

ДЕФОРМАЦИЯ ТКАНЕЙ В ХОДЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССИНГА. I. МЕТОДЫ МОРФОМЕТРИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ДЕФОРМАЦИЙ

© А. Ю. Буданцев, А. Ю. Демьянов

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, 142290;
электронный адрес: budantsev@mail.ru

Разработан протокол морфометрического анализа динамики деформации тканей при действии различных химических реагентов и физических условий, применяемых в гистологическом процессинге. Протокол включает в себя получение цифровых изображений тканей и последующий анализ изображений при помощи программ для 2- и 3-мерной графики. Разработанный протокол морфометрического анализа позволяет рассчитать коэффициенты относительной продольной, поперечной и объемной деформаций тканей в ходе гистологического процессинга.

Ключевые слова: нативная ткань, гистологический процессинг, деформация тканей, относительная продольная, поперечная и объемная деформации, химическая фиксация.

Гистологический процессинг (биологическая микротехника) представляет собой специальную технологию приготовления препаратов для цитологического, гистологического, цито- и гистохимического анализа клеток и тканей человека, животных и растений. В большинстве протоколов гистологического процессинга первая операция, химическая фиксация и последующие процедуры (обезвоживание, пропитка полимерными материалами, окраска, микротомия и др.) связаны с действием на клетки химических и физических факторов.

Все процедуры гистологического процессинга приводят к появлению различных артефактов, в частности к деформации клеток — изменению формы и размеров клеток и внутритканевых структур. «Сжатие» или «набухание» образца ткани представляет интегральную характеристику деформации клеток и межклеточного пространства внутри ткани (Baker, 1958; Прозина, 1960; Пирс, 1962; Дженсен, 1965; Хиллман, 1975; Фурст, 1979; O'Brien, McCully, 1981; Паушева, 1988; Барыкина и др., 2004; Буданцев, 2011, 2015, и др.).

Измерение сжатия или набухания клеток высших растений и животных при действии химических соединений представляет трудную задачу, особенно в случае измерения динамики деформации. Основная трудность заключается в том, что контролем при таких измерениях должны быть живые, нативные клетки и ткани.

В статье предлагается комплекс морфометрических параметров для интегральной оценки деформации клеток и межклеточных структур внутри образцов тканей. Методы основаны на компьютерном анализе цифровых изображений образцов тканей сразу после выделения из организмов (контроль) и после действия химических реагентов.

Для определения объемной деформации во время фиксации (наиболее важной характеристики деформации) нами разработан специальный метод создания

3-мерных моделей тканей, позволяющий определить объем и площадь поверхности объектов в контроле и при фиксации.

Возможности разработанного протокола измерения деформаций продемонстрированы на примере образцов апикальной части корней лука в контроле и при действии фиксатора Кларка.

Материал и методика

В работе использовали апикальные части корней лука-севка (*Allium cepa*). В апикальной части корня лука описаны две зоны клеток: «зона клеток чехлика и меристемы», расположенная приблизительно на расстоянии 1 мм от кончика корня и «зона растяжения клеток» выше первой зоны. Распределение митотической активности клеток в указанных зонах апекса детально описано (Jensen, Kavaljian, 1958).

Апикальные части корней длиной 2—3 мм выделяли после проращивания луковиц в течение 3—5 сут в водопроводной воде, переносили в кювету, содержащую 2 мл воды, и фотографировали на стереомикроскопе МБС-10 цифровым фотоаппаратом Olympus-330. Затем в течение 10—20 с воду отсасывали, заменяли на 2 мл фиксатора Кларка (96%-ный этанол + ледяная уксусная кислота в соотношении 3 : 1 v/v) и получали цифровые изображения образцов через разное время фиксации (6 и 10 ч). В конце опыта фотографировали объект-микрометр проходящего света.

Набор последовательных цифровых изображений исследовали с помощью компьютерных программ 2-мерной и 3-мерной графики. Измерение линейных геометрических параметров кончиков корней (длина, диаметры профилей, площадь контура и длина его периметра) в норме (вода) и при действии химического фиксатора проводили

Т а б л и ц а 1

Измеряемые и расчетные морфометрические параметры деформации тканей

Номер	Параметры	Обозначения
Измеряемые параметры		
1	Длина образцов ткани	L
2	Диаметр ^а	D
3	Площадь профиля изображения	AP
4	Длина периметра профиля изображения	LP
5	Объем	V
6	Площадь поверхности	AS
Расчетные параметры		
1	Коэффициент относительного продольного сжатия (или набухания)	$\varepsilon = \Delta L/L$, где ΔL — изменение первоначальной длины (L)
2	Коэффициент относительного поперечного сжатия (набухания) ^б	$\beta = \Delta D/D$, где ΔD — изменение первоначального диаметра (D)
3	Коэффициент Пуассона	$ \mu = \beta/\varepsilon$
4	Коэффициент относительной объемной деформации	$\nu = \Delta V/V$, где ΔV — изменение первоначального объема (V)
5	Коэффициент изменения площади поверхности	$\tau = \Delta AS/AS$, где ΔAS — изменение первоначальной площади поверхности (AS)
6	Отношение площади контура изображения к длине периметра контура	AP/LP

Примечание. ^а Диаметр в случае цилиндрических объектов или ширина и высота образца ткани, если образец ткани представляет собой параллелепипед. ^б Если образец ткани представляет параллелепипед, требуется измерить ширину и высоту образца.

при помощи программ ImageTool v.3.0 (фирма UTHSCS) или AnalySIS FIVE (Olympus Soft Imaging Solution GmbH, 2008). Создание 3-мерных моделей апексов корней и измерение объема и площади поверхности образцов ткани проводили с помощью программы 3D Studio Max (5.0, Autodesk). Для статистической обработки данных использовали программу Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты

1. 2-мерные морфометрические измерения. Для оценки динамики деформации тканевых образцов при фиксации предлагается использовать следующие линейные измерения.

А. Измерение длины образцов ткани (L) позволяет оценить относительное продольное сжатие (удлинение) ткани: $\varepsilon = \Delta L/L$, где ΔL — изменение первоначальной длины образца ткани. При набухании ε — положительная величина, при сжатии — отрицательная. Можно выразить относительную продольную деформацию в процентах: $\varepsilon = \Delta L/L \cdot 100\%$.

Б. Измерение диаметра образца ткани (D) позволяет оценить относительную поперечную деформацию тканей: $\beta = \Delta D/D$, где ΔD — изменение диаметра относительно первоначального диаметра (D). При набухании величина β — положительная величина, при сжатии — отрицательная. Можно выразить относительную поперечную деформацию в процентах: $\beta = \Delta D/D \cdot 100\%$. Известно, что отношение $|\mu| = \beta/\varepsilon$ (коэффициент Пуассона) отражает объемную деформацию ткани.

В. Два параметра — площадь профиля образца ткани (AP) и длина его периметра (LP) — широко используются в 2-мерных морфометрических измерениях в цитологии и цитопатологии (Ташкэ, 1970; Автандилов, 1996).

2. 3-мерные морфометрические измерения. Для оценки объемных изменений ткани при сжатии или набухании во время фиксации мы определяли объем (V) и площадь поверхности (AS) образца ткани. Основным методом измерений и вычислений объема и площади поверхности клеток и тканей в классической стереометрии является расчет по формулам стереогеометрии. Например, если допустить, что данная клетка представляет собой шар (модель клетки в виде геометрического примитива), то ее объем, после измерения диаметра окружности (профиль шара на плоскости) можно рассчитать объем клетки по формуле объема шара (Ташкэ, 1970; Underwood, 1970; Автандилов, 1996).

Для получения объемных параметров тканевых образцов при химической фиксации мы разработали метод создания объемных моделей тканевых образцов, в частности апикальной части корней, при помощи программы 3D Studio Max 5.0. Данная программа позволяет создавать объемные модели объекта любой сложности и автоматически рассчитать его объем и площадь поверхности.

Указанные выше измеряемые и расчетные морфометрические параметры деформации тканей, возникающие в результате процедур гистологического процессинга, в частности при химической фиксации, представлены в табл. 1.

3. Измерение продольной и поперечной деформации. В табл. 2 представлены результаты измерения продольного и поперечного сжатия апексов корней в норме и при фиксации: продольное сжатие ткани достоверно достигает уровня 10% от контроля через 6 ч фиксации. Поперечная деформация отмечается в первые минуты фиксации и более выражена в «зоне чехлика и меристемы» ($D1$, 14—18%) по сравнению с «зоной растяжения» ($D2$, 8—11%).

Продольное и поперечное сжатие апикальной части корней в контроле (вода) и в фиксаторе Кларка

Вариант опыта	L , мм	ε	D_2 , мм	β_1	$ \mu _1$	D_1 , мм	β_2	$ \mu _2$
Контроль	2.09 ± 0.05 (9)		0.63 ± 0.01 (9)			0.61 ± 0.01 (9)		
Фиксатор (3—5 мин)	1.96 ± 0.04 (10) НД	—	0.58 ± 0.01 (10)	-0.079	—	0.52 ± 0.01 (10)	-0.147	—
Фиксатор 6 ч	1.90 ± 0.04 (10)	-0.091	0.56 ± 0.01 (10)	-0.110	1.209	0.50 ± 0.01 (10)	-0.180	1.978
Фиксатор 10 ч	1.89 ± 0.04 (10)	-0.096	0.56 ± 0.01 (10)	-0.110	1.146	0.51 ± 0.01 (10)	-0.164	1.708

Примечание. В скобках указано число исследованных образцов (n); НД — отсутствие достоверных результатов от контроля (для остальных представленных результатов различия с контролем достоверны для $p < 0.05$); D_1 — диаметр корня на расстоянии 1 мм от кончика корня, D_2 — диаметр на расстоянии 2 мм от кончика корня; ε — коэффициент продольного сжатия; β_1 и β_2 — коэффициенты поперечного сжатия; $|\mu|_1$ и $|\mu|_2$ — коэффициенты Пуассона. Во всех таблицах цифровые результаты представлены как $M \pm m$, где m — ошибка средней величины.

Результаты измерений площади профиля (AP) и длины периметра (LP) корней в контроле (вода) и в фиксаторе Кларка при ручной и автоматической трассировках

Вариант опыта	Ручная трассировка (ImageTool)				Автоматическая трассировка (AnalySIS)			
	LP , мм	%	AP , мм ²	%	LP , мм	%	AP , мм ²	%
Контроль	5.23 ± 0.10 (9)	100	1.22 ± 0.04 (9)	100	5.47 ± 0.10 (9)	100	1.10 ± 0.03 (9)	100
Фиксатор 3—5 мин	4.88 ± 0.08 (10)	93.31	0.98 ± 0.03 (10)	80.33	5.04 ± 0.09 (10)	92.14	0.91 ± 0.02 (10)	82.73
Фиксатор 2 ч	4.79 ± 0.09 (10)	91.58	0.95 ± 0.03 (10)	77.87	4.97 ± 0.11 (10)	90.86	0.91 ± 0.03 (10)	82.73
Фиксатор 6 ч	4.61 ± 0.09 (10)	88.14	0.87 ± 0.02 (10)	71.33	4.84 ± 0.09 (10)	88.48	0.88 ± 0.02 (10)	80.00

Примечание. Различия с контролем во всех случаях достоверны для $p < 0.05$; в скобках указано число исследованных образцов (n).

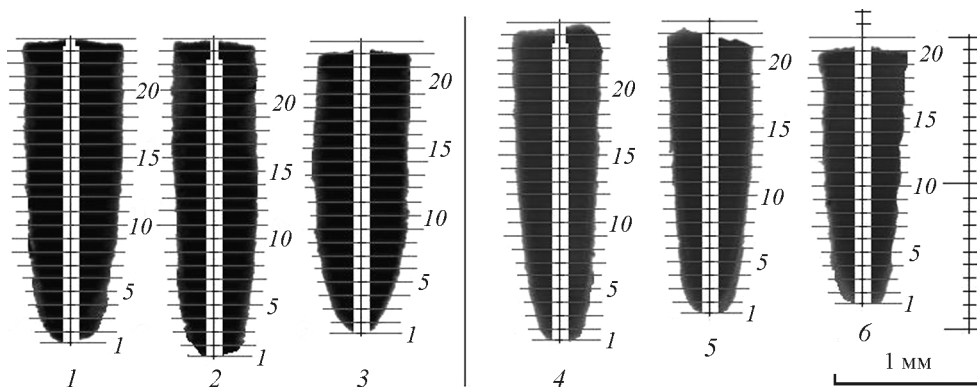


Рис. 1. Профили контуров корней с разбиением примерно через 90—100 мкм.

Слева (1—3) — контроль, справа (4—6) — материал после фиксации. 1, 5, 10, 15, 20 — номера сечений.

Таблица 4

**Рассчитанные объемы корней при разном числе сечений изображения
(контрольные нефиксированные образцы)**

Номера образцов ^a								
1			2			3		
2 сечения ($h \sim 1$ мм)								
r	h	V	r	h	V	r	h	V
0.345			0.280			0.315		
0.315	1.03	0.35	0.275	1.04	0.25	0.315	0.89	0.28
0.315			0.275			0.315		
0.055	0.92	0.11	0.150	0.94	0.14	0.035	0.96	0.11
Общий объем		0.46			0.39			0.39
4 сечения ($h \sim 0.5$ мм)								
r	h	V	r	h	V	r	h	V
0.345			0.280			0.315		
0.335	0.51	0.19	0.285	0.51	0.13	0.320	0.45	0.14
0.315	0.52	0.17	0.275	0.53	0.13	0.315	0.44	0.14
0.260	0.51	0.13	0.250	0.52	0.11	0.260	0.54	0.14
0.055	0.41	0.04	0.150	0.42	0.05	0.035	0.42	0.03
Общий объем		0.53			0.42			0.45
20 сечений ($h = 90\text{—}100$ мкм)								
Общий объем		0.56			0.43			0.51

Примечание. ^a Номера образцов соответствуют номерам на рис. 1. Обозначения: r — радиус сечений, h — высота сечений, V — объем сечений.

Таблица 5

**Рассчитанные объемы корней при разном числе сечений изображения
(фиксированные образцы)**

Номера образцов ^a								
4			5			6		
2 сечения ($h \sim 1$ мм)								
r	h	V	r	h	V	r	h	V
0.300			0.290			0.300		
0.265	1.05	0.26	0.245	0.85	0.19	0.245	0.68	0.16
0.030	0.94	0.08	0.030	0.86	0.06	0.035	0.96	0.07
Общий объем		0.34			0.25			0.23
		4			5			6
4 сечения ($h \sim 0.5$ мм)								
r	h	V	r	h	V	r	h	V
0.300			0.290			0.300		
0.290	0.53	0.14	0.285	0.36	0.09	0.275	0.34	0.09
0.265	0.52	0.13	0.245	0.49	0.12	0.245	0.34	0.08
0.225	0.54	0.10	0.215	0.44	0.07	0.200	0.53	0.08
0.030	0.40	0.02	0.030	0.42	0.02	0.035	0.43	0.02
Общий объем		0.39			0.30			0.28
20 сечений ($h = 90\text{—}100$ мкм)								
Общий объем		0.40			0.36			0.31

Примечание. ^a Номера образцов соответствуют номерам на рис. 1. Обозначения те же, что и в табл. 4.

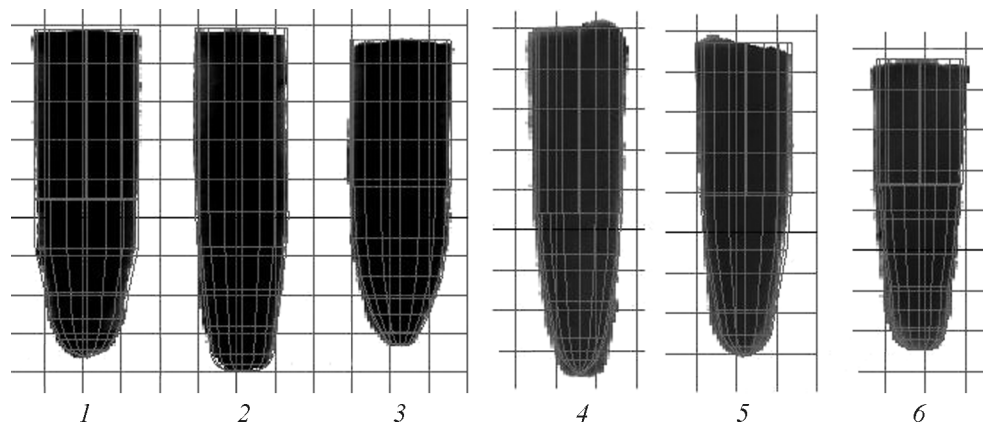


Рис. 2. Сетчатая 3-мерная модель апикальных частей корней в контроле и при фиксации (рис. 1). Метод сплайнов.

Цифры 1—6 соответствуют номерам образцов на рис. 1, а также в табл. 4 и 5.

4. Измерение площади профиля и длины его периметра. Измерения площади профиля образца ткани (и длины периметра профиля) можно проводить с помощью ручной или автоматической трассировки (границ) (соответственно программы ImageTool и AnalySIS FIVE). Обе программы автоматически рассчитывают площадь профиля и длину его периметра. Результаты соответствующих измерений представлены в табл. 3.

Ручная трассировка границ профиля корней более трудоемкая по сравнению с автоматической. Ошибка определения границ при ручной трассировке зависит от опыта работы исследователя с графическими редакторами. В целом результаты, полученные обоими методами, сравнимы.

5. Расчет объемов образцов ткани по геометрическим формулам. Апикальная часть корней представляет цилиндрическую структуру с осевой симметрией. Диаметр корней постепенно уменьшается к кончику корня. Такая морфология допускает в качестве геометрического примитива апикальной части корня использовать усеченный конус. На рис. 1 показаны профили 3 апексов корней в норме (слева) и при фиксации (спра-

ва). Линии сечений нанесены через ~90—100 мкм. Были измерены диаметры верхней и нижней границ каждого из 20 сечений, указанных на рис. 1, и объемы каждого сечения рассчитаны по формуле $V = 1/3 \pi h (r_1^2 + r_1r_2 + r_2^2)$, где h — высота усеченного конуса (100 мкм), r_1 и r_2 — радиусы верхней и нижней границ сечения. Затем объемы всех сечений суммировали для получения объема всего образца корня.

Естественно, что увеличение числа разбиений цифрового изображения образца ткани приведет к более точному определению общего объема. Результаты расчета объема корней при 2, 4 и 20 разбиениях изображения приведены в табл. 4 (контроль) и 5 (фиксация). Из данных табл. 4 и 5 видно, что увеличение числа разбиений геометрической модели сечений приводит к более точному определению общего объема образцов корней.

6. Построение 3-D-моделей образцов ткани. Вначале в программу 3D Studio Max 5.0. вводят 2-мерное изображение профиля образца ткани, затем это изображение преобразовывают в 3-мерную модель. Одновременно вводят размерную шкалу при том же увеличении МБС-10 (размерная шкала микрометра проходящего света) и проводят калибровку программы, что позволяет получать количественные данные об объеме и площади поверхности образца ткани. Для построения объемных моделей апекса корней использовали два ме-

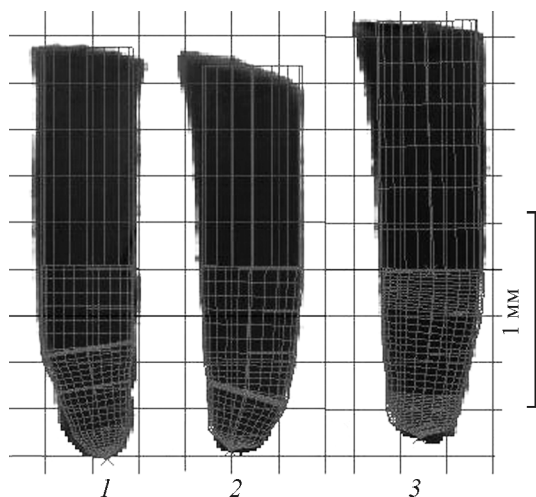


Рис. 3. Сетчатая 3-мерная модель апикальных частей корней с искривленным кончиком (контроль). Метод лофтинга.

1—3 — номера образцов.

Таблица 6

Объемы апикальных частей корней, полученные при расчете по формулам (рис. 1) и при 3-мерном моделировании (рис. 2)

Номер	Расчетный объем, ^a мм ³	3-мерное моделирование, мм ³
Контроль (вода)		
1	0.56	0.53
2	0.43	0.43
3	0.51	0.43
Фиксатор Кларка		
4	0.40	0.31
5	0.36	0.31
6	0.31	0.25

Примечание. ^a Объем рассчитан по формуле усеченного конуса при разбиении на 20 сечений (см. табл. 4 и 5).

тогда: построение моделей методом сплайнов в случае, когда апекс корня имел вертикальную ось симметрии (рис. 2), и методом лофтинга в случае, когда в образце ткани нарушена осевая симметрия, например имеет место отклонение кончика апекса корня от оси симметрии (рис. 3).

В табл. 6 приведены данные об объеме апикальных частей корней, полученные при расчете по формулам (табл. 4, 5) и при 3-мерном моделировании.

Для определения точности 3-мерных моделей были изготовлены эталоны-цилиндры из нержавеющей стали длиной 2.84 ± 0.02 мкм и радиусом (в середине эталона) 0.26 ± 0.01 мкм. Объем и площадь поверхности эталонов, рассчитанные по формулам цилиндра, равны соответственно 0.60 ± 0.02 мм³ и 4.64 ± 0.05 мм² ($n = 10$). Объем и площадь поверхности эталонов, рассчитанные на 3-мерных моделях эталонов равны соответственно 0.57 ± 0.01 мм³ и 4.57 ± 0.06 мм². Таким образом, точность определения объема и площади поверхности 3-мерных моделей не выходит за пределы 1 %.

Обсуждение

Анализ 2-мерных параметров образцов ткани показал, что измерение длины и ширины изображений образцов тканей в норме и в динамике действия деформирующего фактора позволяют рассчитать коэффициенты продольной и поперечной деформации. Методы 2-мерного морфометрического анализа широко используются в фундаментальной и практической цитологии и цитопатологии при изучении клеток, ультраструктурных компонентов клеток и др. на уровне светового и электронного микроскопов (Ташкэ, 1980; Автандилов, 1996).

Наиболее сложно применять стереометрические методы для морфометрического анализа объемных параметров клеток и тканевых образцов в норме и при разных воздействиях. Общие проблемы стереометрии обсуждаются в ряде специальных руководств (см.: Underwood, 1970). Трудности определения объемных деформаций биологической ткани с использованием разных методов экспериментальной физики и микроскопии детально проанализированы в диссертации Гоголинского (2015). Ранее мы использовали стандартные программы для 3-мерной реконструкции клеток нервной системы моллюсков (Budantsev, Yakovlev, 2000; Буданцев, Яковлев, 2002) и специальные программы для анализа объемных моделей анатомических структур и клеток (Буданцев, 2009). Но в обоих случаях использовали фиксированные ткани и серийные срезы, что не позволяет оценить деформации нативной ткани и клеток. Аналогичные ограничения препятствуют использованию конфокальной и силовой микроскопии в изучении деформации тканей (Гоголинский, 2015).

Разработанный нами протокол анализа цифровых изображений с помощью программы 3D Studio Max, позволяет получить 3-мерные модели исходной нативной ткани, получить объемные параметры ткани и проследить динамику деформации клеток и тканей под действием разных химических и физических факторов. Таким образом, открывается возможность изучать деформации тканей в ходе всех процедур гистологического процессинга. Необходимо отметить, что программа 3D Studio Max позволяет создавать 3-мерные модели биологических структур любой сложности. В этой программе имеется ряд приемов для редактирования моделей на уровне

сплайнов и сетчатых оболочек (Пекарев, 2003), что позволяет максимально приблизить форму 3-мерной модели к форме изучаемого образца ткани и клеток.

Среди биологических тканей и мелких органов часто встречаются образцы, обладающие осевой симметрией: корни и стебли растений, части цветка, волоски, опорные органы растений, например усики гороха, ряд тканей и органов животных, например сосуды, мышцы, фрагменты кишечника мелких животных. Методы, описанные выше, могут быть использованы для создания 3-мерных моделей таких органов и тканей.

Список литературы

- Автандилов Г. Г. 1996. Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистоцитопатологии. М.: РМАПО. 256 с. (Avtandilov G. G. 1996. The computerized microtelephotometry in diagnostic histocytopathology. Moscow: Russian Academy for Postgraduate Education. 256 p.)
- Барыкина Р. П., Веселова Т. Д., Девятков А. Г., Джалилова Х. Х., Ильина Г. М., Чубатова Н. В. 2004. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: МГУ. 311 с. (Barykina R. P., Veselova T. D., Devyatov A. G., Djalilova Kh. Kh., Ilyina G. M., Chubatova N. V. 2004. Handbook for botanical microtechnic. Moscow: Moscow Univ. Publ. 311 p.)
- Буданцев А. Ю. 2009. Объемная реконструкция анатомических структур мозга. Журнал высшей нервной деятельности. 59 (1): 97—100. (Budantsev A. Yu. 2009. 3-D reconstruction of brain anatomical structures. J. Vischej Nervous Deyatelnosti. 59 (1): 97—100.)
- Буданцев А. Ю. 2011. Изменение морфологии растительных клеток при действии спирт-формалинового фиксатора. Фундаментальные исследования. 9 (1): 130—134. (Budantsev A. Yu. 2011. Change of morphology plant cells at alcohol-formaldehyde. Fundamental researches. 9 (1): 130—134.)
- Буданцев А. Ю. 2015. Гистологический процессинг. М.: Наука. 132 с. (Budantsev A. Yu. 2015. Histological processing. Moscow: Nauka. 132 p.)
- Буданцев А. Ю., Яковлев Ю. Ю. 2002. «Позиционные» маркеры серийных срезов ткани для трехмерной компьютерной реконструкции. Морфология. 121 (1): 92—94. (Budantsev A. Yu., Yakovlev Yu. Yu. 2002. «Position» markers of strial section for 3-D reconstruction. Morfology. 121 (1): 92—94.)
- Гоголинский К. В. 2015. Средства и методы контроля геометрических параметров и механических свойств твердых тел с микро- и нанометровым пространственным разрешением: Дис. ... доктора технических наук. СПб. 264 с. (Gogolinski K. V. 2015. Apparates and control methods for geometric and mechanical parameters of solid materials with micro- and nanometric dimensions. Doctor Diss. St. Petersburg. 256 p.)
- Дженсен У. 1965. Ботаническая гистохимия. М.: Мир. 377 с. (Jensen W. A. 1965. Botanical histochemistry. Moscow: Mir. 377 p.)
- Паушева З. П. 1988. Практикум по цитологии растений. 4-е изд. М.: ВО Агрпроимиздат. 271 с. (Pausheva Z. P. 1988. Handbook at plant cytology. 4th Ed. Moscow: Agropromizdat. 271 p.)
- Пекарев Л. Д. 2003. Описание программы 3ds Studio Max 5.0. СПб.: БХВ-Петербург. 336 с. (Pekarev L. D. 2003. Handbook of 3Ds Studio Max 5.0 D. St. Petersburg: BHV Publ. 336 p.)
- Пирс Э. 1962. Гистохимия. М.: Мир. 962 с. (Pearse A. G. E. 1962. Histochemistry. Moscow: Mir. 962 p.)
- Прозина М. Н. 1960. Ботаническая микротехника. М.: Высшая школа. 206 с. (Prozina M. N. 1960. Botanical microtechnic. Moscow: Vishaya Schkola. 206 p.)
- Ташкэ К. 1980. Введение в количественную цито- и гистологическую морфологию. Бухарест: Изд-во Академии Социалистической Республики Румыния. 192 с. (Tesca C. 1980. Intro-

ducere in morfologia cantitativa citohistologica. Bucuresti: Ed. Academiei RSR. 191 p.)

Фурст Г. Г. 1979. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М.: Наука. 155 с. (*Furst G. G. 1979.* Methods for anatomic-histochemical researches of plant tissues. Moscow: Nauka. 155 p.)

Хиллман Г. 1975. Определенность и неопределенность в биохимических методах. М.: Мир. 156 с. (*Hillman H. 1975.* Certainty and uncertainty in biochemical techniques. Moscow: Mir. 156 p.)

Baker J. 1958. Principles of biological microtechnique. A study of fixation and dyeing. London: Methium and Co LTD; New York: Jonh Wiley and Sons Inc. 357 p.

Budantsev A. Yu., Jakovlev Y. Y. 2000. 3-D reconstruction of biological objects: the potencial of standard computer programs. *Microscopy and Ananalysis.* 67 : 29—31.

Jensen W. A., Kavaljian L. G. 1958. An analysis of cell morphology and the periodicity of division in the root tip of *Allium cepa*. *Amer. J. Bot.* 45 : 365—372.

O'Brien T. P., McCully M. E. 1981. The study of plant structure principles and selected methods. Melburn, Australia: Termarcarphi Pty. Ltd. 390 p.

Underwood E. 1970. Quantitative stereology. London: Wesley Publ. Comp. 274 p.

Поступила 13 XII 2016

DEFORMATIONS DURING HISTOLOGICAL TISSUE PROCESSING. I. METHODS FOR MORPHOMETRIC ANALYSIS OF DEFORMATIONS

A. Yu. Budantsev, A. Yu. Demyanov

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino, 142290;
e-mail: budantsev@mail.ru

Protocol of micrometric assays of tissue deformation in dynamic actions of various physical and chemical conditions developed for histological processing. The methods include obtaining digital images of tissue, and subsequent image analysis using the program for 2-D and 3-D graphics. Developed a set of techniques allows you to calculate the relative coefficients of the longitudinal, transverse and volumetric deformations of tissues during histological processing.

Key words: native tissue, histological processing, deformation of tissue, coefficients of longitudinal, transverse and volumetric deformations, chemical fixation.