

Некоторые особенности морфофункциональной реорганизации миокарда экспериментальных животных в условиях холодовой травмы

Помазенко С.А.

Биология

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

Научный руководитель:

*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*

*Корсиков Н.А., ассистент кафедры судебной медицины имени профессора
В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом ДПО ФГБОУ ВО АГМУ
Минздрава России*

Введение. Температура тела является важной физиологической константой, и поддержание ее в определенном диапазоне является необходимым условием правильного функционирования всех органов и систем. Даже небольшие отклонения температуры тела от нормы могут привести к серьезным изменениям метаболизма с развитием холодовой болезни. Тяжелые формы холодовой болезни представляют угрозу для жизни, что определяет важность их своевременного распознавания и лечения в практике неотложной помощи.

Холодовая травма – национальная проблема России, значительная часть которой лежит в холодных и умеренных широтах, а большая часть субтропиков приходится на высокие горы с ледниками. Именно в России находится северный полюс холода. Зимой температура воздуха в некоторых регионах (Республика Саха (Якутия)) достигает минус 60°C, скорость ветра может быть до 20–30 м/с, а зимний период в России составляет от шести до десяти месяцев в году. Но из-за ветра и высокой влажности воздуха смерть от переохлаждения возможна и весной, и осенью, и изредка даже летом – при похолодании и особенно при

попадании пострадавшего в холодную воду. Гипотермия, в том числе смертельная, встречается во всех климатических зонах и в любое время года.

Проблема переохлаждения становится все более актуальной ввиду следующих факторов:

- климатический фактор – более 2/3 населения Земли живут в широтах, где в течение года температура 0°C и ниже;
- рост в мире количества социально не адаптированных людей;
- рост частоты техногенных катастроф;
- увеличение активности населения – туризм, зимние и экстремальные виды спорта [4].

Чаще всего жертвами смерти от гипотермии в малонаселенных местах становятся недостаточно подготовленные к пребыванию вне дома или заблудившиеся. А также люди потерявшие способность передвигаться в связи с травмой или болезнью [1].

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. Несмотря на большое количество опубликованных на данный момент работ диагностика смерти от переохлаждения остается сложным и малоизученным процессом, носит всегда комплексный, многоуровневый характер. На данный момент главным методом диагностики смерти от переохлаждения является морфологический метод. К настоящему времени описан ряд макро- и микроморфологических признаков смерти от гипотермии, но большинство из них низкоспецифичны, а следовательно в полной мере использоваться не могут [7].

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 холодного 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 [2,3,5,6]. Данные исследования подтверждают важность и практикоориентированность дальнейшего изучения морфологических изменений происходящих в ядрах кардиомиоцитов.

Цель исследования: выявить и проанализировать патоморфологические изменения кардиомиоцитов крыс которые происходят в разные сроки постгипотермического периода.

Задачи исследования:

- изучить и проанализировать доступные литературные данные о вариантах танатогенеза при холодной травме, их морфологических признаках, и дифференциально - диагностическом значении этих признаков;
- изучить методику проведения эксперимента, методику моделирования глубокой гипотермии;
- изучить и применить в практике методику подготовки, изготовления и окраски гистологических препаратов;
- описать и исследовать качественными и количественными методами морфологические изменения происходящие в ядрах кардиомиоцитов крыс в разные периоды после однократной глубокой иммерсионной гипотермии

Основная часть.

Объекты исследования, методика моделирования однократной иммерсионной глубокой гипотермии.

Исследование было проведено на крысах линии Вистар, массой 200–240 граммов (N=10). Животных подвергали однократной глубокой иммерсионной гипотермии.

Гипотермию моделировали следующим образом: животных, которые находились в индивидуальных клетках, помещали в воду температурой 5°C при температуре окружающей среды 7°C. Воздействие холодового фактора прекращали, когда животные достигали глубокой степени гипотермии, критерием которой служила ректальная температура 20–25°C. Время воздействия холодового фактора в среднем составляло 40±5 мин.

Непосредственно сразу после прекращения охлаждения, через 2, 7 и 14 дней животные выводились из эксперимента декапитацией.

Контрольную группу составляли крысы, которых в индивидуальных клетках помещали в воду температурой 30°C при температуре окружающей среды 22–25°C. Время экспозиции в контрольной группе соответствовало времени экспозиции в опытной группе.

Использование крыс в эксперименте осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и Директивами 86/609/ЕЕС.

Для гистологического исследования кусочки ткани легких в течение 24–48 часов фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, после чего обрабатывали в автомате TISSUETEK VIPTM6 (Sakkura, Nagano, Japan) с последующей заливкой в парафин в станции парафиновой заливки TISSUE-TEK TEC 5 (Sakkura, Nagano, Japan).

Срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на роторном микротоме Ассу-Сут SRM (Sakkura, Japan). Препараты окрашивали гематоксилин-эозином в автостейнере TISSUETEK Prisma (Sakkura, Nagano, Japan).

Микрофотографию проводили при помощи микроскопа Leica DM 750 E200 (Германия) с цифровой видеокамерой Leica EC3 (Германия) при увеличении $\times 400$. Данные площади, периметра и интегральной оптической плотности ядер кардиомиоцитов получали при помощи морфометрической программы Image Tool 3.0. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программ Microsoft Office 2007 и STATISTICA 6.1. (Рисунок 2).



Рисунок 1. Процесс изготовления микропрепаратов.



Рисунок 2. Процесс статистической обработки полученных данных.

Результаты исследований и обсуждение. Морфологический анализ структуры кардиомиоцитов крыс контрольной группы позволяет выявить следующие особенности: большинство кардиомиоцитов одноядерные, ядра небольших размеров (Рисунок 3).

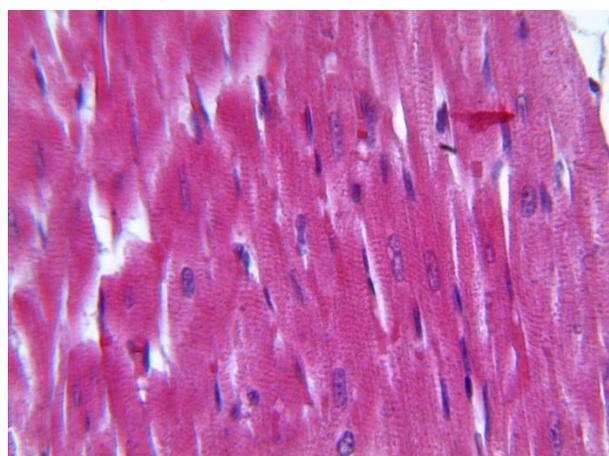
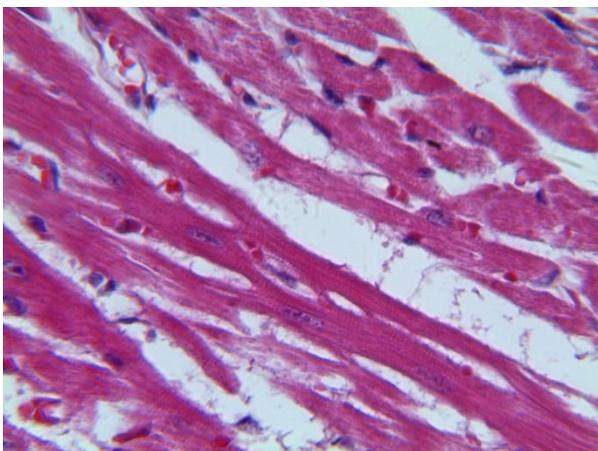


Рисунок 3. Миокард крысы. Контрольная группа.
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Анализ структуры мышечной ткани сразу после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии позволяет сделать следующие выводы: наблюдается возникновение явлений кариопикноза, ядра мышечных волокон пикнотичные, гиперхромные (Рисунок 4, А).

Анализ структуры мышечной ткани через 7 дней после воздействия однократной глубокой иммерсионной гипотермии позволяет сделать следующие выводы: мышечные волокна набухшие с явлениями миолиза, неравномерное просветление цитоплазмы, образование оптических пустот, утрата исчерченности. Ядра мышечных волокон набухшие, светлые, многие ядра деформированы (Рисунок 4, Б).

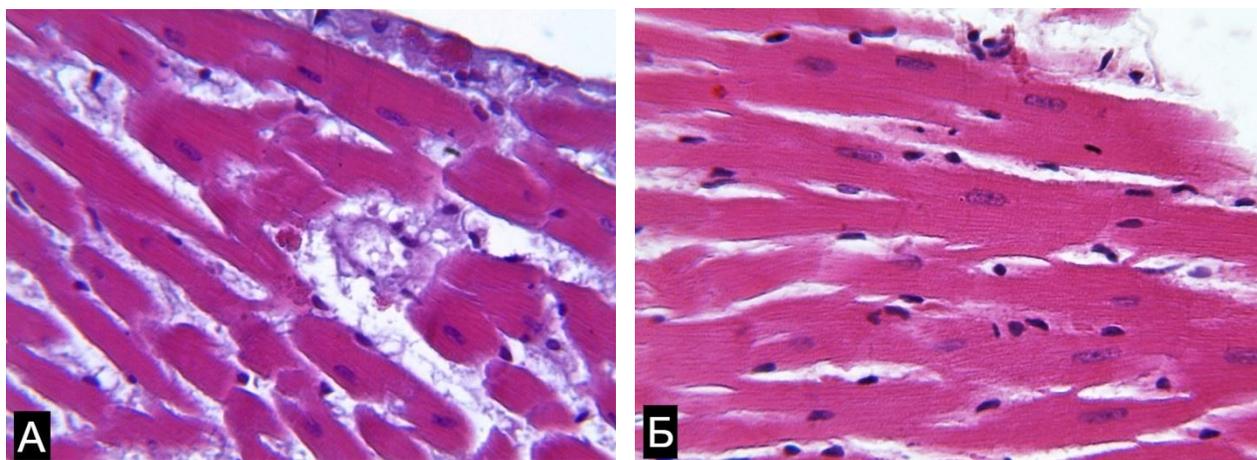


Рисунок 4. Миокард крысы. А – сразу после глубокой гипотермии, Б - через 7 дней после глубокой гипотермии.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$.

При морфометрическом исследовании миокарда крысы:

- периметр ядер кардиомиоцитов контрольной группы составил $31,5 \pm 0,8$ мкм, средняя площадь ядер кардиомиоцитов составила $51,2 \pm 1,9$ мкм².

- периметр ядер кардиомиоцитов сразу после воздействия гипотермии составил $29,6 \pm 0,7$ мкм, средняя площадь ядер кардиомиоцитов составила $48,1 \pm 1,9$ мкм²

- периметр ядер кардиомиоцитов через 7 дней после составил $36,8 \pm 0,8$ мкм, средняя площадь ядер кардиомиоцитов составила $69,6 \pm 2,8$ мкм².

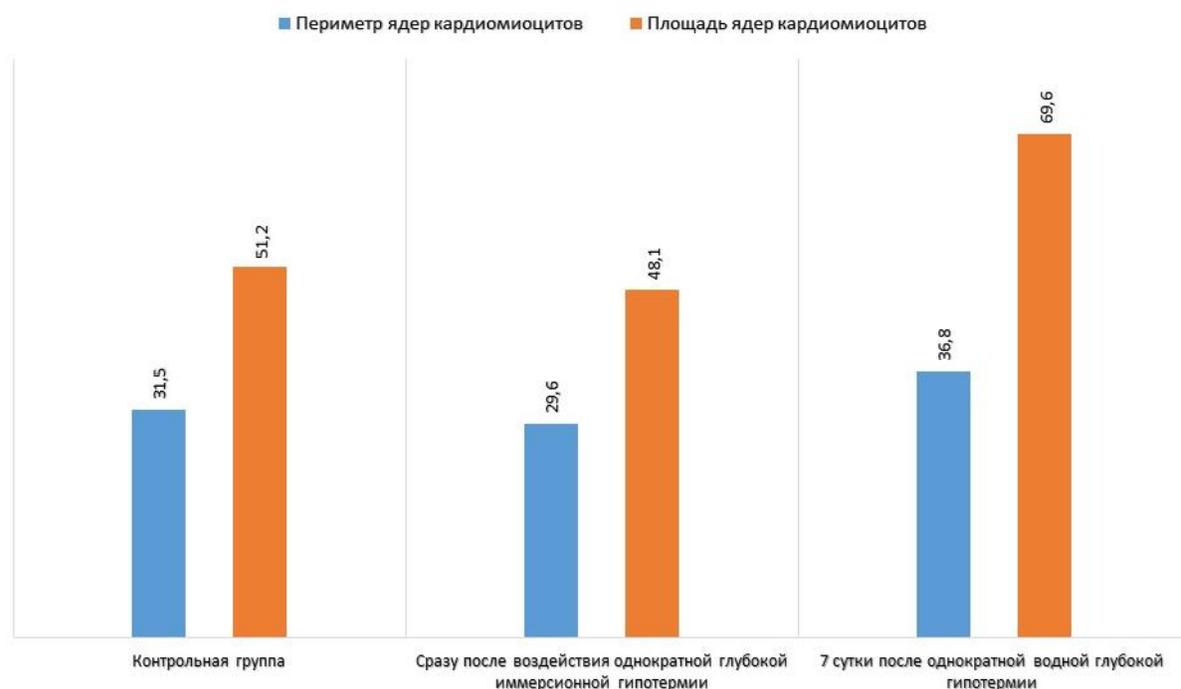


Рисунок 5. Изменение морфометрических параметров миокарда крыс в постгипотермическом периоде.

Интегральная оптическая плотность ядер кардиомиоцитов составляла в среднем 588 тысяч Белл. Сразу после однократной иммерсионной глубокой гипотермии интегральная оптическая плотность ядер кардиомиоцитов снизилась до 429 тысяч Белл. Через 7 дней после глубокой гипотермии интегральная оптическая плотность ядер кардиомиоцитов повысилась до 721 тысячи Белл.

Заключение. Понижение температуры окружающей среды вызывало изменение формы ядра, что могло происходить вследствие активизации перекисного окисления липидов, повреждения клеточной мембраны и нарушения ионного гомеостаза.

Последовательные этапы повреждения кардиомиоцитов при гипотермии, по нашим наблюдениям, обычно наблюдаются в одном и том же препарате и включают:

- 1) набухание цитоплазмы кардиомиоцитов;
- 2) их гомогенизацию, исчезновение продольной и поперечной исчерченности
- 3) появление и рост в них перинуклеарных вакуолей неправильной формы с нечеткими контурами, не окрашивающихся липофильными красителями, по типу гидропической дистрофии;
- 4) набухание и просветление ядер;
- 5) миоцитоллиз и кариолиз – признаки колликвационного некроза.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что воздействие холодового фактора оказывало выраженное повреждающее воздействие на ядра кардиомиоцитов. Выявленные изменения, по нашему мнению, являются следствием метаболической депрессии кардиомиоцитов.

Список использованной литературы

1. Асмолова Н.Д. Микроскопические изменения миокарда при смерти от действия низкой температуры / Н.Д. Асмолова // Судебно-медицинская экспертиза. – 1982. – № 4. – С. 28.
2. Бобров И.П., Лепилов А.В., Гулдаева З.Н., Долгатов А.Ю., Алымова Е.Е., Крючкова Н.Г., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Тучноклеточная инфильтрация легких крыс после гипотермии // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – №1. – [Электронный ресурс]. URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id> (дата обращения: 30.07. 2021)
3. 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. – [Электронный ресурс]. URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id> (дата обращения: 01.08.2021)

4. Витер В.И. Общее переохлаждение организма. Посмертное промерзание трупа: практическое пособие / В.И. Витер, В.В. Пудовкин, В.В. Юрасов. – М., 2013. – 96 с.

5. Долгатов А.Ю., Бобров И.П., Лепилов А.В., Крючкова Н.Г., Алымова А.А., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Морфофункциональная характеристика тучноклеточной популяции печени белых крыс при глубокой иммерсионной гипотермии (экспериментальное исследование) // Бюллетень медицинской науки. 2018. №3. С. 24-28.

6. Черданцева Т.М., Бобров И.П., Авдалян А.М., Климачев В.В., Казарцев А.В., Крючкова Н.Г., Климачев И.В., Мяделец М.Н., Лепилов А.В., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Тучные клетки при раке почки: клиничко-морфологические взаимосвязи и прогноз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 163. № 6. С. 768-773.

7. Шигеев В.Б. Холодовая смерть / В.Б. Шигеев, С.В. Шигеев, Е.М. Колударова. – М., 2004. – 184 с.