Надійшла 15.10.2013 р.
Рецензент: проф. С.А.Кашенко