

Алиев Олег Ибрагимович, докт. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Адрес: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.

E-mail: oal67@yandex.ru.

Анищенко Анна Марковна, докт. мед. наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Адрес: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.

E-mail: nuska-80@mail.ru.

Шаманаев Александр Юрьевич, младший научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Адрес: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.

E-mail: sham_man@mail.ru.

Федорова Елена Павловна, канд. мед. наук, научный сотрудник отдела лекарственной токсикологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Адрес: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.

E-mail: fedorova-elen@mail.ru.

Плотников Марк Борисович, докт. биол. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий лабораторией фармакологии кровообращения НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Адрес: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.

E-mail: mbp2001@mail.ru.

УДК 611.61.018:57.045

ДИНАМИКА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОЧЕК ПРИ ОБЩЕМ ПЕРЕОХЛАЖДЕНИИ ОРГАНИЗМА

Ю.А. Арбыкин¹, Ф.В. Алябьев¹, В.Э. Янковский², Т.А. Агеева³, А.С. Полякевич³

¹Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск

²Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Алтайский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Барнаул

³Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Новосибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

E-mail: alfedval@mail.ru

THE DYNAMICS OF THE ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE KIDNEY IN GENERAL HYPOTHERMIA

Yu.A. Arbykin¹, F.V. Alyabyev¹, V.E. Yankovskiy², T.A. Ageeva³, A.S. Poliakevich³

¹Siberian State Medical University, Tomsk

²Altai State Medical University, Barnaul

³Novosibirsk State Medical University

В статье представлены результаты изучения ультраструктурных изменений почек в динамике несмертельной общей гипотермии в эксперименте. Установлено, что ультраструктурные изменения почек при общем воздействии низкой температуры $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ минимальны, при воздействии температуры $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ – выражены в большей мере и отражают снижение функциональной активности канальцевого аппарата почек.

Ключевые слова: общее переохлаждение организма, почки, ультраструктура.

The article presents the results of the study of ultrastructural changes of the kidneys in the dynamics of total non-fatal hypothermia in the experiment. Data showed minimal ultrastructural changes in the kidneys in the presence of systemic hypothermia at $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ and more pronounced changes at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. The ultrastructural changes in the kidneys suggested the decline in functional activity of the renal tubular apparatus in the presence of hypothermia.

Key words: general hypothermia, kidney, ultrastructure.

Введение

Морфологические изменения некоторых высоко реактивных органов при воздействии внешних экстремальных факторов, в том числе алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма, достаточно

подробно освещены в ряде работ последних лет [1–6]. В некоторых случаях на основе морфологических изменений внутренних органов разработаны методы дифференциальной диагностики непосредственной причины смерти при одновременном воздействии на организм нескольких внешних воздействий, каждое из которых могло

явиться летальным [2, 6]. Однако при этом из виду упускается, что внешние факторы экстремальной силы свое потенциальное танатогенное воздействие могли начать не одновременно, а в определенной заранее неизвестной последовательности с неизвестным временным интервалом между началом действия каждого из стрессоров [2, 5]. В связи с этим актуальным является изучение динамики морфологических изменений высоко реактогенных органов при моновоздействии внешних факторов различной силы. Морфологические изменения почек при общем переохлаждении организма, зарегистрированные на светооптическом уровне, описаны достаточно хорошо. А динамика ультраструктурных изменений различных зон почек при общей гипотермии остается не изученной.

Материал и методы

Для оценки ультраструктурных изменений почек в динамике общей гипотермии проведено экспериментальное исследование. Объектом исследования явились половозрелые (в возрасте 3 мес.) беспородные белые крысы-самцы массой 250–280 г ($n=40$). Животных содержали в клетках с опилками по 5 особей в лаборатории кафедры судебной медицины с курсом токсикологической химии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России при температуре $+20...+22$ °С при свободном доступе к воде и пище, одинаковой для всех крыс. Контрольную группу составили 5 интактных крыс-самцов.

Эксперимент проведен в осенний период с 2012 по 2015 гг. За сутки до эксперимента животных лишали пищи. Для изучения общей гипотермии животных помещали в клетки на открытый воздух.

Время начала воздействий в каждой серии эксперимента составляло 9 ч 00 мин. В первой серии экспериментов крыс ($n=20$) подвергали охлаждению при температуре окружающей среды $-10...-12$ °С путем помещения клетки с животными на открытый воздух на срок 1, 3, 5, 7 ч, после чего животных выводили из эксперимента. Во второй серии крыс ($n=20$) подвергали охлаждению при температуре окружающей среды $-18...-20$ °С с теми же временными интервалами наблюдения.

Крыс выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. При вскрытии органы выделялись единым органомплексом, после чего отпрепаровывали почки, одну из которых (левую) фиксировали для последующей световой микроскопии в 10%-м растворе нейтрального формалина, а другую (правую) для электронной микроскопии фиксировали в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на какодилатном буфере pH 7,4, постфиксировали в 1%-й четырехокиси осмия, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-аралдит. Срезы готовили на ультратоме LKB-III. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Полутолстые срезы окрашивали толуидиновым синим.

Электронная микроскопия проводилась на микроскопе “JEM-100 СХП” (“JEO”, Япония) с апертурной диафрагмой 25–30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ.

На электронограммах оценено состояние клубочкового и канальцевого аппарата почек. Измерена толщина

цитоподий в подоцитах, подсчитана доля клеток с пикнотичными ядрами в мезангиоцитах, эпителии проксимальных и дистальных канальцев, методом точечного счета определены удельный объем ядра и митохондрий, удельный объем ядрышка ядер нефроцитов проксимальных и дистальных канальцев.

Статистическая обработка результатов была проведена с использованием пакета программ STATISTICA 6.0 с вычислением для каждой выборки следующих параметров: среднее арифметическое (M) и ошибка среднего арифметического (m). Данные, полученные на экспериментальном материале, обработаны с помощью тестов Вилкоксона и Манна–Уитни. Статистически значимыми результаты считались при $p<0,05$, о выраженной тенденции судили при $p<0,1$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного в ходе эксперимента микроскопического исследования были получены следующие результаты. В динамике общего переохлаждения организма, вызванного воздействием низкой температуры -10 °С, статистически значимых изменений ультраструктурных компонентов клубочкового и канальцевого аппарата не зарегистрировано на протяжении всех 7 ч наблюдения (табл. 1). Отмечается лишь выраженная тенденция уменьшения удельного объема ядер нефроцитов проксимальных канальцев к 7-му ч непрерывного воздействия холода. В то же время при действии более сильного стрессора – низкой температуры -18 °С статистически значимые ультраструктурные изменения регистрируются уже через 1 ч от начала воздействия (табл. 2), увеличивается количество нефроцитов проксимальных канальцев с пикнотичными ядрами, причем это увеличение возрастает в каждой последующей контрольной точке. Через 3 ч воздействия увеличенным по сравнению с контролем является и количество мезангиоцитов с пикнотичными ядрами и нефроцитов дистальных канальцев, увеличение возрастает с увеличением длительности воздействия.

Через 5 ч воздействия появляется выраженная тенденция увеличения толщины ножек подоцитов, а к 7-му ч наблюдения различия становятся статистически значимыми (табл. 2).

Таким образом, полученные в результате экспериментального исследования данные свидетельствуют о том, что ультраструктурные изменения почек при несмертельной гипотермии развиваются лишь при гипотермии, вызванной воздействием низкой атмосферной температуры -18 °С и проявляются в увеличении количества мезангиоцитов с пикнотичными ядрами, количества нефроцитов проксимальных и дистальных канальцев с пикнотичными ядрами в динамике семичасового периода наблюдения, а также в утолщении ножек подоцитов к концу наблюдения. Эти изменения можно расценивать как нарастающее снижение функциональной активности канальцевого аппарата почек при общем воздействии низкой атмосферной температуры -18 °С. При воздействии низкой атмосферной температуры -10 °С в течение 7 ч значимые ультраструктурные изменения почек не развиваются.

Таблица 1

Ультраструктурные изменения в ткани почек в динамике общего переохлаждения при температуре воздуха -10°C

Исследуемые параметры	Длительность воздействия				
	Контроль n=5	1 ч n=5	3 ч n=5	5 ч n=5	7 ч n=5
Количество мезангиоцитов с пикнотичными ядрами, %, $M\pm m$	3,7 \pm 0,6	4,1 \pm 0,5 p=0,91	3,9 \pm 0,5 p=0,93	4,1 \pm 0,5 p=0,89	4,3 \pm 0,6 p=0,75
Количество нефроцитов с пикнотичными ядрами в проксимальных канальцах, %, $M\pm m$	3,9 \pm 0,4	3,9 \pm 0,5 p=0,99	4,1 \pm 0,5 p=0,94	4,1 \pm 0,5 p=0,94	4,2 \pm 0,5 p=0,92
Количество нефроцитов с пикнотичными ядрами в дистальных канальцах, %, $M\pm m$	3,8 \pm 0,7	4,3 \pm 0,6 p=0,75	4,0 \pm 0,5 p=0,97	4,2 \pm 0,5 p=0,92	4,0 \pm 0,5 p=0,97
Толщина цитоподий подоцитов, мкм	0,30 \pm 0,02	0,31 \pm 0,04 p=0,92	0,32 \pm 0,04 p=0,91	0,32 \pm 0,04 p=0,91	0,33 \pm 0,03 p=0,76
Объемная доля митохондрий в цитоплазме нефроцитов проксимальных канальцев, %, $M\pm m$	15,4 \pm 1,1	15,9 \pm 1,5 p=0,96	16,3 \pm 1,2 p=0,94	16,9 \pm 1,1 p=0,92	17,4 \pm 1,3 p=0,91
Объемная доля митохондрий в цитоплазме нефроцитов дистальных канальцев, %, $M\pm m$	13,9 \pm 1,3	14,9 \pm 1,5 p=0,66	15,3 \pm 1,2 p=0,61	14,9 \pm 1,3 p=0,87	15,4 \pm 1,5 p=0,71
Удельный объем ядра нефроцитов проксимальных канальцев, %, $M\pm m$	21,2 \pm 1,2	21,4 \pm 1,3 p=0,99	20,8 \pm 1,13 p=0,98	20,1 \pm 1,5 p=0,9	19,1 \pm 1,27 p=0,09
Удельный объем ядра нефроцитов дистальных канальцев, %, $M\pm m$	39,7 \pm 1,6	37,9 \pm 1,9 p=0,89	40,1 \pm 1,2 p=0,95	39,3 \pm 1,9 p=0,94	39,9 \pm 1,1 p=0,96
Удельный объем ядрышек ядер нефроцитов проксимальных канальцев, %, $M\pm m$	1,22 \pm 0,19	1,23 \pm 0,11 p=0,99	1,23 \pm 0,15 p=0,99	1,24 \pm 0,18 p=0,99	1,25 \pm 0,12 p=0,98
Удельный объем ядрышек ядер нефроцитов дистальных канальцев, %, $M\pm m$	1,31 \pm 0,19	1,33 \pm 0,11 p=0,98	1,29 \pm 0,11 p=0,98	1,28 \pm 0,18 p=0,97	1,21 \pm 0,11 p=0,24

Таблица 2

Ультраструктурные изменения в ткани почек в динамике общего переохлаждения при температуре воздуха -18°C

Исследуемые параметры	Длительность воздействия				
	Контроль n=5	1 ч n=5	3 ч n=5	5 ч n=5	7 ч n=5
Количество мезангиоцитов с пикнотичными ядрами, %, $M\pm m$	3,7 \pm 0,6	3,1 \pm 1,2 p=0,18	8,2 \pm 1,3 p=0,01	9,3 \pm 1,2 p=0,01	11,4 \pm 1,4 p=0,01
Количество нефроцитов с пикнотичными ядрами в проксимальных канальцах, %, $M\pm m$	3,9 \pm 0,4	4,9 \pm 0,5 p=0,05	5,1 \pm 0,5 p=0,02	6,1 \pm 0,5 p=0,01	7,2 \pm 0,5 p=0,01
Количество нефроцитов с пикнотичными ядрами в дистальных канальцах, %, $M\pm m$	3,8 \pm 0,7	4,8 \pm 0,6 p=0,25	5,1 \pm 0,5 p=0,07	6,2 \pm 0,5 p=0,02	6,4 \pm 0,5 p=0,01
Толщина цитоподий подоцитов, мкм	0,30 \pm 0,02	0,32 \pm 0,02 p=0,34	0,33 \pm 0,02 p=0,11	0,33 \pm 0,01 p=0,07	0,35 \pm 0,02 p=0,02
Объемная доля митохондрий в цитоплазме нефроцитов проксимальных канальцев, %, $M\pm m$	15,4 \pm 1,1	15,7 \pm 1,4 p=0,98	15,9 \pm 0,9 p=0,92	15,4 \pm 1,2 p=0,99	16,5 \pm 1,1 p=0,09
Объемная доля митохондрий в цитоплазме нефроцитов дистальных канальцев, %, $M\pm m$	13,9 \pm 1,3	14,1 \pm 1,5 p=0,97	15,9 \pm 1,3 p=0,21	14,2 \pm 1,1 p=0,87	15,1 \pm 1,1 p=0,79
Удельный объем ядра нефроцитов проксимальных канальцев, %, $M\pm m$	21,2 \pm 1,2	21,4 \pm 1,3 p=0,99	20,8 \pm 1,13 p=0,98	20,1 \pm 1,5 p=0,9	19,1 \pm 1,27 p=0,09
Удельный объем ядра нефроцитов дистальных канальцев, %, $M\pm m$	39,7 \pm 1,6	37,9 \pm 1,9 p=0,89	40,1 \pm 1,2 p=0,95	39,3 \pm 1,9 p=0,94	39,9 \pm 1,1 p=0,96
Удельный объем ядрышек ядер нефроцитов проксимальных канальцев, %, $M\pm m$	1,22 \pm 0,19	1,24 \pm 0,13 p=0,95	1,29 \pm 0,19 p=0,91	1,3 \pm 0,17 p=0,87	1,39 \pm 0,18 p=0,21
Удельный объем ядрышек ядер нефроцитов дистальных канальцев, %, $M\pm m$	1,31 \pm 0,19	1,36 \pm 0,10 p=0,98	1,27 \pm 0,09 p=0,88	1,28 \pm 0,08 p=0,91	1,21 \pm 0,08 p=0,16

Литература

1. Алябьев Ф.В., Падеров Ю.М., Шамарин Ю.А. Использование морфофункциональной оценки реакции надпочечников человека в судебно-медицинской диагностике некоторых видов смерти // Проблемы экспертизы в медицине. – 2001. – № 4. – С. 8–11.
2. Алябьев Ф.В., Парфирьева А.М., Логвинов С.В., Климачевский А.А. Морфология надпочечников при смертельной гипотермии на фоне алкогольной интоксикации // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 4. – С. 8–9.
3. Алябьев Ф.В., Парфирьева А.М., Логвинов С.В. Морфометрические показатели надпочечников крыс в динамике общей гипотермии // Морфология. – 2007. – Т. 132, № 6. – С. 52–56.
4. Алябьев Ф.В., Крахмаль Н.В., Арбыкин Ю.А. и др. Морфофункциональные изменения внутренних органов и некоторых биохимических показателей в динамике острой алкогольной интоксикации // Сибирский медицинский журнал (Томск). – 2012. – Т. 27, № 3. – С. 127–130.
5. Алябьев Ф.В., Логвинов С.В., Парфирьева А.М., Климачевский А.А. Особенности строения коры надпочечников в динамике общей гипотермии и алкогольной интоксикации // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 5. – С. 24.
6. Алябьев Ф.В., Падеров Ю.М., Захарова Е.В., Зудова Е.Е. Способ дифференциальной диагностики смерти от общего

охлаждения организма и несовместимой с жизнью механической травмы : патент на изобретение № 2259806 от 10 сентября 2005 года; приоритет от 05.02.2004.

Поступила 08.09.2015

Сведения об авторах

Арбыкин Юрий Алексеевич, аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, заведующий отделом судебно-медицинской экспертизы и исследования трупов ГУЗ “Бюро судебно-медицинской экспертизы Минздрава Республика Саха (Якутия)”.

Адрес: 677007, г. Якутск, ул. Красноярова, 22.

E.mail: 270482@mail.ru.

Алябьев Федор Валерьевич, докт. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой судебной медицины с курсом токсикологической химии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

Адрес: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

E.mail: alfedval@mail.ru.

Янковский Владимир Эдуардович, докт. мед. наук, профессор кафедры судебной медицины с основами права ГБОУ ВПО “Алтайский государственный медицинский университет” Минздрава России.

Адрес: 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.

E.mail: yankovskiy-sme@yandex.ru.

Агеева Татьяна Августовна, докт. мед. наук, профессор кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО “Новосибирский государственный медицинский университет” Минздрава России.

Адрес: 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52.

E.mail: ageta@mail.ru.

Полякевич Алексей Станиславович, докт. мед. наук, доцент кафедры госпитальной и детской хирургии ГБОУ ВПО “Новосибирский государственный медицинский университет” Минздрава России.

Адрес: 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52.

E.mail: randorier@mail.ru.