

**Изменение морфометрических показателей ядер кардиомиоцитов и интегральной оптической плотности сразу после глубокой гипотермии**  
**Кузнецов Л.Г.**

Биология

*9А класс, МБОУ «Лицей №124» 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.** Холодовая травма – национальная проблема России, значительная часть которой лежит в холодных широтах, а большая часть субтропиков приходится на высокие горы с ледниками [1].

На современном этапе развития медицинских знаний в области термических поражений большое значение уделяется изучению морфологических изменений происходящих в ядрах клеток. Однако на данный момент описанные морфологические изменения возникающие в ядрах кардиомиоцитов при гипотермии достаточно скудны. Особого внимания заслуживают результаты исследований проведенных Бобровым И.П. и соавт. (2019 г.), которые показали, что воздействие холодового фактора оказывает повреждающее воздействие на ядра клеток печени экспериментальных животных, при этом отмечаются выраженные морфологические изменения: уменьшение числа двуядерных гепатоцитов, снижение морфометрических параметров ядер, увеличение доли гетерохроматина в ядре, снижении ИНДНК и уменьшение числа нуклеол, с возникновением явлений сегрегации ядрышек [3]. Данные исследования подтверждают важность и практикоориентированность дальнейшего изучения морфологических изменений происходящих в ядрах кардиомиоцитов.

На данный момент существует мнение, что данные изменения связаны в первую очередь с гипоксическим повреждением кардиомиоцитов. Данное

суждение подтверждается результатами исследований проводимых Десятовым В.П. (1981 г.), Чудаковым А. Ю. (2000 г.), Капустиным А.В. (2000 г.) [7]. Результаты исследований проведенных Сумбатовым Л.А. (1980 г.) говорят о том, что многие кардиомиоциты остаются интактными несмотря на действие низких температур [6].

**Цель исследования:** проанализировать изменения морфометрических показателей и интегральной оптической плотности ядер кардиомиоцитов крыс породы Вистар сразу после глубокой гипотермии сразу после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии.

**Задачи исследования:**

- описать и исследовать качественными и количественными методами морфологические изменения возникающие в ядрах кардиомиоцитов после гипотермии.

- провести морфометрическое исследование ядер кардиомиоцитов крыс до сразу после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии;

- провести анализ полученных результатов, сделать выводы.

**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  $40 \pm 8$  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  $\times 400$ . 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».

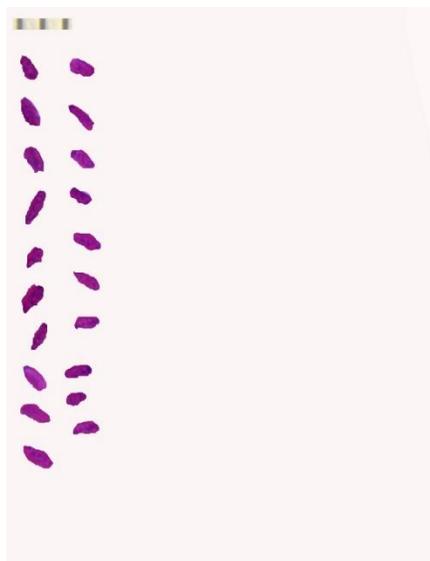


Рисунок 2. Подготовленный для морфометрии лист с выбранными ядрами кардиомиоцитов сразу после гипотермии в программе «ВидеоТест-Морфология 5.2».

**Результаты исследований и обсуждение.** Морфологический анализ структуры кардиомиоцитов крыс контрольной группы позволяет выявить следующие особенности: большинство кардиомиоцитов одноядерные, ядра небольших размеров (Рисунок 3). При морфометрическом исследовании периметр ядер кардиомиоцитов составил  $31,5 \pm 0,8$  мкм, средняя площадь ядер кардиомиоцитов составила  $51,2 \pm 1,9$  мкм<sup>2</sup>.

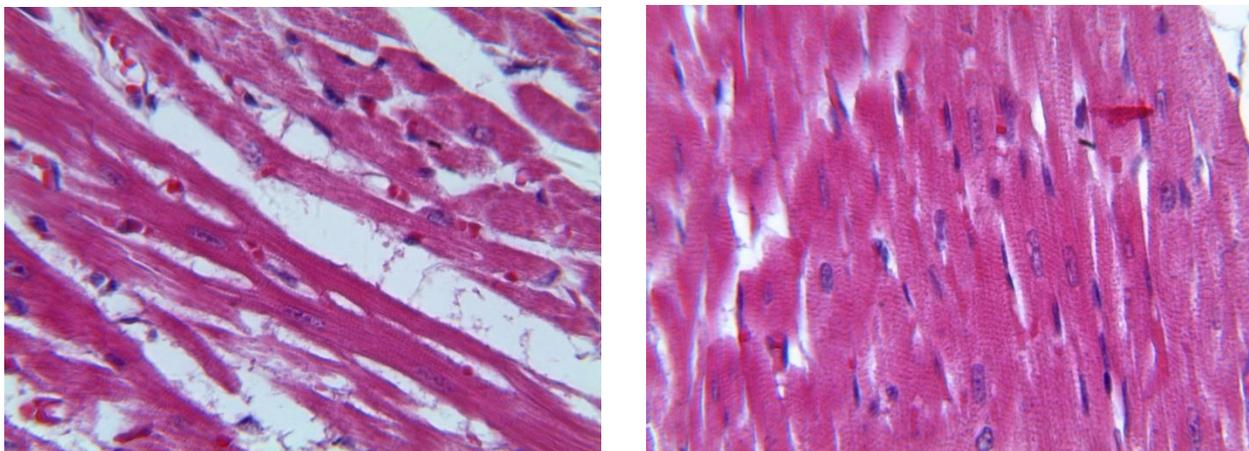
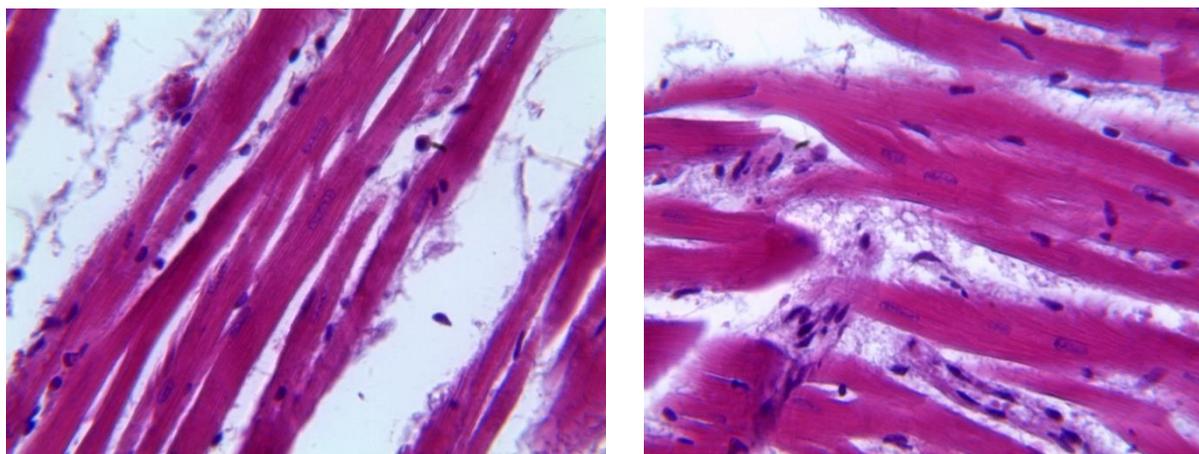


Рисунок 3. Морфология ядер кардиомиоцитов: в контрольной группе. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Анализ структуры мышечной ткани сразу полсе после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии позволяет сделать следующие выводы: наблюдается возникновение явлений кариопикноза, ядра мышечных волокон пикнотичные, гиперхромные. При морфометрическом исследовании периметр ядер кардиомиоцитов  $29,6 \pm 0,7$  мкм, средняя площадь ядер кардиомиоцитов составила  $48,1 \pm 1,9$  мкм<sup>2</sup>.



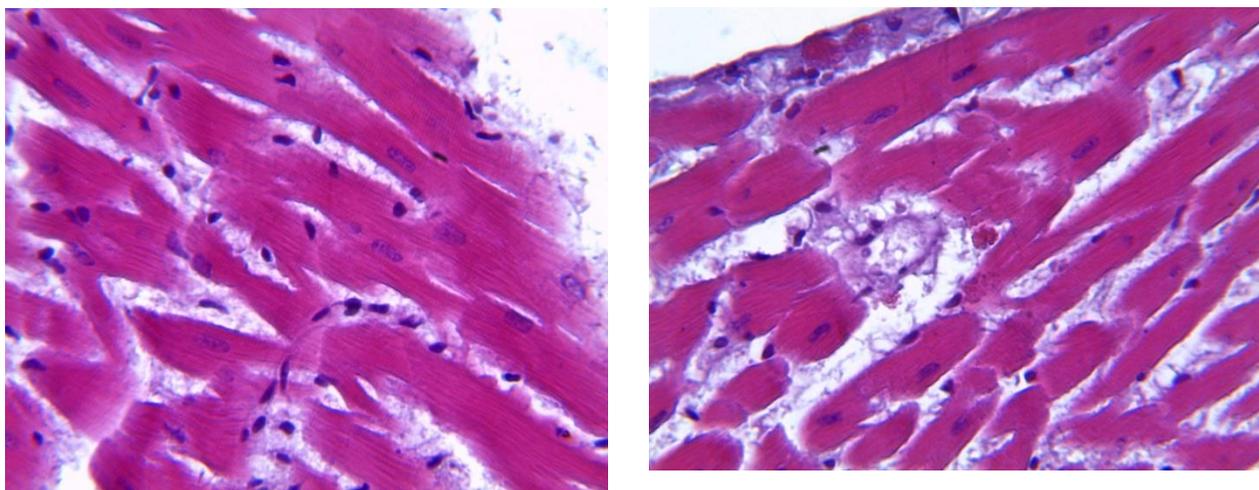


Рисунок 4. Морфология ядер кардиомиоцитов сразу после глубокой гипотермии. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

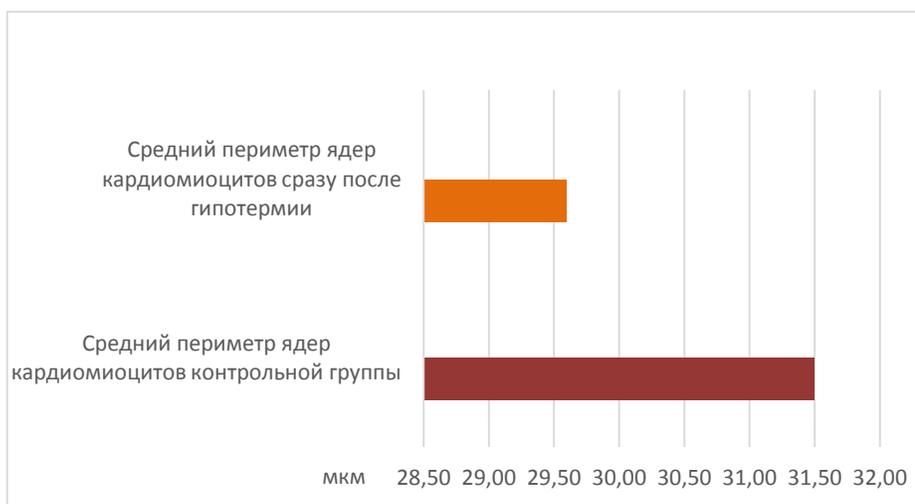


Рисунок 5. Изменение среднего периметра ядер кардиомиоцитов крыс сразу после глубокой гипотермии.

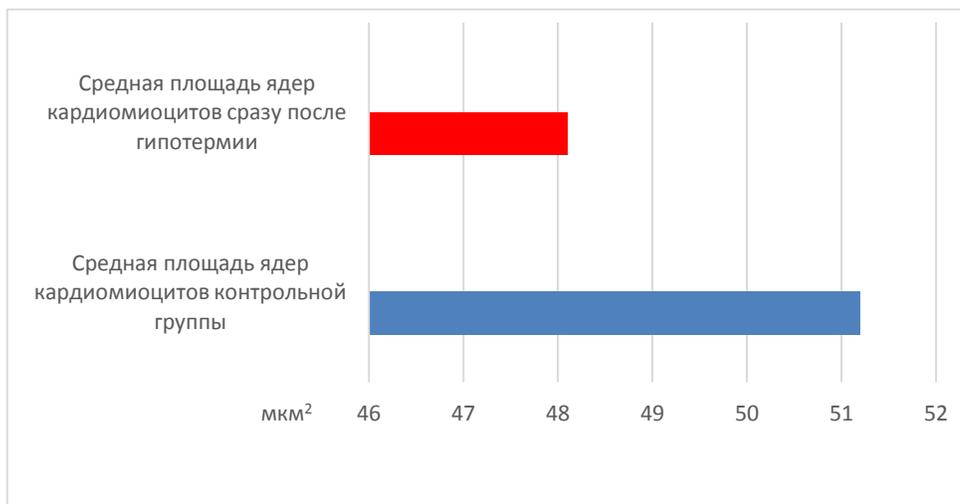


Рисунок 6. Изменение средней площади ядер кардиомиоцитов крыс сразу после глубокой гипотермии.

**Заключение.** В настоящее время изучению вопроса воздействия низких температур на сердечную мышцу 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.

Анализ структуры мышечной ткани сразу после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии позволяет сделать следующие выводы: нечеткость границ мышечных волокон, образование мышечных пластов; возникновение явлений кариопикноза, ядра мышечных волокон пикнотичные, гиперхромные.

Кариометрические измерения позволили сделать вывод, что средний периметр ядер кардиомиоцитов сразу после однократной иммерсионной глубокой гипотермии уменьшилась на 7%, средняя площадь ядер кардиомиоцитов сразу после однократной иммерсионной глубокой гипотермии уменьшилась на 6 %.

#### **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. 10. Асмолова, Н.Д. Патоморфология переохлаждения организма и смерти от общей холодовой травмы / Н.Д. Асмолова, Р.А. Назарова, В.А. Зазулин // Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы трупа: сб. матер. Всерос. науч.- практич. конф., посвящ. 90-летию Санкт-Петербургского ГУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы» (5-6 июня 2008 года) / под ред. В.А. Клевно, В.Д. Исакова. – СПб., 2008. – С. 70-74.
3. Бобров И.П. Морфофункциональная характеристика ядер гепатоцитов печени крыс после воздействия гипотермии / Е.Л., Бакарев М.А., Молодых О.П. // Современные проблемы науки и образования. – 2019 – № 6.; URL: <http://scienceeducation.ru/ru/article/view?id=29375> (дата обращения: 04.05.2021).
4. Десятов В.П. Диагностическое значение и некоторые данные к патогенезу переполнения кровью артерий и левой половины сердца при смерти от охлаждения / В.П. Десятов, Ю.А. Шамарин, Н.П. Минин // Судебно-медицинская экспертиза. – 1981. – № 2. – С. 28-30.
5. Десятов, В.П. Диагностическое значение и некоторые данные к патогенезу переполнения кровью артерий и левой половины сердца при смерти от охлаждения / В.П. Десятов, Ю.А. Шамарин, Н.П. Минин // Судебно-медицинская экспертиза. – 1981. – № 2. – С. 28-30.
6. Капустин А.В. О диагностическом значении острых микроскопических изменений миокарда / А.В. Капустин // Судебно-медицинская экспертиза. – 2000. –Т. 43, № 1. – С. 7-
7. Филиппенкова Е.И. Микроморфологические изменения в миокарде при воздействии на организм низкой температуры / Е.И. Филиппенкова, Н.Г.

Голенкова, С.А. Глазков [и др.] // Вопросы судебной медицины, медицинского права и биоэтики: сборник научных трудов посвященный 90-летию кафедры судебной медицины Самарского государственного медицинского университета / под ред. А.П. Ардашкина, В.В. Сергеева. – Самара: Офорт, 2011. – С. 40-44.