

Ідентифікація важливості морфометричних показників гемокapілярів за допомогою randomForest і Boruta при експериментальному цукровому діабеті

Котик Т.Л.* , Бедей В.І., Токарук Н.С., Грищук М.І., Попадинець О.Г.

Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

*E-mail: tkotytk@ifnmu.edu.ua

Ключові слова:

- розвідувальний аналіз
- морфометрія
- підщелепна залоза
- мікроангіопатія

Анотація

Цукровий діабет є однією з найпоширеніших нозологій сучасної медицини. Згідно з даними літератури кількість хворих на цю недугу невпинно зростає. Дана ендокринна патологія становить економічну та соціальну проблему через можливу інвалідизацію працездатного населення. Структурні зміни судинного русла при цукровому діабеті визначають особливості розвитку поліорганичних ускладнень.

Для проведення оцінки стану структурних особливостей діабетичної мікроангіопатії використано розвідувальний аналіз та застосовано індуктивний підхід для ідентифікації найбільш суттєвих морфометричних параметрів, що характеризують судинну патологію на експонентних етапах гіперглікемії.

Проведений морфометричний та розвідувальний аналізи дозволяють стверджувати, що вагомість морфометричних параметрів, оцінка структурних морфологічних змін сприяють об'єктивізації результатів, узагальненню гіпотези та дозволяють уникнути використання надмірної кількості морфометричних показників.

Вступ

У патогенезі розвитку ускладнень цукрового діабету важливе місце займає діабетична мікроангіопатія [2, 3], яка, разом з тривалою гіперглікемією, призводить до порушення функціонування різноманітних органів.

Тривала гіперглікемія запускає різноманітні механізми ушкодження судин, які будуть супроводжуватися зміною їхніх морфометричних показників, які будуть мати різний ступінь важливості у різні терміни. Однак, у експериментальних дослідженнях найчастіше описуються морфологічні та морфометричні зміни без ідентифікації суттєвості останніх.

Встановлення пріоритетності тих чи інших показників є одним із завдань розвідувального аналізу, який дозволяє здійснити індуктивний підхід та отримати загальну гіпотезу щодо отриманих даних чи ідентифікувати їхні феномени [5]. У випадку діабетичної мікроангіопатії, ідентифікація найбільш суттєвих змін морфометричних показників на етапах прогресування гіперглікемії дозволить виявити ті параметри, які будуть найбільш визначальними у порушенні трофічної функції гемокapілярів.

Тому, метою дослідження є ідентифікація найбільш важливих морфометричних параметрів гемокapілярів при експериментальній гіперглікемії.

Матеріал і методи

Для дослідження використано електронограми без'ядерних фрагментів гемокапілярів піднижньощелепної залози щура на 14, 42 і 70-ту доби експериментального цукрового діабету [6].

Морфометричний аналіз проведений за допомогою ImageJ v. 1.52k (<https://imagej.nih.gov/>) з використанням адаптованого методу [7]. Набір морфометричних показників складався з: діаметра просвіту (D), коефіцієнта форми люменальної поверхні ендотеліоцита (КФ ЛП), товщини транспортної зони ендотеліоцита (ТТЗ) і її коефіцієнта варіації ($Cv_{ТЗ}$), товщини базальної мембрани (ТБМ) і її коефіцієнта варіації ($Cv_{БМ}$).

Статистичне опрацювання отриманих морфометричних даних виконувалось в R v. 4.0 [10] з використанням пакетів randomForestSRC [4], Boruta [8].

Результати і обговорення

На рис. 1а відображено важливість морфометричних показників у результаті виконання алгоритму randomForest (пакет randomForestSRC). Найбільш важливими є ТБМ та її коефіцієнт варіації; D і ТТЗ характеризуються майже однаковими значеннями; найменш суттєвими є показники КФ ЛП і $Cv_{ТЗ}$.

У результаті виконання алгоритму Boruta підтверджено важливість трьох показників – ТБМ, $Cv_{БМ}$ і D. Гіпотетично важливими є КФ ЛП і ТТЗ. Однак, варіабельність транспортної зони ендотеліоцита ідентифікована як неважливий параметр (рис. 1б).

У цілому, результати обох аналізів є досить схожими. Однак, у першому випадку ТТЗ має більшу вагомість, а при виконанні алгоритму Boruta – середньовагомим. Показник $Cv_{ТЗ}$ ідентифікований як найменш важливий за результатами randomForest, та не важливим – за результатами Boruta.

Гістологічним маркером діабетичної мікроангіопатії є потовщення базальної мембрани [1]. За нашими даними, значення ТБМ поступово зростають з 14-ї до 70-ї доби дослідження та відрізняються між собою ($p < 0,05$). Однак, потовщення базальної мембрани відбувається нерівномірно, що підтверджується зростанням на 14-ту добу $Cv_{БМ}$ на 32 % у порівнянні з контролем. До 70-ї доби варіабельність зменшується на 30 % проти значень 14-ї доби. При цьому, як і у випадку базальної мембрани, значення $Cv_{БМ}$ у різні терміни попарно статистично значимо відрізняються між собою.

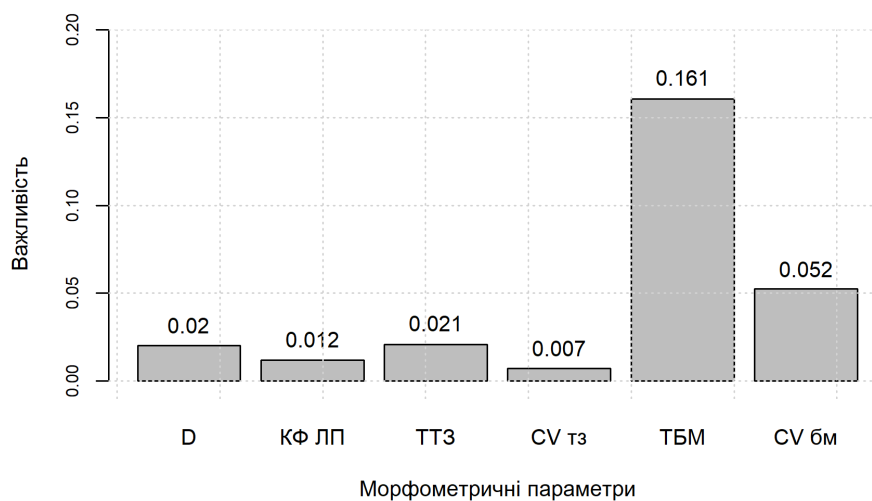
Діаметр просвіту, який є третім за значимістю показником, є найменш важливим у порівнянні з ТБМ і її варіабельністю. При попарних порівняннях значення діаметру не відрізняються між собою ($p > 0,05$). Це, ймовірно, пов'язано з особливістю морфології гемокапілярів, а зміни величини їхнього просвіту, скоріш за все, обумовлені розвитком периваскулярного набряку [9].

Зі збільшенням тривалості впливу гіперглікемії, в ендотеліоцитах зростають явища мікроклазмату, ідентифікуються мікрівідростки, кавеолі, локальні стоншення транспортної зони ендотеліоцитів. Морфометрично, це підтверджується стрімким зменшенням КФ ЛП на 42-гу добу. Однак, на 70-у добу дослідження відбувається менш виражене його зменшення, у порівнянні з 42-ю добою ($p > 0,05$), але значиме, у порівнянні з 14-ю ($p < 0,05$). Саме такі тенденції, на нашу думку, обумовлюють ідентифікацію КФ ЛП як показника середньої значимості (рис. 1).

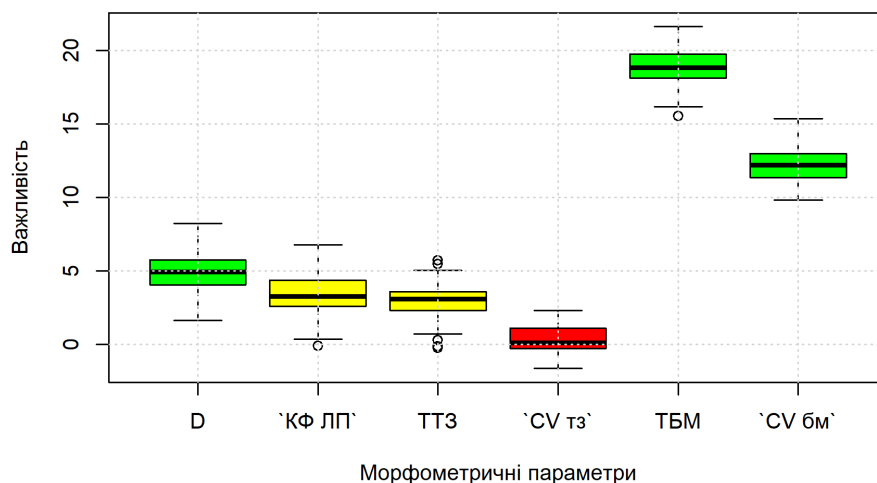
Незважаючи на морфологічні зміни ендотеліоцитів, морфометрично значиме зменшення ТТЗ спостерігається тільки на 70-у добу, у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). При цьому, значення ТТЗ упродовж експерименту між собою не відрізняються, а варіабельність товщини зменшується незначно. Однак, за результатами як попарних порівнянь, так і алгоритмів randomForest і Boruta, однозначно стверджувати про важливість ТТЗ важко, і потребує окремого аналізу його важливості у різні терміни експерименту.

Висновки

Використання методів розвідувального аналізу даних є досить вагомим інструментом, який дозволяє більш обґрунтовано здійснювати вибір морфометричних показників. Алгоритми типу randomForest і Boruta надають можливість оцінки вагомості морфометричних параметрів, що, у поєднанні з аналізом морфологічних змін, сприяють об'єктивізації результатів, узагальненню гіпотези та попереджають



(а) алгоритм randomForest



(б) алгоритм Boruta

Fig. 1.: Важливість морфометричних показників.

необґрунтоване збільшення набору морфометричних показників.

Література

- [1] Barnett AH. Origin of the microangiopathic changes in diabetes. Eye [Internet]. 1993 Jan; (2): 218-22. DOI: <https://doi.org/10.1038/eye.1993.52> [PMid:7607338]
- [2] De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. BrJPharmacol [Internet]. 2000 Jul; 130 (5): 963-74. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjpr.0703393> [PMid:10882379 PMCID:PMC1572156]

- [3] Hadi HA, Suwaidi J Al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Vasc Health Risk Manag* [Internet]. 2007 Jan; 3 (6): 853-76.
- [4] Ishwaran H, Kogalur UB, Blackstone EH, Lauer MS. Random survival forests. 2008 Nov 11; Available from: <http://arxiv.org/abs/0811.1645>
- [5] Jebb AT, Parrigon S, Woo SE. Exploratory data analysis as a foundation of inductive research. *Hum Resour Manag Rev* [Internet]. 2017 Jun; 27 (2): 265-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hrmr.2016.08.003>
- [6] Kotyk T. Morphology of the intralobular duct of the submandibular gland in rats in case of experimental diabetes mellitus. *Microsc Res Tech* [Internet]. 2016 Dec 20 ; 79 (12): 1222-9. DOI: <https://doi.org/10.1002/jemt.22781> [PMid:27647826]
- [7] Kotyk T, Dey N, Ashour AS, Balas-Timar D, Chakraborty S, Ashour AS, et al. Measurement of glomerulus diameter and Bowman's space width of renal albino rats. *Comput Methods Programs Biomed* [Internet]. 2016 Apr; 126: 143-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2015.10.023> [PMid:26796351]
- [8] Kurska M, Rudnicki W. Feature Selection with the Boruta Package. *J Stat Softw*. 2010; 36 (11): 1-13. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v036.i11>
- [9] Pannicke T, Iandiev I, Wurm A, Uckermann O, vom Hagen F, Reichenbach A, et al. Diabetes Alters Osmotic Swelling Characteristics and Membrane Conductance of Glial Cells in Rat Retina. *Diabetes* [Internet]. 2006 Mar 1; 55 (3): 633-9. DOI: <https://doi.org/10.2337/diabetes.55.03.06.db05-1349> [PMid:16505225]
- [10] R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vienna, Austria; 2020. Available from: <https://www.r-project.org/>