

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.1/4-001.18-06-008:57.033

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ И НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ДИНАМИКЕ ОБЩЕГО ПЕРЕОХЛАЖДЕНИЯ ОРГАНИЗМА

Ф.В. Алябьев, Ю.А. Арбыкин, Т.В. Серебров, Т.Р. Яушев, Р.Н. Вогнерубов,
С.Ю. Мельникова, С.В. Воронков, С.В. Логвинов

ГБОУ ВПО "Сибирский государственный медицинский университет" Минздрава России, Томск
E-mail: alfedval@mail.ru

THE MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN INTERNAL ORGANS AND BIOCHEMICAL INDICATORS DURING WHOLE-BODY HYPOTHERMIA

E.V. Alyabyev, Yu.A. Arbykin, S.V. Logvinov, T.V. Serebrov, T.R. Yaushev, R.N. Vognerubov, S.Yu. Melnikova, S.V. Voronkov

Siberian State Medical University, Tomsk

Статья посвящена изучению изменений морфофункционального состояния внутренних органов крыс и некоторых биохимических показателей, полученных в ходе экспериментального исследования. В течение 8 ч от начала воздействия низкой температуры проводилась оценка морфологических критериев в головном мозге, печени и почках с интервалом в 60 мин. Установлено, что наличие и выраженность патоморфологических изменений в исследуемых органах и значения определенных биохимических показателей при несмертельной гипотермии в большей степени зависят от времени воздействия на организм низкой атмосферной температуры, чем от самой температуры. Морфологические изменения исследуемых органов, свидетельствующие о вовлечении их в адаптивную реакцию организма на холод, развиваются параллельно и взаимосвязанно, но не синхронно.

Ключевые слова: морфологические изменения головного мозга, печени, почек, острая алкогольная интоксикация.

The article presents experimental study of whole-body hypothermia-induced changes in the morphofunctional status of internal organs and certain biochemical parameters in rats. The assessments of the morphological indicators in the brain, liver, and kidneys were performed every 60 min during eight hours after the beginning of the low temperature exposure. Data showed that the presence and severity of the pathomorphological changes in the internal organs as well as the values of certain biochemical parameters in non-lethal hypothermia depended on the duration of the exposure to low temperatures more than on the temperature itself. The morphological changes in the examined organs indicative of their involvement in the adaptive responses of body to cold were interrelated and developed in parallel, but not simultaneously.

Key words: morphological changes, brain, liver, kidneys, whole-body hypothermia.

Введение

Исследованию морфофункциональных изменений высоко реактогенных органов при внешних экстремальных воздействиях на организм посвящен ряд работ последних лет [1–8, 10–13]. Среди внешних факторов наибольший интерес исследователей представляют алкогольная интоксикация и общее переохлаждение организма [13–17]. Подробно описано изменение морфологии надпочечников при изолированном и комбинированном воздействии данных стрессоров [1–8, 10, 12]. Морфологические изменения надпочечных желез положены в основу дифференциальной диагностики причины смерти

при одновременном действии на организм алкогольной интоксикации и низкой атмосферной температуры [6]. В то время как изучению морфологии внутренних органов при смертельном действии экстремальных стрессоров уделяется большое внимание [11], морфология органов при несмертельных воздействиях остается изученной не до конца. Имеются общие описания изменений печени, почек, головного мозга, а также некоторых биохимических показателей крови в динамике несмертельной алкогольной интоксикации [4], в то же время динамика морфологических изменений этих органов при несмертельной гипотермии остается не описанной.

Цель: изучить динамику морфологических изменений печени, почек, головного мозга, а также некоторых биохимических показателей крови при несмертельном переохлаждении организма.

Материал и методы

Объектом исследования явились половозрелые беспородные белые крысы-самцы массой 250–280 г ($n=80$). 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 $+20-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ при свободном доступе к воде и пище, одинаковой для всех крыс. Контрольную группу составили 5 интактных крыс-самцов.

Эксперимент проведен в осенне-зимний период с 2011 по 2014 гг. За сутки до эксперимента животных лишили пищи.

Для изучения действия низкой атмосферной температуры животных подвергали экспозиции холода в клетках по 2–3 особи на открытом воздухе при температуре -10 и $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Крыс выводили из эксперимента в течение 8 ч с интервалом 1 ч путем декапитации под эфирным наркозом. При вскрытии органы выделяли единым комплексом с последующим взвешиванием каждого органа и визуальной оценкой их состояния. В момент декапитации производили забор крови в стерильные герметично упакованные пенициллиновые флаконы с добавлением 2 капель гепарина.

Фотометрическим методом на приборе КФК 3-01 проведено определение концентрации глюкозы, мочевины и креатинина цельной крови с помощью тест-системы Ольвокс и гликогена в ткани печени.

Материалом для гистологического исследования послужили фрагменты внутренних органов (печень, почки, левая теменная доля головного мозга), изъятые при вскрытии у экспериментальных животных. Фрагменты фиксировали в нейтральном 10% формалине, осуществляли стандартную парафиновую проводку с последующей окраской полученных срезов гематоксилином и эозином, ткани головного мозга по Нисслию, микроскопическое исследование проводилось на стандартном бинокулярном микроскопе Karl Zeiss "Axiolab A1".

При оценке морфологических изменений печени нами учитывались такие критерии, как степень дистрофических изменений в гепатоцитах, выраженность липофуциноза, выраженность некроза, очаговой и диффузной инфильтрации, степень кровенаполнения сосудов, наличие желчных пигментов, выраженность фиброза и холестаза, размеры ядер гепатоцитов и ядерно-цитоплазматическое соотношение в гепатоцитах трех зон ацинуса.

При оценке морфологических изменений почек учитывались такие параметры, как нейтрофильная, моно- и лимфоцитарная инфильтрация мезангия, лимфоцитарная инфильтрация боуеновой капсулы, фиброз. При исследовании канальцев оценивались выраженность дистрофических и некротических изменений. При оценке состояния интерстиция учитывались наличие и выраженность очаговой и диффузной лейкоцитарной инфильтрации,

кровеоизлияний, степень кровенаполнения капилляров межканальцевой сети коркового и мозгового вещества.

Морфометрическое исследование проведено путем измерения размеров ядер и ядерно-цитоплазматического соотношения в гепатоцитах трех зон ацинуса, в эпителиоцитах проксимальных и дистальных канальцев почек.

При оценке морфологических изменений коры головного мозга учитывались такие критерии, как выраженность отека ткани и дистрофических изменений нейронов, степень кровенаполнения кровеносных сосудов, наличие и степень выраженности диapedезных кровоизлияний, а также мононуклеарной инфильтрации, количество хроматолитических и пикноморфных нейронов.

Оценка каждого морфологического признака проводилась в соответствии с 4-балльной системой [9].

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, корреляционного анализа по Спирмену. Статистически значимыми результаты считались при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Общее переохлаждение организма при температуре -10 и $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ приводит к морфологическим изменениям, отражающим повышение функциональной активности печени. Это проявляется в виде высокой степени кровенаполнения сосудов, а также в виде увеличения размеров ядер и ядерно-цитоплазматического соотношения в гепатоцитах трех зон ацинуса. Статистически значимые изменения регистрируются уже через 1 ч от начала воздействия. Общее переохлаждение организма, при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ приводит к развитию дистрофических изменений в гепатоцитах (наличие липофуциноза, усиление распространенности липофуциноза) через 6 ч от начала экспозиции холода. Диффузная лимфоцитарная инфильтрация различных зон ацинуса печени выражена слабо вне зависимости от температуры воздействия, а признаки явлений холестаза ни в одном случае не зарегистрированы.

Результаты нашего исследования также показали, что в динамике общей гипотермии гепатоциты разных зон ацинуса печени в ответную реакцию вступают не синхронно. Клетки паренхимы печени с двумя ядрами при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ выявлялись преимущественно в центролобулярной зоне ацинуса, при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ – в центролобулярной и промежуточной зонах ацинуса. Повышение функциональной нагрузки печени при общей гипотермии у экспериментальных животных ведет к образованию единичных мелких гранул липофуциноза в периферических зонах цитоплазмы гепатоцитов, в сравнении с контрольной группой. Но экспериментальные группы отличаются по времени регистрации наличия гранул липофуциноза: при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ липофу-

циноз регистрируется к 6 ч экспозиции, а при температуре -18°C – к 4 ч. Первые гранулы липофусцина появляются перинуклеарно в зоне наиболее активно протекающих обменных процессов. При экспозиции холода при температуре -10 и -18°C выявлена статистически значимая положительная корреляционная взаимосвязь распространенности липофусцина и выраженности кровенаполнения печени ($r=0,44$ и $0,47$ соответственно; $p<0,05$).

Исчезновение гликогена из ткани печени при температурах холодого воздействия -10 и -18°C начинается сразу после начала экспозиции, но если при температуре -10°C к окончанию срока наблюдения содержание гликогена в печени снижается в 2,5–3 раза по сравнению с исходным, то при температуре -18°C – практически до нулевых значений.

Установлено, что при снижении атмосферной температуры охлаждения морфологические проявления адаптивной реакции структурных элементов почек усиливаются. Это проявляется в более раннем и выраженном развитии дистрофических изменений клеток канальцев. Экспозиция холода при температуре -10°C характеризуется усилением кровенаполнения почек уже через 1 ч воздействия, увеличением размеров ядер и увеличением ядерно-цитоплазматического соотношения как в проксимальных, так и в дистальных канальцах. Лишь к 7-му ч воздействия в проксимальных канальцах появляется зернистость цитоплазмы эпителия. Экспозиция холода при температуре -18°C характеризуется уже через 1 ч воздействия усилением кровенаполнения всех структурных отделов почек, увеличением размеров ядер нефротелия и увеличением ядерно-цитоплазматического соотношения в них и в проксимальных и в дистальных канальцах. Зернистость цитоплазмы нефротелия проксимальных канальцев регистрируется через 5 ч воздействия. Каких-либо значимых изменений концентрации мочевины и креатинина в крови при несмертельном холодом воздействии в рамках проведенного эксперимента не выявлено.

При гистологическом изучении фрагментов головного мозга крыс более пристальное внимание уделялось исследованию коры, где было выявлено, что экспозиция холода при температуре -10 и -18°C не приводит к снижению количества нейроцитов во всех слоях коры при сравнении данного критерия с таковым у интактных животных. Хроматолитических и пикноморфных нейронов, отека головного мозга, выражающегося в появлении различных по размеру зон просветления вокруг клеток мозга и в периваскулярных областях, не зарегистрировано. Вне зависимости от температуры экспозиции максимальное кровенаполнение органа наблюдалось с 3-го по 8-й ч наблюдения.

При исследовании уровня глюкозы крови у экспериментальных животных было отмечено, что динамика изменения ее концентрации сходна при температуре -10 и -18°C и характеризуется статистически незначимым снижением через 1 ч наблюдения и подъемом со 2-го ч до конца наблюдения практически в 2 раза.

Таким образом, исходя из полученных в результате экспериментального исследования данных, следует, что

общее переохлаждение организма, вызванное экспозицией холода на открытом воздухе при температуре -10 и -18°C , приводит к развитию морфологических изменений в ткани печени, почек и головного мозга. Морфологические изменения этих органов сопровождаются изменением биохимических показателей крови, функционально характеризующих активную работу печени и почек, включенных в адаптивную реакцию организма на холод. Для несмертельного воздействия низкой атмосферной температуры на организм характерна большая зависимость морфологических изменений печени и почек от длительности воздействия, чем от уровня низкой температуры.

Литература

1. Алябьев Ф.В., Падеров Ю.М. Использование морфофункциональной оценки реакции надпочечников в качестве диагностического теста для определения ведущих танатологических факторов в случаях острого отравления этиловым спиртом, общего переохлаждения организма и механической травмы // Вестник Томского гос. ун-та. – 2004. – № 283. – С. 86–87.
2. Алябьев Ф.В., Парфирьева А.М., Логвинов С.В. и др. 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. и др. 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., Кладов С.Ю. Способ дифференциальной диагностики смерти от острого отравления этиловым спиртом, общего охлаждения организма или механической травмы. Патент на изобретение № 2259804 от 10 сентября 2005 года. Приоритет от 05.02.2004.
7. Алябьев Ф.В., Парфирьева А.М., Климачевский А.А. Сравнительная морфология надпочечников при отравлении этиловым алкоголем, общем переохлаждении организма и несовместимой с жизнью механической травме // Вестник Томского гос. ун-та. Бюллетень оперативной научной информации “Проблемы теории и практики судебной медицины”. – 2006. – № 93. – С. 5–23.
8. Алябьев Ф.В., Парфирьева А.М., Логвинов С.В. и др. Морфология надпочечников при общем переохлаждении организма. – Томск: Томск. гос. ун-т систем упр. и радиоэлектроники, 2007. – 228 с.
9. Науменко В.Г., Митяева Н.А. Гистологический и цитологический методы исследования в судебной медицине. – М.: Медицина, 1980. – 304 с.
10. Падеров Ю.М., Алябьев Ф.В., Шамарин Ю.А. Влияние смерти от общего переохлаждения организма на морфофункциональное состояние надпочечников человека // Судебно-медицинская экспертиза. – 2002. – № 4. – С. 3–4.
11. Пиголкин Ю.И., Морозов Ю.Е., Богомолов Д.В. и др. Судебно-медицинские аспекты патоморфологии внутренних органов при алкогольной интоксикации // Судебно-меди-

- цинская экспертиза. – 2000. – № 3. – С. 34–38.
12. Степанян Ю.С. Патоморфология хромоаффинной ткани надпочечных желез при смерти от общего переохлаждения организма // Проблемы экспертизы в медицине. – 2004. – № 4. – С. 20–21.
 13. Шамарин Ю.А., Мельчиков А.С. К вопросу дифференциальной диагностики отравления этиловым алкоголем и смерти от общего переохлаждения // Медико-биологические аспекты нейрогуморальной регуляции. – Томск. – 1997. – С. 86–88.
 14. Юрасов В.В., Филиппенкова Е.И., Покогиленко В.Г. и др. Экспертная оценка патоморфологических изменений почек при холодовой травме // Вестник судебно-медицины. – 2013. – № 3. – С. 11–14.
 15. Порошенко В.А., Корхмазов В.Т. Алкоголь: яд или лекарство? // Вестник судебно-медицины. – 2013. – № 1. С. 56–58.
 16. Новоселов В.П., Савченко С.В., Кузнецов Е.В. и др. Титаренко Б.Ф. Морфология сердца при хронической интоксикации опиатами и этанолом // Вестник судебно-медицины. – 2012. – № 1. – С. 26–30.
 17. Травенко Е.Н. Экспертная оценка случаев острого отравления этанолом на фоне алкогольного стеатогепатита // Вестник судебно-медицины. – 2012. – № 2. – С. 15–18.

Поступила 20.02.2014

Сведения об авторах

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

Арбыкин Юрий Алексеевич, аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

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

E-mail: alfedval@mail.ru

Серебров Тихон Владимирович, аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

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

Яушев Тимур Рафикович, канд. мед. наук, ассистент кафедры судебной медицины с курсом токсикологической химии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

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

Вогнерубов Роман Николаевич, соискатель кафедры судебной медицины с курсом токсикологической химии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

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

Мельникова Светлана Юрьевна, соискатель кафедры судебной медицины с курсом токсикологической химии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

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

Воронков Сергей Владимирович, соискатель кафедры судебной медицины с курсом токсикологической химии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

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

Логвинов Сергей Валентинович, докт. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

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