

**А. В. Смирнов<sup>1,2</sup>, А. А. Замлелов<sup>1</sup>, М. В. Шмидт<sup>1</sup>, Д. Ю. Гуров<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, кафедра патологической анатомии;

<sup>2</sup> Волгоградский медицинский научный центр, Россия

## **АЛГОРИТМ КОМПЬЮТЕРНОЙ МОРФОМЕТРИИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

УДК 616-091.8

В исследовании представлен разработанный алгоритм компьютерной морфометрии с использованием программного обеспечения Image-Pro 4.5 (Media Cybernetics, Inc, США). Продемонстрировано использование программы Image-Pro 4.5 в морфологической диагностике патологических изменений нейронов гиппокампа крыс на примере длительной принудительной хронической алкоголизации. Полученные данные морфометрии служат объективной оценкой абсолютных показателей нейронов гиппокампа крыс.

**Ключевые слова:** компьютерная морфометрия, крыса, гиппокамп, алкогольная интоксикация.

**A. V. Smirnov, A. A. Zamlelov, M. V. Schmidt, D. Yu. Gurov**

## **ALGORITHM OF COMPUTER MORPHOMETRY IN THE DIAGNOSIS OF PATHOLOGICAL CHANGES IN RAT HIPPOCAMPAL NEURONS EXPERIMENTAL MODELING OF CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION**

The study presents the developed algorithm of computer morphometry using the Image-Pro 4.5 software (Media Cybernetics, Inc., USA). The use of the Image-Pro 4.5 program in the morphological diagnosis of pathological changes in rat hippocampal neurons is demonstrated on the example of long-term forced chronic alcoholism. The obtained morphometric data serve as an objective assessment of absolute parameters of rat hippocampal neurons.

**Key words:** computer morphometry, rat, hippocampus, alcohol intoxication.

Влияние воздействия алкоголя на нейроны головного мозга остается актуальным вследствие распространенности различных форм алкогольной зависимости в различных странах и росту числа случаев хронической алкогольной зависимости среди лиц молодого возраста [3]. Нарушения когнитивных функций при хронической алкоголизации занимает существенную позицию среди прочих алкоголь-индуцированных поражений структур головного мозга, в т.ч. гиппокампа [4]. К ряду базовых методов морфологического исследования головного мозга относится световая микроскопия. Весомую роль в диагностике имеют морфометрические методы с использованием компьютерных программ, характеризующиеся измерительными функциями, в том числе Image-Pro 4.5 (Media Cybernetics, Inc, США) [1, 4].

### **ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

С помощью применения программного обеспечения Image-Pro 4.5 (Media Cybernetics, Inc, США) произвести количественные измерения нейронов гиппокампа крыс с целью объек-

тивизации данных качественного анализа, полученных при изучении гистологических срезов головного мозга крыс.

### **МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ**

Объектом изучения были гистологические срезы головного мозга крыс, полученные в результате экспериментального моделирования хронической алкогольной интоксикации, а также при последующей фармакологической коррекции лекарственными средствами.

Для алгоритма морфологической диагностики использовались стандартные гистологические среды головного мозга крыс, окрашенные толуидиновым синим по методу Ниссля. Цифровая фотосъемка микропрепаратов проводилась с помощью камеры «AxioCam 105 color», микроскопа «Axio Lab. A1». Для обработки полученных микрофотографий использовалось программное обеспечение Image-Pro 4.5 (Media Cybernetics, Inc, США). Полученные количественные данные экспортировались в приложение Excel (табличный процессор пакет приложений Microsoft Office).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным световой микроскопии, в гиппокампе алкоголизованных крыс наблюдается активация компенсаторно-приспособительных и нейродегенеративных процессов, в свою очередь действие лекарственных средств оказывает нейропротективный эффект в разной степени выраженности [1, 2]. Однако с целью объективизации данных морфологического исследованиями было использовано программное обеспечение Image-Pro 4.5 (Media Cybernetics, Inc, США), по итогу нами были получены такие показатели, как площадь перикарионов нейронов, площадь ядер нейронов.

### Алгоритм количественной оценки патологических изменений нейронов гиппокампа

крыс на примере длительной принудительной хронической алкоголизации. При открытии исследуемого изображения в программе Image-Pro 4.5, рекомендуется адаптировать размер изображения с помощью значка «Лупа», или нажав правой клавишей мыши на изображение и использовать функцию «Zoom In» или «Zoom Out». Далее выбрать заголовок «Measure», затем – «Measurements...» (рис. 1) и установить функцию экспорта данных в excel (Output data to: DDE to Excel). Определить местоположение программы EXCEL в операционной системе, т. е. выбрать «DDE Options», далее – «Browse» и найти расположение файла запуска программы Office Excel – EXCEL.EXE (excel.exe), нажать «OK» (рис. 2).

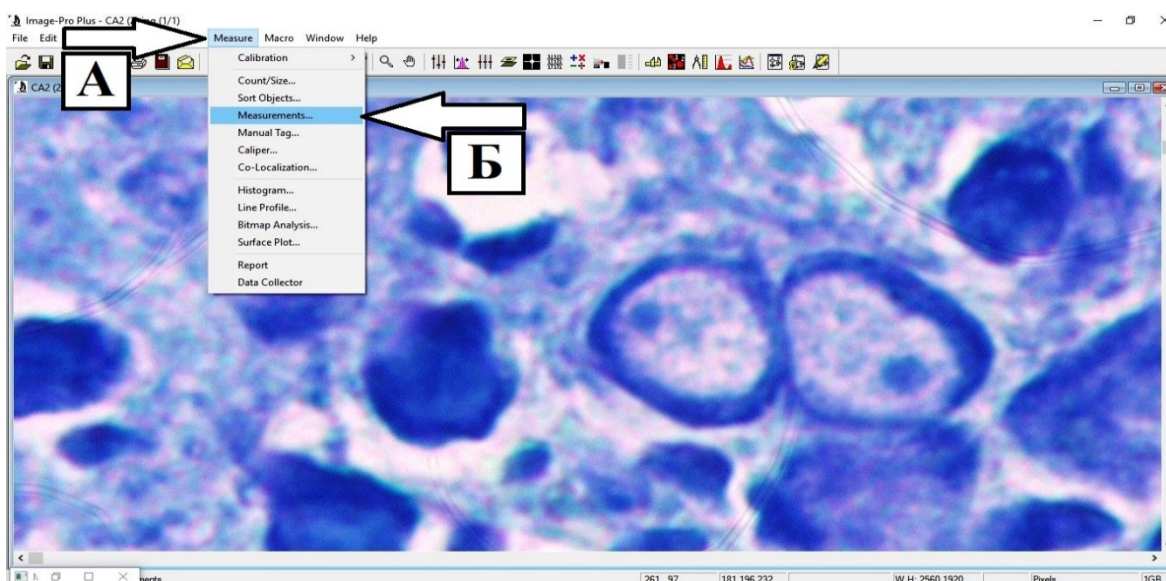


Рис. 1. Выбор заголовков «Measure» и «Measurements...» в программе Image-Pro 4.5. (последовательность А, Б)

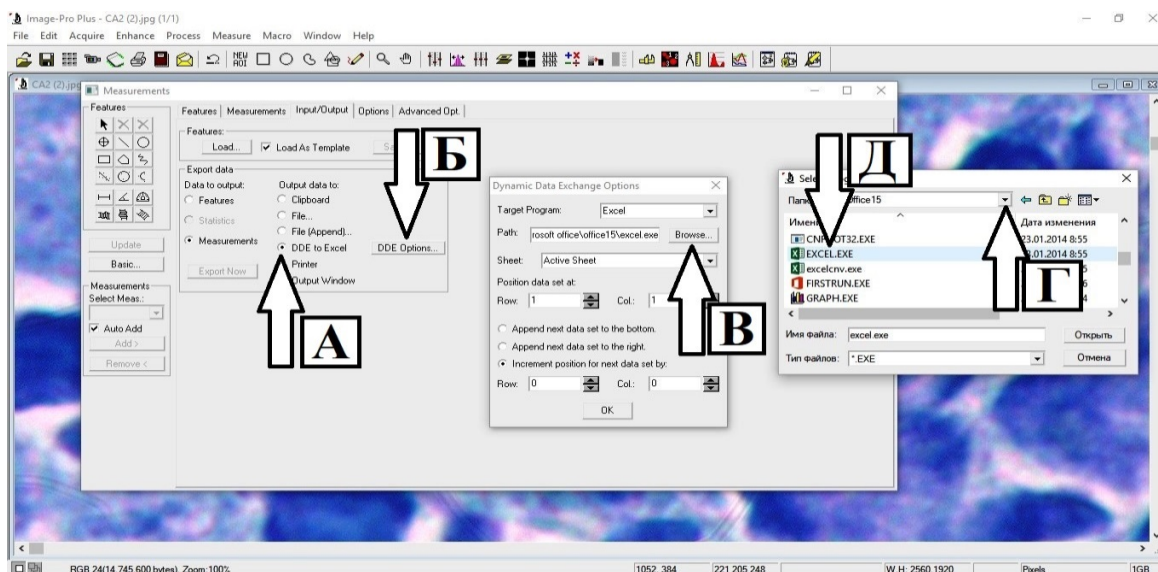


Рис. 2. Установка функции экспорта данных из Image-Pro 4.5 в Excel (последовательность А, Б), определение расположения программы Excel в компьютере (последовательность В, Г, Д)

Рекомендуется проверить работу функции экспорта данных в программу Excel. В окне «Measurements» выбрать функцию «Многоугольник», появится дополнительное небольшое окно «Trace – Click on [?] for help» (рис. 3).

Морфометрическое измерение нейрона производится через обведение курсором перикариона нейрона «PG1», также через обведение ядра перикариона «PG2» и т. д. «PG2,3,4,5 ...» (рис. 4). Рекомендуется производить обведение структур строго в одном порядке, к примеру, первое обведение – перикарион, второе обве-

дение – ядро перикариона. Таким образом, нечетное выделение всегда – перикарион, а четное всегда – ядро.

Хаотичный порядок обведений приведет к усложненной или ошибочной обработке данных. В окне «Measurements», выбрав вкладку «Features», можно проверить полученные данные в колонке «Area» (рис. 5). В окне «Measurements» выбрать вкладку «Input/Output» и произвести экспорт полученных данных измерений в приложение excel - нажать «Export Now» (рис. 6).

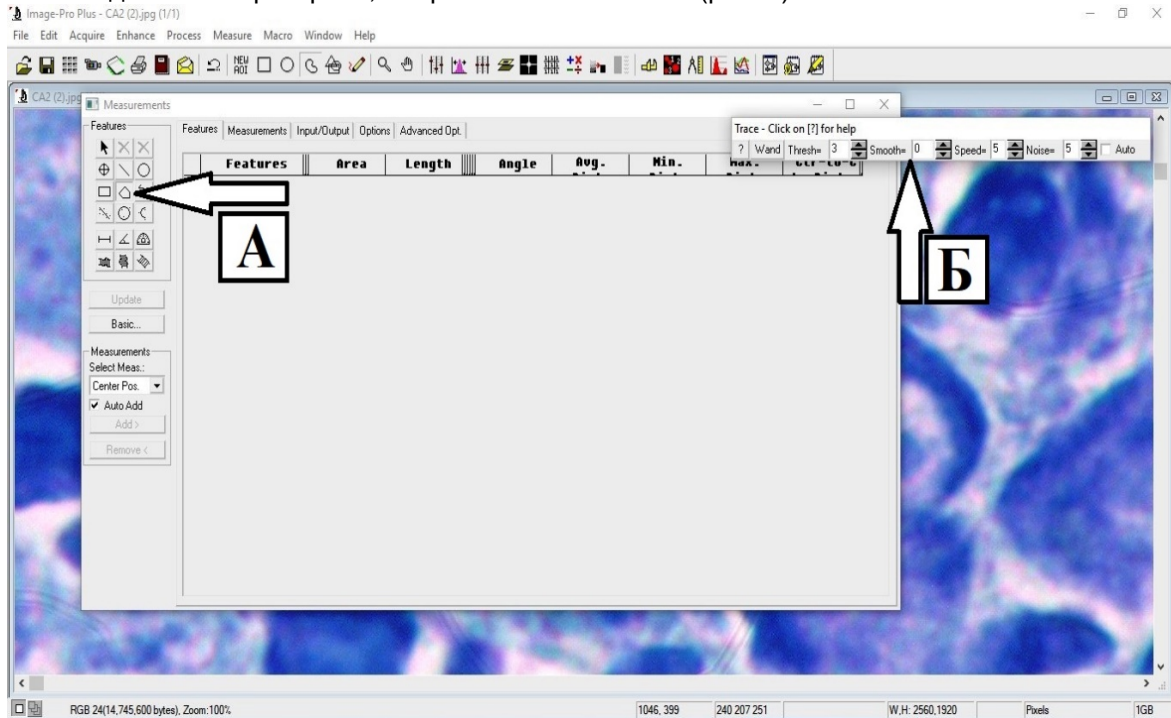


Рис. 3. Выбор функции «Многоугольник» (последовательность А, Б)

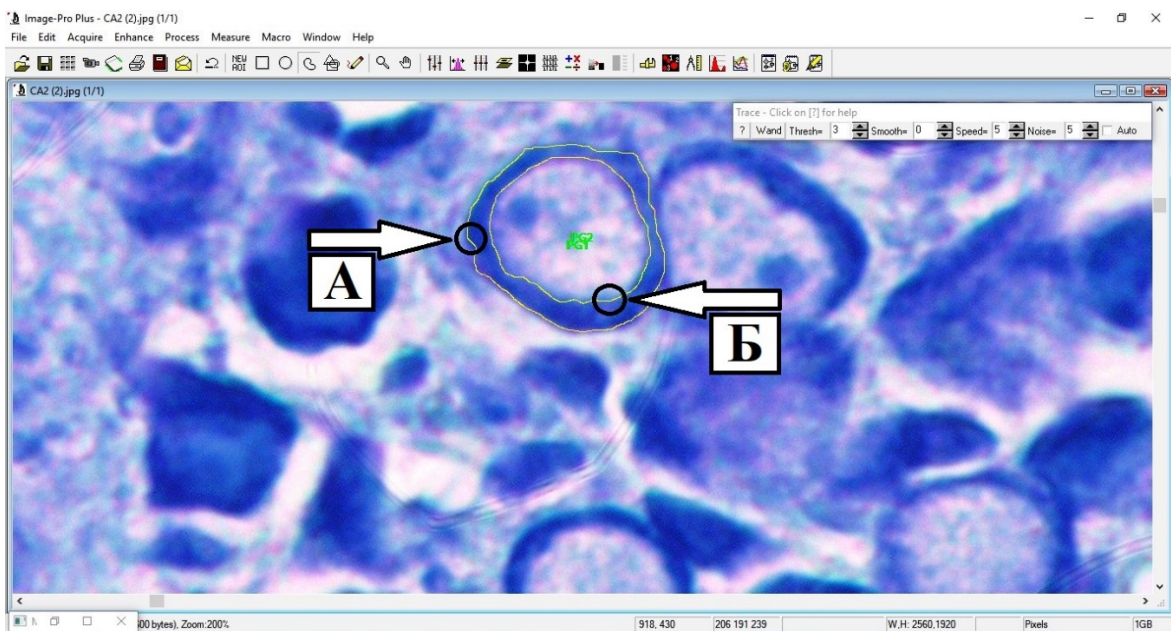


Рис. 4. Пример обведение перикариона нейрона и ядра нейрона (последовательность А, Б)

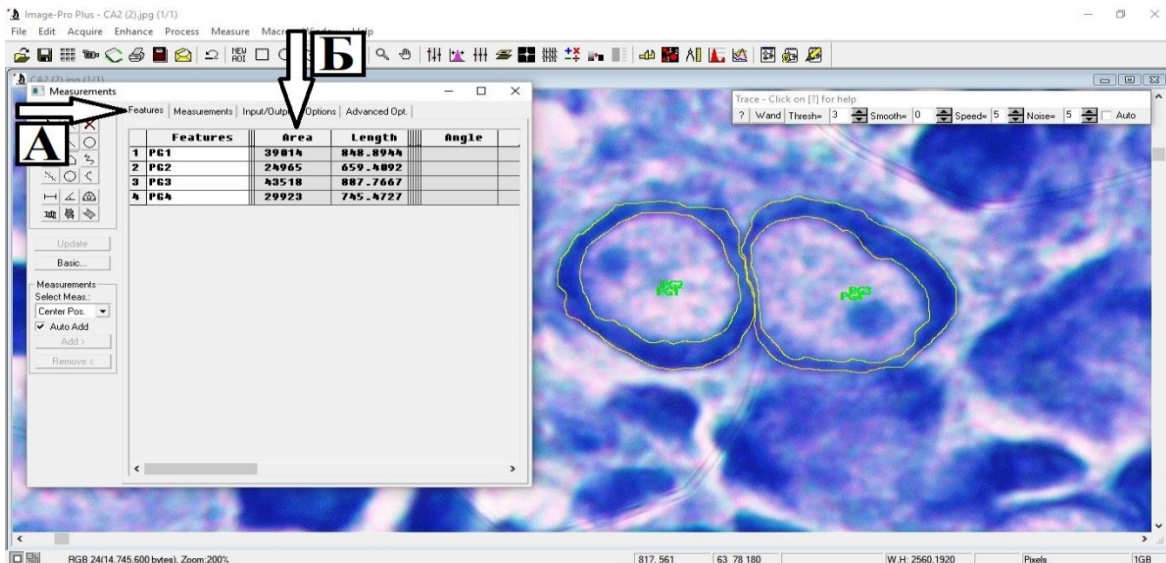


Рис. 5. Проверка полученных данных обведения нейронов в Image-Pro 4.5 (последовательность А, Б)

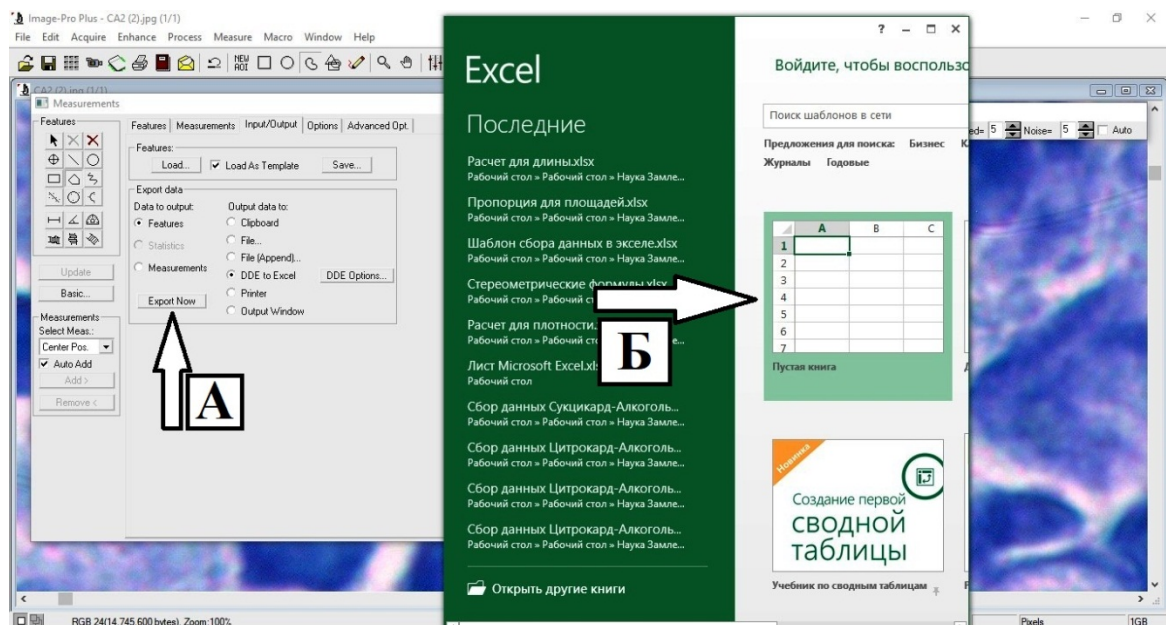


Рис. 6. Экспорт полученных данных измерений в программу Excel (последовательность А, Б)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью представленного алгоритма получены абсолютные морфометрические параметры нейронов, такие как: площадь перикариона нейрона и площадь ядра нейрона на фронтальных срезах можно использовать для комплексной морфологической оценки нейронов гиппокампа в рамках диагностики алкогольно-индуцированных нарушений. Алгоритм апробирован и представляет собой последовательность действий исследователя, направлен на объективизацию морфологических результатов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Морфологические преобразования в зонах CA2 и CA4 гиппокампа крыс при моделировании хро-

- нической алкогольной интоксикации и фармакологической коррекции соединениями сукцикард и цитрокард. – Текст : непосредственный / А. В. Смирнов [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2019. – № 3. – С. 8 – 14.
2. Метод компьютерной морфометрии для дифференциальной диагностики некротизирующего саркоидного гранулематоза и туберкулеза. – Текст : непосредственный / К. А. Сычевская [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – № 1 (21). – С. 59 – 64.
3. Alcohol use disorder relapse factors: A systematic review. – Direct text / Wilco Slidrecht [et al.] // Psychiatry Res. – 2019. – Vol. 278. – P. 97 – 115.
4. Effect of alcohol on diffuse axonal injury in rat brainstem: diffusion tensor imaging and aquaporin-4 expression study. – Direct text / L. Kong [et al.] // Biomed Res Int. 2013; 2013: 798261.