

И. И. Дигурова, А. Г. Гушин, А. А. Шипов

### Применение кластерного анализа для оценки микрогемореологических показателей у крыс в норме

В статье описан опыт применения кластерного анализа к количественной оценке микрогемореологических показателей крови у крыс. Методом пошаговой кластеризации установлены наиболее часто встречающиеся значения индексов агрегации и деформируемости эритроцитов в норме. Результаты могут быть применены для анализа гемореологического статуса при различных воздействиях на организм.

**Ключевые слова:** микрогемореологические показатели крови, крысы, кластерный анализ, пошаговая кластеризация, агрегация эритроцитов, деформируемость эритроцитов.

I. I. Digurova, A. G. Gushchin, A. A. Shipov

### Use of the Cluster Analysis to Estimate Microhemorheological Indicators of Rats in Norm

In the article the experience of use of the cluster analysis to the quantitative estimation of microrheological blood indicators of rats is described. The method of step-by-step clustering determined the most frequent meanings of indexes of aggregation and deformability of erythrocytes in norm. The results can be applied to the analysis of the hemorheological status at various influences on the organism.

**Keywords:** microrheological blood indicators, rats, a cluster analysis, step-by-step clustering, aggregation of erythrocytes, deformability of erythrocytes.

Для объективной оценки результатов экспериментальных исследований необходима не только их обычная статистическая обработка, но и применение специальных математических методов. Одним из подходов, позволяющих классифицировать элементы совокупности, является кластерный анализ [6], широко применяющийся в современных биологических исследованиях [5, 7, 8]. Для быстрой кластеризации может быть использован метод K-Means Cluster Analysis, осуществление которого требует задания числа кластеров. Также экспериментальные данные могут быть оценены с помощью иерархического дивизимного метода (Divisive Analysis), позволяющего получить последовательность расщепляющих групп. Решение о количестве кластеров в этом случае принимается исследователем.

Кластерному анализу подверглись значения индексов агрегации и деформируемости эритроцитов, полученные у крыс (n=150), доставленных из одного питомника и содержавшихся в стандартных условиях вивария. С ними работали с соблюдением биоэтических норм и в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследова-

ний с использованием лабораторных животных» [4]. Гемореологические показатели исследовали с помощью микрометодов [1]. Кровь для исследований брали из хвостовой вены и стабилизировали микродозами гепарина. Все измерения были проведены в течение 2 часов после забора крови. Деформируемость дважды отмытых эритроцитов оценивали по скорости фильтрации их суспензии в физиологическом растворе с гематокритным показателем, равным 0,02, через фильтры с диаметром пор 2–4,5 мкм. Индекс деформируемости эритроцитов (ИДЭ) (отн. ед.) рассчитывали по отношению времени фильтрации физиологического раствора ко времени фильтрации суспензии. Коэффициент вариации при десятикратном исследовании одной пробы составил 5,4 %. Индекс агрегации эритроцитов (ИАЭ) (отн. ед.) определяли методом оптической микроскопии в камере Горяева с визуальным анализом и рассчитывали по отношению числа агрегатов к числу неагрегированных эритроцитов. Полученные результаты оценены с помощью кластерного анализа.

При быстрой кластеризации (K-Means Cluster Analysis) в качестве априорной информации о

количестве кластеров использовались полученные ранее результаты [2, 3]. Они свидетельствовали о том, что после экспериментального стресса индексы агрегации и деформируемости эритроцитов изменялись в зависимости от исходного уровня: повышались при низких контрольных цифрах и снижались при высоких. Эти закономерности позволили предположить, что по значениям микрогемореологических показателей крысы от природы делятся на 2 класса.

1. При быстрой кластеризации значений индекса агрегации эритроцитов выделены 2 кластера (64 % и 36 % животных) с центрами 0,24 и 0,43 отн. ед. соответственно. Таким образом,

распределение животных с низкими и высокими значениями примерно таково: 2/3 и 1/3. При исследовании значений индекса деформируемости эритроцитов данные также разделились на два кластера с центрами 0,28 отн. ед. (53 % крыс) и 0,55 отн. ед. (47 % крыс). Следовательно, количество животных с низкими и высокими значениями этого показателя было примерно одинаково. Анализ значений гематокритного показателя выявил два кластера с центрами 34,40 % (34 % крыс) и 42,51 % (66 % крыс). Таким образом, распределение животных с низкими и высокими значениями было примерно таково: ИАЭ – 2/3 и 1/3, ИДЭ – примерно одинаково, Нт – 1/3 и 2/3.

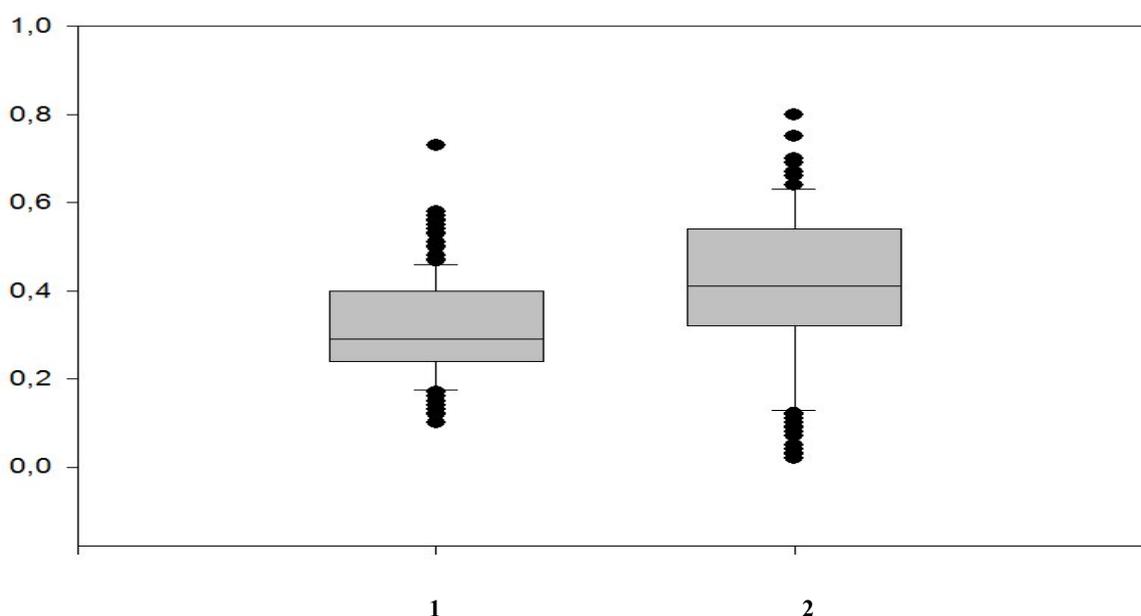


Рис. 1. Диаграмма Box-and-Whisker-Plot: 1 – индекс агрегации эритроцитов; 2 – индекс деформируемости эритроцитов. По оси ординат – относительные единицы

Результаты пошагового анализа (Divisive Analysis) свидетельствуют о том, что у большинства животных до стрессового воздействия индексы агрегации эритроцитов относились к классу со средним значением около 0,30 отн. ед. При разделении на 2 кластера большинство животных относились к группе со средним значением 0,31 отн. ед. При делении на 3, 4, 5 и 6 кластеров максимальное количество крыс относилось к классам со средними значениями соответственно 0,33 (87 % животных), 0,32 (81 %), 0,32 (80 %), 0,32 (80 %). В дальнейшем стабильной оставалась цифра 0,30 отн. ед. (76 % крыс) при количестве кластеров от 7 до 10. Результаты пошагового кластерного анализа индекса деформируемости эритроцитов показали, что при делении на 2,

3 и 4 кластера большинство животных относились к группам со средними значениями 0,40 отн. ед. (99 % крыс), 0,39 отн. ед. (96 %) и 0,46 отн. ед. (78 %). Последующее деление на 5–10 кластеров позволило выделить наиболее многочисленную группу (68 % животных) со средним значением 0,43 отн. ед.

Для визуального представления удобна диаграмма Box-and-Whisker-Plot, позволяющая компактно изобразить распределение вероятности. Результаты представлены на рисунке 1. Из рисунка видно, что для индекса агрегации эритроцитов наиболее типичные значения лежат в пределах 0,23–0,40 отн. ед. (медиана – 0,31 отн. ед.), а для индекса деформируемости – в пределах 0,32–0,54 отн. ед. (медиана – 0,43 отн. ед.).

Таким образом, с помощью пошагового кластерного анализа были выявлены наиболее часто встречающиеся значения гематокритного показателя, индексов агрегации и деформируемости эритроцитов в норме.

Полученные результаты помогут оценить изменения микрогемореологических показателей, вызванные воздействиями различного генеза на организм.

### Библиографический список

1. Дигурова, И. И. Исследования макрореологических показателей крови при разных стрессах у крыс с помощью микрометодов / И. И. Дигурова, А. Г. Гуштин // Вестник КГУ. – 2006. – № 6. – С. 6–8
2. Дигурова, И. И. Оценка адаптационных возможностей с помощью макро- и микрореологических показателей крови при экспериментальном стрессе у крыс / И. И. Дигурова // Вестн. КрасГАУ. – 2009. – Вып. 6. – С. 102–105.
3. Дигурова, И. И. Оценка микроциркуляторных изменений при воздействии некоторых экстремальных факторов / И. И. Дигурова, А. Д. Ноздрачев, В. В. Гагарин, А. Г. Гуштин, Ю. В. Карева // Вестн. СПбГУ. – Серия 3. – 2007. – С. 65–73.
4. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных // Хроника ВОЗ. – 1985. – № 3. – С. 3–9.
5. Bazelot M., Dinocourt C., Cohen I., Miles R. Unitary inhibitory field potentials in the CA3 region of rat hippocampus J. Physiol. 2010 Jun 15; 588(pt 12):2077-90 Epub 2010 Apr 19
6. Boslaugh S. Statistics in a nutshell/S. Boslaugh, P.A.Watters.- Sebastopol, 2008. - P. 298-314
7. Pearson K.A. Identifying genes in monoamine nuclei that may determine stress vulnerability and depressive behavior in Wistar – Kyoto rats/ K.A.Pearson, A.Stephen, S.G.Beck, R.J.Valentino // Neuropsychopharmacology.-2006Nov; 31(11):2449-61. Epub 2006 May 17.
8. Wozny C., Williams SR. Specificity of Synaptic Connectivity between layer 1 Inhibitory Interneurons and Layer 2/3 pyramidal Neurons in the rat Neocortex// Ceribcortex, 2011. Jan. 10 [Epubahead of print]