

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

© К. Г. Кемоклидзе, 2016
УДК 577.3

К. Г. Кемоклидзе

МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА ЕСТЕСТВЕННОЙ ПЕРИОДИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. А. В. Павлов), Ярославский государственный медицинский университет

Предложен новый вариант метода естественной периодизации биологических процессов. В отличие от оригинального варианта, в котором каждый показатель соотносится со своей средней величиной за весь период наблюдения, в предлагаемой модификации показатели соотносятся с контрольными значениями, что более логично для экспериментальных работ. Оба варианта применены при оценке 2-месячной динамики 19 морфологических показателей состояния части мозгового вещества надпочечника, выжившей после лазерного повреждения. Выявлены 3 естественных периода перестройки структуры органа и дана их функциональная интерпретация. Показано, что оригинальный вариант более отчётливо выделяет важные узловые точки, а предлагаемая новая модификация точнее отражает общий характер изменений. Таким образом, в экспериментальных исследованиях оба варианта дополняют друг друга, и их совместное применение повышает эффективность метода.

Ключевые слова: естественная периодизация биологических процессов, коэффициент вариации, мозговое вещество надпочечников, лазерное повреждение

Для исследований, задач которых является комплексная оценка динамики разнородных биологических показателей, весьма полезен метод выявления естественной периодизации [4]. Оригинальный вариант этого метода основан на выражении величин каждого показателя в той или иной временной точке в процентах от средней величины в течение всего срока наблюдения, принятой за 100%. Это позволяет сравнить изменения независимо от единиц и величин измерения, вычислить коэффициенты вариации всей совокупности показателей и на их основе произвести естественную периодизацию. При этом вычисленные естественные периоды дают возможность не только осуществить комплексную оценку происходящих изменений, но и обоснованно оптимизировать последующие эксперименты, исключив из них второстепенные контрольные точки, оказавшиеся внутри выявленных естественных периодов. Получаемые данные легко представить графически, так как все переведенные в проценты показатели удобно размещаются на одном графике, на котором их кривые в большей или меньшей степени отклоняются от осевой линии с ординатой в 100%, соответствующей средней величине, а изменение вектора кривой коэффициента вариации наглядно показывает границы выявляемых естественных периодов. Такой подход удобен для

оценки нормальной возрастной динамики показателей, не имеющей контрольной группы. Между тем, в экспериментальных работах необходимым условием является сравнение опытных данных с контрольными. Для таких работ логичным представляется выражать величины показателей в эксперименте в процентах от показателей в контроле, принятых за 100, а затем уже вычислять коэффициенты вариации и определять естественные периоды, что и выполнено в настоящем исследовании. Автором проведено сравнение результатов применения обоих вариантов метода для оценки 2-месячной динамики морфометрических показателей в выжившей после лазерного повреждения части мозгового вещества надпочечника. Разносторонняя оценка состояния такой паренхимы имеет как фундаментальный, так и практический интерес в свете недостаточной изученности реакции органов и тканей на лазерное повреждение [12], выживаемости и восстановительной способности хромаффинной ткани, а также прогнозирования возможных рецидивов после лазерной деструкции патологического очага. При этом известно, что если вне зоны поражения остаётся менее $\frac{1}{3}$ исходного объёма надпочечника, то он деградирует, а если более, то выжившая часть чётко отграничивается от замещающейся рубцом

Сведения об авторе:

Кемоклидзе Константин Гербертович (e-mail: K_G_K@mail.ru), кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Ярославский государственный медицинский университет, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5

повреждённой части и принимает нормальный вид [5–7].

Для расчётов использованы морфометрические показатели мозгового вещества надпочечников, полученные от 41 крысы-самца линии Вистар массой 372 ± 40 г, в экспериментах по изучению реакции надпочечника на частичную лазерную деструкцию [5–8]. Морфометрию проводили в выжившей части мозгового вещества в том случае, если сохранилось после лазерного повреждения не менее его одной трети на основе базовых принципов стереологии [1–3] и подходов, разработанных при оценке механизмов постнатального роста хромаффинной ткани надпочечника [10]. Были определены относительные объёмы (объёмные доли) адреноцитов и норадреноцитов (вместе и отдельно), кровеносных сосудов и соединительнотканной стромы, средние площади сечения адреноцитов и норадреноцитов, площадь, округлость, удлинённость и выпуклость их ядер. Всего исследованы 19 показателей.

Для комплексной оценки реакции мозгового вещества надпочечника на лазерное повреждение были применены оригинальный метод естественной периодизации [4] и предлагаемая модификация. В оригинальном варианте каждый из показателей выражали в процентах от своей средней величины за весь срок наблюдения, принятой за 100, после чего по совокупности всех 19 показателей вычисляли коэффициенты вариации (Cv). В новой модификации величины тех же показателей выражали в процентах от их контрольных величин, принятых за 100, затем вычисляли коэффициенты вариации, обозначаемые далее Cvc. На основе анализа динамики Cv и Cvc определяли границы естественных периодов.

В течение всего срока наблюдения Cv колеблется в интервале 5–15%. При этом кривая Cv отчётливо разбивалась на 4 временных отрезка с резкой сменой вектора динамики: 1–7, 7–14, 14–28 и 28–56 сут (рисунк, б). Так как величина Cv напрямую зависит от разброса кривых каждого из показателей относительно центральной оси с ординатой 100%, график Cv для наглядности совмещён с графиком кривых всех изученных показателей, координированных относительно их средних величин (см. рисунок, а).

Наблюдается следующее.

1–7-е сутки: центрированные кривые показывают сильный разброс от средней линии как в начале, так и, особенно, в конце периода. Cv увеличивается с 10,6 до 14,2% от максимума за весь срок наблюдения.

7–14-е сутки: разброс центрированных кривых резко идёт на спад, и на 14-е сутки становятся

своеобразной «узловой точкой» (см. рисунок, а). Cv резко уменьшается, достигая 4,9% от минимума за весь срок наблюдения.

14–28-е сутки: разброс центрированных кривых начинает расти, сохраняя эту тенденцию до конца периода. Cv резко увеличивается и к 28-м суткам достигает 12,9%.

28–56-е сутки: разброс центрированных кривых уменьшается. Cv плавно снижается до 6,0%.

При применении новой модификации метода Cvc оказывается в пределах 15–26%. Кривая Cvc отчётливо делится на 3 временных отрезка: 1–7-, 7–28-е и 28–56-е сутки (см. рисунок, г). Для наглядности график Cvc также совмещён с графиком кривых всех изученных показателей, координированных относительно их контрольных величин (см. рисунок, в). При этом наблюдается следующее.

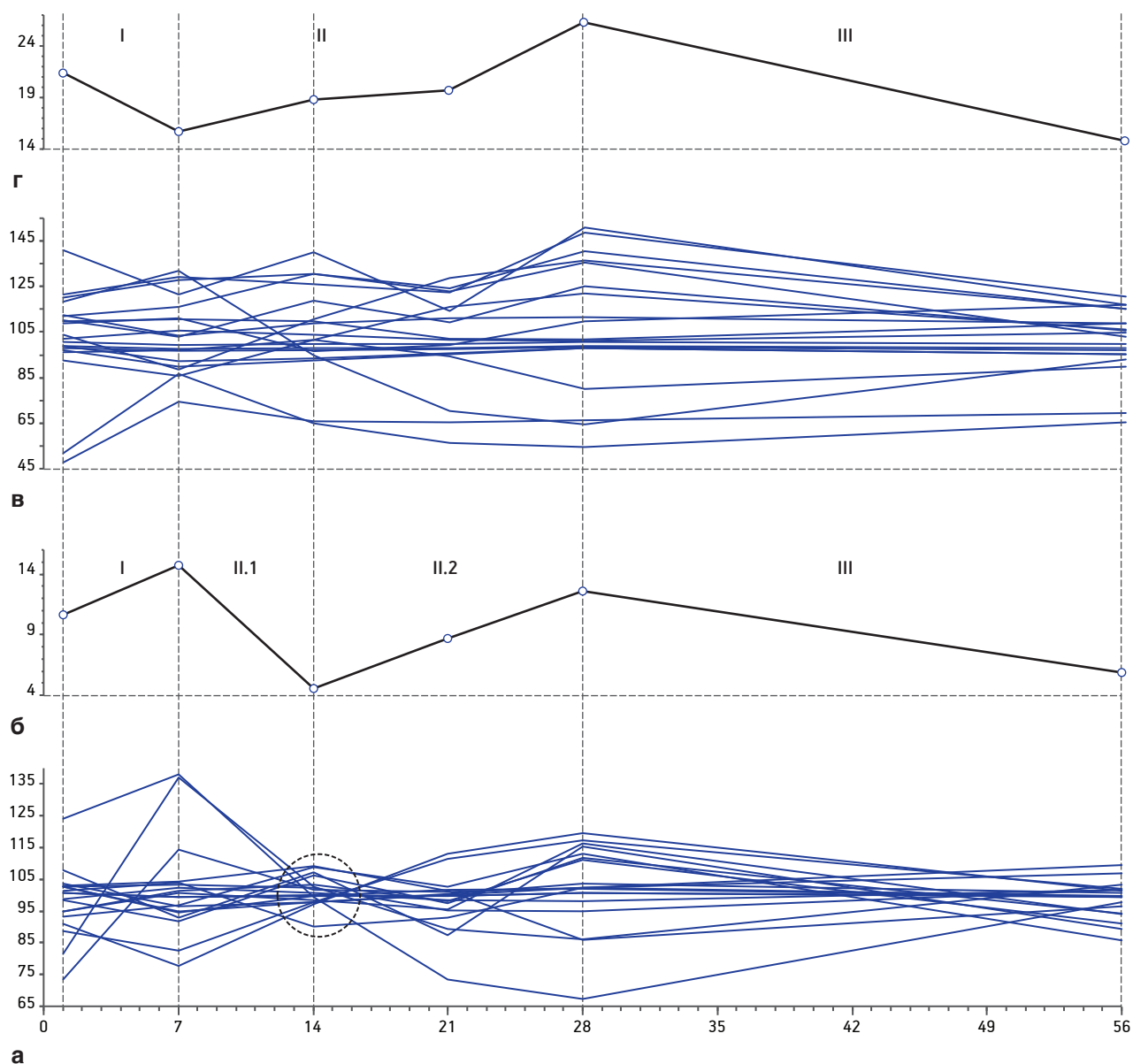
1–7-е сутки: первоначально сильный разброс центрированных кривых к концу периода снижается. Cvc уменьшается с 21,4 до 15,7%.

7–28-е сутки: разброс центрированных кривых неуклонно увеличивается. Cvc растёт и к концу периода достигает максимума в 26,3%.

28–56-е сутки: разброс большинства центрированных кривых, первоначально максимальный к концу периода, существенно снижается. Cvc падает до 14,7% от минимума за весь срок наблюдения.

Сравнение результатов, полученных с применением оригинального метода и предлагаемой модификации, показывает, что значение Cvc на 10–15% больше, чем Cv во всех временных точках, за исключением 7-х суток, где оба коэффициента практически равны. При этом Cv находится в интервале 5–15%, а Cvc — 15–26%, что имеет значение, так как по величине коэффициента вариации судят о вариабельности выборки. Градация для такой оценки имеет условный характер и по разным источникам несколько различается, но, в целом, считается, что при $Cv \leq 10\%$ вариабельность слабая, при Cv в диапазоне 10–20 (25)% — средняя, при $Cv \geq 20$ (25)% — сильная [9, 11]. Так как величина Cvc существенно выше, чем Cv, периоды, выявленные на основе Cvc, оказались более весомы и приобрели не только сравнительное, но и абсолютное значение. Также обращает на себя внимание то, что кривые Cv и Cvc имели бы идентичную конфигурацию, если бы не единственная точка на 7-е сутки, в которой оба коэффициента практически равны (15,7 и 14,7%), являясь на своих кривых максимумом и минимумом соответственно.

Объединению и интерпретации результатов, полученных с помощью обоих вариантов метода,



Кривые 2-месячной динамики 19 морфометрических показателей мозгового вещества надпочечника крысы после лазерного повреждения, координированные относительно средних величин за весь срок наблюдения (а) и относительно контрольной величины каждого из показателей (в), а также кривые коэффициентов вариации C_v (б) и C_{vc} (г), вычисленных на их основе.

I — период преобладания дегенеративных изменений; II — период усиленного восстановления; II.1 — фаза стабилизации; II.2 — фаза преобладания восстановительных процессов; III — период нормализации; вертикальные штриховые линии — границы выявленных естественных периодов; вертикальная штрихпунктирная линия — граница фаз II периода; пунктирная окружность — «узловая точка» 14-х суток. По оси абсцисс — срок наблюдения (сутки); по оси ординат — величины морфометрических показателей — C_v и C_{vc} (%)

помогают данные гистологических описаний и морфометрии мозгового вещества надпочечника после лазерного повреждения [5–8]. Согласно этим данным, вплоть до 7-х суток после лазерного воздействия в выжившей части мозгового вещества надпочечника, не попавшей непосредственно в зону фототермического поражения, протекает период преобладания дегенеративных изменений. С 7-х по 14-е сутки острота воспалительной реакции снижается, гибель хромаффиноцитов прекращается, пик восстановительных изменений приходится на 28-е сутки. При этом конец 2-й недели

после лазерного воздействия становится своего рода точкой равновесия между дегенеративными и регенеративными процессами. Таким образом, интервал с 7-х по 28-е сутки можно обозначить как период усиленного восстановления, в котором выделить фазу стабилизации (7–14-е сутки) и фазу преобладания восстановительных процессов (14–28-е сутки).

В период с 28-х по 56-е сутки практически все исследованные показатели достигают контрольных значений либо вплотную к ним приближаются. Данный интервал можно обозначить как

период нормализации. Наличие периода нормализации после периода усиленного восстановления отчётливо свидетельствует о том, что набирающие силу восстановительные процессы обладают инерцией. Это приводит к тому, что активно восстанавливающиеся показатели к концу второго периода выходят за рамки оптимальных значений, после чего, очевидно, в ответ на возникающие сдерживающие регуляторные сигналы тормозятся и идут на спад. Несомненно, период нормализации не заканчивается на 56-е сутки, так как остаточные восстановительные процессы продолжают и далее неопределённо долгое время [5].

Как уже отмечалось, метод естественной периодизации позволяет оптимизировать затраты при планировании будущих исследований на том же объекте со сходными задачами. В данном случае оптимизация возможна за счёт исключения взятия материала на 21-е сутки. Через эту временную точку кривые C_v и C_{vc} проходят, не меняя направления, так как величины всех исследованных показателей в этот срок находятся в переходном состоянии. Кроме того, анализ полученных данных показывает, что поскольку на 56-е сутки общая динамика показателей в сторону контрольных значений становится уже очевидной, можно не проводить взятие материала позже этого срока. Напротив, взятие материала на 7-е и 28-е сутки в данном случае является объективно необходимым, поскольку резкая смена векторов кривых как C_v , так и C_{vc} , в эти временные точки делает их границами отчётливо выраженных естественных периодов. Так как точка 14-е сутки только на кривой C_{vc} хорошо вписывается в общую динамику периода усиленного восстановления, а на кривой C_v является местом резкой смены вектора, проводить оптимизацию за её счёт в данном случае было бы неверно.

По совокупности изложенного можно сделать вывод, что для оценки ответа ткани или органа на повреждение, как оригинальный метод, так и его предлагаемая модификация выявления естественных периодов и оптимизации исследований, показали свою эффективность и являются взаимодополняющими: C_{vc} в большей мере отражает общий характер происходящих изменений, в то время как C_v делает более контрастными некоторые важные узловые точки. Таким образом, для экспериментальных исследований можно рекомендовать совместное использование обоих вариантов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г., Яблчанский Н.И., Губенко В.Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. М.: Медицина, 1981.

2. Вейбель Э.Р. Морфометрия легких человека. М.: Медицина, 1970.
3. Гуцол А.А., Кондратьев Б.Ю. Практическая морфометрия органов и тканей. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1988.
4. Катинас Г.С., Быков В.Л. Метод естественной периодизации процессов // Арх. анат. 1976. Т. 71, вып. 9. С. 98–103.
5. Кемоклидзе К.Г., Александров Ю.К., Дворников М.В., Тюмина Н.А. Гистологическая характеристика надпочечника крысы после воздействия хирургическим лазером на позднем этапе // Фундаментальные исследования. 2013. Т. 10, ч. 14. С. 3087–3092.
6. Кемоклидзе К.Г., Тюмина Н.А. Гистологическая характеристика надпочечника крысы после воздействия хирургическим лазером // Фундаментальные исследования. 2013. Т. 8, ч. 4. С. 886–891.
7. Кемоклидзе К.Г., Тюмина Н.А. Гистологическая характеристика надпочечника крысы после воздействия хирургическим лазером на среднесрочном этапе // Фундаментальные исследования. 2013. Т. 10, ч. 5. С. 1084–1089.
8. Кемоклидзе К.Г., Тюмина Н.А. Динамика количественных показателей мозгового вещества надпочечника крысы после частичной лазерной деструкции // Морфология. 2014. Т. 146, вып. 6. С. 63–67.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. школа, 1990.
10. Павлов А.В., Кемоклидзе К.Г. Цитологические механизмы постнатального роста хромаффинной ткани надпочечника // Онтогенез. 1998. Т. 29, № 2. С. 123–128.
11. Трухачёва Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.
12. Welch A. J., van Gemert M. J. C. Overview of optical and thermal laser-tissue interaction and nomenclature. In bk: Optical-thermal response of laser-irradiated tissue, 2nd ed. Dordrecht [etc.], Springer, 2011. Ch. 1. P. 3–11.

Поступила в редакцию 19.01.2016

K.G. Kemoklidze

THE MODIFICATION OF THE METHOD OF NATURAL PERIODIZATION OF BIOLOGICAL PROCESSES

A new variant of the method of natural periodization of biological processes is proposed. In contrast to the original variant, in which each parameter is coordinated with respect to its average value during all the period of observation, in the proposed modification the parameters are coordinated with respect to their control values, that seems to be more logical in the experimental studies. Both variants were applied for the evaluation of two-month-long dynamics of 19 morphological parameters of the part of an adrenal medulla surviving after laser damage. Three natural periods of were identified of the remodelling of the organ structure and their functional interpretation is given. It is shown that the original variant more clearly highlights the important nodal points, while the proposed modification more accurately reflects the general nature of the changes. Thus, both the variants are complementary and their combined use improves the efficiency of the method for experimental studies.

Key words: *natural periodization of biological processes, coefficient of variation, adrenal medulla, laser damage*

Department of Histology, Cytology and Embryology, Yaroslavl State Medical University