

# **Морфометрические и плоидометрические параметры гепатоцитов при экспериментальной глубокой гипотермии**

**Долгатова П.А.**

Биология

*9Б класс, МБОУ «СОШ №75» 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*

*Бобров И.П., д.м.н., профессор кафедры судебной медицины имени профессора В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом ДПО ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России*

**Введение.** Изучение закономерностей приспособления организма к факторам окружающей среды является фундаментальной задачей медицины. Гипотермия является одним из важнейших факторов, воздействующих на организм человека [1,2].

Вместе с тем, клинические наблюдения с использованием функциональных методов исследования, только усугубляют расхождения во взглядах на роль холодового фактора. Поэтому важное значение имеют результаты экспериментальных морфологических исследований по изучению реакции тканей организма на гипотермию [3,4,5].

**Цель исследования:** изучить динамику изменения морфометрических и плоидометрических параметров ядер гепатоцитов после воздействия гипотермии.

**Задачи исследования:**

1. Изучить периметр и площадь ядер гепатоцитов в постгипотермальном периоде.
2. Изучить площадь сечения цитоплазмы и ядерно-цитоплазматическое соотношение гепатоцитов в постгипотермальном периоде.

3. Изучить индекс накопления ДНК (ИНДНК) гепатоцитов в постгипотермальном периоде.

4. Изучить гистограмму распределения ИНДНК гепатоцитов в постгипотермальном периоде.

#### **Материалы и методы.**

Исследование выполнено на 25 крысах линии Wistar. Гипотермию моделировали путем помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в воду температурой 5 °С, при температуре окружающего воздуха 7 °С. Критерием прекращения воздействия служило достижение животными ректальной температуры 20-25 °С, что соответствовало глубокой степени гипотермии. Время экспозиции было индивидуальным и в среднем составляло 40 ± 5 мин.

Животные умерщвлялись сразу после прекращения охлаждения, через 2 суток, 5 суток и через 14 суток после прекращения охлаждения. Обезболивание и умерщвление животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине забуференном по Лилли. Проводку материала осуществляли по изопропиловому спирту, заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 4-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, для определения ploидности после стандартной гистологической проводки депарафинизированные срезы толщиной 4 мкм окрашивали методом Фельгена с использованием холодного гидролиза в течении 1 часа 30 минут. Цифровые микрофотографии микропрепаратов получали с помощью микроскопа Nikon Eclipse E200 (Япония) и цифровой видеокамеры VIDI CAM (Россия).

Морфометрию и ploидометрию осуществляли в морфометрической программе UTHSCSA Image Tool 3.0 (разработанной в University of the Texas Health Science Center of San Antonio, Texas). При ploидометрическом исследовании высчитывали индекс накопления ДНК (ИНДНК), равный

среднему взвешенному показателю ДНК исследуемых клеток. В целях изучения распределения популяций по ИНДНК строили гистограммы гетерогенности клонов клеток.

Статистическую обработку материала проводили при помощи статистического пакета Statistica 6.0.

### **Гепатоциты сразу после воздействия гипотермии**

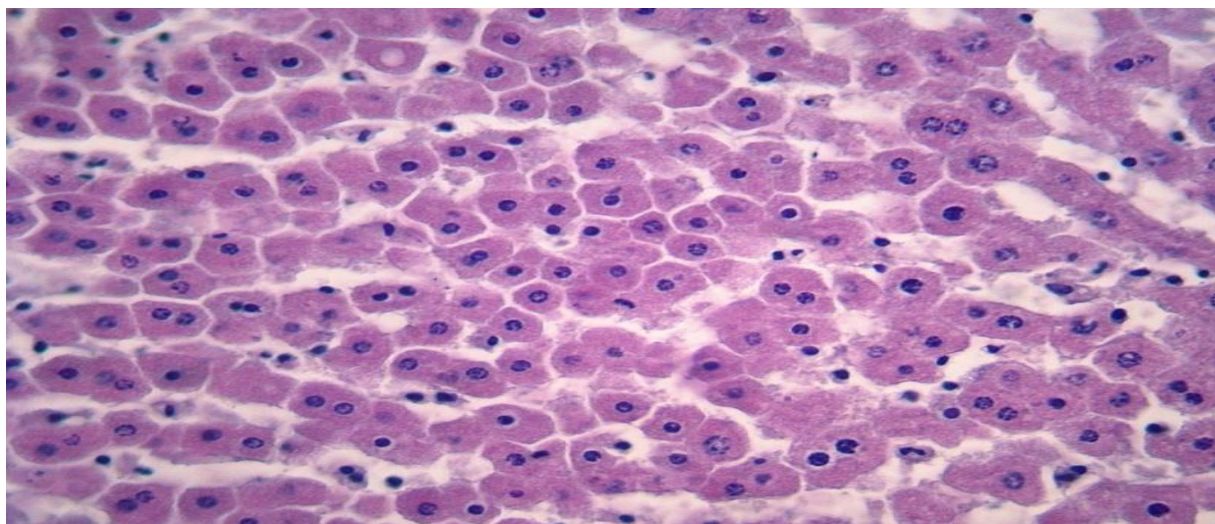


Рис. 1 Уменьшение размеров и пикноз ядер гепатоцитов печени крыс сразу после гипотермии. Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

### **Гепатоциты на 2 сутки после глубокой иммерсионной гипотермии**

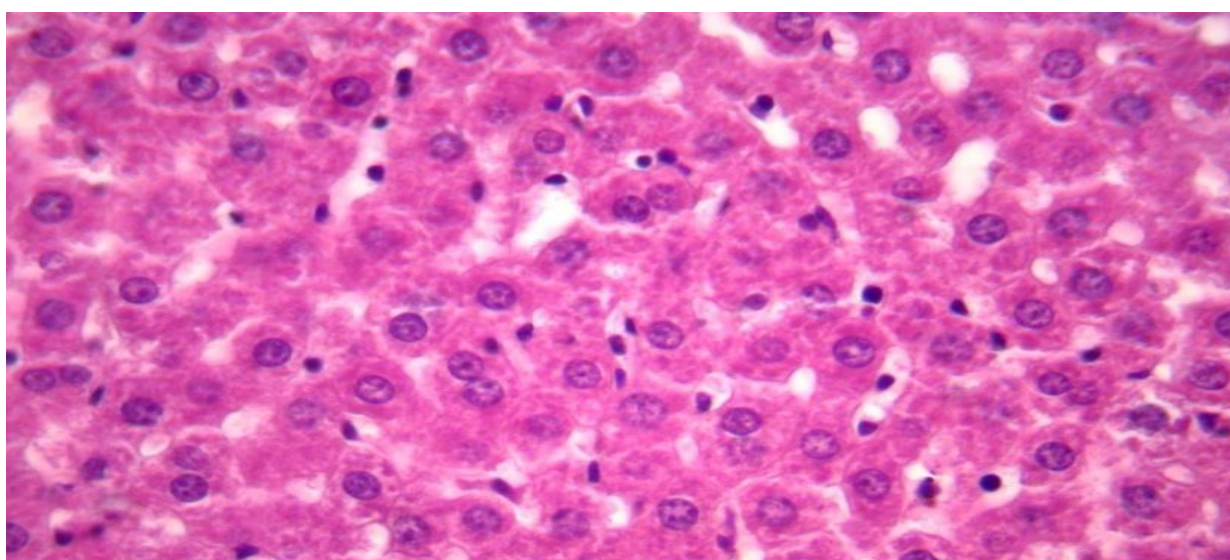


Рис. 2. На 2 сутки после глубокой гипотермии гепатоциты полиморфной формы. Ядра гепатоцитов увеличены в размерах. Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

### **Гепатоциты на 5 сутки после глубокой иммерсионной гипотермии**

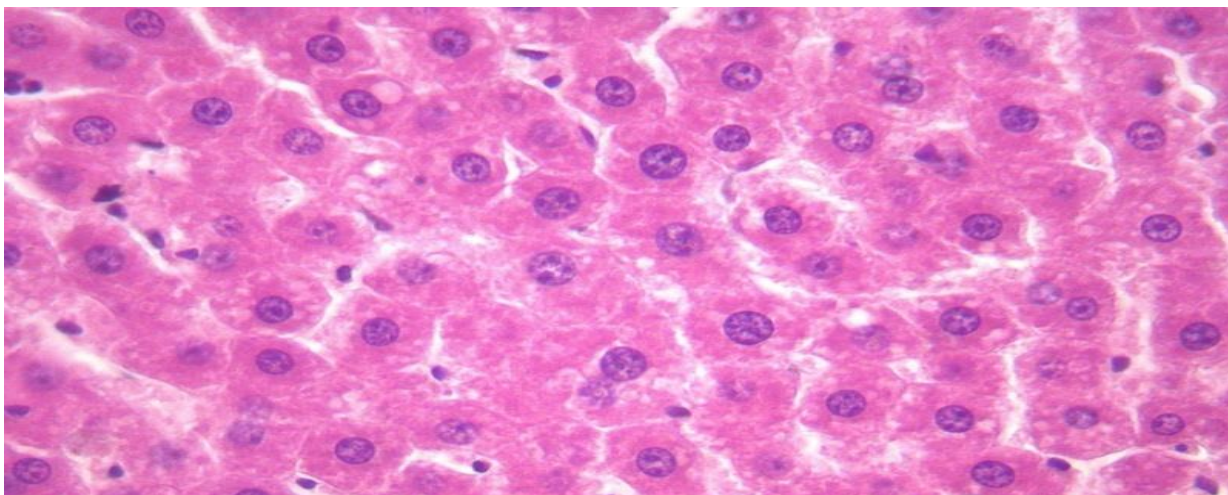


Рис. 3. На 5 сутки после глубокой гипотермии ядра гепатоцитов продолжают увеличиваться в размерах. Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

### **Гепатоциты на 14 сутки после глубокой иммерсионной гипотермии**

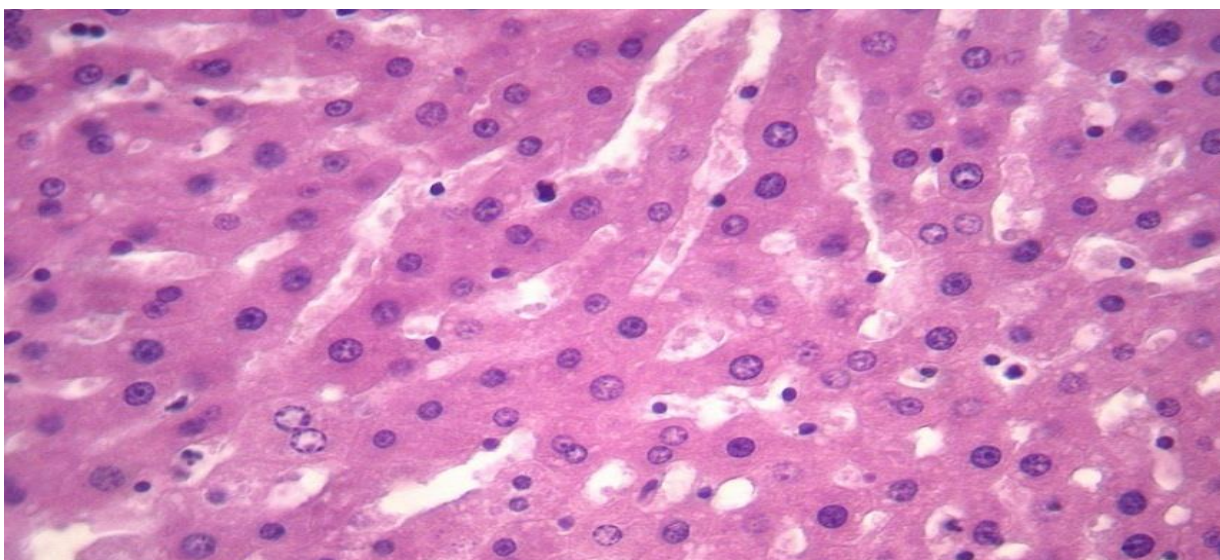


Рис. 4. На 14 сутки после глубокой гипотермии отмечается полиморфизм и уменьшение размеров ядра гепатоцитов. Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

**Собственные результаты.** Результаты проведенного исследования показали, что у животных забитых сразу после проведения гипотермии ядра гепатоцитов вокруг центральных вен были уменьшены в размерах, некоторые печеночные клетки находились в состоянии пикноза, в то время как в периферийных отделах печеночных балок ядра клеток были увеличены в размерах. Средняя площадь ядра составила –  $16,6 \pm 0,7$  мкм<sup>2</sup>, периметр –  $19,4 \pm 1,7$  мкм. Площадь сечения цитоплазмы составила  $193,2 \pm 18,1$  мкм<sup>2</sup>, ядерно-цитоплазматическое соотношение –  $0,11 \pm 0,01$ . ИНДНК ядра составил  $3,9с \pm 0,2$ , пределы колебаний ИНДНК составили от 3с до 6,2с, при модальном значении 4,4с. Гистограмма распределения ИНДНК имела одиночный пик в области 4с и сдвиг влево.

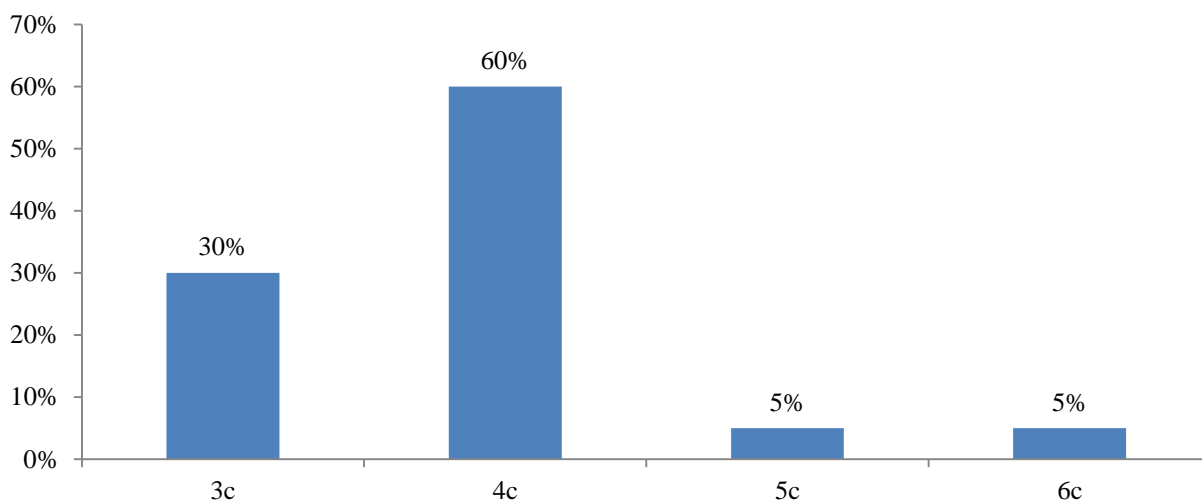


Рис. 5. Гистограмма распределения ИНДНК в ядрах гепатоцитов печени крыс сразу после проведения гипотермии. По оси абсцисс – плоидность гепатоцитов; по оси ординат – проценты.

На 2 сутки после глубокой гипотермии ткань печени была в состоянии сильного отека, отдельные гепатоциты находились в состоянии некроза. Гепатоциты полиморфной формы. Средняя площадь ядра составила –  $49,5 \pm 2,9$  мкм<sup>2</sup>, периметр -  $26,5 \pm 0,8$  мкм. Площадь сечения цитоплазмы составила  $260 \pm 7,1$  мкм<sup>2</sup>, соотношение ядра и цитоплазмы –  $0,19 \pm 0,01$ . ИНДНК составил  $5,1с \pm 0,2$ , пределы колебаний составили от 3,65с до 6,8с, при модальном значении 6с. Гистограмма распределения ИНДНК имела сдвиг вправо, наиболее высокий пик находился в области 6с.

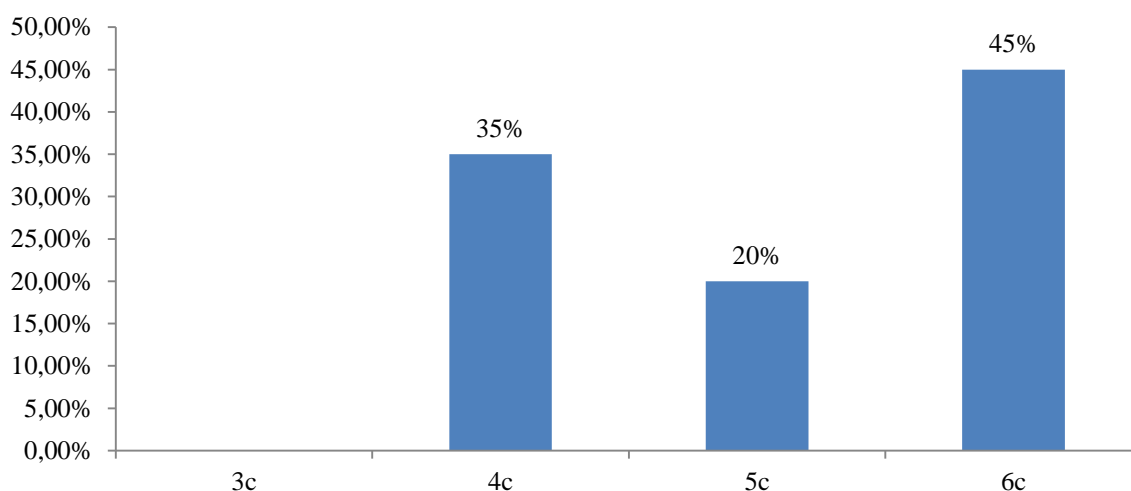


Рис. 6. Гистограмма распределения ИНДНК в ядрах гепатоцитов печени крыс через 2 дня после проведения гипотермии. По оси абсцисс – плоидность гепатоцитов; по оси ординат – проценты.

На 5 сутки после глубокой гипотермии ткань печени умеренно отечна. Гепатоциты полиморфной формы. Ядра гепатоцитов увеличены в размерах. Средняя площадь ядра составила –  $72,7 \pm 4,5$   $\mu\text{м}^2$ , периметр –  $32,1 \pm 0,9$   $\mu\text{м}$ . Площадь сечения цитоплазмы составила –  $436,4 \pm 34,9$   $\mu\text{м}^2$ , ядерно-цитоплазматическое соотношение –  $0,17 \pm 0,01$ . ИНДНК составил  $7,8 \pm 0,4$ , пределы колебаний составили от 4,75с до 11с, при модальном значении 9,1с. Гистограмма распределения ИНДНК характеризовалась широкой гетерогенностью показателя ИНДНК, сдвигом вправо и наиболее высокий пик в был области 8с.

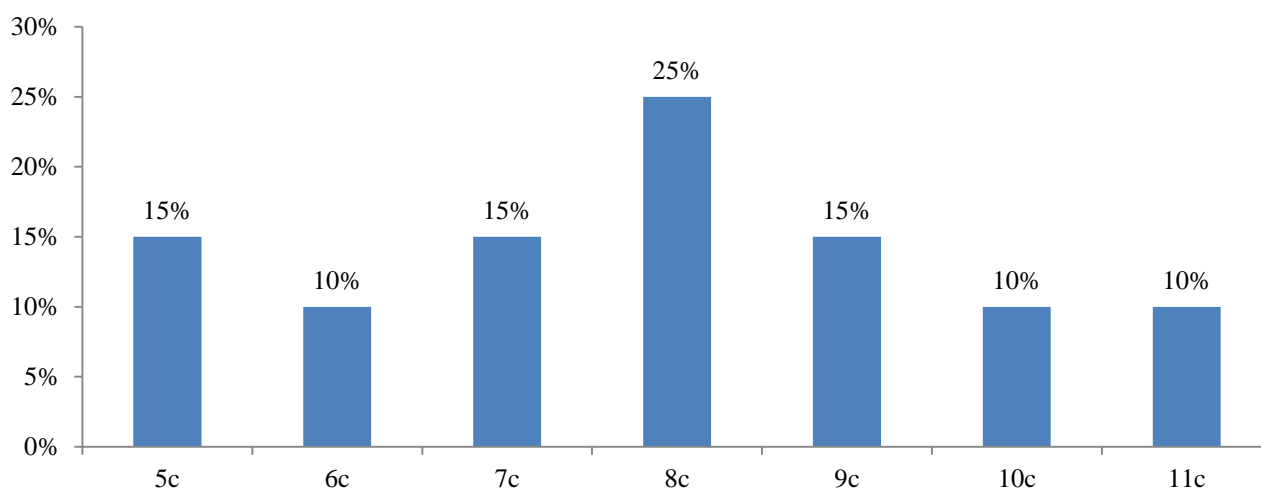


Рис. 7. Гистограмма распределения ИНДНК в ядрах гепатоцитов печени крыс через 5 дней после проведения гипотермии. По оси абсцисс – плоидность гепатоцитов; по оси ординат – проценты.

На 14 сутки после глубокой гипотермии ткань печени отмечали явления слабо выраженного отека. Ядра гепатоцитов по сравнению с предыдущем сроком эксперимента уменьшались в размерах. Средняя площадь ядра составила –  $28,5 \pm 1,1$  мкм<sup>2</sup>, периметр –  $20,2 \pm 0,4$  мкм. Площадь сечения цитоплазмы составила –  $204,7 \pm 10,5$  мкм<sup>2</sup>, соотношение ядра и цитоплазмы –  $0,14 \pm 0,01$ . ИНДНК составил  $4,1 \pm 0,3$ , пределы колебаний составили от 2,4с до 4с, при модальном значении 3,9с. Гистограмма распределения ИНДНК характеризовалась сдвигом вправо, наиболее высокий пик отмечали в области 4с.

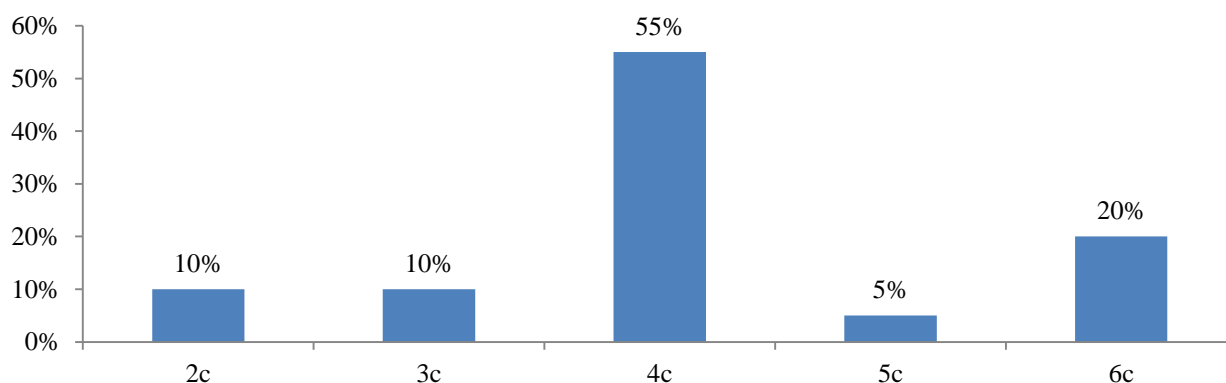


Рис. 8. Гистограмма распределения ИНДНК в ядрах гепатоцитов печени крыс через 14 дней после проведения гипотермии. По оси абсцисс – плоидность гепатоцитов; по оси ординат – проценты.

**Заключение.** Результаты проведенного исследования показали, что гипотермия приводит к уменьшению плоидности ядер и морфометрических параметров гепатоцитов у экспериментальных животных.

В отсроченные сроки после гипотермии, в период адаптации и регенерации клеток печени плоидность, морфометрические параметры ядра и цитоплазмы (площадь и периметр ядра, площадь цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение) увеличиваются.

К 14 дню после воздействия гипотермии морфометрические и плоидометрические параметры гепатоцитов приближаются к норме.

### Список использованной литературы

1. Алябьев Ф.В. Динамика ультраструктурной перестройки печени при общем переохлаждении организма // Международный научный журнал «Инновационная наука». – 2017. - №2-3. – С. 245-247.
2. Бобров И.П. Морфофункциональная характеристика ядер гепатоцитов печени крыс после воздействия гипотермии // Современные проблемы науки и образования. – 2019 - №6 URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=29375>
3. Бобров И.П., Лепилов А.В., Гулдаева З.Н., Долгатов А.Ю., Алымова Е.Е., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Тучноклеточная инфильтрация легких крыс после гипотермии // Современные проблемы науки и образования. 2019. №1 [Электронный ресурс].  
URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28446>
4. Бобров И.П., Лепилов А.В., Гулдаева З.Н., Долгатов А.Ю., Алымова Е.Е., Соседова М.Н., Крючкова Н.Г., Орлова О.В., Лушникова Е.Л., Бакарев М.А., Молодых О.П. Морфофункциональная характеристика тучноклеточной популяции легких крыс при однократной и многократной глубокой иммерсионной гипотермии // Современные проблемы науки и образования. 2019. №2.
5. Долгатов А.Ю., Бобров И.П., Лепилов А.В., Крючкова Н.Г., Алымова Е.Е., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Морфофункциональная характеристика тучноклеточной популяции печени белых крыс при глубокой иммерсионной гипотермии (экспериментальное исследование) // Бюллетень медицинской науки. 2018. Т. 11. №3. С. 24-28.