

**Изменение морфометрических показателей ядер кардиомиоцитов
в постгипотермическом периоде**

Помазенко С.А.

Биология

*8 класс, МБОУ «Гимназия №5 имени Героя Советского Союза
Константина Павлюкова» г. Барнаула, Алтайского края*

Научный руководитель:

*Лепилов А.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой судебной
медицины имени профессора В.Н. Крюкова и патологической
анатомии с курсом ДПО ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России
Корсиков Н.А., ассистент кафедры судебной медицины имени
профессора В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом ДПО
ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России*

Введение. Проблема холодовой травмы на данный момент является весьма актуальной и социально значимой, что обусловлено ее высокой долей в структуре причин смерти. Ежегодно от холодовой травмы в мире погибает более 30 000 человек [5].

Доля смерти от холодовой травмы в структуре причин насильственной смерти в России составляет около 5,5–7,0%, а в некоторых регионах Сибирского федерального округа достигает уровня не менее 11% [6]. Высокая доля холодовой травмы в структуре причин смерти связана с особенностями климата (Россия – страна с относительно холодным климатом, это связано с тем, что к заполярным территориям относится около 64% всей площади страны), высоким уровнем этилизации социально - неадаптированных слоев общества, а также индивидуальными особенностями организма (снижение устойчивости к низким температурам, снижение общей резистентности организма и др.) [5, 6].

В настоящее время изучению вопроса воздействия низких температур на организм человека и животных посвящено большое

количество исследований. Основное место в этих исследованиях отводится диагностике и дифференциальной диагностике общего переохлаждения при сочетании этого вида смерти с различными интоксикациями, заболеваниями и иными состояниями. Однако несмотря на большое количество опубликованных на данный момент работ изучение процесса танатогенеза в результате воздействия низких температур от переохлаждения остается сложным и малоизученным процессом.

Основным методом диагностики смерти от переохлаждения является морфологический метод. На данный момент известно огромное количество морфологических изменений (как макро- так и микроморфологического характера) которые можно обнаружить при изучении случаев смерти от низких температур, но большинство из них низкоспецифичны, а следовательно в полной мере использоваться не могут [3,4].

Действие холодового фактора на организм человека и животных вызывает различные функционально – морфологические изменения в тканях. Данные изменения зависят от огромного количества факторов внешней и внутренней среды и в некоторых случаях носят фатальный характер. Особым условием для сохранения жизнедеятельности при действии низких температур является повышение кровоснабжения тканей и органов, которое в первую очередь зависит от функциональной активности миокарда.

На данный момент выяснено, что именно адекватное кровоснабжение органов и тканей, которое может осуществляться только при длительной адекватной функциональной активности миокарда, является одним из важных условий выживания в условиях пониженных температур. В этом случае в сердечно –сосудистой

системе развиваются определенные функциональные изменения в виде следующих стадий: компенсации и декомпенсации. Стадия компенсации (развитие тахикардии, увеличения уровня систолического и диастолического артериального давления, увеличение сердечного выброса, повышение периферического сопротивления). Стадия декомпенсации (брадикардия, снижение уровня артериального давления, уменьшение сердечного выброса, возникновение нарушений ритма. Чаще всего смерть наступает в результате фибрилляции желудочков сердца или развития прогрессирующей брадикардии переходящей в асистолию [1,2].

Цель исследования: проанализировать динамику патоморфологических изменений периметра и площади ядер кардиомиоцитов крыс породы Вистар на 7 день после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии.

Задачи исследования:

- изучить методику моделирования однократной иммерсионной глубокой гипотермии;
- изучить методику подготовки гистологических препаратов;
- изучить методику покраски гистологических препаратов гематоксилин – эозином;
- провести измерение периметра и площади площади ядер кардиомиоцитов крыс до и через 7 дней воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии.

Объекты исследования. В качестве объекта исследования использовали 10 белых половозрелых крыс линии Wistar обоего пола. Линии животных были выведены и выращены в виварии НИИ Цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Животных, доставленных из центрального вивария, до начала экспериментов

содержали на карантине в условиях кафедрального вивария в течение 1-2 недель. За этот срок ослабленных особей выбраковывали, а здоровые животные адаптировались к новым условиям вивария. Содержание животных отвечало международным рекомендациям проведения медико-биологических исследований с использованием животных по правилам GPL. Корм и воду подавали 1 раз в сутки между 10 и 11 часами. На протяжении всего периода эксперимента производилось взвешивание животных, осуществлялось измерение ректальной температуры.

Методика моделирования однократной иммерсионной глубокой гипотермии. Гипотермия моделировалась путем погружения животных, находящихся в клетках, в резервуары с водой на глубину 4,5 см при температуре воды +5 °С, воздуха +7 °С. До достижения ректальная температура у животных +20... +23 °С, в этом случае считали что достигнута гипотермия глубокой степени. Время эксперимента в среднем составляло 40 ± 8 минут. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом через 7 дней после гипотермии. В качестве контрольных выступали 5 животных, помещаемых в индивидуальных клетках в воду температурой +30 °С на время, соответствовавшее времени нахождения опытной группы. При вскрытии животных органы выделяли единым комплексом. Для гистологического исследования кусочки ткани сердца в течение 24–48 часов фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, после чего обрабатывали в автомате с последующей заливкой в парафин в станции парафиновой заливки. Срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на роторном микротоме. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином. Микрофотографию проводили при помощи микроскопа Leica DM 750 E200 (Германия) с цифровой

видеокамерой Leica EC3 (Германия) при увеличении x400. Морфометрию ядер кардиомиоцитов осуществляли в морфометрической программе «ВидеоТест-Морфология 5.2» (Рисунок 1, 2). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета статистических программ и пакета статистического анализа программы MS Excel 2010.

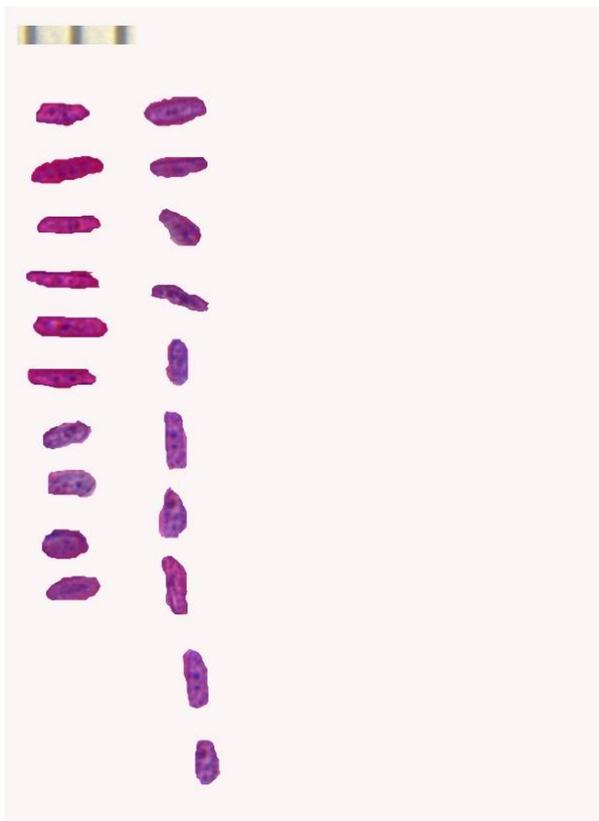
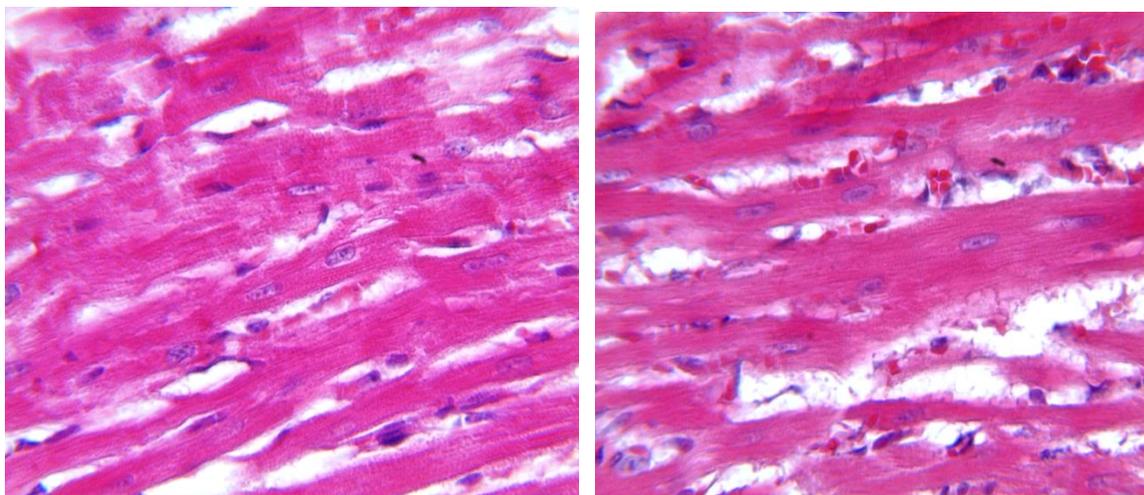


Рисунок 1. Подготовленный для морфометрии лист с выбранными ядрами кардиомиоцитов контрольной группы в программе «ВидеоТест-Морфология 5.2».



Рисунок 2. Подготовленный для морфометрии лист с выбранными ядрами кардиомиоцитов через 7 дней после гипотермии программе «ВидеоТест-Морфология 5.2».

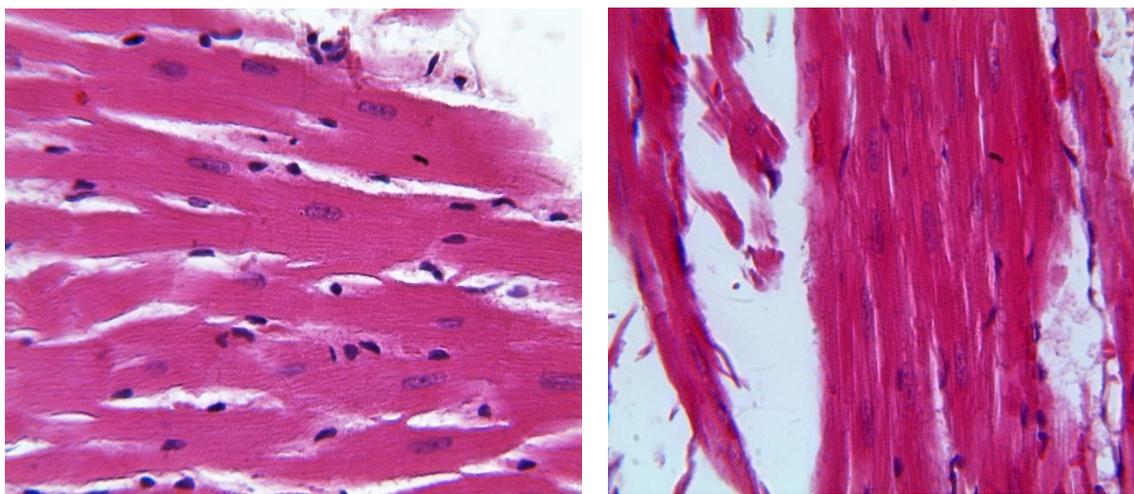
Результаты исследований и обсуждение Морфологический анализ структуры кардиомиоцитов крыс контрольной группы позволяет выявить следующие особенности: большинство кардиомиоцитов одноядерные, ядра небольших размеров, овоидной вытянутой формы



(Рисунок 3). При морфометрическом исследовании периметр ядер кардиомиоцитов составил $31,5 \pm 0,8$ мкм, средняя площадь ядер кардиомиоцитов составила $51,2 \pm 1,9$ мкм².

Рисунок 3. Морфология ядер кардиомиоцитов: в контрольной группе. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Анализ структуры мышечной ткани через 7 дней полсе после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии



позволяет сделать следующие выводы: ядра мышечных волокон набухшие, светлые, многие ядра деформированы. При морфометрическом исследовании периметр ядер кардиомиоцитов $36,8 \pm 0,8$ мкм, средняя площадь ядер кардиомиоцитов составила $69,6 \pm 2,8$ мкм².

Рисунок 4. Морфология ядер кардиомиоцитов через 7 дней после глубокой гипотермии. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Кариометрические измерения позволили сделать вывод, что средний периметр ядер кардиомиоцитов через 7 дней после однократной иммерсионной глубокой гипотермии увеличился на 16%, средняя площадь ядер кардиомиоцитов через 7 дней после однократной

иммерсионной глубокой гипотермии увеличилась на 35 % (Рисунок 5, 6).

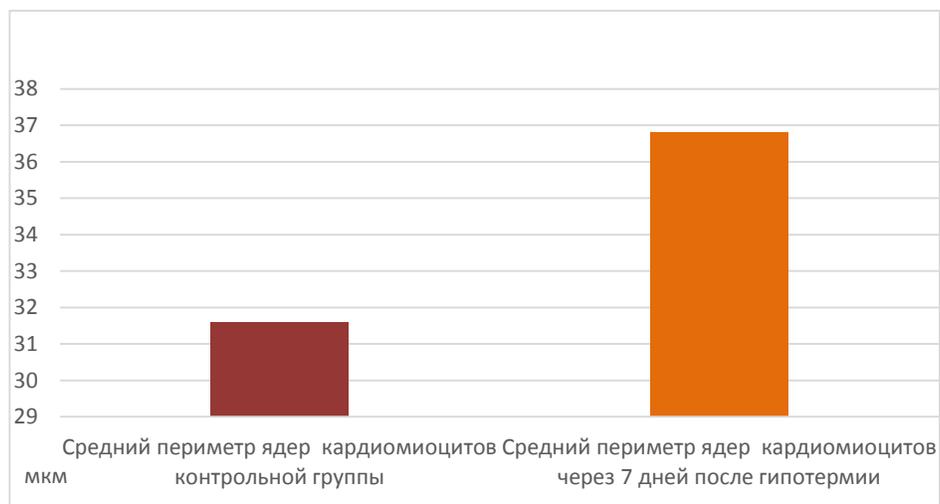


Рисунок 5. Изменение среднего периметра ядер кардиомиоцитов крыс через 7 дней после глубокой гипотермии.

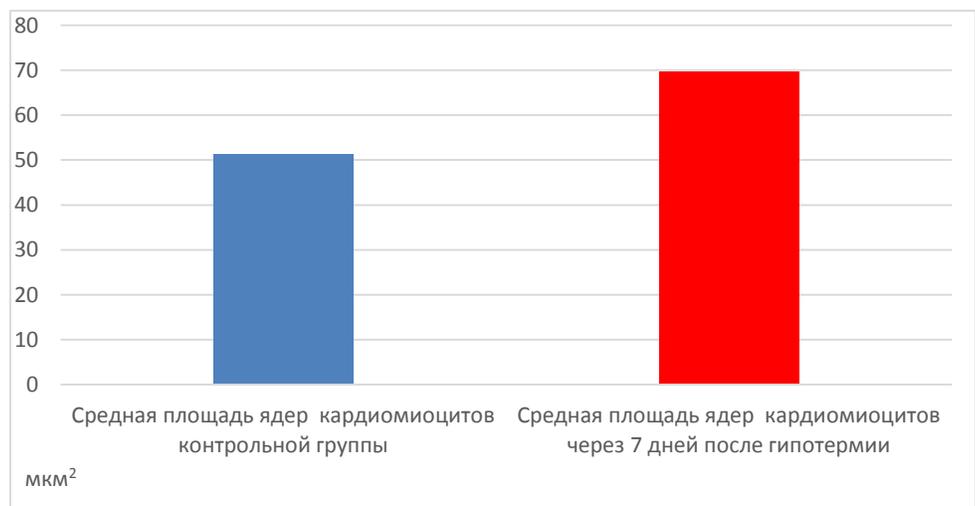


Рисунок 6. Изменение средней площади ядер кардиомиоцитов крыс через 7 дней после глубокой гипотермии.

Заключение. На современном этапе развития медицинских знаний в области термических поражений большое значение уделяется

изучению морфологических изменений происходящих ядерном аппарате клеток. Однако на данный момент описанные морфологические изменения возникающие в ядрах кардиомиоцитов при гипотермии достаточно скудны.

Результаты проведенного исследования во многом совпадают с результатами исследований проведенных Асмоловой Н.Д., Ривенсоном М.С. и подтверждают факт тотального повреждения ядерного аппарата сердечной мышцы. Кариометрические измерения позволили сделать вывод, что средний периметр ядер кардиомиоцитов через 7 дней после однократной иммерсионной глубокой гипотермии увеличился на 16%, средняя площадь ядер кардиомиоцитов через 7 дней после однократной иммерсионной глубокой гипотермии увеличилась на 35 %.

Данные исследования подтверждают важность и практикоориентированность дальнейшего изучения морфологических изменений происходящих в ядрах кардиомиоцитов.

Список использованной литературы.

1. Алябьев Ф.В. Закономерности морфологических изменений надпочечников при острой алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма: автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 03.00.25, 14.00.24 / Алябьев Федор Валерьевич. – Новосибирск, 2008. – 41 с.
2. Асмолова Н.Д. Микроскопические изменения миокарда при смерти от действия низкой температуры / Н.Д. Асмолова, М.С. Ривенсон // Судебно-медицинская экспертиза. – 1982. – № 4. – С. 28.
3. Витер В.И. Общее переохлаждение организма. Посмертное промерзание трупа: практическое пособие / В.И. Витер, В.В. Пудовкин, В.В. Юрасов [и др.]. – М., 2013. – 96 с.

4. Витер В.И. Смерть от действия низкой температуры / В.И. Витер, А.А. Халиков // Судебная медицина в лекциях. –Уфа, 2003. – Стр. 159-163.
5. Власенко А.В. Переохлаждение –клиническая проблема / А.В. Власенко, Д.А. Шестаков, М.М. Воднева, Е.С. Воеводина // Клиническая анестезиология и реаниматология. – 2006. –Т. 3, № 3. – С. 2-12.
6. Коротун В.Н. Холодовая травма и алкогольное опьянение / В.Н. Коротун // Проблемы экспертизы в медицине. – 2007. –№ 28-4. – С. 31-33.