

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

СЕРЕБРОВ ТИХОН ВЛАДИМИРОВИЧ

**Морфофункциональные изменения печени в динамике алкогольной
интоксикации и общего переохлаждения организма
(экспериментальное исследование)**

03.03.04 – клеточная биология, гистология, цитология

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор Алябьев Ф. В.,
доктор медицинских наук, профессор Логвинов С. В.

Томск – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Морфобioхимическая характеристика печени	11
1.2 Некоторые аспекты патогенеза поражения печени при острой алкогольной интоксикации.....	19
1.3 Изменения печени при хроническом алкоголизме	27
1.4 Изменения печени при общем переохлаждении организма.....	30
1.5 Изменения печени при одновременном действии алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма.....	32
1.6 Изменение биохимических показателей крови при алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма.....	35
Резюме.....	39
2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	62
3.1 Морфофункциональное состояние печени крыс контрольной группы	62
3.2 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике алкогольной интоксикации, вызванной этанолом в дозе 2 мл/кг массы тела.....	64
3.3 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике алкогольной интоксикации, вызванной этанолом в дозе 4 мл/кг массы тела.....	68
3.4 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике алкогольной интоксикации, вызванной этанолом в дозе 8 мл/кг массы тела.....	73
3.5 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения организма при температуре атмосферного воздуха –10 °С.....	77

3.6 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха –18 °С	82
3.7 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха –10 °С на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела	86
3.8 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха –10 °С на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела	92
3.9 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха –18 °С на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела	96
3.10 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха –18 °С на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела	102
3.11 Изменения биохимических показателей при острой алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма.....	107
3.12 Морфобиохимические параллели при алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма.....	110
3.13 Модифицирующая роль общего переохлаждения организма при алкогольной интоксикации.....	113
4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	120
МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ.....	137
ВЫВОДЫ	140
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	143
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	144

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Живые организмы способны приспосабливаться к изменяющимся факторам природы посредством различных реакций, развивающихся в тканевых системах и в органах. Взаимосвязанность и взаимообусловленность приспособительных реакций поддерживает целостность организма в неблагоприятных условиях внешней среды [Молодых О.П., 2002; Уланов Н.С., Шамиева Д.Р., 2016; Зюзина А.А., Волкова Ю.Р., 2018; Ju C., Phillips E., Holt M.P. et al., 2018; Li Y., Shen R., Ding R. et al., 2019]. При этом в адаптационном процессе происходит перераспределение и мобилизация энергетических и пластических ресурсов организма для обеспечения систем, несущих основополагающую нагрузку при воздействии повреждающего фактора среды.

Печень, как важнейший орган метаболизма, играющий большую роль в пластических и энергетических процессах, включается в адаптивно-компенсаторные реакции организма при всех экзогенных и эндогенных неблагоприятных воздействиях, даже в тех случаях, когда повреждающие факторы не обладают выраженным гепатотропным эффектом [Вермель А.Е., 2005, 2006; Белякин С.А., Бобров А.Н., Плюснин С.В., 2011; Калинин И.В., Петрук Н.А., 2011; Ларькина М.С. и соавт., 2011; Оковитый С.В., Суханов Д.С., Романцов М.Г., 2012; Власов А.П. и соавт., 2013; Балукова Е.В. и соавт., 2018; Кузнецова М.А., 2018; Arroyo V., 2000; Alberti A. et al., 2002; Gao B., Bataller R., 2011; Stanger B.Z., 2015].

Изучены изменения печени у плодов человека при инфекциях [Надеев А.П., Шкурупий В.А., 2006], в эксперименте после внутриутробной гипоксии [Надеев А.П., Кузнецова В.А., Шкурупий В.А., 2004], у здоровых новорожденных мышей [Мозолева С.П., Надеев А.П., Позднякова С.В., Залавина С.В., 2017]. Сделаны попытки морфологически оценить компенсаторные свойства печени при токсических воздействиях и найти пути повышения ее репаративных возможностей [Грек О.Р., Позднякова С.В., Надеев А.П., 2005, Дубская Т.Ю.,

Сандрикина Л.А., Федорова Е.П., Ветошкина Т.В., 2018]. Исследованы деструктивные и репаративные изменения печени при хронических инфекциях [Шкурупий В.А., Надеев А.П., Карпов М.А., 2010].

За последние десятилетия ученые, все больше и больше, уделяют времени поиску структурных изменений внутренних органов под влиянием внешних экстремальных воздействий, в том числе алкогольной интоксикации и общего переохлаждения [Алябьев Ф.В., 2003, 2012, 2017; Алябьев Ф.В., Логвинов С.В., 2006]. В некоторых случаях, на основе количественно оцененных морфологических изменений внутренних органов внедрены методы дифференциальной диагностики причины смерти при комбинированном воздействии на организм факторов, каждый из которых мог оказаться летальным [Пат. 2259804; Пат. 2259805; Пат. 2259806]. Упоминается, что часто внешние факторы экстремальной силы свое потенциальное танатогенное воздействие могут начинать не одновременно, а в заранее неизвестной очередности с неизвестными временным промежутком между началом каждого из стрессоров.

Самыми частыми внешними воздействиями неинфекционной природы, вызывающими структурно-функциональную перестройку печени, являются алкогольная интоксикация (повреждающий фактор этанол обладает выраженным прямым гепатотоксическим действием) и общее переохлаждение организма (повреждающий фактор гипотермия не обладает прямым гепатотропным действием).

По данным Всемирной организации здравоохранения, начиная с 2012 года более 3 млн человек ежегодно умирают от чрезмерного увлечения спиртными напитками. Несмотря на то, что постоянно распространяется информация о вреде алкоголя, зависимости от него и риске развития серьезных заболеваний, в том числе печени, уровень алкоголизма не снижается. Эпидемиологические исследования показывают, что почти половина населения мира потребляет алкоголь, который является одной из основных причин прогрессирующих заболеваний печени в Европе, США и Китае [Разводский Ю.Е., Меринов А.В., 2018; Fan, 2013; Singal, Anand, 2013; Masarone et al., 2016; Sheron, 2016]. В 2014

году было проведено исследование алкогольной зависимости, по результатам которого был составлен список из 188 стран. В топ 10 рейтинга вошли Андорра, Беларусь, Венгрия, Эстония, Молдова, Россия, Румыния, Словения, Украина и Чехия [Горный Б.Э., Калинина М.А., Бунова А.С., 2018]. Чрезмерное потребление алкоголя является серьезной проблемой общественного здравоохранения, при этом обусловленное бремя преждевременной смертности и плохого состояния здоровья является самым высоким в Европе и Северной Америке и непропорционально влияет на молодых людей [Rehm J., Samokhvalov A.V., Shield K.D., 2013; Li R., Hu L1., Hu L. et al., 2017]. В России алкоголизм приобретает характер национального бедствия в связи с прогрессирующим увеличением количества потребляемых спиртных напитков на душу населения. Острые отравления этиловым спиртом являются в Российской Федерации причиной более 60% всех смертельных случаев от различных интоксикаций [Пауков В.С., 2012; Ковалев А.В. с соавт., 2017; Полунина Т.Е., 2019].

Одним из наиболее частых условий замерзания человека является алкогольное опьянение. Аптер Б.А. (1964), Клинецевич К.Н. (1973) и другие указывают, что на фоне алкогольного опьянения возникает наибольшее число холодовых поражений [Израилова Г.Р. с соавт., 2014; Сапожников С.П. с соавт., 2018]. В качестве одного из основных факторов риска, способствующих наступлению смерти от переохлаждения, является употребление алкогольных напитков [Шигеев В.Б., 2009; Югов К.М., 2010; Калинин А.В., 2012; Stares J., Kosatsky T., 2015]. Частота встречаемости этанола в крови погибших от действия низкой температуры чрезвычайно высока и, по данным большинства исследователей, колеблется от 59,4 до 76,0 %.

Известно, что алкогольная интоксикация угнетает центральную нервную систему, нарушает процессы термогенеза в организме, снижает критическое отношение к возникшей экстремальной ситуации, влияет на физиологию и психическую дееспособность, меняет патоморфологическую картину холодовой травмы [Аптэр Б.А., 1964; Зверев С.П., 1967; Десятов В.П., 1977; Израилова Г.Р. с соавт., 2014; Немцов А.В. с соавт., 2017]. В свою очередь, гипотермия оказывает

существенное влияние на действие алкоголя, динамику распределения при алкогольной интоксикации. Это обусловлено общностью элементов, участвующих в поддержании теплового и химического гомеостаза, несомненно, приводящих к тому, что изменения одного из этих элементов снижает физиологические возможности другого [Чашин В.П., Величковский Б.Т., 1989].

В научной литературе достаточно хорошо описаны морфологические изменения печени в норме и при различных вариантах патологии [Лопухин Ю.М., 1977; Bertola A., 2018]. Так как данные в литературных источниках противоречивы, то остается немало спорных вопросов, касающихся структурной перестройки печени при изолированном и комбинированном действии на организм алкогольной интоксикации и общей гипотермии, в частности о дифференциации морфологических изменений, вызванных действием того или иного стрессора. В связи с этим требуется расширить, уточнить и детализировать ныне имеющиеся сведения о морфологической перестройке печени при изолированном и комбинированном действии этих факторов на организм.

Цель исследования

Изучить морфофункциональные изменения печени, тканевые механизмы их развития в динамике комбинированного воздействия алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма.

Задачи исследования

1. Изучить морфологические изменения печени крыс в динамике острой однократной алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела.

2. Оценить морфологические изменения печени крыс в динамике общего переохлаждения организма при различных температурах атмосферного воздуха (-10°C и -18°C).

3. Изучить морфологические изменения печени, развивающиеся в динамике алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела с изменениями печени, развивающимися при общей гипотермии при различных температурах атмосферного воздуха (-10°C и -18°C),

и выявить морфологические признаки, характерные для действия того или иного стрессора.

4. Изучить динамику морфологических изменений печени при комбинированном влиянии на организм алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела и общей гипотермии при различных температурах атмосферного воздуха (-10°C и -18°C).

5. Установить зависимость изменений морфологических параметров печени и биохимических показателей крови от длительности воздействия в патогенезе алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма при моно воздействии изучаемых факторов и их комбинации – введение этанола в дозах 4, 8 мл/кг, охлаждение при температурах атмосферного воздуха -10°C и -18°C .

Научная новизна

Впервые в сравнительном аспекте изучено морфологическое состояние печени крыс в динамике общего переохлаждения организма и острой алкогольной интоксикации. Установлена взаимосвязь морфологических изменений печени, развивающихся в ответ на алкогольную интоксикацию и общее переохлаждение организма при различных вариантах моно- и комбинированного воздействия с изменениями биохимических параметров крови, отражающих функциональное состояние печени и характеризующих ответную реакцию организма на стресс, вызванный действием этих факторов

Практическая значимость

На основе полученных данных выведены уравнения, на основе которых можно рассчитать величину того или иного морфологического параметра печени в зависимости от длительности действия алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела и общего переохлаждения организма при температурах атмосферного воздуха -10°C и -18°C .

Положения, выносимые на защиту

1. Морфологические изменения печени при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела и общем переохлаждении организма при температурах атмосферного воздуха -10°C и -18°C различны по направленности. При алкогольной интоксикации развиваются морфологические изменения, отражающие компенсаторно-приспособительные механизмы адаптации, зависящие от дозы введенного этанола, и деструктивные, отражающие гепатотоксический эффект этанола. При общем переохлаждении структурная перестройка печени отражает компенсаторно-приспособительные механизмы адаптации, направленные на поддержание температурного гомеостаза.

2. Морфологические изменения печени при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела и общем переохлаждении организма при температурах атмосферного воздуха -10°C и -18°C при моно воздействии и при их комбинациях сопровождаются биохимическими изменениями. На основании совокупности этих изменений можно установить длительность воздействия.

3. Морфологические изменения печени при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела и общем переохлаждении организма при температурах атмосферного воздуха -10°C и -18°C при моно воздействии, отличаются от изменений при различных их комбинациях. При увеличении силы воздействующих в комбинации стрессоров увеличиваются морфологические и биохимические проявления совместного деструктивного действия стрессоров на печень.

Апробация работы

Основные материалы исследования были представлены на III Всероссийской научно-практической конференции (с международным участием) студентов, интернов, ординаторов, аспирантов (г. Пермь, 24 апреля 2015 г.); XXIX международной научной конференции Евразийского Научного Объединения (г. Москва, июль 2017 г.); 11-й международной выездной конференции русскоязычных ученых, (г. Бангкок, Таиланд, ноябрь 2017 года);

12-й международной выездной конференции русскоязычных ученых (г. Нячанг, Вьетнам, 5–8 января 2018 года.); научно-практической конференции молодых ученых и специалистов (г. Москва май 2018г.).

Публикации

По теме диссертации опубликованы 14 научных работ, в том числе 5 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, глав «Материал и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение полученных результатов», выводов и списка литературы. Материалы диссертации изложены на 165 страницах машинописного текста, включают 30 таблиц, 36 рисунков, из них 22 фотографии.

В списке литературы приведены 205 работ, из них 141 отечественных и 64 зарубежных авторов.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Морфобioхимическая характеристика печени

Печень играет очень важную роль в осуществлении гемостаза организма человека [Stanger B.Z., 2015], в том числе и температурного.

Печень занимает основополагающее место в процессах углеводного, белкового, липидного, пигментного метаболизма, а также выполняет детоксикацию многочисленных веществ, которые попадают в организм [Вермель А.Е., 2005, 2006; Белякин С.А., Бобров А.Н., Плюснин С.В., 2011; Калинин И.В., Петрук Н.А., 2011; Ларькина М.С. и соавт., 2011; Оковитый С.В., Суханов Д.С., Романцов М.Г., 2012; Власов А.П. и соавт., 2013; Arroyo V., 2000; Alberti A. et al., 2002; Gao B., Bataller R., 2011].

Печень является самой крупной железой человеческого организма и выполняет важные функции. Уникальной специфической чертой печени, необходимой для гомеостаза организма, является способность гепатоцитов одновременно осуществлять все основные функции. Сохранение или незначительное нарушение этих функций наблюдаются даже тогда, когда остается всего треть органа, а до 90% оставшихся в печени гепатоцитов проходят пролиферацию. Тем не менее, морфофункциональные нарушения печени могут сопровождаться изменениями процессов восстановления и пластического обеспечения других органов и систем организма в целом [Гичев Ю.П., 1987; Stanger B.Z., 2015].

Воздействующие на организм аллогенные вещества, которые обладают токсическими свойствами, могут оказывать значимое воздействие на печень и вызвать ее токсическое поражение [Камышников В.С., 2004, 2005, 2009; Плетнева Т.В., 2005; Калетина Н.И., 2008; Булагин В.Г., Тихонова Е.П., Булыгин Г.В., 2012; Караман Ю.К. и соавт., 2012; Лузина Е.В., Томина Е.А., Жилина А.А., 2013; Di Bisceglie A., Hoofnagle J., 2002; Deltenre P. et al., 2004; Delvin S.M. et al., 2004; Corengia C. et al., 2005; Di Bisceglie A. et al., 2007].

Основными структурными компонентами печёночной дольки являются: печеночные пластинки, внутридольковые синусоидные гемокапилляры, которые располагаются между печеночными балками. Внутри печеночных балок между двумя слоями гепатоцитов располагаются желчные капилляры.

Внутри прослоек между дольками печени расположены ветви воротной вены, печеночной артерии, желчный проток — эти образования формируют так называемую портальную зону (печеночную триаду).

Щелевидное пространство между печеночными балками и синусоидными капиллярами именуется пространством Диссе. В пространстве Диссе происходит обмен веществ между гепатоцитами и плазмой крови, поступающей из синусоидов. Сторона гепатоцитов, находящаяся в пространстве Диссе, покрыта микроворсинками, увеличивающими площадь их поверхности в 6 раз. В пространстве Диссе располагаются звездчатые клетки, или липоциты (Hepatic Stellate Cell, HSC, Cell of Ito, Ito cell), способные в активированном состоянии формировать рубцовую ткань при повреждениях печени [Ramani K., 2017]. В щелевидном пространстве также находится и центральная вена, образуемая путем слияния внутридольковых синусоидных гемокапилляров, которые являются важными структурами печеночной дольки [Majno P., Mentha G., Toso et al., 2014; Poisson J., Lemoinne S., Boulanger C. et al., 2017].

Печеночные синусоидальные эндотелиальные клетки образуют стенку синусоидов печени и представляют собой приблизительно 15–20% клеток печени, но только 3% от общего объема печени — это высокоспециализированные эндотелиальные клетки, которые обладают уникальным фенотипом, которые позволяют пропускать определенные, но не все молекулы и клетки. Они также имеют очень специфическую локализацию на границе между клетками крови с одной стороны, и гепатоцитами и клетками эндотелия с другой стороны. Высокоспециализированные эндотелиальные клетки находятся в постоянном взаимодействии с другими клетками печени [Poisson J., Lemoinne S., Boulanger C. et al., 2017].

Функция печени сложна и многогранна, это характеризуется строением сосудистой системы печени и цитофизиологией клеток, образующих паренхиму печени.

Характерным отличием от всех других органов в том, что печень получает кровоснабжение из двух источников: из воротной вены – венозную, а артериальную из печеночной артерии. Синусоиды печени получают кровь из воротной вены (70%) и печеночной артерии (30%). Кровь в печени проходит через широкие синусоидальные кровеносные капилляры с прерывистой базальной мембраной (синусоидальные сосуды). Смешанная кровь по средствам синусоидальных сосудов поступает к центру дольки [Poisson J., Lemoigne S., Boulanger C. et al., 2017].

Воротная вена коллекционирует кровь из непарных органов, находящихся в брюшной полости.

Войдя в ворота печени, воротная вена и печеночная артерия разветвляются на долевые, сегментарные и т. д., вплоть до междольковых вен и артерий, которые проходят вдоль боковых поверхностей классических печеночных долек, совместно с междольковым желчным протоком. От междольковых артерий и вен отходят вокругдольковые, окружающие дольку подобно кольца, тут начинаются капилляры, которые продвигаются к центру дольки, объединяются и формируют внутридольковые гемокапилляры, где впадают в центральную вену дольки. Покидая дольки, центральные вены разделяются в поддольковые. От них в свою очередь, начинается печеночная венозная система, которая путем укрупнения, собирается в 3–4 печеночные вены, переходит в нижнюю полую вену.

Печеночные клетки богаты митохондриями (до 1000 и более в одной клетке), элементами зернистой и незернистой эндоплазматической сети, и комплекса Гольджи, полирибосомами и особенно отложениями гликогена. Гепатоциты находятся в виде тяжей (печеночные балки), через которые проходят кровеносные капилляры. Клетки печени в печеночных балках располагаются рядами по два так, чтобы плазматическая мембрана имела обязательный контакт с одной стороны с синусоидным сосудом и с противоположной – с желчным

капилляром. Стоит отметить, что в желчный капилляр не имеет собственной стенки, плазматические мембраны близкорасположенных гепатоцитов образуют стенку желчного капилляра. Выражаясь иначе, желчные капилляры, по своей сути, являются расширенными зонами межклеточных щелей между соседними печеночными клетками. На плазматической мембране соседних гепатоцитов, образующих желчный капилляр, имеются небольшие желобки. В то же время в месте перехода межклеточных щелей в желчные капилляры участки плазматических мембран клеток имеют утолщения (замыкательные пластинки), благодаря данной особенности желчные капилляры не имеют сообщения с иными межклеточными щелями. Желчные капилляры берут свое начало слепо рядом с центральной веной и направляются к периферии долики, где перетекают в междольковые желчные протоки.

На нижней, висцеральной поверхности печени определяется короткая поперечная глубокая бороздка – ворота печени. В области ворот находятся печеночная артерия, воротная вена, желчный и лимфатический протоки.

Согласно современным представлениям структурно-функциональной единицей печени является простой ацинус. Печеночный ацинус представлен сегментами двух соседних классических долек, на микроскопии выглядит как ромбик, центральные вены располагаются на острых углах, печеночные триады - визуализируются на тупых углах. Каждый гепатоцит одной своей стороной контактирует с просветом желчного капилляра, другой соприкасается со стенкой кровеносного. Секреты гепатоцитов разнонаправленная, протекает в двух направлениях: в желчные протоки и в кровеносные капилляры. Согласно реальному кровообращению в паренхиме печени принято выделять три зоны: первая зона из перипортальных клеток, начальные отделы синусоидов и ограничивающие их клетки печени, расположенные в этой зоне, получают, по сравнению с другими отделами ацинуса, наибольшее количество крови с наиболее высоким содержанием кислорода и питательных соединений. Вторая – промежуточная зона, снабжается кровью хуже первой, но лучше третьей. Третья зона стоит из центролобулярных клеток, в этот отдел ацинуса поступает кровь в

значительной степени обедненная кислородом и питательными соединениями, которые интенсивно поглощались клетками первых двух зон. Поэтому данная зона наиболее ранима в отношении воздействия на печень токсическими соединениями. Именно в данной зоне ацинуса происходят нарушение структуры и некроз гепатоцитов при тяжелых воздействиях этилового спирта [Осьминкин В.А., 2015].

В прямой связи с зональным расположением гепатоцитов в ацинусе находится их весьма четкая взаимосвязь с структурной гетерогенностью. Функциональная гетерогенность гепатоцитов изучена благодаря таким методам как иммуногистохимический и микробиохимический. Гистохимические и иммуногистохимические исследования ткани печени позволяют говорить о функциональной специализации гепатоцитов, которые участвуют в метаболизме углеводов, липидов и ксенобиотиков. Данный феномен очень важен в адаптации организма: разделение метаболических функции между различными субпопуляционными клетками позволяет сохранить энергию во время физиологического покоя, а при активации ферментных систем во всех субпопуляционных клетках в ответ на функциональное напряжение позволяет быстро и эффективно нарастить метаболическую "мощность" печени, что является обязательным условием в поддержании гомостаза в организме [Породенко В.А. и соавт., 2012].

Гепатоциты имеют полигональную форму. Размер клеток колеблется от 18 до 30 мкм. Цитоплазма содержит гранулы, а в перинуклеарной зоне встречаются небольшие мелкозернистые базофильные скопления, соответствующие расположению эндоплазматической сети [Gissen P., Arias I.M., 2015]. В гепатоците выделяются синусоидальный и билиарный (между соседними клетками) полюса. Ядра чаще расположены в центре клетки, имеют округлую форму, содержат одно или несколько ядрышек. Большинство гепатоцитов одноядерные, но около 10% имеют парные ядра. С возрастом ядра окрашиваются гематоксилином более интенсивно. Жидкая часть цитоплазмы гепатоцита – цитозоль, содержит растворимые белки и ферменты, в том числе фермент,

играющий важнейшую роль в превращениях этилового алкоголя – алкогольдегидрогеназу (АДГ).

Строма печени представлена наружной соединительнотканной капсулой, междольковыми прослойкам рыхлой волокнистой соединительной тканью, кровеносными сосудами и нервным аппаратом.

Гепатоциты обеспечивают дезинтоксикационные и эндокринные функции печени. Обезвреживание ксенобиотиков и превращение их в обезвреженные, менее токсичные или легко экскретируемые (удаляемые) из организма соединения.

Дезинтоксикационная функция печеночных клеток осуществляется преимущественно в гладкой эндоплазматической сети. Элиминация из организма токсичных промежуточных и конечных продуктов обмена веществ, например, аммиака, фенола, этанола, ацетона и кетоновых кислот. В ряде случаев происходит их распад до более простых соединений, и, наоборот, могут образовываться вещества ещё более токсические, чем поступающие в печень [Gissen P., Agias I.M., 2015].

Участие клеток печени в обеспечении энергетических потребностей организма связано с глюкозой. В присутствии инсулина печеночные клетки удаляют избыток глюкозы из крови, запасая её в качестве гликогена, образуя его депо. При понижении уровня глюкозы запускается обратный процесс переработки гликогена в глюкозу, в том числе и глюконеогенез из свободных жирных кислот, аминокислот, глицерина и других источников энергии. Гистохимически в цитоплазме гепатоцитов выявляют гликоген.

В гранулярной эндоплазматической сети осуществляется синтез липопротеидов, альбуминов, фибриногена, большая часть глобулинов плазмы крови, а также других белков, участвующих в свертывании крови. Участие клеток печени в регуляции липидного обмена, синтез холестерина и его эфиров, липидов, липопротеидов и фосфолипидов.

Экзокринная функция печени обеспечивает желчеобразование. Желчь содержит пигмент билирубин, соли желчных кислот, белки, холестерин, тканевую

жидкость. Билирубин образуется при распаде гемоглобина в макрофагах селезенки, костного мозга. Гепатоциты поглощают билирубин из периваскулярного пространства синусоидов, связывают его с глюкуроновой кислотой и выделяют в состав желчи. Соли желчных кислот и холестерин синтезируются печеночными клетками.

Функциональное значение печеночных клеток также определяется их локализацией в классической дольке, которую обычно используют для описания метаболизма и патологии в печени. Клетки периферической зоны, прилегающие к центру ацинуса, осуществляют главным образом фильтрацию и накопление веществ, поступающих из воротной вены [Усынин И.Ф., 2007]. Здесь же выше активность большинства ферментов (глюкозилтрансферазы, фосфорилазы, глюкозо-6-фосфотазы, цитохромксидазы и др.), больше митохондрий, что позволяет считать, что аэробное дыхание через цикл Кребса осуществляется на высоком уровне. Основные биохимические процессы этой зоны: распад гликогена до глюкозы, выделение глюкозы, окисление жирных кислот, распад и утилизация аминокислот, конверсия аминокислот в глюкозу, уреагенез из азота аминокислот, экскреция холевых кислот и билирубина.

Гепатоциты центра дольки (периферии ацинуса) преимущественно синтезируют белки плазмы крови, обеспечивают усвоение глюкозы и синтез из неё гликогена, гликолиз, детоксикацию аммиака и уреагенез из азота аммиака. Здесь высока активность лактатдегидрогеназы, что может означать преимущественное получение энергии за счет анаэробного гликолиза и гликоген-фосфорилазы, обеспечивающей гликолиз и гликогенолиз [Усынин И.Ф., 2007].

Регуляция функции печени осуществляется симпатическими и парасимпатическими нервами, которые иннервируют паренхиматозные и непаренхиматозные клетки печени. Гипоталамус регулирует участие центральной нервной системы в метаболических функциях печени. Нервы печени содержат афферентные и эфферентные адренергические, холинергические и пептидергические волокна. Все они оказывают влияние на рефляцию кровотока через синусоиды, на активность купферовских клеток, на проницаемость

синусоидального эндотелия и модификацию гепатоцеллюлярных функций [Adeli K., 2017]. Такая нервная регуляция может осуществляться непосредственно путем стимуляции клеток, включая сосудистую стенку и паренхиматозные клетки печени [Mizuno K., Ueno Y., 2017]. Это может происходить и опосредовано, путем освобождения метаболитов из паренхиматозных клеток или медиаторов из эндотелия синусоидов, которые, в свою очередь, влияют на окружающие структуры и клетки [Poisson J., Lemoinne S., Boulanger C. et al., 2017]. Все влияния на клеточный метаболизм печени опосредуются адренергическими нервами путем диффузии освобождающегося нейротрансмиттера, либо путем изменения кровотока или тканевой оксигенации [Farah B.L. et al., 2014]. Эти влияния могут передаваться к гепатоцитам внутри дольки через многочисленные щелевые контакты ЩК (gap junctions), найденные между соседними печеночными клетками [Stümpel F., Ott T., Willecke K. et al., 1998; Poisson J., Lemoinne S., Boulanger C. et al., 2017]. При стимуляции нервов происходит блокирование щелевых контактов, что ведет к значительному уменьшению выброса глюкозы из печени [Терехина Н.П., Акимов П.А., 2017; Udoh U.S., Swain T.M., Filiano A.N. et al., 2015]. Адренергические нервы могут прямо влиять не только на метаболизм паренхиматозных клеток, но и на тонус синусоидальной стенки и ее порозность, обусловленную диаметром эндотелиальных окон [Панфилова Н.С., 2004]. Регенерация печени – это сложный процесс со многими медицинскими последствиями. Важным компонентом этого регенеративного процесса является печеночная клетка-предшественник (Hepatic Progenitor Cells). Эти клетки могут участвовать в обновлении гепатоцитов и холангиоцитов при истощении нормальной гомеостатической регенерации. Более того, печеночные клетки-предшественники имеют жизненно важное значение для активации, дифференциации и распространения печеночной клетки. Эта ниша обеспечивает богатое микроокружение для регулирования печеночных клеток предшественников, благодаря межклеточной секреции молекул [Van Haele M., Roskams T., 2017].

1.2 Некоторые аспекты патогенеза поражения печени при острой алкогольной интоксикации

Поступление этилового алкоголя возможно в организм возможно следующими путями: при приеме внутрь, внутривенном или ректальном введении, при вдыхании его паров. Самый часто встречающийся путь поступления алкоголя – перорально в желудочно-кишечный тракт. Как только этиловый спирт поступает в организм, он сразу начинает свое всасывание и по сосудам организма распределяется по всему телу. Скорость всасывания алкоголя зависит от различных факторов и поэтому варьируется в каждом индивидуальном кейсе. При принятии этилового спирта натошак его усвоение заканчивается в течение 0,5–1,5 часов. Этот период на 2,0–3,0 часа задерживается при наличии пищи в желудке. Качественный состав пищи оказывает значительное влияние на интенсивность всасывания алкоголя, а также концентрация и дозы принятого этилового спирта.

В литературе за последние 10 лет [Байкова И.Е., Никитин И.Г., Гогова Л.М., 2011] отмечено, что употребление более 80 г чистого этанола в сутки, что эквивалентно 1 л вина, 3,6 л пива, 0,25 л крепких алкогольных напитков, приводит к выраженной гепатопатологии у мужчин.

У женщин риск поражения печени возникает при употреблении 30 г этанола в сутки. Систематическая алкоголизация носит более патогенный характер для печени, нежели эпизодическая, даже в относительно высоких дозах [Калинин А.В., 2012].

Острая алкогольная интоксикация (химическая травма, экзотоксический шок) с позиций учения об общем адаптационном синдроме Г. Селье [Селье Г., 1960, 1987] рассматривается как стресс, где этанол является мощным стрессором химической природы, запускающим цепочку многочисленных регуляторных и метаболических нарушений в организме [Пушкина А.Л., 2006; Еремина Е.Ю. с соавт., 2013; Gastineau C.F., 1979; Vogel H., Neffer P., 1989].

В организме находится незначительное количество эндогенного алкоголя, концентрация которого в крови составляет от 0,004 до 0,01% [Венгеровский А.И., 2007]. Причем этиловый спирт и его метаболиты находятся в динамическом равновесии друг с другом и их концентрации жестко гомеостазированы [Калетина Н.И., 2008]. Скорость расщепления этанола составляет примерно 10 мл/ч. Данный процесс сопровождается снижением концентрации этанола в плазме крови на 0,15–0,2‰ и характеризуется высвобождением значительного количества энергии 700 ккал/г. При приеме внутрь более 60 г/сут этанола возможно нарушение данного равновесия, которое приведет к изменению биохимических циклов жизнеобеспечения организма. 10% выпитого этилового спирта выделяется в неизменном виде почками, легкими и потовыми железами. Смертельная доза этанола при однократном приеме колеблется от 4 до 12 г на 1 кг массы тела (в среднем 300 мл 96% этанола) [Венгеровский А.И., 2007; Калетина Н.И., 2008; Калинин А.В., 2012; Еремина Е.Ю. с соавт., 2013].

Степень острого отравления алкоголем имеет зависимость от концентрации этилового спирта в крови: опьянение наступает ориентировочно при концентрации 1–2 г/л (100–200 мг%), при 3–4 г/л (300–400 мг%) развивается выраженная интоксикация. Смертельная концентрация составляет от 5 до 8 г/л (500–800 мг%) [Пиголкин Ю.И., 2006].

Степень опьянения этанолом определяется его концентрацией в крови: легкая степень – концентрация этанола в плазме крови 1–1,5 г/л (доминирует стимулирующее действие этанола); средняя степень – 1,5–2,5 г/л (возбуждение), тяжелая интоксикация – 2,5–3 г/л (наркотическое действие этанола на ЦНС, оглушение); алкогольная кома при концентрации 4–5 г/л; выше 7 г/л – смерть от остановки дыхания [Калетина Н.И., 2008].

Клиническими проявлениями молекулярных механизмов острого воздействия этанола являются нарушение образования энергии, изменение работы центральной нервной системы, гипогликемия, отложение жира в паренхиматозных органах и нарушение их функции. Подобные нарушения могут иметь место при употреблении внутрь этанола в количестве, соответствующем

его содержанию в крови от 1,5 до 3‰ [Афанасьев В.В. и др., 2002; Бакулин И.Г., Шаликиани Н.В., 2015].

На сегодняшний день метаболизм этанола в печени хорошо изучен [Еремина Е.Ю., Морозов Н.Т., 2012; Лелевич С.В., 2016]. По данным исследований, при пероральном введении этанола в желудке здорового человека в зависимости от условий может окисляться от 5 до 73% от введенной дозы спирта [Рожанец В.В., 2007]. В слизистой оболочке желудка осуществляется первый этап метаболизма алкоголя при участии желудочной фракции алкогольдегидрогеназы: γ -АДГ, χ -АДГ, δ -АДГ. Активность желудочной АДГ зависит от пола и возраста человека, приема лекарственных веществ, а также возможно, от колонизации желудка *Helicobacter pylori* [Маевская М.В., 2004; Becker U., 1996; Kuntz E., 2002; Sherman N., 2002].

Системное окисление этанола происходит в печени параллельно по трем метаболическим путям: с использованием АДГ (алкоголь: НАД-оксиредуктаза КФ1.1.1.1., разрушается 85–90% этанола), микросомальной этанолюкислительной системы (МЭОС) (активизируется при достижении уровня этилового спирта в плазме крови более 1‰, разрушается 10–15%, а при употреблении токсических доз алкоголя его разрушение может достигать 80–85%) и каталаз пероксисом (2%) [Маевская М.В., 2004; Северин Е.С., 2005; Абдурахманов Д.Т., 2007; Хазанов А.И., 2007; Еремина Е.Ю., 2012]. Первые два пути приводят к окислению этанола соответственно в ацетальдегид в цитозоле и эндоплазматическом ретикулуме. Каталазы в основном содержатся в пероксисомах и могут участвовать в окислении этанола, что, однако, ограничивается доступностью необходимого им субстрата – перекиси водорода [Маевская М.В., 2004]. Дальнейший метаболизм ацетальдегида протекает с использованием цитозольной (АлДГ1) и (или) митохондриальной ацетальдегиддегидрогеназы (АлДГ2) (альдегид: НАД-оксиредуктазы КФ 1.2.1.3). В результате образуется ацетат, большая часть которого далее окисляется до уксусной кислоты и воды вне печени [Северин Е.С., 2005; Калетина Н.И., 2008].

Установлено, что в печени человека имеется две формы АДГ – типичная и атипичная АДГ. Атипичная форма АДГ характеризуется высокой ферментативной активностью, в 8–10 раз [Крюков В.Н., 1990]. Регистрируемый неблагоприятный метаболический фон, который обусловлен расщеплением этилового спирта в организме человека во многом зависит от наличия атипичной формы АДГ. Высокая активность атипичной формы АДГ исключительно приводит к быстрому окислению этилового спирта до ацетальдегида, и как следствие к быстрому накоплению последнего в организме. При этом ацетальдегид является во много раз более токсичным по сравнению с этиловым спиртом, что обуславливает в значимой мере тяжесть алкогольной интоксикации [Калинин А.В., 2012; Sherman D.I., 1994]. У таких лиц часто также регистрируется и недостаточное функционирование ферментной системы АлДГ, переводящей ацетальдегид в воду и уксусную кислоту. Данный механизм способствует быстрому накоплению ацетальдегида в крови. У лиц с атипичными формами АДГ и АлДГ смерть может регистрироваться от отравления этиловым спиртом при незначительном содержании последнего в крови [Зейтц Г., 2001; Огурцов П.П., 2002; Циммерман Я.С., 2004; Хазанов А.И., 2007; Шкляев А.Е., 2014; Couzigou P., 1991]. Также предполагается, что полиморфные варианты генов АДГ2, АлДГ2 и CYP2E1 определяют индивидуальные и популяционные различия в чувствительности (толерантности) к алкоголю. Для жителей Европы характерно присутствие изоформ АДГ1 и АДГ3. У некоторых народов крайнего севера преобладает изоформа АДГ2, характеризующаяся высокой активностью, что возможно является причиной их повышенной чувствительности к алкоголю [Северин Е.С., 2005]. Обладатели высокоактивного фермента АДГ2 и цитохрома P-450 2E1 могут переносить алкоголь в больших дозах, а пассивной АлДГ2 – страдать от тяжелого постинтоксикационного синдрома и непереносимости алкоголя [Шангареева З.А. и др., 2004; Бакулин И.Г. и др., 2015].

В связи с тем, что этанол является эндогенным продуктом обмена и образуется не более 10 г в сутки [Васильева Е.В. и др., 2004], при его избыточном экзогенном поступлении развивается «болезнь гиперактивности» митохондрий.

Соответственно развивается гипервосстановленность НАД+Н⁺ и НАДФ+Н⁺, снижение уровня которой достигается усилением транспорта кислорода за счет активации симпатoadреналовой системы с формированием клинической картины возбуждения. Такое снижение может обеспечиваться за счет углеродных скелетов АМК в ЦТК. Коварство этой болезни связано и с тем, что алкоголь задействует все 5 барьеров детоксикации (альбумин, эритроциты, рыхлая соединительная ткань и РЭС, система ГГТ, семейство цитохромов Р450) [Рослый И.М. и др., 2004].

Биохимическая суть патогенетических процессов при алкоголизме сводится к следующему: между хорошо растворимым и всепроникающим этанолом и уникальным и крайне мощным токсином – ацетальдегидом располагаются два регуляторных фермента – алкогольдегидрогеназа и ацетальдегиддегидрогеназа, которые формируют «метаболическую воронку» для «впрыскивания» строго ограниченного количества ацетальдегида (АЦД) в митохондрии для стимуляции ЦТК и тканевого дыхания [Комисарова И.А. и др., 1986; Рослый И.М. и др., 2004]. Под действием АЦД усиливаются катаболические процессы и развиваются биохимические сдвиги в белковом, углеводном и липидном обменах [Ленинджер А., 1974; Рослый И.М. и др., 2004].

Нагрузка этанолом вызывает повреждения ядерной и митохондриальной ДНК, что может вызывать ряд мутаций, обеспечивающих устойчивость митохондрий к постоянной гиперстимуляции АЦД. При этом в митохондриях с нормальным геномом резко снижается уровень глутатиона, что приводит к поступлению цитохрома-с в цитоплазму и к запуску апоптоза [Рослый И.М. и др., 2004; Бра М. и др., 2005; Черняк Б.В. и др., 2005]. Также АЦД связывается с белками и ДНК и обуславливает повреждение гепатоцитов и внутриклеточных структур (митохондрии и др.) [Циммерман Я.С., 2004]. Образующиеся токсические соединения накапливаются в крови и индуцируют образование провоспалительных цитокинов, некоторых интерлейкинов и фактора некроза опухоли α , участвующих в развитии алкогольной болезни печени [Абдурахманов Д.Т., 2007; Couzigou P., 1991].

Субстратом быстрого реагирования на любое стрессорное воздействие является глюкоза, образующаяся из небольших запасов клеточного гликогена. Быстрое (в течение не более чем двух часов) истощение гликогена при запросе на энергетический субстрат вовлекает в катаболизм жиры и аминокислоты. С биохимической точки зрения использование углеводов затруднено в силу протяженности пути гликолиза, сложности его регуляции и малого энергетического выхода, а для использования липидов на каждом этапе требуется большое количество белков – как ферментов, так и переносчиков. Кроме того, использование липидов сопряжено с потенциальной токсичностью промежуточных продуктов – свободных жирных кислот (детергенты для мембран и разобщители для биологического окисления) и развитием перекисного окисления липидов. Поэтому основным субстратом для митохондрий являются белки. Подключение жиров всегда отсрочено во времени и потенциально опасно с точки зрения развития эндотоксикоза [Рослый И.М., Агаронов В.Р. и др., 2004].

Кетоновые тела и продукты перекисного окисления липидов являются дополнительным активатором митохондрий и разобщителем процесса теплопродукции с сопряженным синтезом АТФ. Возникает патогенетическая проблема: энергии много, а АТФ мало, и это обстоятельство выступает в первую очередь через нарушение трансмембранных потоков [Ленинджер А., 1974; Северин Е.С., 2005].

Развитие алкоголизма ведет к «краху» ряда биоэнергетических механизмов, что проявляется в ряде клинико-биохимических синдромов. Их перечень таков: клеточный ацидоз на фоне выраженного алкалоза в плазме; внутриклеточная гиперкалиемия; внутриклеточная гиперосмолярность; гипопроотеинемия; гипоальбуминемия; белок-альбуминовая диссоциация; резкое снижение уровня мочевины; повышение АЛТ; изменение коэффициента Де Ритиса в зависимости от течения заболевания; формирование двух пиков активности ГГТ; патологическая стабильность активности ЩФ; быстрое разрешение ферментемии; лимфоцитарно-моноцитарная диссоциация; снижение уровня гемоглобина и

эритроцитов; анэозинофилия; лейкоцитоз; тромбоцитопения, с резким восстановлением на 7-е сутки [Рослый И.М. и др., 2004].

Таким образом, с точки зрения патогенеза можно выделить два важных этапа. Первый этап – «катаболический взрыв» – физиологически ненужный, с использованием всех допустимых и недопустимых резервов (тотальная стимуляция всего митохондриального поля). Второй этап – отсроченная активация катаболизма с минимальной активностью и селекцией мутантного клона митохондрий, с продолжающимся вовлечением искусственно и естественно дефицитных аминокислот. Формируется скрытая системная белковая дистрофия. Эти состояния не дискретны и поэтому сложны для клинико-биохимической оценки.

Понимание патогенеза алкоголизма связано с двумя ключевыми проблемами – гиперстимуляцией митохондрий и белковой дистрофией, где второе состояние является следствием первого, а их суммирующим результатом выступают выше перечисленные синдромы.

Чтобы лучше понять изменения печени при воздействии алкоголя, необходимо дать характеристику алкогольной болезни печени, для понимания морфологических изменений необходимо выделять основе формы алкогольной болезни. Большой объем потребления алкоголя в России ведет к росту количества лиц, страдающих алкогольной болезнью печени (АБП) и другими болезнями, а также возникновению травм, связанных с употреблением токсических доз алкоголя [Ивашкин В.Т., 2005; Хазанов А.И. и др., 2006; Калинин А.В., 2007; Хазанов А.И., 2007]. И риск поражения печени, ассоциированный с воздействием этанола, напрямую зависит как от дозы употребляемого алкоголя, так и от продолжительности этого употребления: ежедневное употребление 40–80 г чистого этанола в день на протяжении 4–6 лет ассоциировано с высоким риском развития алкогольной болезни. Подобная доза алкоголя теоретически может быть позиционирована как «критическая» больше по отношению к мужской части населения, в отношении женщин подобная доза может быть ограничена 20–35 мл чистого этанола. Следует также подчеркнуть, что развитие алкогольной болезни

печени не зависит от типа употребляемых спиртных напитков [Циммерман Я.С., 2004; Никитин И.Г., 2007].

Полигенность реакции человека на алкоголь подтверждена и в экспериментальных условиях. Поэтому знание фенотипа человека и даже его подгруппы может помочь в предсказании реакции данного индивидуума на алкоголь [Циммерман Я.С., 2004; Schuckit M.A., 1997].

Патогенез алкогольного поражения печени многофакторный. Он включает в себя прямое токсическое действие этанола и продуктов его метаболизма, цитокин-индуцированное повреждение печеночной ткани, обусловленное активацией клеток Купфера кишечными эндотоксинами, аутоиммунное повреждение вследствие формирования неоантигенов [Никитин И.Г., 2007; Висмонт Ф.И., 2017; Cook R.T., 1999; Diaz L.D., 2002], включающих продукты метаболизма этанола, и развивающееся при злоупотреблении алкоголем нарушение питания [Маевская М.В., 2004; Абдурахманов Д.Е., 2007]. Важнейший фактор токсичности этанола – развитие окислительного стресса, который обусловлен повышенным образованием в печени свободнорадикальных молекул и снижением ее антиоксидантного потенциала [Циммерман Я.С., 2004; Зоров Д.Б., 2005; Гейвандова Н.И., 2006; Дубинина Е.Е. и др., 2007; Хазанов А.И., 2007]. Свободные радикалы усиливают перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот и липопротеидов, составляющих основу мембраны клеток [Суханова Г.А., 2000; Lieber C.S. et al., 1994; Verson A et al., 1998], повреждают митохондрии клеток, нарушая перенос электронов в дыхательной цепи (увеличение отношения НАД⁺/НАД⁺) [Ленинджер А., 1974; Северин Е.С., 2005; Попова Т.Н. и др., 2008]. Все это, в свою очередь, приводит к гибели клеток печени или их повышенной чувствительности к цитокин-индуцированному повреждению [Абдурахманов Д.Е., 2007]. Т.е. увеличение продукции свободных радикалов является мощным стимулом секреции провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-8, ИЛ-6) [Urbaschek R. et al., 2001; Notas G. et al., 2006].

Повышение синтеза глицеро-3-фосфата вызывает усиление эстерификации жирных кислот и синтеза триглицеридов, что служит начальным этапом развития,

как гиперлипидемии, так и жировой дистрофии печени. Наряду с этим увеличение концентрации НАДН сопровождается снижением скорости β -окисления жирных кислот, что также способствует их отложению в печени [Маевская М.В. и др., 2006; Буеверов А.О., 2007].

Выделяют три основные формы АБП, которые можно назвать также ее последовательными стадиями: стеатоз (дистрофия), стеатогепатит (алкогольный гепатит), цирроз [Пальцев М.А., Аничков Н.М., 2001; Циммерман Я.С., 2004; Буеверов А.О. и др., 2006; Абдурахманов Д.Т., 2007]. Кроме того, отдельные авторы выделяют особую форму – острый алкогольный гепатит, который может развиваться на любой стадии АБП, как правило, после употребления больших доз алкоголя [Мухин А.С., 1980; Абдурахманов Д.Т., 2007; Хазанов А.И., 2007].

При остром алкогольном гепатите выявляют преимущественное поражение центральных отделов долек, жировую дистрофию, мелкие очаги некроза, инфильтраты, частично состоящие из нейтрофилов, алкогольный гиалин (тельца Маллори), разрастание фиброзной ткани [Хазанов А.И. и др., 2005; Хазанов А.И., 2007].

1.3 Изменения печени при хроническом алкоголизме

В настоящее время проблеме поражения внутренних органов и систем организма человека при хроническом отравлении алкоголем посвящено большое количество клинических и экспериментальных исследований [Пиголкин Ю.И. с соавт., 2003; Гальчиков Ю.И., 2009; Привалихина А.В., Фандеева А.Ю., Спицын П.С., Гервальд В.Я., 2015]. Определена роль этанола в развитие алкогольных повреждений структур печени [Маевская М.В., 2001; Моисеев В.С., 2014; Wheeler M.Z., 2003].

Однако, несмотря на большое количество исследований, посвященных воздействию алкоголя, недостаточно внимания было уделено изучению морфофункциональных изменений в тканях внутренних органов на фоне

хронической алкогольной интоксикации [Нужный В.П. с соавт., 1998; Огурцов П.П., 1998; Богомолов Д.В. с соавт., 2003; Thomson, A.D., 2010].

Хроническая интоксикация спиртом сопровождается жировым перерождением печени, нарушением метаболических процессов в органе.

Хроническое употребление этанола приводит к уменьшению способностей митохондрий окислять ацетальдегид, увеличивается дисбаланс между его образованием и деградацией. Ацетальдегид в 30 раз токсичнее самого этанола. Токсическое влияние ацетальдегида на печень заключается в следующем: стимуляция перекисного окисления липидов и образование свободных радикалов, повреждающих гепатоцит и его структуры; связывание ацетальдегида с цистеином и глутатионом вызывает нарушение образования восстановленного глутатиона, а это в свою очередь способствует накоплению свободных радикалов; восстановленный глутатион в митохондриях играет важную роль в поддержании целостного функционирования органеллы; функциональные нарушения ферментов, связанных с мембранами гепатоцитов, и непосредственное повреждение структуры мембраны; угнетение печеночной секреции и усиление внутрипеченочного холестаза вследствие связывания ацетальдегида с тубулином печени; активация иммунных механизмов (ацетальдегид включается в состав иммунных комплексов, принимающих участие в формировании алкогольной болезни печени).

Хроническое потребление алкоголя может вызвать стеатоз, воспаление, фиброз, цирроз и даже рак печени [Williams J.A., Manley S., Ding W.X., 2014]. Выделяют три основные формы АБП, которые можно назвать также ее последовательными стадиями: стеатоз (дистрофия), стеатогепатит (алкогольный гепатит), цирроз [Пальцев М.А., Аничков Н.М., 2001; Циммерман Я.С., 2004; Буеверов А.О. и др., 2006; Абдурахманов Д.Т., 2007; Вовченко А.Ф., 2016]. Кроме того, отдельные авторы выделяют особую форму – острый алкогольный гепатит, который может развиваться на любой стадии АБП, как правило, после употребления больших доз алкоголя [Мухин А.С., 1980; Абдурахманов Д.Т., 2007; Хазанов А.И., 2007].

Алкогольный гепатит характеризуется мелко- и крупнокапельной жировой дистрофией гепатоцитов и наблюдается их баллонная дегенерация, лобулярная инфильтрация ткани печени полиморфно-ядерными лейкоцитами (нейтрофилами, характерна для алкогольных повреждений печени) с некрвоспалительными изменениями и на ранних этапах отмечают фиброз [Пальцев М.А., Аничков Н.М., 2001]. Наблюдаются признаки холестаза и в некоторых гепатоцитах появляются аморфные эозинофильные скопления алкогольного гиалина – тельца Маллори (алкогольный гиалин имеет фибриллярную структуру и представляет собой скопления промежуточных филаментов) [Циммерман Я.С., 2004; Никитин И.Г., 2007; Marbet U. et al., 1987]. Активация воспаления при алкогольном гепатите указывают на то, что тельца Маллори могут быть индикатором степени активации воспалительного заболевания [Peng Y., French B.A., Tillman B. et al., 2014].

В эту стадию АПБ при использовании моноклональных антител возможно выявление «неоантигенов», в состав которых входит ацетальдегид, малоновый диальдегид [Никитин И.Г., 2007].

Алкогольный цирроз печени – финальная стадия алкогольного поражения печени [Sivanathan V. et al., 2014], на фоне которого может развиваться гепатоцеллюлярная карцинома в 5–15% случаев [Пальцев М.А., Аничков Н.М., 2001].

Характерными изменениями печени при циррозе являются дистрофия и некроз гепатоцитов, извращенная регенерация, диффузный склероз, структурная перестройка и деформация органа [Вовченко А.Ф., 2016]. Печеночный фиброз индуцируется активацией коллагенформирующих непаренхиматозных клеток печени при прямом действии альдегидов. В дебюте цирроз обычно микронодулярный [Буеверов А.О., 2006; Никитин И.Г., 2007; Lee F.I., 1966]. В эту стадию болезни определяются все типы «неоантигенов» при использовании моноклональных антител, особенно часто обнаруживаются комплексы, в состав которых входит малоновый диальдегид [Никитин И.Г., 2007].

1.4 Изменения печени при общем переохлаждении организма

Печень при смерти от воздействия холода резко полнокровна: полнокровие наблюдается в центральных и междольковых венах, равным образом и в капиллярах. Ядра гепатоцитов в большинстве случаев крупные, светлые, цитоплазма – бледная и ячеисто-зернистая. В большинстве гепатоцитов содержится по два ядра, а в ядрах по два ядрышка [Десятов В.П., 1977; Акимов П.А., 2016]. Усиленному делению подвергаются клетки паренхимы печени – гепатоциты [Десятов В.П., Симанин Г.В., Шамарин Ю.А., 1994; Акимов П.А., 2016]. Встречаются клетки, в которых ядра лежат как бы в пустоте – цитоплазма не восприняла краску. Также наблюдается жировая дистрофия печеночных клеток – мелкокапельная или «пылевая». Жировая дистрофия, безусловно, связана с режимом употребления алкоголя в течение жизни [Шамарин Ю.А., Алябьев Ф.В., Кладов С.Ю., 2005; Зуевский В.П. с соавт., 2014].

Всякая медленно наступающая смерть сопровождается потерей углеводов [Десятов В.П., 1977; Акимов П.А., 2016], следовательно, исчезновением гликогена в организме, в частности в печени.

Гликоген является самым распространенным в животном организме полисахаридом. Это запасное пищевое и энергетическое вещество протоплазмы. Расщепляясь на молекулы глюкозы, гликоген обеспечивает организм высокоактивным энергетическим веществом.

Холодовая смерть сопровождается бурным сгоранием углеводов. В печени отмечается практически полностью исчезновение гликогена. В других органах снижение содержания гликогена менее значительно. В то же время снижение содержания гликогена в печени во многом зависит от длительности охлаждения. При наступлении смерти в условиях температуры ниже $-25 - -30^{\circ}\text{C}$, снижение гликогена было незначительно. Это также отмечалось, когда охлаждению способствовали тяжелая степень алкогольного опьянения, черепно-мозговая травма [Шамарин Ю.А., Алябьев Ф.В., Кладов С.Ю., 2005; Израилова Г.Р., Халилов Р.А., Адиева А.А., 2014].

К специфическим признакам при смерти от переохлаждения, также следует отнести исчезновение гликогена и рибонуклеиновой кислоты из печени [Израилова Г.Р., Халилов Р.А., Адиева А.А., 2014].

Крюков А.И. (1902, 1913) на основании исследований на трупах и опытах на кроликах сделал вывод, что ценнейшим признаком смерти от холода оказывается исчезновение гликогена из печени. Исследования (реакция Мак-Мануса) в городе Томске при смерти от переохлаждения раскрыли исчезновение гликогена из печени [Десятов В.П., 1977].

Причины смертельной гипотермии достаточно сложные. Вначале организм полностью теряет энергетические ресурсы, в частности углеводы. При потере ресурсов значительно уменьшается теплообразование, что приводит к угасанию обмена веществ. Температура в различных органах стремится к "биологическому нулю", специализированные функции клеток прекращаются. Во время борьбы организма с переохлаждением в клетках различных органов и систем регистрируется дефицит рибонуклеиновой кислоты, возможность синтеза белков значительно снижена. Останавливается функция, связанная с нуклеопротеидами протоплазмы – метаболизм белков. Рибонуклеопротеидами имеют тесную связь с окислительными ферментами цитоплазмы клеток. Рибонуклеопротеиды разрушаются, что ведет к тому, что окислительные ферменты неспособны обеспечить накопление и высвобождение энергии, которая необходима для выполнения процессов жизнедеятельности. Нервно-гуморальный контакт между органами прекращаются, и организм более не функционирует как единое целое так как "биологический нуль" для различных органов и систем неодинаков [Десятов В.П., Симанин Г.В., Шамарин Ю.А., 1994].

При конкуренции причин смерти, таких как охлаждение и отравление алкоголем или тяжелой черепно-мозговой травме, гликоген сохраняется несомненно лучше, а также при «холодовом шоке», например, вследствие падения человека в ледяную воду. При изолированных случаях смерти от переохлаждения практически во всех органах и системах в клетках обнаруживается резкое снижение гликогена. Истощение его сберегательных

запасов один в один, как и при пищевой дистрофии. Клетки богатые запасами гликогена (клетки головного мозга, печени и миокарда) предотвращают смерть от теплового истощения, но не могут исключить «холодового шока».

1.5 Изменения печени при одновременном действии алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма

В практике судебного медика экспертиза лиц погибших от общего переохлаждения несомненно является значимым. Смерть, которая наступила от острой общей гипотермии, в различных регионах нашей страны в структуре насильственной смерти колеблется от 1,14 до 7,4 % [Десятов В.П., 1977; Югов К.М., 2003].

В качестве одного из основных факторов риска, способствующих наступлению смерти от переохлаждения, является употребление алкогольных напитков. Частота распространенности этанола в крови погибших от действия низкой температуры достаточно высокая, по информации большинства исследователей, может составлять до 76,0 % [Десятов В.П., 1977; Югов К.М., 2003].

Алкоголь, по единодушному мнению многих исследователей, в начальный период охлаждения играет двоякую роль: во-первых, он несколько ускоряет обменные процессы и, во-вторых, сгорание его также высвобождает определенное количество энергии, выполняющую защитную роль как фактор, препятствующий снижению общей температуры тела. Это подтверждается умеренным или даже незначительным количеством алкоголя в крови у погибших от общего переохлаждения организма [Шамарин Ю.А., Алябьев Ф.В., Кладов С.Ю., 2005].

Так, по результатам исследования 144 случаев холодовой смерти [Десятов В.П., 1997], приводятся следующие данные: в 4 случаях в крови обнаружено 3 ‰ этилового алкоголя, в 60 случаях – меньше 2 ‰ и в 20 случаях – меньше 1 ‰. В то же время большое количество этанола уже в начальный период охлаждения может в целом отрицательно влиять на процессы теплообразования и

обмен веществ, особенно углеводный, оказывая тормозящий эффект. В таких случаях он выступает очень мощным фактором, ускоряющим процесс охлаждения. Этим объясняется относительная сохранность гликогена во внутренних органах и сравнительно большое количество этанола в крови.

По данным ряда авторов, низкая температура как физический фактор не оказывает никакого влияния на этанол. Оттаивание тканей после оледенения также не влияет на количественное содержание этанола при условии, что вскрытие последует сразу после оттаивания [Шамарин Ю.А., Алябьев Ф.В., Кладов С.Ю., 2005].

Известно, что человек в экстремальной ситуации, под влиянием алкогольной интоксикации способен совершать активные целенаправленные действия с целью самоспасения. Употребление напитков содержащих спирт, приводит к значительному повышению теплоотдачи, снижению адаптационных возможностей человека. Достоверным фактом является то, что в процессе умирания от переохлаждения происходит значительное падение концентрации алкоголя в организме, это связано с расходом этанола как энергетического материала и наступают глубокие морфофункциональные нарушения, влияющие на метаболизм этилового алкоголя [Десятов В.П., 1977; Югов К.М., 2003].

Продолжительность воздействия холода до наступления смерти при разных типах переохлаждения и время приема напитков содержащих спирт определяют диагностику стадий (фаз) алкогольной интоксикации, отражающих токсическую динамику алкоголя при наступлении смерти. При смерти от общего «медленного» типа переохлаждения имела место только фаза элиминации, а при смерти от «быстрого» типа переохлаждения определялась как фаза плато, так и фаза элиминации. Ни в одном случае, стадия резорбции у исследуемых трупов, погибших от общего переохлаждения организма в состоянии алкогольной интоксикации, не была установлена [Югов К.М., 2003].

Значительные изменения токсикокинетики и токсикодинамики экзогенного этанола, происходящие под воздействием холодового фактора, вероятно, связаны с усилением ферментативного окисления алкоголя активированными

этанолокисляющими энзимами для поддержания температурного баланса на фоне истощения энергетических ресурсов организма. Немаловажное влияние на протекание физико-химических процессов поступления, распределения, каталитического окисления и выделения экзогенного алкоголя при переохлаждении организма могут оказывать централизация кровообращения с дегидратацией периферических тканей и отеком внутренних органов, а также гематологические изменения, связанные с повышением вязкости крови, снижением скорости ее циркуляции и объема [Югов К.М., 2003].

На основании опубликованных данных в литературе можно сделать вывод, что в печени в случаях алкогольной интоксикации и гипотермии организма отмечаются существенные морфологические перестройки. Данные морфологические перестройки можно подразделить на изменения сосудистого русла и паренхимы печени. При воздействии стрессорных факторов (холод, этанол) гепатоциты находятся в состоянии различной степени выраженности и распространенности дистрофических изменений, причем указывается на существующую их гетероморфность и локальность поражений. А доля вклада каждого из стрессоров в формировании окончательной морфологической картины и, соответственно, функции печени, остается не изученной.

Имеющиеся в научной литературе данные относительно почасовой динамики морфологических изменений печени при интоксикации алкоголем и общем переохлаждении организма в сравнительном аспекте носят фрагментарный характер и касаются отдельных составляющих, а при комбинации этих стрессоров – отсутствуют.

Таким образом, изучение морфофункционального состояния печени в динамике алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма, а также при различных вариантах комбинации этих стрессоров представляется значимым для более глубокого осмысления механизмов организации ответной системной реакции организма при влиянии указанных экзогенных факторов.

1.6 Изменение биохимических показателей крови при алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма

Печень принимает участие во всех видах обмена, а именно, всасываемые углеводы в слизистой оболочке кишечника накапливаются в печени и образуют «депо» гликогена [Привес М.Г., Лысенков Н.К., Бушкович В.И., 2009]. Основная роль печени в углеводном обмене составляет сохранение в обеспечении постоянства концентрации глюкозы в крови. Это достигается путем регулировки между распадом и синтезом гликогена, "депо" которого находится в печени.

Помимо того, что печень является главной мишенью для алкоголя, это еще и основной орган ответственный за гомеостаз глюкозы и энергетический обмен в организме. Изучение нарушений данного обмена при действии этанола позволит приблизиться к пониманию событий на молекулярном, клеточном и тканевых уровнях [Лелевич С.В., 2009, 2016].

Гликоген – разветвлённый гомополимер глюкозы, в структуре которого остатки глюкозы присоединены в линейных участках α -1,4-гликозидной связью. В точках разветвления мономеры присоединены α -1,6-гликозидными связями. Эти связи образуются примерно с каждым десятым остатком глюкозы. Следовательно, точки ветвления в гликогене встречаются примерно через каждые десять остатков глюкозы. Так возникает древообразная структура с молекулярной массой $>10^7$ Д, что соответствует приблизительно 50 000 остатков глюкозы. Таким образом, в молекуле гликогена имеется только одна свободная аномерная ОН-группа и, следовательно, только один восстанавливающий (редуцирующий) конец. В клетках животных гликоген – основной резервный полисахарид. При полимеризации глюкозы снижается растворимость образующейся молекулы гликогена и, следовательно, её влияние на осмотическое давление в клетке. Это обстоятельство объясняет, почему в клетке депонируется гликоген, а не свободная глюкоза. Гликоген хранится в цитозоле клетки в форме гранул диаметром 10–40 нм. С гранулами связаны и некоторые ферменты, участвующие в метаболизме гликогена, что облегчает их взаимодействие с субстратом.

Разветвлённая структура гликогена обуславливает большое количество концевых мономеров, что способствует работе ферментов, отщепляющих или присоединяющих мономеры при распаде или синтезе гликогена, так как эти ферменты могут одновременно работать на нескольких ветвях молекулы. Гликоген депонируется главным образом в печени и скелетных мышцах.

После приёма пищи, богатой углеводами, запас гликогена в печени может составлять примерно 5% от её массы. В мышцах запасается около 1% гликогена, однако масса мышечной ткани значительно больше и поэтому общее количество гликогена в мышцах в 2 раза больше, чем в печени. Гликоген может синтезироваться во многих клетках, например, в нейронах, макрофагах, клетках жировой ткани, но содержание его в этих тканях незначительно. В организме может содержаться до 450 г гликогена.

По данным Т.И. Чистовой (1989) при смерти от острого отравления этиловым алкоголем содержание гликогена в печени достоверно уменьшалось по сравнению с механической травмой, смерти от переохлаждения количество гликогена в печени уменьшалось до $1,77 \pm 0,10$ у.е./мг.

Механизм гипогликемии определяется метаболизмом этанола, а также действием низкой температуры на организм, что приводит к истощениям запасов гликогена. Кроме того, алкоголь снижал и превращение аланина (главной глюкогенной аминокислоты) в глюкозу [Чистова Т.И., 1990].

Определение гликогена в печени имеет огромное значение в судебно-медицинской практике и используется для подтверждения диагноза смерти от общего переохлаждения организма, травматического шока, скоропостижной смерти, а также для оценки быстроты наступления смерти.

При охлаждении до наступления патологического процесса в организме мобилизуются энергетические резервы, поддерживающие температуру тела: переваривание пищи, утилизация глюкозы крови, гликогена печени и мышц. Причиной смерти при переохлаждении может быть остановка дыхания, сосудистый коллапс, фибрилляция сердца. При биохимическом исследовании в

крови не обнаруживается глюкоза, в тканях гликоген [Асатиани В.С., 1956; Зобнин Ю.В., Тяжова А.В., 2015].

При кратковременном охлаждении (утоплении, «нулевая температура») часто исчезает глюкоза в крови, гликоген в печени может сохраняться. Кроме смерти от переохлаждения отсутствие гликогена в тканях может указывать на смерть с длительной агонией, травматический шок.

Обнаружение концентрации гликогена в пределах нормальных значений в печени подтверждает остроту наступления смерти: насилие, травма, острая коронарная недостаточность, повреждение головного мозга, эмболия, асфиксия. Наиболее полное представление о причине смерти и быстроте ее наступления можно получить при одновременном исследовании крови, фрагментов печени, миокарда и скелетной мышцы [Асташкина О.Г., 2004].

На основе проведенного анализа и обобщения многочисленных и нередко противоречивых сведений об изменениях активности трансаминаз сыворотки крови при употреблении алкоголя можно сделать следующие принципиально важные выводы. Поведение сывороточной активности АСТ и АЛТ при острой алкогольной интоксикации динамично, изменения этих ферментов носят преходящий характер и отражают как разные механизмы их происхождения (например, из разрушенных клеток печени, сердца, почек, скелетных мышц), так и разные механизмы чувствительности к непосредственному токсическому или опосредованным метаболическим эффектам алкоголя. Характер изменения активности трансаминаз при злоупотреблении алкоголем зависит от «стажа» алкоголизации, от индивидуальной чувствительности к органотропным эффектам алкоголя и от сопутствующих алкоголизму заболеваний внутренних органов, главным образом печени и сердца.

В начале формирования и в апогее алкоголизма достоверно чаще отмечается гиперферментемия АСТ, что служит основанием для включения этого показателя в диагностический тест алкоголизма I и II стадий. Показательным и эффективным для диагностики II и III стадий, а особенно для дифференциальной диагностики I и III стадий алкоголизма, является критерий отношения величин

активности АСТ/АЛТ – коэффициент де Ритиса. По мере утяжеления алкоголизма, т. е. по мере продолжительности хронической алкогольной интоксикации и присоединения соматической патологии, все чаще наблюдается гиперферментемия АСТ и АЛТ.

Подобное различие подчеркивает наличие примитивной субстратной регуляции активности ферментов. Стократное превышение субстратов лишь подтверждает приоритет анаболизма (синтез глюкозы) над катаболизмом (горение митохондрий). При этом любые отклонения в «сердечную» (больше 1,5) или «печеночную» (меньше 1,5) сторону означает всего лишь смену метаболических потоков с катаболического на анаболический. При этом уровень АСТ – маркер активности ЦТК и может использоваться для оценки состояния митохондрий, а величина активности АЛТ отражает интенсивность синтеза глюкозы из аминокислот [Рослый И.М., 2012].

В связи с этим десинхронизация ферментных систем, в частности АСТ и АЛТ, расценивается как фаза перехода компенсаторной реакции в патологию при экспериментальном токсическом поражении печени [Тиунова Л.В., Румянцев А.Г., 1975]. Для изучения биохимических последствий алкогольной интоксикации вышеуказанные работы интересны тем, что подтверждают общую закономерность: адаптация к стрессу всегда приводит к снижению реактивности как центральных регулирующих систем (например, гипоталамо-гипофизарной системы), так и периферических отделов регуляции гомеостаза [Шорин Ю.П., Обут Р.А., 1974; Горизонтов П.Д., 1981].

Гомеостазирующие системы клетки – это, прежде всего, ферментные системы. И поэтому именно со стороны ферментов естественно ожидать первичной и вторичной реакции на эпизодическое или систематическое воздействие стрессогенных (токсических, физических, психических и др.) факторов внешней среды. Причем ферменты могут участвовать в кратковременной и долговременной адаптации [Горизонтов П.Я., 1981]. Мощность ферментных систем обеспечивает скорость адаптации и резерв компенсаторных механизмов. Влияние этанола на ферменты аденилатциклазной

системы органов, регулирующей уровень аденозина и цАМФ, опосредует множество метаболических сдвигов адаптационного характера, обеспечивает анальгетический эффект алкоголя и центральные эффекты катехоламинов [Weinryb A., 1971; Volicer L., Gold B., 1973]. Клинико-экспериментальными работами К.Н. Груздевой, Б.А. Антифьевой и Б.Е. Высокогорского (1979–1986) показаны адаптационные изменения различных звеньев энергетического, углеводного, аминокислотного и липидного обмена и их ферментных систем при алкогольной интоксикации.

Резюме

Несмотря на довольно многочисленные исследования, посвященные смерти от общего переохлаждения и острой интоксикации алкоголем, проблема верификации причины смерти при комбинированных воздействиях этих экзогенных стрессоров продолжает оставаться нерешенной. Часто общее переохлаждение организма протекает на фоне алкогольной интоксикации, которая меняет патоморфологическую картину холодовой травмы. Уже легкое опьянение (0,5–1,5‰) может быть очень опасным, алкоголь способствует теплоотдаче, понижает температуру тела, и смертельная гипотермия может развиваться значительно быстрее.

На основании опубликованных данных в литературе можно сделать вывод, что в печени в случаях алкогольной интоксикации и гипотермии организма отмечаются существенные морфологические перестройки. Данные морфологические перестройки можно подразделить на изменения сосудистого русла и паренхимы печени. При воздействии стрессорных факторов (холод, этанол) гепатоциты находятся в состоянии различной степени выраженности и распространенности дистрофических изменений, причем указывается на существующую их гетероморфность и локальность поражений. А доля вклада каждого из стрессоров в формировании окончательной морфологической картины и, соответственно, функции печени, остается не изученной.

Имеющие в научной литературе данные относительно почасовой динамики морфологических изменений печени при алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма в сравнительном аспекте носят фрагментарный характер и касаются отдельных составляющих, а при комбинации этих стрессоров – отсутствуют.

Таким образом, изучение ранее не известных морфофункциональных изменений печени в патогенезе алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма, а также при различных вариантах комбинации этих стрессоров является необходимым для более полного понимания механизмов формирования ответной системной реакции организма при влиянии указанных экзогенных факторов.

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн эксперимента

Для проведения эксперимента использовали 185 беспородных половозрелых (в возрасте 3 мес.) крыс-самцов массой 250–300 г., полученных из вивария НИИ Фармакологии ТНЦ СО РАМН. Выбор данного вида лабораторных животных обусловлен аналогичностью обусловленных алкоголем изменений у крыс с таковыми у человека, морфофизиологическими особенностями этих животных (отсутствие отвращения к этанолу, отсутствие рвотного рефлекса на его действие, постоянная наполненность желудка пищей), простотой содержания и легкостью выполнения с ними различных процедур (фиксация, введение растворов веществ с помощью зонда и т. д.).

Животных содержали в клетках с опилками по 5 особей в лаборатории кафедры судебной медицины с курсом токсикологической химии СибГМУ при температуре +20 – +22°C, с равными периодами светлого (8.00 – 20.00) и темного (20.00 – 8.00) времени суток при свободном доступе к воде и пище, одинаковой для всех крыс.

Эксперимент проводился в осенне-зимний период с 2013 по 2015 год совместно с соискателем Сибирского государственного медицинского университета Арбыкиным Юрием Алексеевичем. Время начала воздействия в каждой серии эксперимента – 8–00 часов. Для моделирования алкогольной интоксикации животным под эфирным наркозом интрагастрально через зонд однократно вводился 40% этанол в расчете 2 мл, 4 мл и 8 мл алкоголя на 1 кг массы тела животного. Данный диапазон доз брался из расчета степени алкогольного опьянения (0,5–1,5‰ – легкая, 1,5–2,5‰ – средняя, 2,5–3,0‰ – сильная степень алкогольного опьянения), которая будет у крыс при однократном введении 40% этанола в дозах соответственно 2 мл, 4 мл и 8 мл абсолютного алкоголя на 1 кг массы тела животного. Для моделирования гипотермии животных подвергали экспозиции холода в клетках по 2-3 особи на открытом

воздухе при температуре -10°C и -18°C . При моделировании комбинированного воздействия алкоголя и холода вначале животным вводили этанол, затем клетку с животными помещали на открытый воздух. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом в течение 7 часов: через 1 час, 3 часа, 5 часов, 7 часов. Для контроля использовано 5 интактных крыс самцов. Количество животных по контрольным точкам эксперимента представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Схема эксперимента

Вид воздействия	Время воздействия				
	1 час	3 часа	5 часов	7 часов	контроль
40% этанол 2 мл/кг	5	5	5	5	5
40% этанол 4 мл/кг	5	5	5	5	
40% этанол 8 мл/кг	5	5	5	5	
Холод (-10°C)	5	5	5	5	
Холод (-18°C)	5	5	5	5	
Холод (-10°C) + 40% этанол 4 мл/кг	5	5	5	5	
Холод (-10°C) + 40% этанол 8 мл/кг	5	5	5	5	
Холод (-18°C) + 40% этанол 4 мл/кг	5	5	5	5	
Холод (-18°C) + 40% этанол 8 мл/кг	5	5	5	5	

В каждой контрольной точке производилось взятие крови путем ее сбора за счет стекания после декапитации для биохимических исследований и исследования на содержание этилового спирта в группах животных, которым этанол вводился.

При вскрытии органы выделяли единым органокомплексом, с последующим взвешиванием печени и визуальной оценкой состояния остальных внутренних органов (наличие признаков алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма), затем кусочки печени забирались для гистологического и электронно-микроскопического исследования.

Для световой микроскопии часть ткани фиксировали в нейтральном 10 % нейтральном формалине 48–72 часа, промывали, обезвоживали в спиртах нарастающей концентрации, проводили заливку в парафин. Срезы толщиной 7–10 мкм, полученные на санном микротоме, депарафинировали [Хонин Г.А. и др., 2004], окрашивали гематоксилином и эозином и заключали в канадский бальзам. Исследовали препараты на светооптическом стандартном бинокулярном микроскопе KarlZeiss «Axiolab A1».

Морфологическими признаками, по которым можно судить о функциональной активности печени являются степень дистрофических изменений в гепатоцитах, степень кровенаполнения сосудов, выраженность очаговой и диффузной мононуклеарной инфильтрации, количество лимфоцитов в полях зрения, выраженность некроза, выраженность отека, количество двуядерных гепатоцитов, количество гепатоцитов с двумя ядрышками в ядре, а также размеры клеток, ядер, удельный объем органелл в цитоплазме гепатоцитов различных зон ацинуса.

На светооптическом уровне на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, оценка состояния печени была проведена по 4-балльной системе. В каждом случае были оценены: степень дистрофических изменений в гепатоцитах (рисунок 1), степень кровенаполнения сосудов (рисунок 3), выраженность очаговой (рисунки 2, 6) и диффузной инфильтрации (рисунок 2), количество лимфоцитов в полях зрения, выраженность некроза (рисунок 4), выраженность отека (рисунок 5), количество двуядерных гепатоцитов (рисунок 6), количество гепатоцитов двумя и более ядрышками в ядре (рисунок 6) [Науменко В.Г., Митяева Н.А., 1980]. Методика оценки состояния печени представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Оценка состояния морфологических изменений в баллах

Параметр	1 балл	2 балла	3 балла	4 балла
Количество лимфоцитов в поле зрения	0 – 1 клетка в поле зрения	2 – 4 клетки в поле зрения	5 – 8 клеток в поле зрения	9 и более клеток в поле зрения
Выраженность очаговой инфильтрации	Инфильтрации нет	1–2 очага до 10 клеток каждый	очаг до 40 клеток, либо до 3 – 5 мелких очагов	Крупный очаг, либо более 5 средних и мелких очагов
Выраженность диффузной инфильтрации	Инфильтрации нет, либо 2 – 4 клетки в поле зрения	5 – 8 клеток в поле зрения	9 – 20 клеток в поле зрения	Более 20 клеток в поле зрения
Степень кровенаполнения сосудов	Сосуды спавшиеся	Слабое полнокровие	Умеренное полнокровие	Выраженное полнокровие
Выраженность некроза	Отсутствие	Единичные	Умеренные	Множественные
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	Отсутствие	Слабо выраженная	Умеренно выраженная	Выраженная
Выраженность отека	Отсутствие	Слабо выраженная	Умеренно выраженная	Выраженная
Количество двоядерных гепатоцитов	0 – 1 клетка в поле зрения	2 – 4 клетки в поле зрения	5 – 8 клеток в поле зрения	9 и более клеток в поле зрения
Количество гепатоцитов с двумя и более ядрышками в ядре	Единичные	Небольшое количество	Умеренное количество	Множество

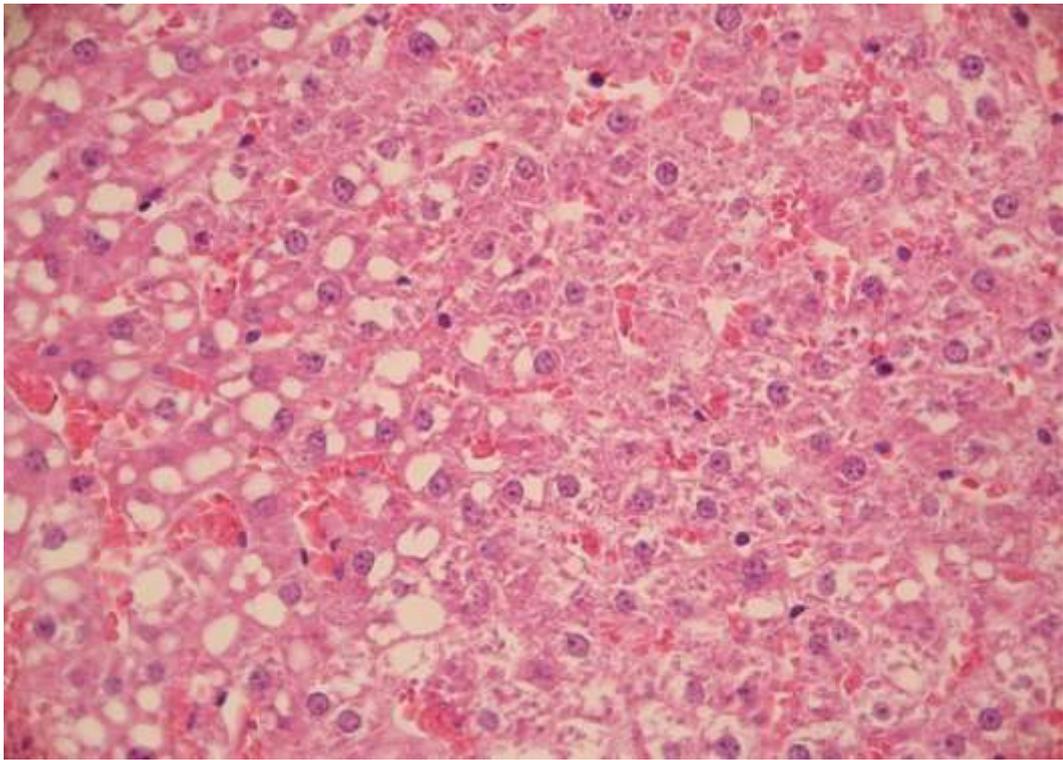


Рисунок 1 – Печень крысы через 7 часов после введения алкоголя (8 мл/кг).
Дистрофические изменения гепатоцитов, 4 балла. Окраска гематоксилин-эозин.
Увеличение 400

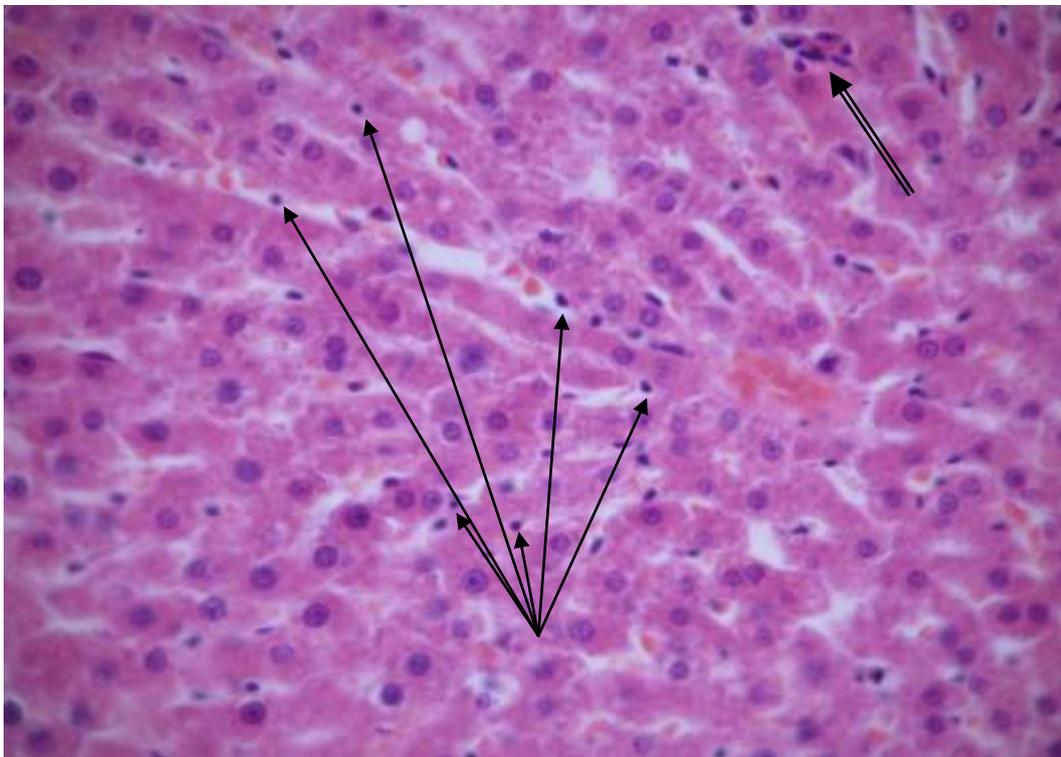


Рисунок 2 – Печень крысы через 3 часа воздействия низкой температуры (-18°C).
Выраженная диффузная мононуклеарная инфильтрация, 4 балла;
по стрелке –  очаговая мононуклеарная инфильтрация, 2 балла.
Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400

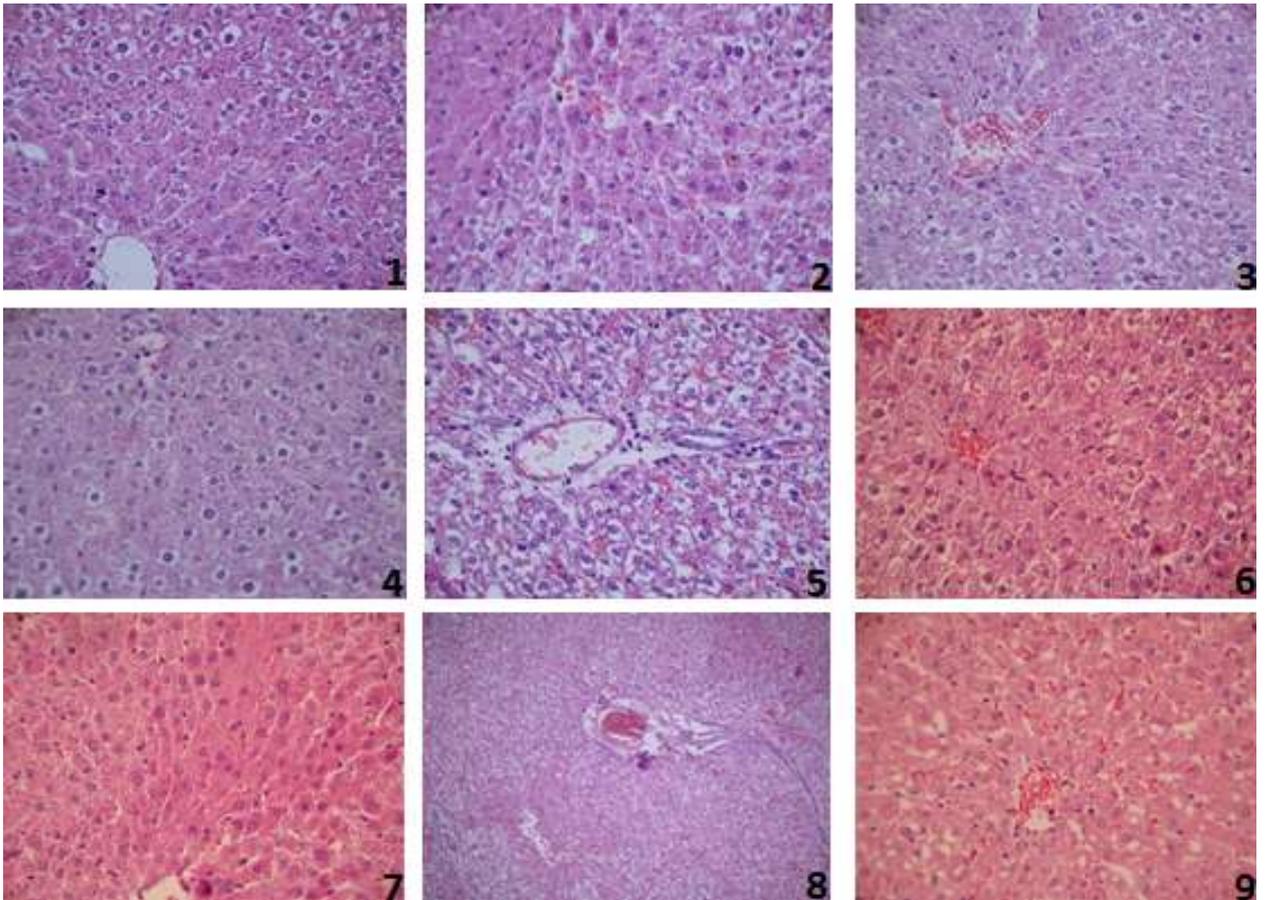


Рисунок 3 – Динамика кровенаполнения сосудов и паренхимы печени. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200:

- 1 – кровенаполнение 1 балл
- 2 – кровенаполнение центральной вены и капилляров 2 балла
- 3 – кровенаполнение центральной вены 4 балла, капилляров 1 балл
- 4 – кровенаполнение капилляров 2 балла
- 5 – кровенаполнение сосудов портального тракта и капилляров 3 балла
- 6 – кровенаполнение центральной вены 4 балла, капилляров 2 балла
- 7 – кровенаполнение капилляров 2 балла
- 8 – кровенаполнение центральной вены 4 балла, капилляров 3 балла
- 9 – кровенаполнение центральной вены 4 балла, капилляров 4 балла

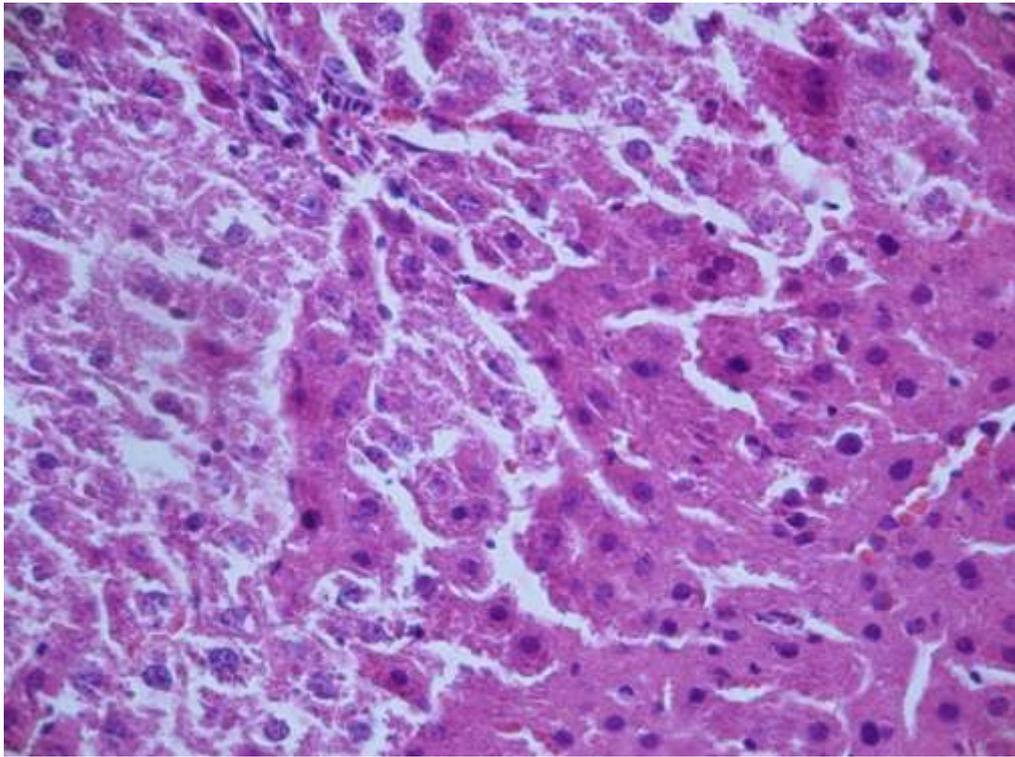


Рисунок 4 – Печень крысы через 3 часа после введения алкоголя (8 мл/кг). Некроз гепатоцитов, 4 балла. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400

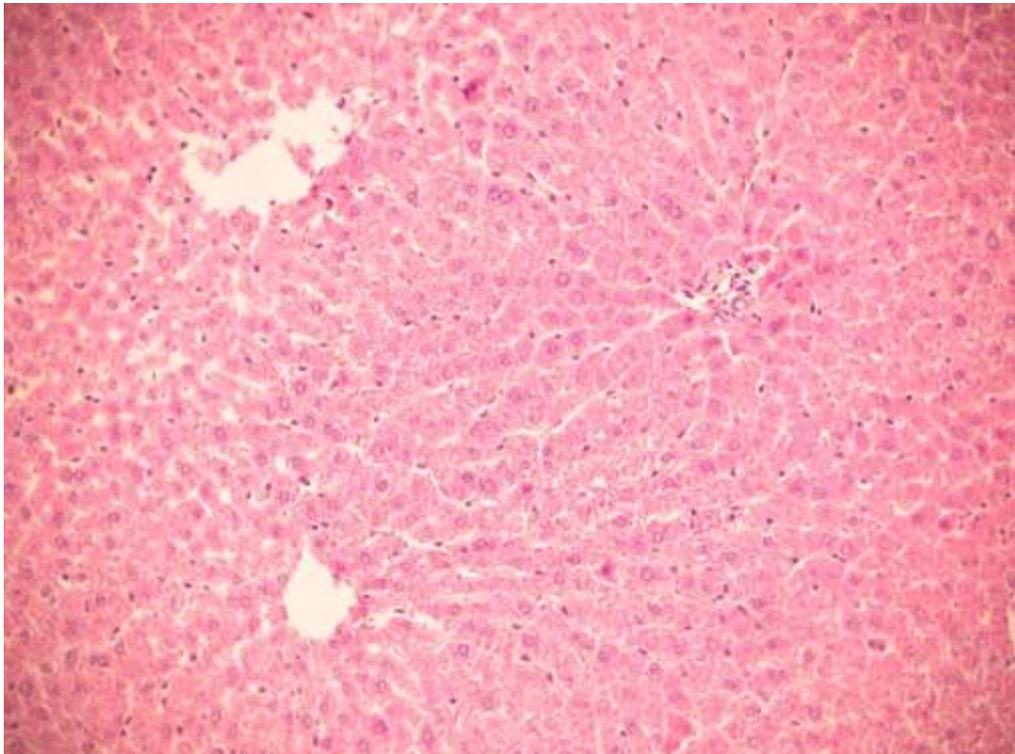


Рисунок 5 – Печень крысы через 7 часов после введения алкоголя (2 мл/кг). Отек печени, 2 балла. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200

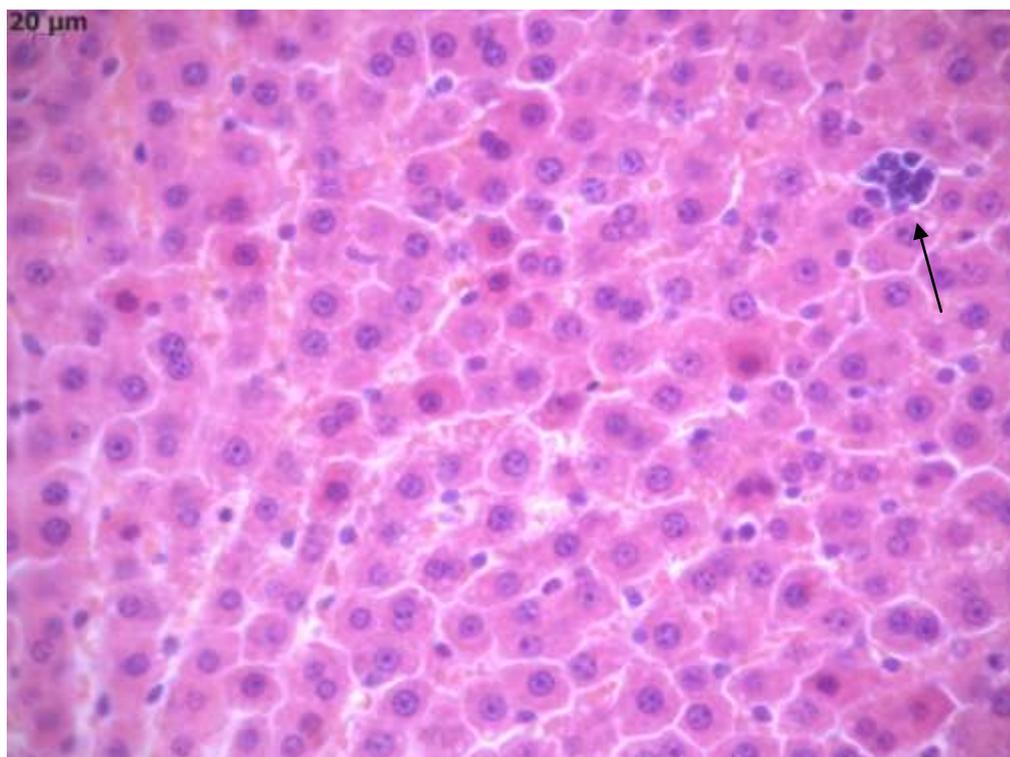


Рисунок 6 – Печень крысы через 7 часов после введения алкоголя (2 мл/кг). Количество гепатоцитов с двумя ядрами 4 балла; количество гепатоцитов с двумя ядрышками в ядре 4 балла; по стрелке – очаговая лимфоцитарная инфильтрация, 2 балла. Увеличение 400

Изучение ультраструктуры проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии в электронном микроскопе JEM-100 CXII (JEOL, Япония) с апертурной диафрагмой 25–30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ. Ультратонкие срезы готовили по методике Б. Уикли [Уикли Б., 1975], для этого взятую ткань фиксировали в забуференном 0,1М какодилатным буфером (рН 7,4) 2,5% растворе глутарового альдегида в течение 2 часов при температуре 4 °С. Далее дважды промывали какодилатным буфером (рН 7,4) по 10–15 мин., после чего постфиксировали в 1% растворе четырехокси осмия (на 0,1М какодилатном буфере) в течение 2 ч с последующим двукратным отмыванием какодилатным буфером (по 10–15 мин). Затем материал дегидратировали в этиловых спиртах восходящей концентрации: в 50% спирте – 15–20 мин, в 70% – оставляли на ночь, затем в 80%, 90%, 96% – по 15–20 мин в каждом, в абсолютном спирте или ацетоне – по 20–30 мин дважды.

Дегидратированные препараты заключали в смесь смол эпон-аралдит [Undeen A.H., Vavra J.I., 1997].

Пропитка препаратов проводилась по следующей схеме:

смесь смол : абсолютный ацетон 1:3 — 4–8 часов;

смесь смол : абсолютный ацетон 1:1 — 4–8 часов;

смесь смол : абсолютный ацетон 3:1 — 4–8 часов;

смесь смол — от 12 до 24 часов;

новая смесь смол в другой посуде — от 12 до 24 часов;

Затем препараты переносились в свежую смесь смол для полимеризации. Полимеризацию проводили в течение 36–48 часов при 60 °С.

Ультратонкие срезы толщиной 60–100 нм готовили на ультратоме Ultrotome III (LKB, Швеция). Полученные срезы наносили на сетки-подложки с формваровой пленкой-подложкой и контрастировали 2% р-ром уранилацетата на 50% этаноле (10–20 мин при 37 °С) и цитратом свинца (от 3 до 10 мин при комнатной температуре) по E. Reynolds [1963]. Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим.

На электронограммах оценены состояние ядер, ядрышек, цитоплазмы, митохондрий, капилляров (рисунки 7–17). Для количественной оценки ультраструктурных изменений, происходящих в печени в период эксперимента, были использованы следующие параметры.

1. Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, в процентах (100% – общее число ядер, сосчитанных в 10 полях зрения).
2. Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, в процентах.
3. Удельный объем ядра, в процентах.
4. Удельный объем ядрышка (ядрышек), в процентах.

Удельный объем органоидов подсчитывался методом точечного счета по сетке Автандилова.

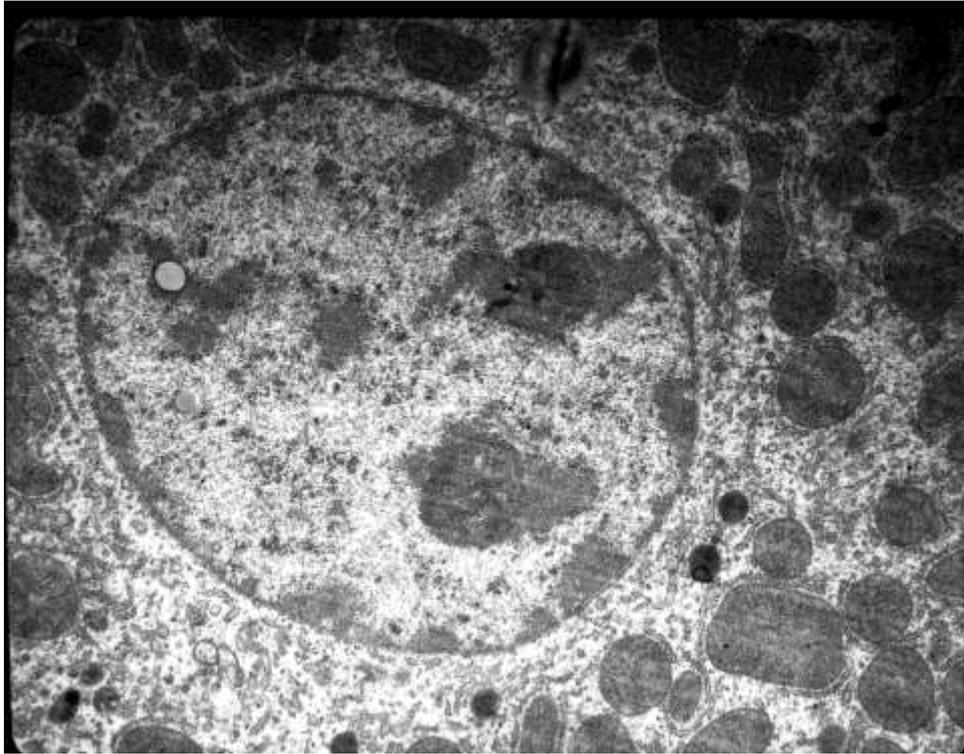


Рисунок 7 – Печень крысы контрольной группы. Ядро гепатоцита овальной формы с двумя ядрышками с расположенными вокруг него в цитоплазме митохондриями и гранулами гликогена. Ув. 7000

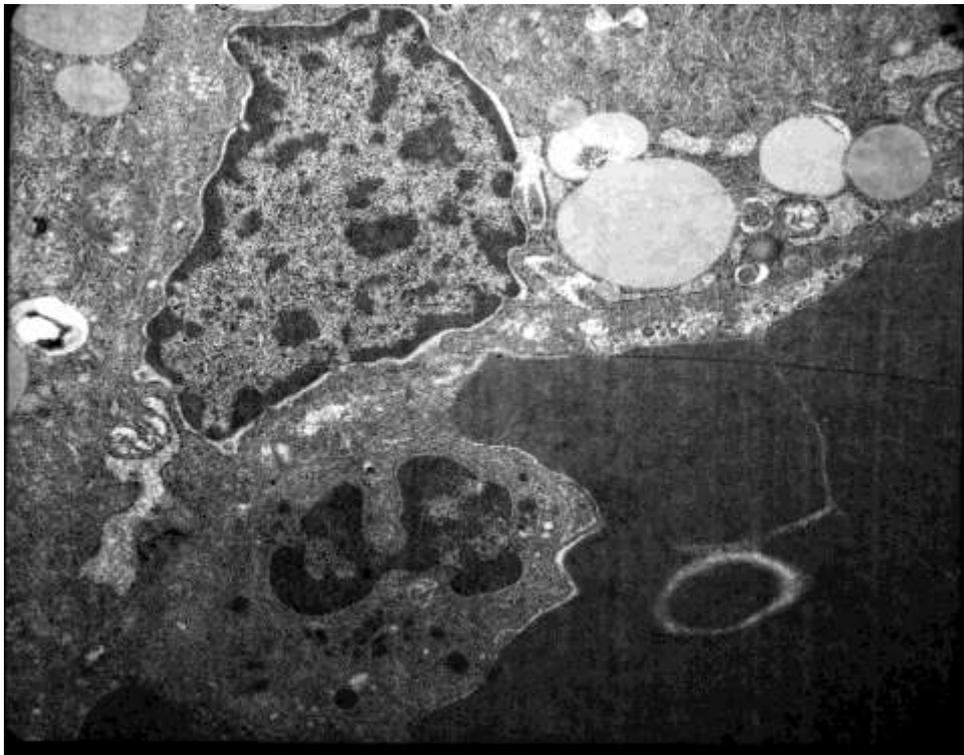


Рисунок 8 – Печень крысы через 7 часов после введения алкоголя (2 мл/кг). В просвете капилляра сладж эритроцитов. Ядро эндотелиоцита неправильной формы. Ув. 9000

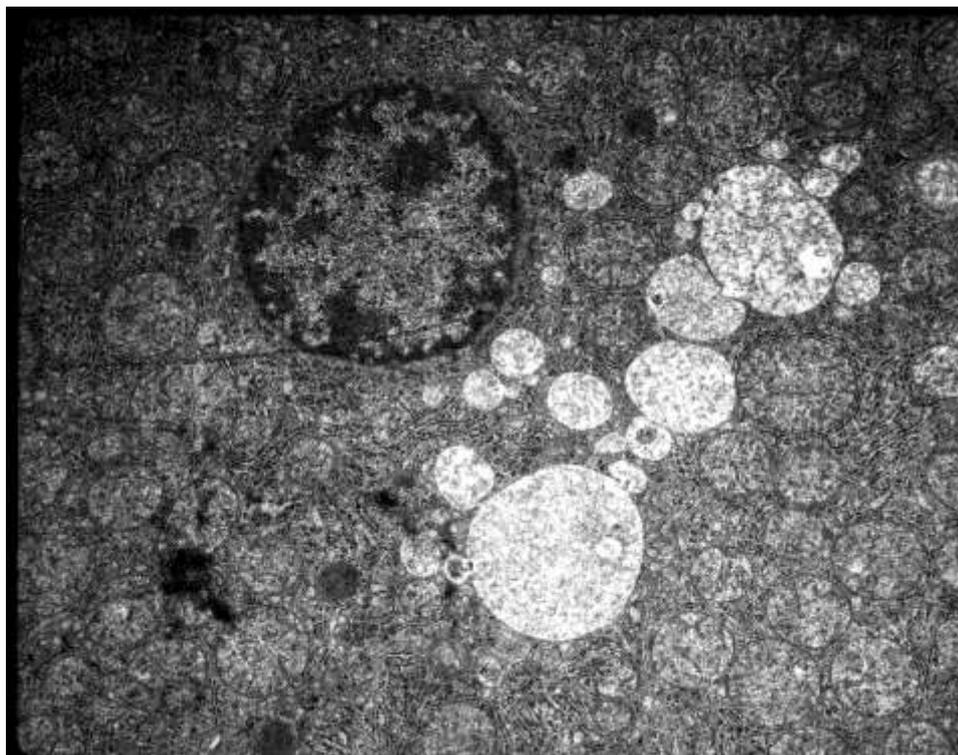


Рисунок 9 – Печень крысы через 5 часов после введения алкоголя (8 мл/кг).
Фрагмент гепатоцита с ядром в состоянии пикноза.
Вокруг ядра – митохондрии. Ув. 7000

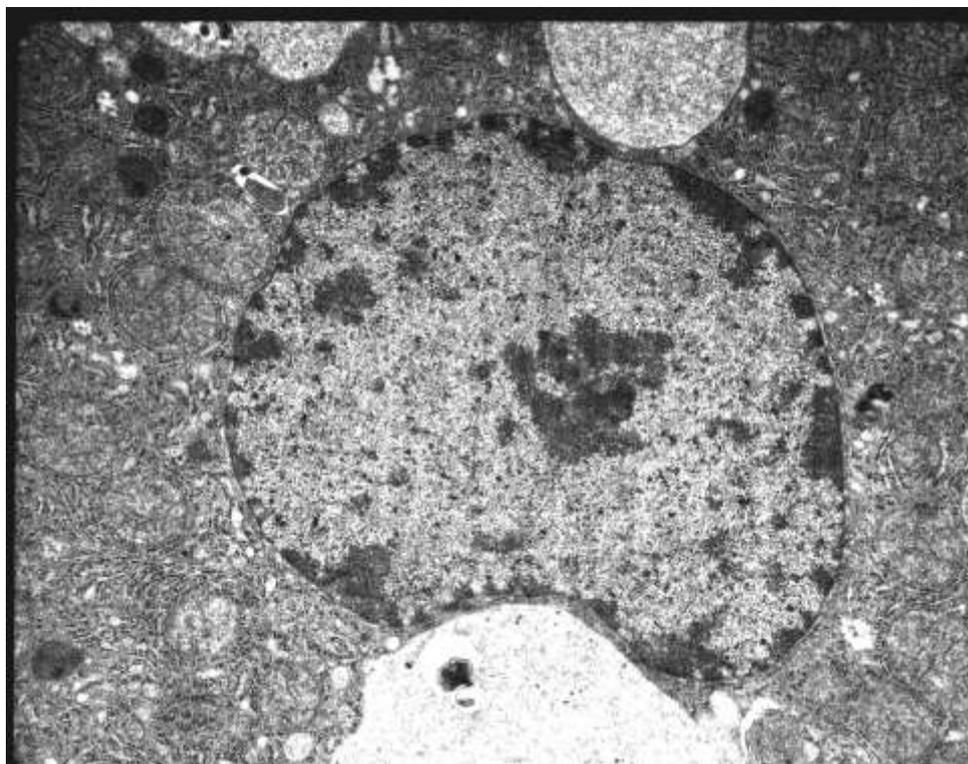


Рисунок 10 – Печень крысы через 3 часа после введения алкоголя (4 мл/кг).
Гепатоцит с четко структурированным ядрышком в центре ядра.
Вокруг ядра митохондрии с кристами. Ув. 9000

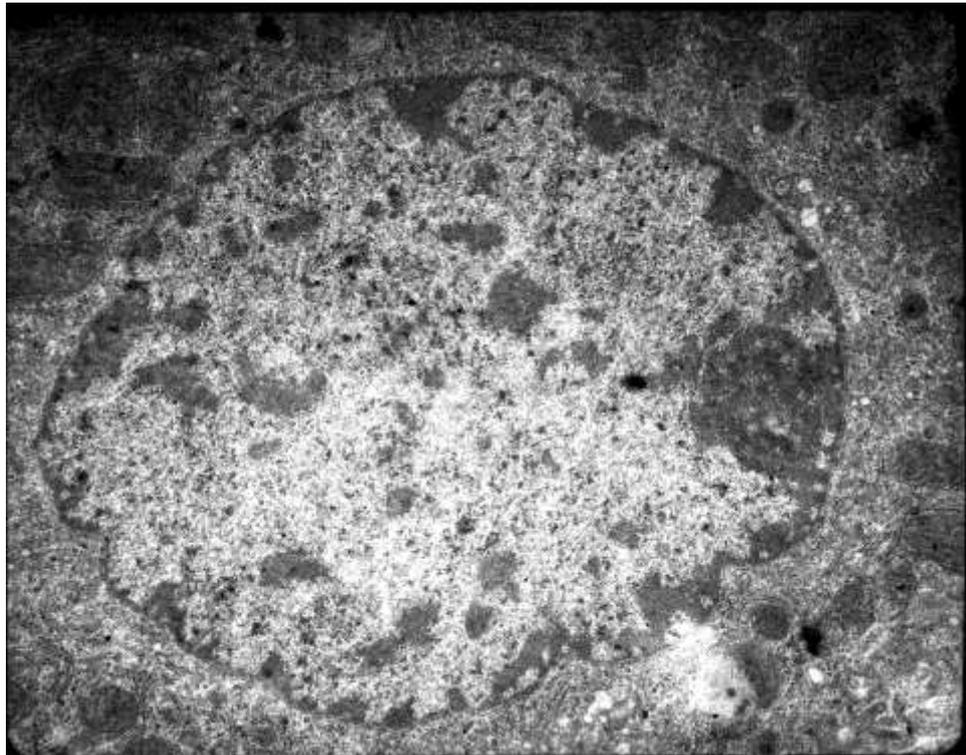


Рисунок 11 – Печень крысы через 3 часа воздействия низкой температуры (-18°C). Гепатоцит с четко структурированным ядрышком на периферии ядра.
Ув. 11000

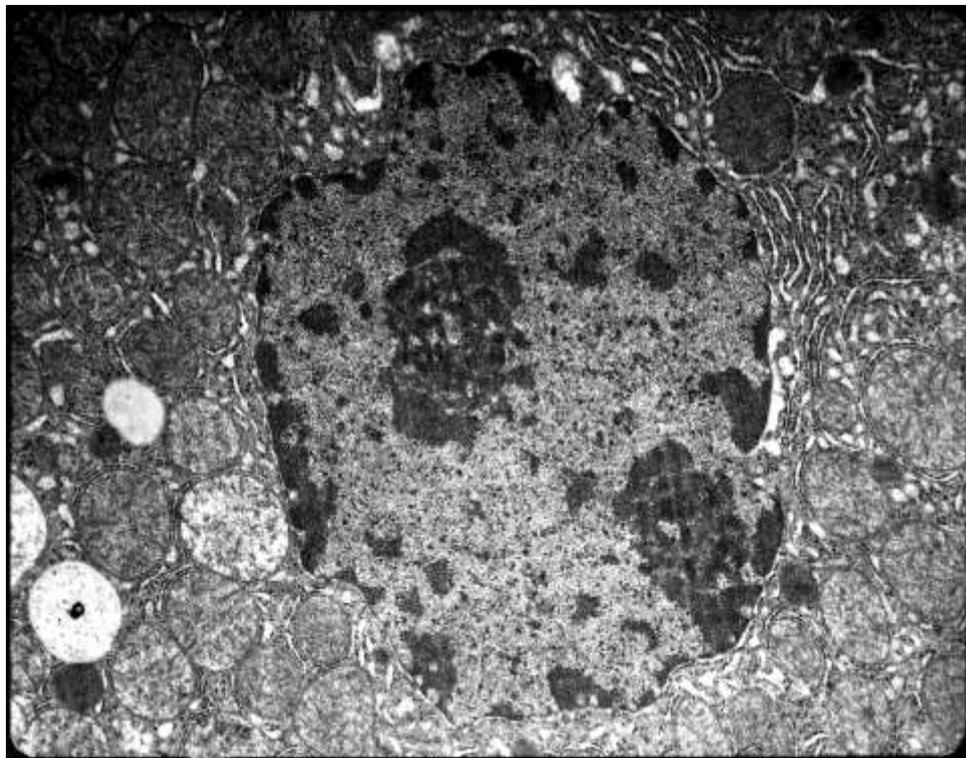


Рисунок 12 – Печень крысы через 7 часов воздействия низкой температуры (-10°C). Гепатоцит с двумя четко структурированными ядрышками в центре и на периферии ядра. Ув. 11000

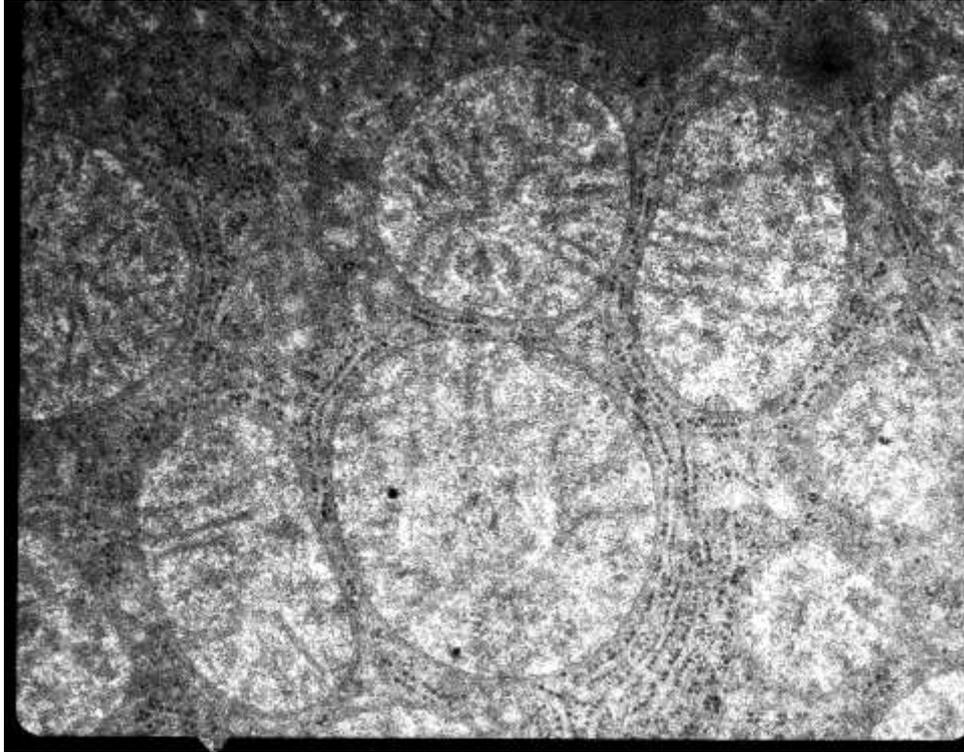


Рисунок 13 – Печень крысы через 5 часов воздействия низкой температуры (-10°C). Митохондрии с кристами в цитоплазме гепатоцита. Ув. 19000

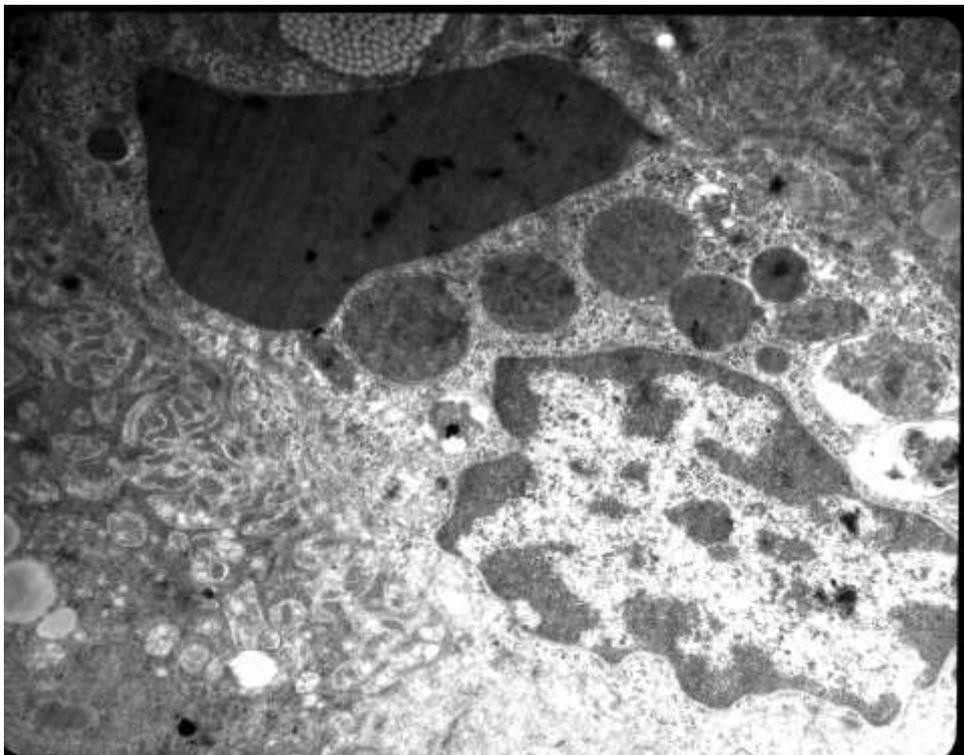


Рисунок 14 – Печень крысы через 3 часа воздействия низкой температуры (-18°C). Синусоидный капилляр и пространство Диссе. Ув. 11000

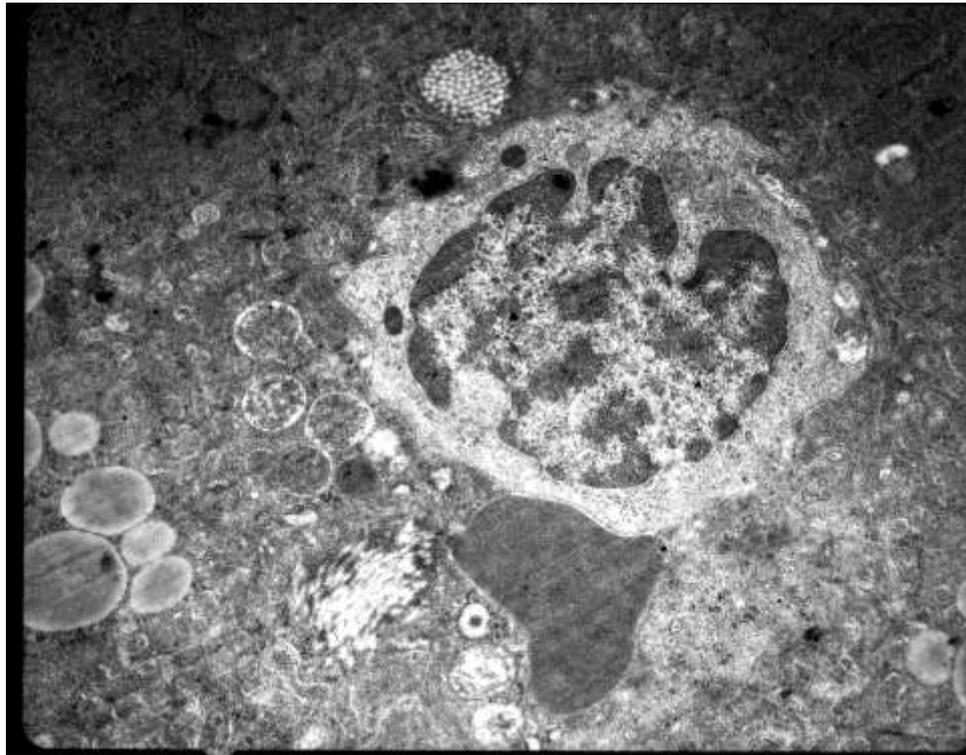


Рисунок 15 – Печень крысы через 3 часа воздействия низкой температуры (-10°C). Лимфоцит в синусоидальном пространстве. Ув. 11000

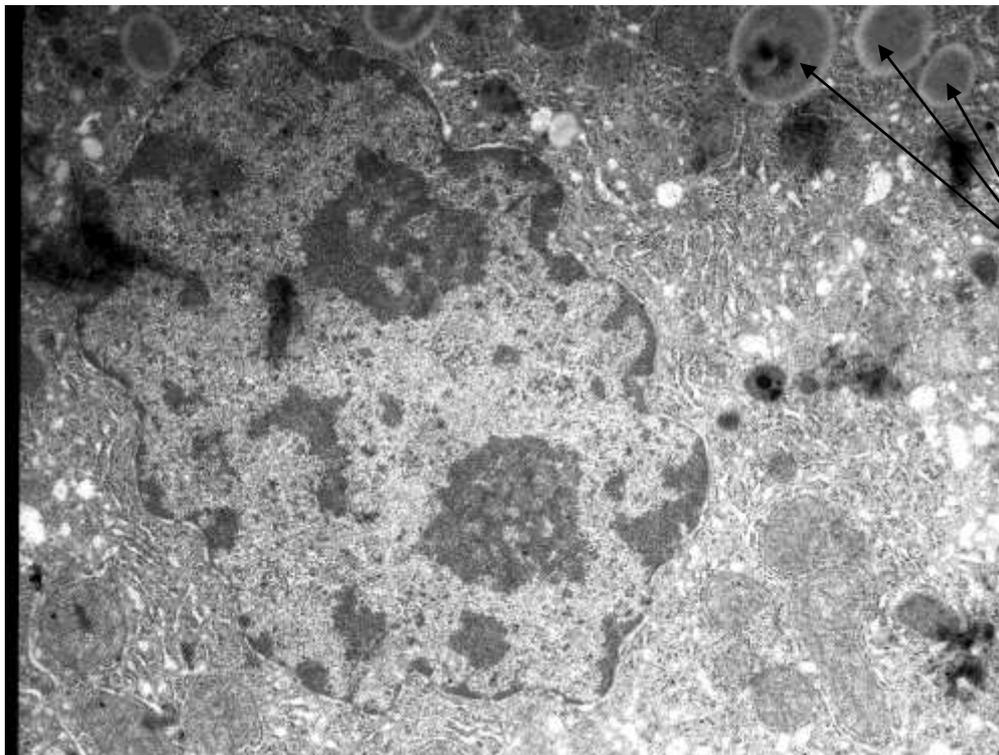


Рисунок 16 – Печень крысы через 7 часов воздействия низкой температуры (-18°C) и введения алкоголя (4 мл/кг). Гепатоцит с ядром неправильной формы, содержащим два ядрышка, в цитоплазме митохондрии с кристами и жировые включения (по стрелкам). Ув. 11000

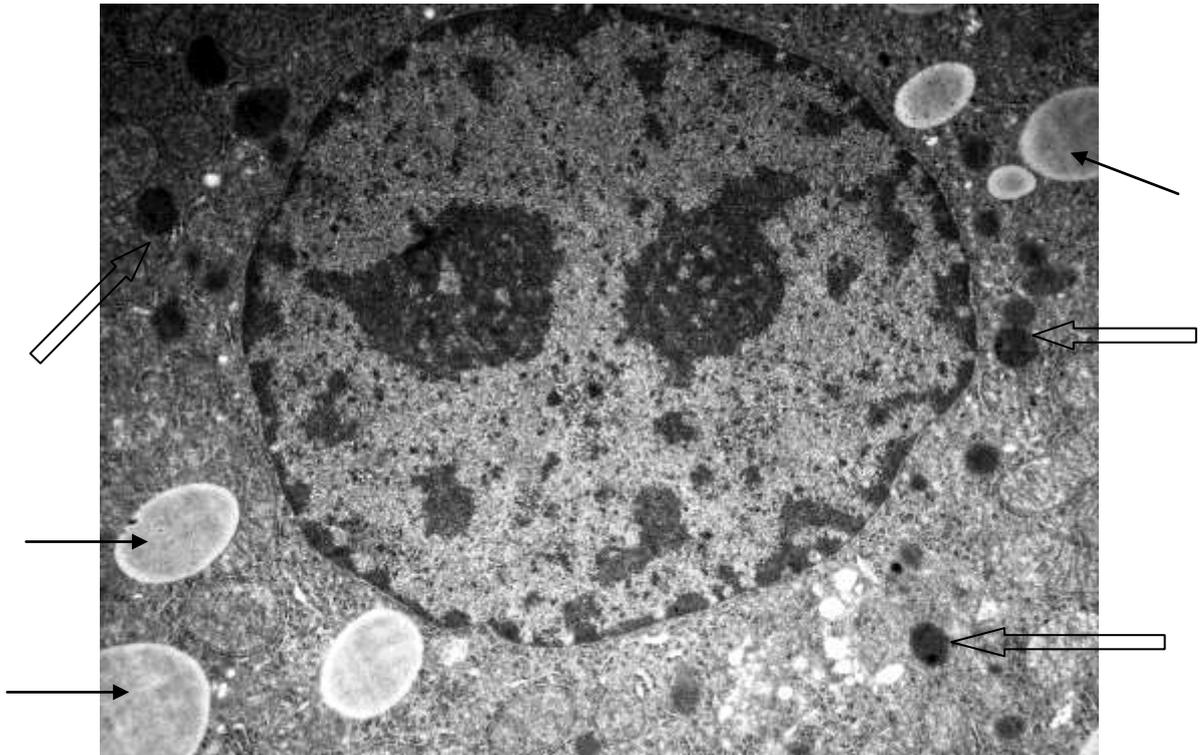


Рисунок 17 – Печень крысы через 7 часов после введения алкоголя (8 мл/кг). Ядро гепатоцита округлой формы с двумя центрально расположенными структурированными ядрышками. Вокруг ядра митохондрии с кристами, жировые включения (по стрелке), — по стрелке \Rightarrow – лизосомы.
Ув. 11000

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Определение количества глюкозы в сыворотке крови было проведено глюкозооксидазным методом [Камышников В.С., 2007] на фотоколориметре КФК-3. Используются стандартные наборы реагентов Новоглюк-К,М (200).

Ход определения концентрации глюкозы.

В пробирки для центрифугирования добавляли 0,4 мл раствора сульфата цинка, 1,1 мл раствора хлорида натрия, и 0,4 мл 0,3 н раствора NaOH, смешивали; при этом создавался очень тонкий гель гидрата окиси цинка, в него вводили 0,1 мл крови или калибровочного раствора, снова смешивали и через 10 минут подвергали центрифугированию в течение 10 минут при скорости 3000 об./мин.

К 1 мл надосадочной жидкости прибавляли 3 мл рабочего реактива и перемешивали с осторожностью. В ходе взаимодействия развивалась окраска, которая при обычной комнатной температуре достигала максимума через 13–15

минут, после чего постепенно уменьшалась. Фотометрировали всегда через один и тот же промежуток времени после добавления рабочего реактива в кюветах с длиной оптического пути 1 сантиметр с красным светофильтром (длина волны 625 нм) против холостого опыта, который ставили одновременно с рабочими пробами, но вместо крови брали физиологический раствор хлорида натрия. При приготовлении калибровочного графика вместо проб крови брали 0,1 мл соответствующего калибровочного раствора.

Расчет проводили по правилу пропорций или по калибровочному графику, для построения которого на одной оси откладывали концентрацию глюкозы (ммоль/л), а на другой — величину экстинкции.

Определение содержания гликогена в печени производили глюкозооксидазным методом [Камышников В.С., 2007] по следующему алгоритму.

Подготовка реактивов

1. Водный раствор йода в йодиде калия: 0,26 г кристаллического йода, 2,6 г калия йодида растворяли в 10 мл дистиллированной воды.
2. Йодный реактив: 130 мл насыщенного раствора кальция хлорида смешивали с 0,5 мл раствора йода в йодиде калия. Объемы реактивов могут быть изменены в зависимости от количества проб. Йодный реактив готовили непосредственно перед добавлением к пробам.

Выделение гликогена из тканей

1. Кусочки ткани печени освобождали от соединительной и жировой ткани.
2. В центрифужные пробирки (по 2 параллельные пробы) помещали по 100 мг исследуемой ткани и добавляли 0,9 мл 33% раствора калия гидроксида.
3. Пробирки нагревали в течение 20 мин при 100°C на водяной бане до полного растворения ткани и охлаждали под проточной водой.
4. В пробирки добавляли по 1,3 мл 96% этилового спирта и перемешивали.
5. Пробирки помещали на водяную баню, доводили раствор до начала кипения и быстро охлаждали на ледяной бане (или под проточной водой) для преципитации гликогена.

6. После охлаждения пробирки центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин.

7. Надосадочную жидкость сливали и пробирки высушивали, перевернув на фильтровальную бумагу. При необходимости для репреципитации гликогена добавляли 0,9 мл дистиллированной воды, 1,3 мл 96% этилового спирта и повторяли пункты 5, 6, 7.

8. В пробирки по стенке добавляли по 0,2 мл насыщенного раствора хлорида аммония и осадок тщательно перемешивали стеклянной палочкой. Этот этап необходим для нейтрализации избытка щелочи, поскольку из-за образования гипойодида при $pH > 7,0$ оптическая плотность растворов уменьшается.

9. Пробирки нагревали в течение 5 мин на водяной бане при $100^{\circ}C$ и охлаждали под проточной водой.

10. В пробирки добавляли по 0,2 мл дистиллированной воды и 2,6 мл йодного реактива.

11. Для приготовления холостой пробы смешивали 0,2 мл насыщенного раствора хлорида аммония, 0,2 мл дистиллированной воды и 2,6 мл йодного реактива.

12. Измеряли оптическую плотность на колориметре фотоэлектрическом концентрационном КФК-3 МП в кювете с длиной оптического пути 5 мм при длине волны 440 нм против холостой пробы. Окраска стабильна в течение 1 ч. При необходимости пробы разводили йодным реактивом и при расчете учитывали разведение.

Определение активности аминотрасфераз в сыворотке крови проведено кинетическим спектрофотометрическим методом [Камышников В.С., 2007] с помощью стандартных наборов реагентов "АСТ-УФ-Ново" и "АЛТ-УФ-Ново" производства «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия.

Нормальные показатели в крови у крыс АЛТ – 110,0-140,0 Е/л, АСТ – 72,0–196,0 Е/л.

Метод определения активности АСТ

Реактивы:

1. Калия фосфат однозамещенный.
2. Калия фосфат двузамещенный.
3. L-аспарагиновая кислота или L-аспарагиновой кислоты натриевая соль.
4. Фосфатный буфер 0,1 моль/л, рН 7,4: 0,16 г однозамещенного фосфата калия и 2,07 г двузамещенного фосфата калия трехводного растворяют в 40–160 мл воды, проверяют рН и доводят водой в мерной колбе до 100 мл. Стабилен при хранении в холодильнике.
5. Субстратно-буферный раствор 0,25 моль/л L-аспарагиновой кислоты в 0,1 моль/л фосфатном буфере рН 7,4: 3,30 г L-аспарагиновой кислоты (или 3,9 г натриевой соли L-аспарагиновой кислоты) растворяют в 40–50 мл 0,1 моль/л фосфатного буфера, проверяют рН и доводят фосфатным буфером в мерной колбе до 100 мл. Если применяют L-аспарагиновую кислоту, то к навеске перед растворением в фосфатном буфере для установления рН 7,4 добавляют примерно 20–26 мл 1 моль/л раствора едкого натра и затем проверяют рН. Стабилен при хранении в холодильнике в течение месяца.
6. β -никотинамидадениндинуклеотид восстановленный, динатриевая соль, 15 моль/л: 16 мг растворяют в 1,5 мл воды. Раствор стабилен в течение 2 недель при хранении в темной посуде в холодильнике.
7. α -кетоглутаровая кислота, 0,45 моль/л: 0,2 г α -кетоглутаровой кислоты растворяют в 2,5 мл воды и добавляют 5 моль/л раствора едкого натра. Если используют динатриевую соль α -кетоглутаровой кислоты, то 0,26 г соли растворяют в 3 мл воды, раствор стабилен в течение 2 недель при хранении в холодильнике. α -кетоглутаровая кислота не должна содержать примесей пирувата и малата.
8. Малатдегидрогеназа из сердца свиньи (L-малат: НАД⁺ оксидоредуктаза). Суспензия в 50%-ном растворе глицерина. Специфическая каталитическая активность выше 17 ммоль/(с*л). Примеси: АСТ < 0,01%, ГДГ < 0,003%,

ЛДГ < 0,01%. Для приготовления рабочего раствора к 20 мкл суспензии добавляют 5 мл воды.

9. Лактатдегидрогеназа из скелетной мышцы кролика или свиньи. Суспензия в 50%-м растворе глицерина. Специфическая каталитическая активность выше 8 ммоль/(с*л). Примеси: АСТ < 0,01%, ГДГ < 0,003%, АЛТ < 0,01%. Для приготовления рабочего раствора к 40 мкл суспензии добавляют 5 мл воды. Стабилен в течение 3 месяцев при хранении в холодильнике в хорошо закупоренной посуде.

10. Натр едкий, 5 моль/л; 1 моль/л.

11. Натрия хлорид, 154 ммоль/л (физиологический раствор).

Ход определения

Перед определением температура растворов и сыворотки должна быть доведена до температуры измерения. Перед работой готовили смесь реактивов, состоящую из субстратно-буферного раствора, раствора НАД+Н⁺, МДГ и ЛДГ в соотношении 60:1:1:1. Перемешивали и через 60 с (лаг-фаза) измеряли экстинкцию и одновременно включали секундомер. Точно через 1, 2, 3 мин (или через более короткие, но равные промежутки времени) измеряли экстинкцию.

Метод определения активности АЛТ

Реактивы:

1. Калия фосфат однозамещенный (КН₂РО₄).
2. Калия фосфат двузамещенный (К₂НРО₄ 3Н₂О).
3. Фосфатный буфер, 0,1 моль/л, рН 7,4: 0,16 г однозамещенного фосфата калия и 2,07 г двузамещенного фосфата калия трехводного растворяют в 40–60 мл воды, проверяют рН и доводят водой в мерной колбе до 100 мл. Стабилен при хранении в холодильнике.
4. L-альфа-аланин.

5. Субстратно-буферный раствор, 0,63 моль/л L-аланина в 0,1 моль/л фосфатном буфере, рН 7,4: 5,62 г L-аланина растворяют в 80 мл 0,1 моль/л фосфатного буфера, проверяют рН и доводят фосфатным буфером в мерной колбе до 100 мл. Стабилен в течение 2 месяцев при хранении в холодильнике.

6. β -никотинамидадениндинуклеотид восстановленный, динатриевая соль, 15 ммоль/л: 16 растворяют в 1,5 мл воды. Раствор стабилен в течение 2 недель при хранении в темной посуде в холодильнике.

7. Едкий натр, 5 моль/л.

8. α -кетоглутаровая кислота, 0,56 моль/л: 0,245 г α -кетоглутаровой кислоты растворяют в 2,5 мл воды и добавляют 0,5 мл 5 моль/л раствора едкого натра. Если используют динатриевую соль α -кетоглутаровой кислоты, то 0,318 г соли растворяют в 3 мл воды. Раствор стабилен в течение 2 недель при хранении в холодильнике.

9. Лактатдегидрогеназа из скелетной мышцы кролика или свиньи, суспензия в 50% растворе глицерина. Специфическая каталитическая активность выше 8 ммоль/(с*л). Примеси: АСТ < 0,01%, ГлДГ < 0,003%, АЛТ < 0,01%. Для приготовления рабочего раствора к 45 мкл суспензии добавляют 5 мл воды. Стабилен в течение 3 месяцев при хранении в холодильнике.

10. Натрия хлорид, 154 ммоль/л (физиологический раствор).

Специальное оборудование то же, что для АСТ.

Ход определения

Перед определением температура растворов и сыворотки должна быть доведена до температуры измерения. Перед работой готовили смесь реактивов, состоящую из субстратно-буферного раствора, раствора НАД+Н⁺ и ЛДГ в соотношении 60:1:1. Перемешивали, через 60 с (лаг-фаза) измеряли экстинкцию и одновременно включали секундомер. Точно через 1, 2, 3 мин (или через более короткие, но равные промежутки времени) измеряли экстинкцию.

Коэффициент де Ритиса (известное также как АСТ/АЛТ) – соотношение активности сывороточных [АСТ](#) (аспартатаминотрансфераза) и [АЛТ](#)

(аланинаминотрансфераза). Значение коэффициента в норме составляет $1,33 \pm 0,42$. Расчёт Коэффициента де Ритиса целесообразен только при выходе АСТ и/или АЛТ за пределы референтных значений.

В группах животных, которым вводили этанол, во всех случаях определяли концентрацию алкоголя в крови методами газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии на базе бюро судебно-медицинской экспертизы ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России, г. Северск Томской области, ул. Мира, 4.

Статистическая обработка результатов была проведена с использованием пакета программ «STATISTICA 10.0» с вычислением для каждой выборки среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего арифметического (m). Для сравнительного исследования использованы непараметрические тесты Вилкоксона, Манна-Уитни. Сравнены морфологические и биохимические параметры между группами. Для определения наличия и силы связи между исследуемыми параметрами использованы корреляционный анализ Спирмана и регрессионный анализ, при котором рассчитывали коэффициент регрессии. Статистически значимыми результаты считались при $p < 0,05$, о выраженной тенденции судили при $p < 0,1$ [Реброва О.Ю., 2006].

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Морфофункциональное состояние печени крыс контрольной группы

Как показали результаты исследования, печень интактных животных характеризуется единообразием ацинарного строения во всех полях зрения. Кровенаполнение паренхимы печени имеет четкую зависимость от зоны ацинуса. Центральные вены практически всегда хорошо наполнены кровью, капилляры ацинуса практически эритроцитов не содержат. А сосуды портальных трактов характеризуются умеренным кровенаполнением. Очаговая и диффузная мононуклеарная инфильтрация отсутствует. Единичные лимфоциты встречаются в полях зрения паренхимы печени и в просвете сосудов. Встречаются единичные гепатоциты с двумя ядрами. В паренхиме печени лимфоциты не определяются. Кроме того, печень контрольных животных характеризуется отсутствием некроза, отека (рисунок 18). Статистически значимое взаимодействие параметров морфофункционального состояния печени друг с другом не выявлено.

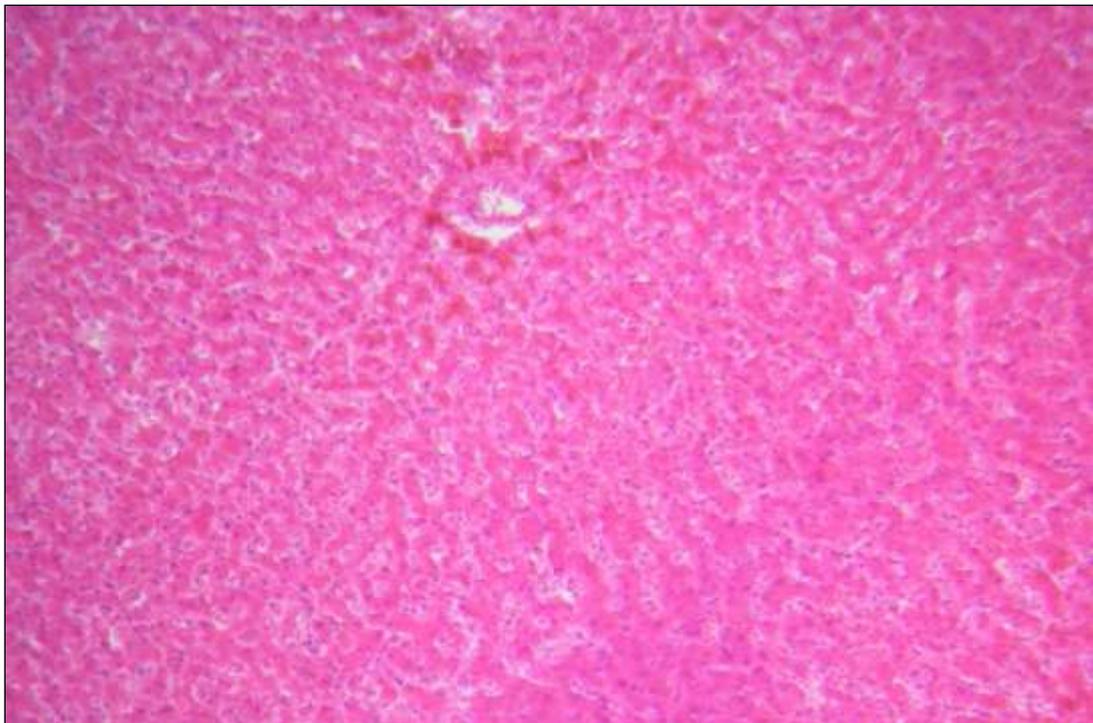


Рисунок 18 – Печень животных контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200

Характеристика и соотношение ультраструктурных компонентов в гепатоцитах трех зон ацинуса печени крыс контрольной группы представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Исследуемые ультраструктурные показатели печени в контрольной группе животных

Исследуемый параметр	Значение M±m
Первая зона ацинуса	
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9±2,2
Удельный объем ядра, %	25,2±1,3
Удельный объем ядрышка, %	1,93±0,19
Вторая зона ацинуса	
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1±1,8
Удельный объем ядра, %	27,4±2,1
Удельный объем ядрышка, %	1,88±0,14
Третья зона ацинуса	
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9±2,1
Удельный объем ядра, %	26,2±1,4
Удельный объем ядрышка, %	1,86±0,11

Как видно из таблицы, в каждой из зон ацинуса интактных крыс состояние гепатоцитов на ультраструктурном уровне принципиально не отличается.

3.2 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике алкогольной интоксикации, вызванной этанолом в дозе 2 мл/кг массы тела

Печень экспериментальных животных, подвергшихся интоксикации этанолом в дозе 2 мл/кг массы тела характеризуется умеренными и выраженными мелкокапельными дистрофическими изменениями. Гепатоциты с вакуолями встречаются преимущественно в центролобулярной зоне ацинуса. Через 1 час воздействия в одном случае зарегистрирован единичный моноцеллюлярный некроз гепатоцита. В дальнейшем данный признак усиливается к 7-му часу эксперимента. Моноцеллюлярному некрозу подвержены, преимущественно, центролобулярные гепатоциты.

Кровенаполнение паренхимы печени имеет четкую зависимость от зоны ацинуса. Сосуды портальных трактов в течение эксперимента характеризуются умеренным кровенаполнением. Кровенаполнение центральных вен долек печени усиливается к 3-му часу с дальнейшим ослаблением ниже исходного уровня. Но в последние часы эксперимента центральные вены характеризуются умеренным кровенаполнением. В большинстве случаев в капиллярах ацинуса обнаруживаются эритроциты.

Печень экспериментальных животных характеризуется наличием мононуклеарного инфильтрата, в отличие от контрольных животных. Очаги инфильтрации находятся преимущественно вблизи сосудов. Выраженность очаговой мононуклеарной инфильтрации в течение всего периода наблюдения постепенно усиливается и к 7-му часу эксперимента в полях зрения обнаруживаются 3–5 мелких очагов, либо один очаг из более, чем 40 клеток. Незначительное усиление диффузной мононуклеарной диффузной инфильтрации наблюдается в 7-м часу наблюдения. Также в просвете сосудов встречаются единичные лимфоциты. В течение эксперимента количество лимфоцитов в полях зрения постепенно увеличивается от 1 клетки до 5–8 клеток. Появление гепатоцитов с двумя ядрами регистрируется только после 3 часа воздействия,

причем ядра с двумя и более ядрышками встречаются редко. Заметно увеличивается количество двуядерных гепатоцитов к 5 часу воздействия, но увеличение не значимое. Так же наблюдается увеличения числа ядрышек в ядрах гепатоцитов с 1 до 2.

Кроме того, печень экспериментальных животных, подвергшихся интоксикации этанолом в дозе 2 мл/кг массы тела, характеризуется отсутствием выраженного отека стромы и паренхимы.

Регрессионный анализ результатов исследования морфофункционального состояния печени в динамике алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозе 2 мл/кг массы тела, не выявил статистически значимых изменений.

Среди параметров морфофункционального состояния печени от длительности интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозе 2 мл/кг массы тела, зависит выраженность очаговой инфильтрация.

В таблице 4 представлены результаты исследования морфологических параметров печени, отражающих ее функциональное состояние в динамике алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозе 2 мл/кг массы тела.

Как видно из таблицы статистически значимо в динамике воздействия увеличивается количество гепатоцитов с двумя ядрами. Имеется тенденция к увеличению выраженности дистрофических изменений гепатоцитов.

В таблице 5 представлены результаты исследования динамики ультраструктурных изменений гепатоцитов в ходе алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением 40% этанола в дозе 2 мл/кг массы тела животного.

Таблица 4 – Морфологические изменения ткани печени в динамике алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 2 мл/кг массы тела

Параметры	Группы животных					Коэффициент регрессии
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4±0,24	2,0±0,0	2,2±0,2	2,0±0,0	3,0±0,0*	0,45
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0±0,0	1,2±0,2	1,6±0,24	2,0±0,0*	2,2±0,2*	0,53
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,2±0,2	0,26
Степень кровенаполнения сосудов	2,6±0,24	3,2±0,2	3,8±0,2*	3,0±0,31	3,4±0,23	-0,31
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2±0,31	2,6±0,18	3,0±0,0*	3,0±0,0*	3,8±0,2*	0,09
Выраженность отека	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	–
Выраженность некроза	1,0±0,0	2,0±0,0*	2,0±0,0*	2,0±0,0*	2,8±0,2*	0,63
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0±0,00	1,2±0,24	2,4±0,0*	2,6±0,24*	2,2±0,2	0,01
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0±0,0	1,0±0,0	1,2±0,2	1,2±0,31	2,0±0,0*	0,58

Примечание. Здесь и далее
 n – количество животных в обследованной группе;
 * – статистически значимые различия с контрольной группой (p<0,05);
 ** – регрессия (β) статистически значима (p<0,05)

Таблица 5 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением 40% этанола в дозе 2 мл/кг массы тела

Наименование параметра	Контроль M±m n=5	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час M±m n=5	3 часа M±m n=5	5 часов M±m n=5	7 часов M±m n=5	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,06±1,2*	3,2±0,5*	3,9±0,4*	4,0±0,3*	0,35**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9±2,2	23,7±2,7*	19,0±1,8	23,9±0,7*	22,9±1,5	-0,21
Удельный объем ядра, %	25,2±1,3	23,0±2,3	22,3±1,2*	24,4±4,4	19,6±3,1*	-0,35
Удельный объем ядрышка, %	1,93±0,19	1,59±0,3	1,59±0,2	1,36±0,15	1,50±0,2	-0,31
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,12±0,4*	3,0±0,6*	3,4±0,7*	4,1±0,3*	0,42**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1±1,8	22,7±1,7	20,0±1,8	23,9±1,7	22,5±1,1	-0,11
Удельный объем ядра, %	27,4±2,1	26,0±2,3	27,3±1,2	27,4±4,4	29,6±3,1	0,32**
Удельный объем ядрышка, %	1,88±0,14	1,61±0,3	1,67±0,2	1,55±0,65	1,71±0,3	-0,21
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,12±1,2*	2,56±1,4*	3,6±0,75*	3,8±0,4*	0,45**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9±2,1	24,7±2,1*	26,2±1,9*	27,9±0,8*	28,1±1,2*	0,51**
Удельный объем ядра, %	26,2±1,4	26,6±1,3	27,3±1,1	27,4±1,4	28,6±1,1*	0,44**
Удельный объем ядрышка, %	1,86±0,11	1,84±0,3	1,79±0,2	1,92±0,65	1,56±0,3	-0,11

Как видно из таблицы, ультраструктурных изменений, статистически значимо отличающихся от контроля, выявлено немного. Во всех зонах ацинуса в

динамике всего периода наблюдения увеличивается количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами. Для гепатоцитов второй и третьей зон ацинуса характерно увеличение удельного объема ядер, а для гепатоцитов третьей зоны – еще и удельного объема митохондрий в цитоплазме. Данную картину можно расценить как усиление функциональной активности в первую очередь гепатоцитов третьей зоны ацинуса.

3.3 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике алкогольной интоксикации, вызванной этанолом в дозе 4 мл/кг массы тела

Как показали результаты исследования, печеночная ткань экспериментальных животных характеризуется умеренными мелкокапельными дистрофическими изменениями в гепатоцитах. Гепатоциты с вакуолями встречаются преимущественно в центролобулярной зоне ацинуса. С 1-го по 7-й час эксперимента в паренхиме печени отмечается усиление моноцеллюлярного некроза, обнаружением нескольких некротизированных клеток на 7-й час. Некротизированные гепатоциты расположены, преимущественно, в центролобулярной зоне ацинуса.

Кровенаполнение паренхимы печени имеет четкую зависимость от зоны ацинуса. Сосуды портальных трактов характеризуются слабым и умеренным кровенаполнением. Центральные вены печени умеренно и сильно наполнены кровью. В капиллярах ацинуса обнаруживаются эритроциты.

В ходе исследования установлено, что очаговая мононуклеарная инфильтрация обнаруживается преимущественно вблизи центральных вен и в полях зрения располагаются по 1–2 мелких очага до 10 клеток в каждом. С 1-го по 5-й час эксперимента в печени диффузная мононуклеарная инфильтрация отсутствует, либо характеризуется обнаружением 2–4 клеток в поле зрения микроскопа. К 7-му часу выраженность диффузной инфильтрации усиливается и в полях зрения расположены до 5–8 клеток, которые, как правило, расположены около сосудов.

Чем больше степень дистрофических изменений в гепатоцитах, тем сильнее выражены кровенаполнение сосудов печени ($r=0,54$, $p=0,02$). Количество некротизированных клеток тем больше, чем выраженнее степень дистрофии гепатоцитов ($r=0,81$, $p=0,0001$) и диффузной мононуклеарной инфильтрации ($r=0,64$, $p=0,006$). Чем больше количество лимфоцитов, тем сильнее выражена диффузная инфильтрация ($r=0,59$, $p=0,01$).

Результаты исследования морфофункционального состояния печени в динамике интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела, представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Морфологические изменения ткани печени в динамике алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела

Параметры	Группы животных					Коэффициент регрессии
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4±0,24	2,4±0,23	2,0±0,00	2,0±0,00	3,0±0,00 *	0,41
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0±0,00	2,0±0,00 *	2,4±0,23 *	1,0±0,0	2,0±0,00 *	0,01
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,0	1,6±0,24	0,53**
Степень кровенаполнения сосудов	2,6±0,24	3,6±0,21	3,0±0,00	2,6±0,23	3,6±0,24	-0,19
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2±0,31	2,8±0,2 *	2,6±0,24	3,0±0,0 *	3,0±0,00 *	0,08
Выраженность отека	1,0±0,00	1,2±0,2	1,4±0,21	2,2±0,24	2,1±0,2	0,35
Выраженность некроза	1,0±0,00	2,0±0,0 *	2,6±0,24 *	2,0±0,0 *	3,0±0,00 *	0,35
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0±0,00	2,0±0,5	2,2±0,24*	3,2±0,20*	2,6±0,21*	0,41
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0±0,00	2,6±0,2	3,0±0,40	3,6±0,50	3,8±0,45	0,86**

Как видно из таблицы, значимые изменения касаются параметров, характеризующих выраженность мононуклеарной инфильтрации и дистрофических и некротических изменений гепатоцитов.

В таблице 7 представлены результаты исследования динамики ультраструктурных изменений гепатоцитов при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением 40% этанола в дозе 4 мл/кг массы тела животного.

Из таблицы видно, что алкогольная интоксикация вызывает во всех зонах ацинуса увеличение количества кариопикнотичных гепатоцитов, во второй и третьей зонах ацинуса – увеличение в динамике воздействия удельного объема ядер гепатоцитов, в третьей зоне – увеличение объемной доли митохондрий. Такие проявления реакции печени можно расценить как гепатотоксическое действие этанола на гепатоциты всех трех зон ацинуса, и ответное усиление функциональной активности гепатоцитов второй и в еще большей мере третьей зоны ацинуса.

Таблица 7 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением 40% этанола в дозе 4 мл/кг массы тела

Наименование параметра	Контроль M±m n=5	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час M±m n=5	3 часа M±m n=5	5 часов M±m n=5	7 часов M±m n=5	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	3,4±1,31*	5,54±1,3*	6,39±1,0*	7,19±0,3*	0,38**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9±2,2	22,6±2,7	23,2±1,3	21,0±2,3	19,8±1,5	-0,39
Удельный объем ядра, %	25,2±1,3	24,4±3,4	21,8±1,13	23,6±2,6	22,1±3,7	-0,33
Удельный объем ядрышка, %	1,93±0,19	1,99±0,6	1,86±0,43	2,15±0,5	2,23±0,2*	0,33
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,3±0,4*	2,6±0,6*	3,1±0,7*	3,9±0,3*	0,42**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1±1,8	22,9±1,2	21,1±1,2	22,9±1,5	24,1±1,7	0,21
Удельный объем ядра, %	27,4±2,1	27,9±2,1	28,1±1,2	28,4±3,4	29,1±2,1	0,39**
Удельный объем ядрышка, %	1,88±0,14	1,98±0,3	1,97±0,2	2,08±0,25	1,91±0,3	-0,1
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,1±0,2*	2,6±0,4*	3,3±0,5*	3,6±0,4*	0,41**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9±2,1	25,1±1,1*	25,5±1,3*	26,9±1,2*	27,1±1,1*	0,48**
Удельный объем ядра, %	26,2±1,4	26,3±1,1	26,8±1,1	27,1±1,4	28,1±1,1	0,41**
Удельный объем ядрышка, %	1,86±0,11	1,98±0,3	1,71±0,2	1,81±0,2	1,77±0,3	-0,14

3.4 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике алкогольной интоксикации, вызванной этанолом в дозе 8 мл/кг массы тела

В ходе исследования выявлено, что печень экспериментальных животных при интоксикации этанолом, введенном в высокой дозе характеризуется умеренными и выраженными мелкокапельными дистрофическими изменениями в гепатоцитах. Гепатоциты с вакуолями локализуются в промежуточной и центролобулярной зонах ацинуса. Кроме того, в течение семичасового периода в паренхиме печени наблюдается усиление моноцеллюлярного некроза. В 7-м часу наблюдения обнаружен множественный некроз нескольких гепатоцитов. В ацинусе печени преимущественно подвержены некрозу центролобулярные и промежуточные гепатоциты.

Кровенаполнение паренхимы печени имеет четкую зависимость от зоны ацинуса в течение всего периода наблюдения. Умеренное кровенаполнение наблюдается у сосудов портального тракта. Центральные вены долек печени характеризуются умеренным или сильным кровенаполнением. В капиллярах ацинуса обнаруживаются единичные эритроциты.

Также отмечено, что в паренхиме печеночной ткани имеются мононуклеарные инфильтрации очагового и диффузного характера. Очаговая инфильтрация обнаруживается в основном вблизи сосудов ацинуса. С 1-го по 5-й час очаговая инфильтрация представлена максимум 1–2 очагами до 10 клеток в поле зрения. В 7-му часу поле зрения встречаются до 3–5 мелких очагов либо крупные очаги до 40 клеток. Диффузная мононуклеарная инфильтрация ткани печени в течение семичасового периода характеризуется 2–4 клетками в поле зрения, либо отсутствует. Количество лимфоцитов в сосудах печени в первой половине эксперимента постепенно увеличивается с 1 до 5–8 клеток в поле зрения. Во второй половине эксперимента количество лимфоцитов в полях зрения микроскопа снижается с 5–8 клеток до 1, либо их не наблюдается.

Печень крыс при интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела, характеризуется наличием отека, который

проявляется уже через 3 часа наблюдения и нарастает к 7-му часу. Увеличивается число ядрышек в ядрах гепатоцитов.

Регрессионный анализ результатов исследования выявил статистически значимое изменение в выраженности некроза ($r=0,86$; $p<0,05$), а также в увеличении числа гепатоцитов с двух ядрышками в ядре ($r=0,91$; $p<0,05$) в динамике алкогольной интоксикации в дозе 8 мл/кг массы тела.

Среди параметров морфофункционального состояния печени от длительности интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела, зависит выраженность очаговой инфильтрации и отека. Чем дольше алкогольная интоксикация организма, тем меньше выраженность очаговой инфильтрации ($r=-0,61$, $p=0,04$) и выраженнее отек ($r=0,55$, $p=0,05$).

Также при данном воздействии выявлены следующие корреляционные взаимосвязи между параметрами морфофункционального состояния печени. Чем сильнее выражены дистрофические изменения в гепатоцитах, тем больше количество некротизированных клеток ($r=0,87$, $p=0,0003$). Чем сильнее выражена очаговая инфильтрация, тем больше лимфоцитов ($r=0,65$, $p=0,03$). Корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени при алкогольной интоксикации представлены на рисунке 20.

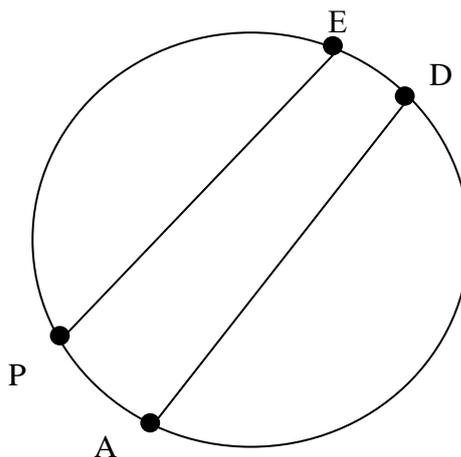


Рисунок 20 – Корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени при алкогольной интоксикации, вызванной дозой этанола 8 мл/кг массы тела: А – степень дистрофических изменений в гепатоцитах; D – выраженность некроза; E – количество лимфоцитов; P – выраженность очаговой инфильтрации; — – положительная корреляция, - - - отрицательная корреляция

Результаты исследования морфофункционального состояния печени в динамике интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела, представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Морфологические изменения ткани печени в динамике алкогольной интоксикации, вызванной дозой этанола 8 мл/кг массы тела

Параметры	Группы животных					Коэффициент регрессии
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5		
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4±0,24	2,0±0,0	2,0±0,00	2,0±0,00	1,4±0,24	-0,86**
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0±0,00	1,6±0,24	2,0±0,00*	2,0±0,00*	2,0±0,00*	0,56**
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	–
Степень кровенаполнения сосудов	2,6±0,24	3,0±0,00	4,0±0,00*	3,0±0,00	3,4±0,24	0,73**
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2±0,31	3,0±0,00*	4,0±0,00*	4,0±0,00*	4,0±0,00*	0,82**
Выраженность отека	1,0±0,00	1,8±0,2*	2,0±0,00*	2,4±0,40*	2,6±0,20*	0,53**
Выраженность некроза	1,0±0,00	2,0±0,0*	3,0±0,00*	3,0±0,00*	3,0±0,00*	0,87**
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0±0,00	1,2±0,2	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	0,01
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0±0,00	3,0±0,4*	3,6±0,50*	3,8±0,45*	4,0±0,00*	0,91**

Как видно из таблицы, значимые изменения касаются параметров, характеризующих выраженность мононуклеарной инфильтрации и дистрофических и некротических изменений гепатоцитов, а также количества гепатоцитов с двумя ядрышками в ядре, кровенаполнения органа, выраженности отека.

В таблице 9 представлены результаты исследования динамики ультраструктурных изменений гепатоцитов при воздействии высоких доз этанола.

Таблица 9 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением 40% этанола в дозе 8 мл/кг массы тела

Наименование параметра	Контроль M±m n=5	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час M±m n=5	3 часа M±m n=5	5 часов M±m n=5	7 часов M±m n=5	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,7±0,6*	3,9±0,8*	7,3±1,0*	9,1±0,9*	0,88**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9±2,2	24,6±2,1*	23,1±1,1*	22,0±1,3	21,3±1,2	-0,41**
Удельный объем ядра, %	25,2±1,3	28,4±2,4*	27,8±1,13*	25,6±2,6	25,1±3,7	-0,39**
Удельный объем ядрышка, %	1,93±0,2	1,92±0,3	1,89±0,3	2,02±0,2	2,3±0,2*	0,33
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	3,7±0,5*	4,9±0,5*	6,3±1,2*	8,1±0,6*	0,83**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1±1,8	26,1±1,2*	26,9±1,2*	25,3±1,2*	24,8±1,2	-0,31
Удельный объем ядра, %	27,4±2,1	29,2±2,1	29,9±1,2	30,4±2,4	32,1±2,1*	0,39**
Удельный объем ядрышка, %	1,88±0,14	1,92±0,2	1,95±0,3	2,1±0,2	1,92±0,2	-0,1
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	3,1±0,3*	5,9±0,5*	7,7±0,6*	8,8±0,7*	0,86**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9±2,1	23,6±1,1	25,9±1,1*	27,5±1,1*	29,1±1,2*	0,53**
Удельный объем ядра, %	26,2±1,4	26,8±1,1	27,9±1,1	28,5±1,1	28,8±1,3	0,49**
Удельный объем ядрышка, %	1,86±0,11	1,91±0,3	1,78±0,2	1,83±0,3	1,89±0,3	0,14

Из таблицы видно, что алкогольная интоксикация вызывает во всех зонах ацинуса увеличение количества кариопикнотичных гепатоцитов, во второй и третьей зонах ацинуса – увеличение в динамике воздействия удельного объема ядер гепатоцитов, в третьей зоне – увеличение объемной доли митохондрий. Относительно первой и второй зона ацинуса картина наблюдается несколько иная – в течение первого часа воздействия происходит увеличение объемной доли митохондрий в цитоплазме, а затем в первой зоне снижение до конца воздействия, а во второй – увеличение до 3 часа воздействия и лишь затем постепенное снижение. Причем в первой зоне ацинуса удельный объем ядра гепатоцитов также как и митохондрий увеличивается к первому часу воздействия, а затем плавно уменьшается. Такие проявления реакции печени можно расценить как быстрое адаптивное усиление функциональной активности гепатоцитов всех зон ацинуса, а затем функционально гетерогенное изменение морфологических параметров – в третьей зоне отражающих гиперфункцию, в первой и второй – плавное снижение при более высоких значениях показателей, характеризующих функциональную активность гепатоцитов.

3.5 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения организма при температуре атмосферного воздуха $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$

В ходе исследования установлено, что печеночная ткань беспородных крыс данной группы характеризуется усилением дистрофических изменений в гепатоцитах в течение эксперимента. В конечной временной точке эксперимента отмечаются умеренно выраженные мелкокапельные дистрофические изменения в гепатоцитах. И гепатоциты с вакуолями встречаются преимущественно в центрлобулярной зоне ацинуса. Кроме того, установлено, что как в контрольной группе некроз гепатоцитов не регистрировался.

В течение семичасового периода кровенаполнение паренхимы печени не имеет четкой зависимости от зоны ацинуса. Отмечается выраженное полнокровие

сосудов всех трех зон ацинуса печени, усиливающееся в динамике экспозиции холода.

Установлена положительная динамика выраженности очаговой мононуклеарной инфильтрации, т.е. в начале эксперимента очаги отсутствуют, а к концу в полях зрения расположены до 3–5 мелких очагов. Очаги инфильтрации преимущественно встречается вблизи сосудов. Диффузная мононуклеарная инфильтрация не обнаруживается до 7-го часа, и в поле зрения отмечается очаги до 5–8 мононуклеаров.

С 1-го по 3-й час наблюдения в паренхиме печени лимфоциты единичны. В дальнейшем наблюдается увеличение количества лимфоцитов в полях зрения до 5–8 клеток. В просвете сосудов встречаются единичные лимфоциты, расположенные пристеночно.

В печени животных, подвергавшихся к общему переохлаждению при температуре атмосферного воздуха -10°C увеличивается число двуядерных гепатоцитов в течении всего периода воздействия, а также увеличивается число ядер с двумя и более ядрышками.

Корреляционный анализ результатов исследования морфофункционального состояния печени в динамике экспозиции холода при температуре атмосферного воздуха -10°C выявил статистически значимое усиление выраженности очаговой мононуклеарной инфильтрации ($r=0,86$; $p<0,05$), статистически значимое увеличение количества лимфоцитов ($r=0,82$; $p<0,05$) и ядер гепатоцитов с двумя ядрышками ($r=0,91$; $p<0,05$), а также количества двуядерных гепатоцитов ($r=0,83$; $p<0,05$). Среди параметров морфофункционального состояния печени с длительностью холодого воздействия при температуре атмосферного воздуха -10°C также коррелируют выраженность очаговой инфильтрации ($r=0,94$, $p=0,005$), степень дистрофических изменений в гепатоцитах ($r=0,84$, $p=0,04$) и выраженность некроза ($r=0,84$, $p=0,04$).

Также выявлены следующие корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени друг с другом при общем переохлаждении. Чем больше степень дистрофических изменений в гепатоцитах,

Таблица 10 – Морфологические изменения печени при общем переохлаждении организма при температуре атмосферного воздуха –10 °С

Параметры	Группы животных					Коэффициент регрессии
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4±0,24	1,2±0,20	2,0±0,00	2,0±0,00	2,0±0,00	0,82**
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	2,0±0,00*	2,0±0,31*	2,0±0,00*	0,86**
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	–
Степень кровенаполнения сосудов	2,6±0,24	3,4±0,30	4,0±0,0*	3,6±0,30	3,0±0,00	–0,63
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2±0,31	2,6±0,25	3,0±0,00*	3,0±0,00*	3,0±0,00*	0,80
Выраженность отека	1,0±0,00	2,0±0,00	2,6±0,20*	2,4±0,40*	2,4±0,2*	0,63
Выраженность некроза	1,0±0,00	1,4±0,2	2,0±0,0*	2,2±0,4*	2,4±0,3*	0,77
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0±0,00	2,0±0,00	2,0±0,00	2,6±0,50*	3,0±0,00*	0,83**
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0±0,00	3,0±0,00*	3,4±0,5*	3,8±0,44*	4,0±0,0*	0,91**

Как видно из таблицы, значимые изменения касаются параметров, характеризующих выраженность мононуклеарной инфильтрации и дистрофических и некротических изменений гепатоцитов, а также количества гепатоцитов с двумя ядрышками в ядре, кровенаполнения органа, выраженности отека.

В таблице 11 представлена динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма при температуре –10 °С.

Таблица 11 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма при температуре -10°C

Наименование параметра	Контроль M \pm m n=5	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час M \pm m n=5	3 часа M \pm m n=5	5 часов M \pm m n=5	7 часов M \pm m n=5	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	0	0	0	–
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9 \pm 2,2	22,2 \pm 2,7	21,5 \pm 1,3	23,0 \pm 1,8	25,9 \pm 1,5 *	0,25
Удельный объем ядра, %	25,2 \pm 1,3	24,5 \pm 1,3	26,3 \pm 0,2	25,4 \pm 1,5	24,9 \pm 1,1	0,09
Удельный объем ядрышка, %	1,93 \pm 0,2	1,91 \pm 0,1	1,89 \pm 0,1	2,01 \pm 0,1	1,97 \pm 0,1	0,1
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	0	0	0	–
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1 \pm 1,8	22,4 \pm 1,7	22,5 \pm 1,3	21,0 \pm 1,8	23,1 \pm 1,5	0,21
Удельный объем ядра, %	27,4 \pm 2,1	27,9 \pm 1,3	27,4 \pm 0,8	28,1 \pm 1,5	26,9 \pm 1,1	–0,19
Удельный объем ядрышка, %	1,88 \pm 0,14	1,92 \pm 0,1	1,95 \pm 0,1	1,75 \pm 0,1	1,87 \pm 0,1	–0,1
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	0	0	0	–
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9 \pm 2,1	22,4 \pm 1,7	22,5 \pm 1,4	24,0 \pm 1,5	25,4 \pm 1,1*	0,31**
Удельный объем ядра, %	26,2 \pm 1,4	27,5 \pm 1,3	27,3 \pm 0,2	28,4 \pm 1,5	27,1 \pm 1,1	–0,09
Удельный объем ядрышка, %	1,86 \pm 0,11	1,74 \pm 0,1	1,84 \pm 0,1	2,12 \pm 0,1	1,79 \pm 0,1	0,16

Как видно из таблицы, среди статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой выявлено только увеличение к 7-му часу холодового воздействия удельного объема митохондрий в гепатоцитах первой и

третьей зон ацинуса, что можно расценить как небольшое усиление функциональной активности органа, направленное на увеличение продукции энергии. При этом уместно отметить отсутствие такого явления как кариопикноз во всех зонах гепатоцитов в течение всего периода наблюдения.

3.6 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха -18°C

В ходе исследования установлено, что печеночная ткань экспериментальных животных при экспозиции на атмосферном воздухе температурой -18°C характеризуется умеренными и выраженными мелкокапельными дистрофическими изменениями в гепатоцитах. Гепатоциты с вакуолями располагаются преимущественно в центрлобулярной и перипортальной зонах ацинуса. Также как и в контрольной группе, гепатоциты в состоянии некроза не обнаруживаются.

В течение семичасового воздействия холода на организм кровенаполнение паренхимы печени имеет четкую зависимость от зоны ацинуса. Сосуды портальных трактов характеризуются умеренным кровенаполнением. Отмечается выражено полнокровие центральных вен и капилляров на протяжении всего воздействия.

В ходе исследования выявлено наличие очаговой мононуклеарной инфильтрации в паренхиме печени. Она в течение эксперимента выражена сильнее по сравнению с контрольной группой. В первой половине эксперимента в поле зрения микроскопа встречаются до 3–5 мелких очагов, либо крупный очаг. Во второй половине эксперимента регистрируются в поле зрения микроскопа по 1–2 очага мононуклеарной инфильтрации до 10 клеток в каждом. Кроме того, наблюдается слабо выраженная диффузная мононуклеарная инфильтрация: лимфоциты в полях зрения либо отсутствуют, либо обнаруживаются по 2–4 клетки рассеянно друг от друга.

диффузно расположенных лимфоцитов. И чем больше количество лимфоцитов, тем больше выраженность очаговой инфильтрации ($r=0,76$, $p=0,009$).

Результаты исследования морфофункционального состояния печени в динамике общего переохлаждения при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Морфологические изменения печени при общем переохлаждении организма при температуре атмосферного воздуха $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$

Параметры	Группы животных					
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				Коэффициент регрессии
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4±0,24	2,0±0,00	2,0±0,00	2,0±0,00	1,5±0,23	
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0±0,0	3,0±0,00*	3,0±0,00*	2,0±0,00*	2,0±0,00*	-0,77**
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,5±0,23	1,2±0,20	0,14
Степень кровенаполнения сосудов	2,6±0,24	4,0±0,00*	3,0±0,00	4,0±0,00*	3,6±0,24	-0,31
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2±0,31	4,0±0,00*	3,0±0,0*	3,6±0,24*	3,8±0,20*	0,11
Выраженность отека	1,0±0,00	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,4±0,24	0,21
Выраженность некроза	1,0±0,00	3,0±0,0*	2,0±0,0*	2,8±0,20*	3,0±0,00*	0,17
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0±0,00	1,0±0,0	2,0±0,0	2,0±0,00	2,0±0,00	0,45
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0±0,00	1,4±0,2	2,0±0,00	2,8±0,40*	3,0±0,00*	0,67

В таблице 13 представлена динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Таблица 13 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма при температуре -18°C

Наименование параметра	Контроль $M \pm m$ $n=5$	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час $M \pm m$ $n=5$	3 часа $M \pm m$ $n=5$	5 часов $M \pm m$ $n=5$	7 часов $M \pm m$ $n=5$	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	0	0	0	-
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	$20,9 \pm 2,2$	$22,7 \pm 1,7$	$24,5 \pm 1,1^*$	$26,0 \pm 1,1^*$	$27,2 \pm 1,5^*$	0,47**
Удельный объем ядра, %	$25,2 \pm 1,3$	$26,5 \pm 1,3$	$26,3 \pm 0,2$	$27,4 \pm 1,5$	$27,9 \pm 1,2^*$	0,41**
Удельный объем ядрышка, %	$1,93 \pm 0,2$	$1,99 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,1^*$	$2,67 \pm 0,18^*$	$2,8 \pm 0,3^*$	0,33**
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	0	0	0	-
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	$22,1 \pm 1,8$	$24,4 \pm 1,4$	$25,1 \pm 1,3$	$25,9 \pm 1,8^*$	$26,9 \pm 1,5^*$	0,32**
Удельный объем ядра, %	$27,4 \pm 2,1$	$27,9 \pm 1,3$	$28,8 \pm 0,9$	$29,7 \pm 1,5$	$30,3 \pm 1,1^*$	0,34**
Удельный объем ядрышка, %	$1,88 \pm 0,14$	$1,94 \pm 0,1$	$1,94 \pm 0,1$	$1,99 \pm 0,1$	$2,13 \pm 0,2$	0,22**
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	0	0	0	-
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	$21,9 \pm 2,1$	$24,9 \pm 1,3$	$25,8 \pm 1,1^*$	$27,0 \pm 1,5^*$	$28,9 \pm 1,1^*$	0,38**
Удельный объем ядра, %	$26,2 \pm 1,4$	$28,5 \pm 1,3$	$29,3 \pm 0,2^*$	$29,9 \pm 1,5^*$	$30,7 \pm 1,1^*$	0,29**
Удельный объем ядрышка, %	$1,86 \pm 0,11$	$1,99 \pm 0,1$	$2,12 \pm 0,1^*$	$2,39 \pm 0,1^*$	$2,83 \pm 0,1^*$	0,28**

Как видно из таблицы, среди статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой выявлено увеличение в гепатоцитах всех зон ацинуса удельного объема митохондрий, ядра и ядрышка, начиная с 3-го и до 7-го

часа холодного воздействия, что можно расценить как солидарное значительное усиление функциональной активности гепатоцитов всех зон ацинуса печени, направленное на увеличение продукции энергии. При этом отсутствие кариопикноза гепатоцитов во всех зонах в течение всего периода наблюдения можно также расценить как тотальную вовлеченность паренхимы печени в адаптивную реакцию организма на гипотермию

3.7 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела

В ходе исследования установлено, что печеночная ткань экспериментальных животных при данном виде комбинированного воздействия характеризуется слабо выраженными мелкокапельными дистрофическими изменениями в гепатоцитах, либо эти изменения отсутствуют в начале воздействия, но нарастают к окончанию срока наблюдения. При этом гепатоциты с вакуолями выявляются преимущественно в перипортальной зоне ацинуса. Также как и в контрольной группе, гепатоциты в состоянии некроза не обнаруживаются.

В течение семичасового комбинированного воздействия холода и этанола на организм кровенаполнение печени имеет высокую выраженность и не зависит от зоны ацинуса.

Мононуклеарная инфильтрация в течение эксперимента выражена сильнее по сравнению с контрольной группой. В первой половине эксперимента в поле зрения микроскопа встречаются до 3–5 мелких очагов в поле зрения. Во второй половине эксперимента наблюдается слабо выраженная диффузная мононуклеарная инфильтрация: лимфоциты в полях зрения либо отсутствуют, либо обнаруживаются по 2–4 клетки рассеянно друг от друга. Печень при данном воздействии характеризуется слабо выраженным отеком в первые 5 часов

воздействия, выраженность которого снижается к седьмому часу эксперимента. Происходит также увеличение по сравнению с контролем числа гепатоцитов с двумя ядрами и двумя ядрышками в ядре в течение всего периода наблюдения.

Корреляционный анализ результатов исследования морфофункционального состояния печени в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела выявил ряд статистически значимых изменений – чем длительнее экспозиция, тем сильнее выражена мононуклеарная инфильтрация ($r=0,71$, $p=0,03$), тем выраженнее кровенаполнение сосудов печени ($r=0,69$, $p=0,03$), тем больше гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,61$, $p=0,04$) и двумя ядрышками в ядре ($r=0,51$, $p=0,05$).

Также выявлены следующие корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени друг с другом при общем переохлаждении при температуре -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг. Чем больше кровенаполнение печени, тем сильнее выражена очаговая инфильтрация ($r=0,83$, $p=0,02$), тем больше количество диффузно расположенных лимфоцитов, тем больше гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,61$, $p=0,04$) и двумя ядрышками в ядре ($r=0,51$, $p=0,05$). И чем больше количество лимфоцитов, тем больше выраженность очаговой инфильтрации ($r=0,76$, $p=0,009$) и гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,61$, $p=0,04$).

Корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени данной группы представлены на рисунке 23.

Результаты исследования морфофункционального состояния печени в динамике общего переохлаждения организма при действии температуры атмосферного воздуха -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг, представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Морфологические изменения печени при общем переохлаждении организма при температуре -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг

Параметры	Группы животных					Коэффициент корреляции
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
	M \pm m n=5	M \pm m n=5	M \pm m n=5	M \pm m n=5	M \pm m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4 \pm 0,24	1,2 \pm 0,50	1,4 \pm 0,31	1,8 \pm 0,21	2,6 \pm 0,23*	0,56**
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0 \pm 0,0	1,2 \pm 0,21	1,4 \pm 0,23	1,6 \pm 0,24	2,0 \pm 0,00*	0,63**
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	1,6 \pm 0,24	0,49**
Степень кровенаполнения сосудов	2,6 \pm 0,24	3,6 \pm 0,21*	3,8 \pm 0,41*	3,2 \pm 0,20	4,0 \pm 0,00*	0,18
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2 \pm 0,31	2,6 \pm 0,25	3,0 \pm 0,00	3,4 \pm 0,43*	3,6 \pm 0,30*	0,77**
Выраженность отека	1,0 \pm 0,00	1,8 \pm 0,41*	2,0 \pm 0,00*	1,6 \pm 0,20	1,4 \pm 0,26	0,08
Выраженность некроза	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	–
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0 \pm 0,00	3,4 \pm 0,43*	2,0 \pm 0,0	2,6 \pm 0,50*	3,8 \pm 0,21*	0,79**
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0 \pm 0,00	3,8 \pm 0,21*	3,0 \pm 0,00*	3,2 \pm 0,43*	2,8 \pm 0,24*	0,02

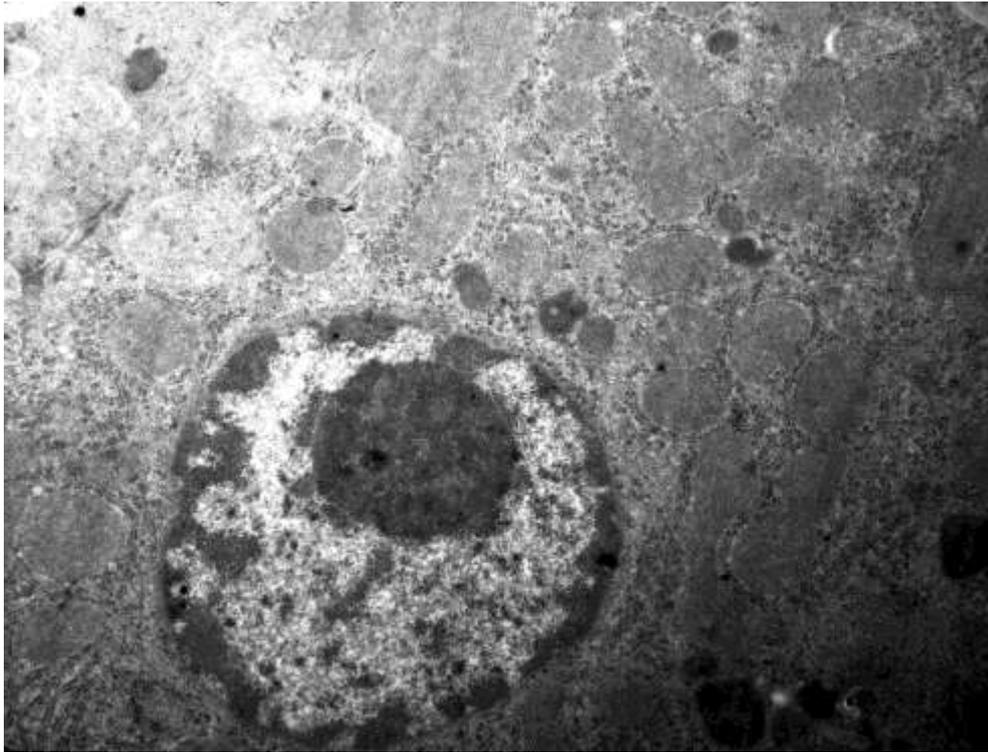


Рисунок 24 – Печень крысы через 7 часов воздействия низкой температуры (-10°C) и введения этанола в дозе 4 мл/кг. Гепатоцит с гипертрофированным ядрышком на периферии ядра. Ув. 9000

Таблица 15 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма при температуре -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг

Наименование параметра	Контроль $M\pm m$ $n=5$	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час $M\pm m$ $n=5$	3 часа $M\pm m$ $n=5$	5 часов $M\pm m$ $n=5$	7 часов $M\pm m$ $n=5$	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	$1,7\pm 0,6^*$	$1,9\pm 0,8^*$	$3,3\pm 1,0^*$	$3,1\pm 0,9^*$	0,48**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	$20,9\pm 2,2$	$21,7\pm 1,1$	$23,5\pm 1,1$	$24,0\pm 1,3^*$	$26,2\pm 1,2^*$	0,37**
Удельный объем ядра, %	$25,2\pm 1,3$	$27,5\pm 1,3$	$28,3\pm 0,2$	$28,9\pm 1,5$	$29,8\pm 1,2^*$	0,46**
Удельный объем ядрышка, %	$1,93\pm 0,2$	$1,99\pm 0,1$	$2,27\pm 0,1^*$	$2,47\pm 0,18^*$	$2,76\pm 0,18^*$	0,31**
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	$1,9\pm 0,8^*$	$3,3\pm 1,0^*$	$4,1\pm 0,5^*$	0,38**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	$22,1\pm 1,8$	$24,9\pm 1,1$	$25,8\pm 1,3$	$25,9\pm 1,1^*$	$26,8\pm 1,5^*$	0,34**
Удельный объем ядра, %	$27,4\pm 2,1$	$28,9\pm 0,9$	$29,6\pm 0,9$	$30,7\pm 1,1$	$30,9\pm 1,1^*$	0,42**
Удельный объем ядрышка, %	$1,88\pm 0,14$	$1,94\pm 0,1$	$1,99\pm 0,1$	$2,09\pm 0,1$	$2,23\pm 0,2$	0,31**
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	$2,9\pm 0,4^*$	$3,7\pm 0,3^*$	$3,3\pm 0,4^*$	0,25
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	$21,9\pm 2,1$	$23,9\pm 1,2$	$24,6\pm 1,1^*$	$28,0\pm 1,2^*$	$29,9\pm 1,1^*$	0,45**
Удельный объем ядра, %	$26,2\pm 1,4$	$27,5\pm 1,2$	$28,9\pm 0,4^*$	$29,9\pm 1,1^*$	$31,3\pm 1,1^*$	0,36**
Удельный объем ядрышка, %	$1,86\pm 0,11$	$2,09\pm 0,2$	$2,32\pm 0,1^*$	$2,79\pm 0,1^*$	$2,96\pm 0,1^*$	0,48**

С учетом плавного нарастания кариопикноза гепатоцитов во всех зонах ацинуса после 3-го часа комбинированного воздействия совокупно реакцию

печени можно расценить как тотальную вовлеченность печени в адаптивную реакцию организма на комбинированное воздействие на фоне гепатотоксического эффекта этанола.

3.8 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела

Печеночная ткань экспериментальных животных при данном виде комбинированного воздействия характеризуется отсутствием дистрофических изменений в начале воздействия и выраженными мелкокапельными дистрофическими изменениями к окончанию срока наблюдения. При этом гепатоциты с вакуолями выявляются в основном в перипортальной зоне ацинуса. Также как и в контрольной группе гепатоциты в состоянии некроза не обнаруживаются в начале воздействия, но к концу наблюдения встречаются единичные клетки в различных зонах ацинуса не более одного на 2–3 поля зрения.

В течение всего семичасового комбинированного воздействия на организм кровенаполнение печени имеет высокую выраженность и достигает максимальных проявлений в центрлобулярной зоне ацинуса.

Мононуклеарная инфильтрация в течение всего воздействия выражена сильнее по сравнению с контрольной группой. Весь период наблюдения наблюдается слабо выраженная диффузная мононуклеарная инфильтрация: лимфоциты в полях зрения обнаруживаются по 2–4 клетки рассеянно друг от друга. Печень при данном воздействии характеризуется отсутствием отека в течение всего воздействия. Происходит также увеличение по сравнению с контролем числа гепатоцитов с двумя ядрами и двумя ядрышками в ядре в течение всего периода наблюдения.

Корреляционный анализ результатов исследования морфофункционального состояния печени в динамике общего переохлаждения при температуре

Результаты исследования морфофункционального состояния печени в динамике общего переохлаждения организма при температуре атмосферного воздуха -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Морфологические изменения печени при общем переохлаждении организма при температуре -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг

Параметры	Группы животных					Коэффициент регрессии
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4±0,24	1,8±0,21	1,9±0,31	2,2±0,21	2,6±0,23*	0,56**
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0±0,0	1,2±0,21	1,5±0,23	1,7±0,21	2,0±0,00*	0,63**
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,6±0,24	0,49**
Степень кровенаполнения сосудов	2,6±0,24	3,2±0,20	3,6±0,21*	3,8±0,41*	4,0±0,00*	0,59**
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2±0,31	2,6±0,25	3,0±0,00	3,4±0,43*	3,6±0,30*	0,77**
Выраженность отека	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	–
Выраженность некроза	1,0±0,00	1,4±0,26	1,6±0,20	1,8±0,41*	2,0±0,00*	0,29**
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0±0,00	2,0±0,0	2,6±0,50*	3,4±0,43*	3,8±0,21*	0,79**
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0±0,00	2,8±0,24*	3,0±0,00*	3,2±0,43*	3,8±0,21*	0,79**

В таблице 17 представлена динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма общего переохлаждения

организма при температуре -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг.

Таблица 17 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении при температуре -10°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг

Наименование параметра	Контроль $M\pm m$ $n=5$	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час $M\pm m$ $n=5$	3 часа $M\pm m$ $n=5$	5 часов $M\pm m$ $n=5$	7 часов $M\pm m$ $n=5$	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,7 \pm 0,4*	3,9 \pm 0,8*	5,3 \pm 1,0*	7,1 \pm 0,9*	0,65**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9 \pm 2,2	21,5 \pm 0,9	23,1 \pm 1,1	23,6 \pm 1,3*	25,2 \pm 1,1*	0,31**
Удельный объем ядра, %	25,2 \pm 1,3	26,5 \pm 1,1	27,3 \pm 0,7	27,9 \pm 1,3	28,8 \pm 1,1*	0,46**
Удельный объем ядрышка, %	1,93 \pm 0,2	1,95 \pm 0,1	2,06 \pm 0,1*	2,65 \pm 0,18*	2,67 \pm 0,18*	0,30**
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	1,7 \pm 0,4*	2,9 \pm 0,3*	4,3 \pm 0,6*	5,1 \pm 0,5*	0,48**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1 \pm 1,8	24,4 \pm 0,9	25,4 \pm 1,1	25,7 \pm 1,1*	27,1 \pm 1,3*	0,35**
Удельный объем ядра, %	27,4 \pm 2,1	29,1 \pm 1,1	29,6 \pm 0,9	31,7 \pm 1,1	30,4 \pm 1,1*	0,37
Удельный объем ядрышка, %	1,88 \pm 0,14	1,93 \pm 0,1	1,95 \pm 0,1	2,11 \pm 0,1	2,18 \pm 0,2	0,29**
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,1 \pm 0,4*	3,2 \pm 0,8*	6,3 \pm 0,5*	8,1 \pm 0,7*	0,71**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9 \pm 2,1	22,9 \pm 1,2	24,8 \pm 1,1*	28,1 \pm 1,2*	28,5 \pm 1,1*	0,41**
Удельный объем ядра, %	26,2 \pm 1,4	26,5 \pm 1,2	28,3 \pm 0,4*	29,6 \pm 1,1*	30,7 \pm 0,9*	0,38**
Удельный объем ядрышка, %	1,86 \pm 0,11	2,09 \pm 0,2	2,32 \pm 0,1*	2,79 \pm 0,1*	2,56 \pm 0,1*	0,39

Как видно из таблицы, среди статистически значимых морфометрических изменений по сравнению с контрольной группой выявлено увеличение в гепатоцитах всех зон ацинуса удельного объема митохондрий, ядра и ядрышка начиная с 3-го и до 7-го часа комбинированного воздействия, что можно расценить как солидарное значительное усиление функциональной активности гепатоцитов всех зон ацинуса печени. При этом нарастание явлений кариопикноза гепатоцитов с начала воздействия можно расценить как гепатотоксический эффект алкоголя, не нивелирующийся гипотермией. С учетом плавного нарастания распространенности кариопикноза гепатоцитов во всех зонах ацинуса после 3 часа комбинированного воздействия совокупно реакцию печени можно расценить как тотальную вовлеченность печени в адаптивную реакцию организма на комбинированное воздействие на фоне гепатотоксического эффекта этанола.

3.9 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела

Изменения печеночной ткани крыс при данном виде комбинированного воздействия характеризуется стабильным нарастанием дистрофических изменений с третьего часа воздействия, когда они выражены слабо, до выраженных мелкокапельных дистрофических изменений к окончанию срока наблюдения. При этом гепатоциты с вакуолями расположены во всех зонах ацинуса. Как и в контрольной группе гепатоциты в состоянии некроза в начале воздействия не выявляются, но к концу наблюдения встречаются единичные клетки в различных зонах ацинуса не более 1–2 в поле зрения. Причем при электронной микроскопии можно различить фрагменты гепатоцитов без ядер, а содержащие только деструктивные митохондрии (рисунок 26). В течение всего семичасового комбинированного воздействия на организм кровенаполнение печени имеет высокую выраженность. Причем при электронной микроскопии можно различить перерастянутые капилляры, где наблюдается феномен сладжа эритроцитов (рисунок 27).

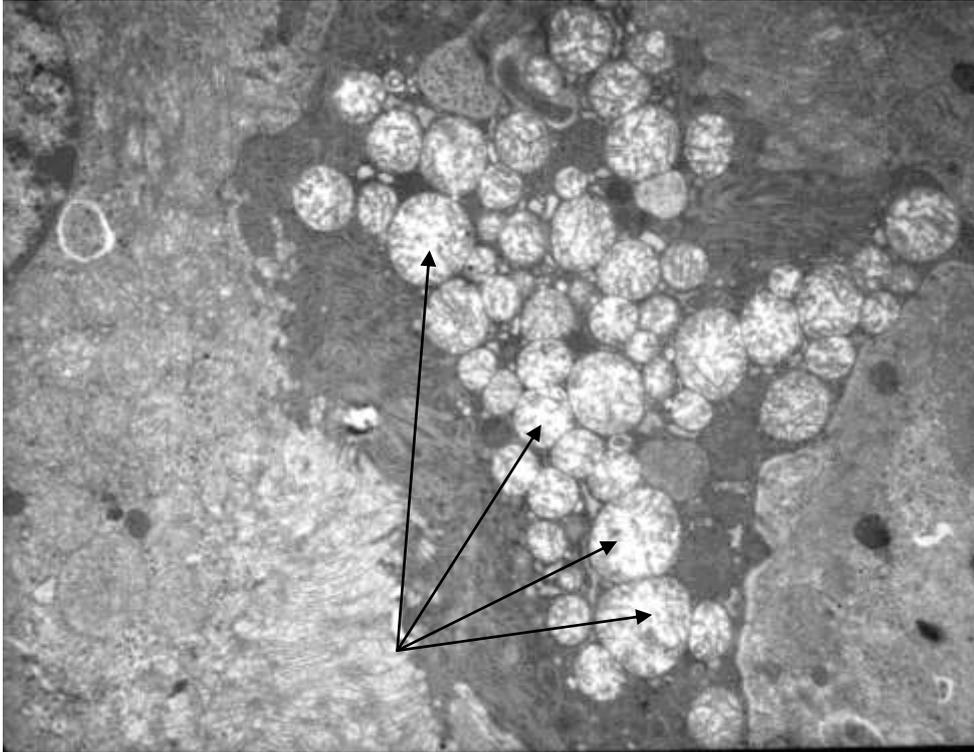


Рисунок 26 – Печень крысы через 7 часов воздействия низкой температуры (-18°C) и введения этанола в дозе 4 мл/кг. Фрагмент гепатоцита с деструктивными митохондриями. Ув. 9000

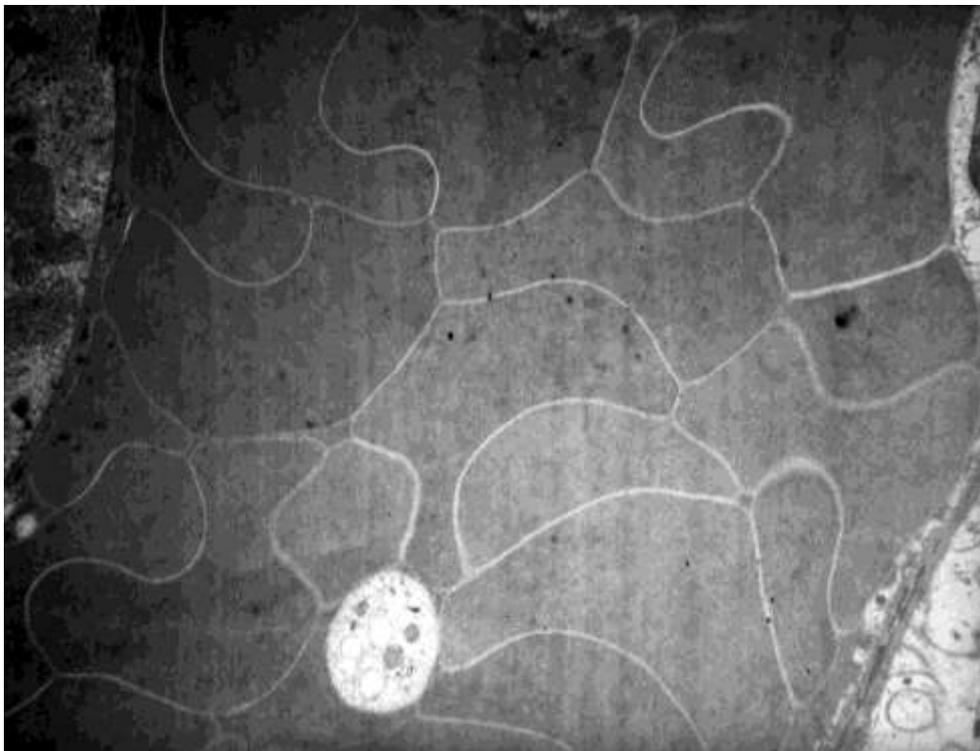


Рисунок 27 – Печень крысы через 7 часов воздействия низкой температуры (-18°C) и введения этанола в дозе 4 мл/кг. Перерастянутый капилляр со сладжем эритроцитов. Ув. 11000

Мононуклеарная инфильтрация в течение всего периода наблюдения выражена сильнее, чем в контроле. Вначале наблюдается слабо выраженная диффузная мононуклеарная инфильтрация: лимфоциты в полях зрения обнаруживаются по 2–4 клетки рассеянно друг от друга, а к 7-му часу лимфоцитов в поле зрения становится более 15. Печень при данном воздействии характеризуется отсутствием отека в начале воздействия и появлением к последним часам наблюдения. Происходит также увеличение по сравнению с контролем числа гепатоцитов с двумя ядрами и двумя ядрышками в ядре в течение всего периода наблюдения.

Корреляционный анализ результатов исследования морфофункционального состояния печени в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела выявил ряд статистически значимых изменений – чем длительнее экспозиция, тем сильнее выражены дистрофические изменения ($r=0,55$, $p=0,05$), кровенаполнение органа ($r=0,65$, $p=0,03$), отек ($r=0,58$, $p=0,03$), мононуклеарная инфильтрация ($r=0,64$, $p=0,03$), тем больше проявлений некроза гепатоцитов ($r=0,51$, $p=0,04$), тем больше гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,54$, $p=0,05$) и двумя ядрышками в ядре ($r=0,52$, $p=0,05$).

Выявлены следующие корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени друг с другом. Чем больше кровенаполнение печени, тем более выражена очаговая инфильтрация ($r=0,76$, $p=0,02$), дистрофические изменения ($r=0,53$, $p=0,05$), тем больше количество диффузно расположенных лимфоцитов ($r=0,59$, $p=0,04$), тем больше гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,55$, $p=0,05$). И чем больше количество лимфоцитов, тем больше выраженность очаговой инфильтрации ($r=0,71$, $p=0,01$), дистрофических изменений гепатоцитов ($r=0,59$, $p=0,04$), гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,69$, $p=0,03$), гепатоцитов в состоянии некроза ($r=0,62$, $p=0,04$).

Корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени данной группы представлены на рисунке 28.

Таблица 18 – Морфологические изменения печени при общем переохлаждении организма при температуре -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг

Параметры	Группы животных					Коэффициент регрессии
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
	M \pm m n=5	M \pm m n=5	M \pm m n=5	M \pm m n=5	M \pm m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4 \pm 0,24	2,2 \pm 0,31	2,6 \pm 0,24*	2,0 \pm 0,00	2,5 \pm 0,21	-0,35
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,2 \pm 0,23	1,6 \pm 0,24	2,0 \pm 0,00*	0,45
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,0	1,4 \pm 0,42	1,5 \pm 0,31	2,0 \pm 0,00*	0,41**
Степень кровенаполнения сосудов	2,6 \pm 0,24	3,0 \pm 0,00	3,6 \pm 0,27*	4,0 \pm 0,00*	4,0 \pm 0,00	0,47**
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2 \pm 0,31	2,8 \pm 0,20	3,0 \pm 0,00*	3,6 \pm 0,21*	3,8 \pm 0,35*	0,77**
Выраженность отека	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,00	1,0 \pm 0,00	1,6 \pm 0,53	0,28
Выраженность некроза	1,0 \pm 0,00	2,0 \pm 0,0	2,4 \pm 0,24*	2,2 \pm 0,45*	2,8 \pm 0,2*	0,63
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0 \pm 0,00	1,8 \pm 0,21	2,6 \pm 0,31*	2,8 \pm 0,15*	3,6 \pm 0,54*	0,79**
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0 \pm 0,00	2,0 \pm 0,00*	2,4 \pm 0,47*	2,4 \pm 0,31*	1,6 \pm 0,33	-0,21

Таблица 19 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма при температуре -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг

Наименование параметра	Контроль M±m n=5	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час M±m n=5	3 часа M±m n=5	5 часов M±m n=5	7 часов M±m n=5	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	3,5±0,4*	4,3±0,5*	5,1±0,4*	0,45**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9±2,2	23,5±0,8	26,1±0,8*	27,3±1,1*	28,2± 1,1*	0,51**
Удельный объем ядра, %	25,2±1,3	26,5±1,1	27,3±0,7	25,9±1,3	24,8±1,1	-0,12
Удельный объем ядрышка, %	1,93±0,2	1,96±0,1	2,06±0,1	2,61±0,2*	2,67±0,1*	0,30**
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	2,5±0,3*	3,3±0,4*	5,8±0,3*	0,48**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1±1,8	25,4±0,9*	26,4±1,1*	27,7±1,1*	29,1±1,3*	0,55**
Удельный объем ядра, %	27,4±2,1	29,1±1,1	29,6±0,9	28,7±1,2	27,1±0,9	0,17
Удельный объем ядрышка, %	1,88±0,14	1,99±0,1	2,28±0,1*	2,55±0,1*	2,75±0,2*	0,45**
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	0	3,1±0,4*	5,7±0,4*	7,2±0,4*	0,71**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9±2,1	24,9±1,2	26,8±1,1*	28,1±1,2*	29,5± 1,4*	0,52**
Удельный объем ядра, %	26,2±1,4	26,5±1,2	28,3±0,6*	27,6±1,1*	25,9±0,9*	0,28
Удельный объем ядрышка, %	1,86±0,11	2,12±0,2	2,62±0,1*	2,79±0,1*	3,16±0,1*	0,49**

Зарегистрировано увеличение удельного объема митохондрий в цитоплазме гепатоцитов всех зон ацинуса, количества гепатоцитов с пикнотичными ядрами

после 3-го часа воздействия, удельного объема ядрышек гепатоцитов всех зон ацинуса. Удельный объем ядер гепатоцитов, напротив, изменяется нелинейно – вначале происходит увеличение данного параметра, после 5-го часа происходит снижение, достигая своего минимума к 7-му часу воздействия.

С учетом плавного нарастания распространенности кариопикноза гепатоцитов во всех зонах ацинуса после 3-го часа комбинированного воздействия совокупно реакцию печени можно расценить как тотальную вовлеченность печени в адаптивную реакцию организма на комбинированное воздействие на фоне гепатотоксического эффекта этанола.

3.10 Характеристика морфофункционального состояния печени крыс в динамике общего переохлаждения при температуре атмосферного воздуха –18 °С на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела

Печеночная ткань экспериментальных животных при данном виде комбинированного воздействия характеризуется наличием выраженных дистрофических изменений начиная с 5-го часа экспозиции и проявляющимися в виде мелкокапельных вакуольных включений в гепатоцитах. При этом гепатоциты с вакуолями выявляются в основном в перипортальной и периферической зонах ацинуса. Так же как и в контрольной группе гепатоциты в состоянии некроза не обнаруживаются в начале воздействия, но к концу наблюдения встречаются единичные клетки в различных зонах ацинуса не более 2–3 в поле зрения.

В течение всего периода воздействия кровенаполнение печени имеет высокую выраженность за исключением второй зоны ацинуса, где кровенаполнение сосудов немного ниже.

Мононуклеарная инфильтрация в течение всего периода наблюдения выражена сильнее, чем в контроле. Вначале наблюдается слабо выраженная диффузная мононуклеарная инфильтрация: лимфоциты в полях зрения

обнаруживаются по 2–4 клетки рассеянно друг от друга, а к 7-му часу лимфоцитов в каждом поле зрения становится более 15. Печень при данном воздействии характеризуется отсутствием отека в первый час воздействия, появлением через 3 часа воздействия и нарастанием к последним часам наблюдения. Происходит также увеличение по сравнению с контролем числа гепатоцитов с двумя ядрами и двумя ядрышками в ядре в течение всего периода наблюдения. Встречаются гепатоциты с тремя ядрышками в ядре (рисунок 29).

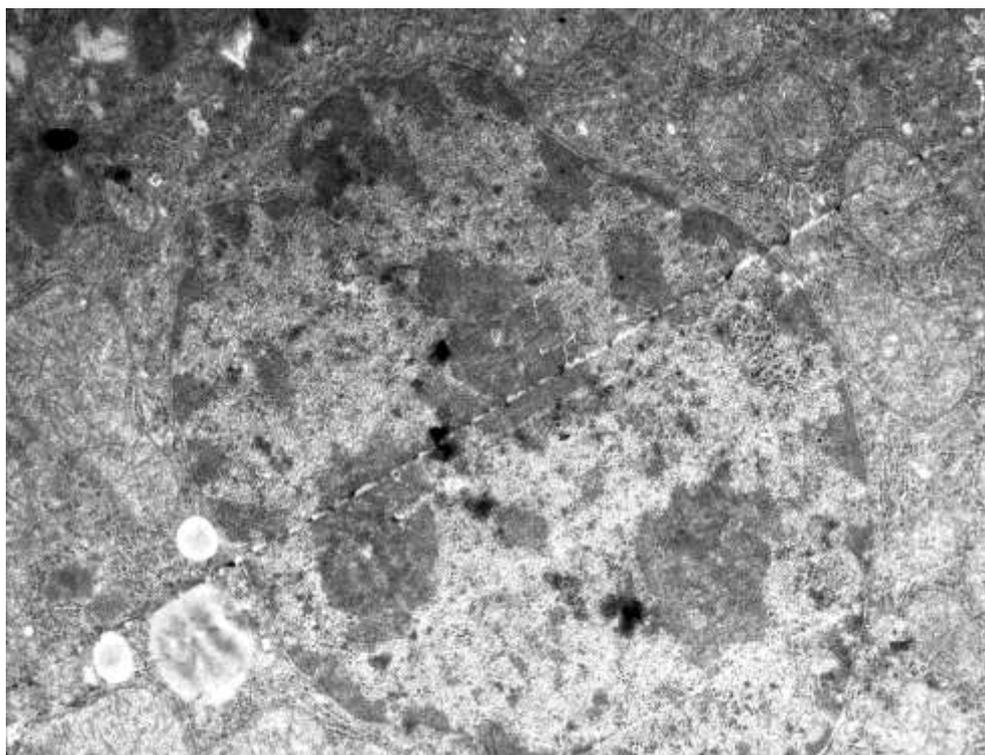


Рисунок 29 – Печень крысы через 7 часов воздействия низкой температуры (-18°C) и введения этанола в дозе 8 мл/кг. Ядро гепатоцита с тремя ядрышками. Ув. 11000

Корреляционный анализ результатов исследования морфофункционального состояния печени в динамике максимального по силе комбинированного воздействия среди всех серий эксперимента выявил ряд статистически значимых изменений – чем длительнее экспозиция, тем сильнее выражена мононуклеарная инфильтрация ($r=0,69$, $p=0,03$), тем больше проявлений некроза гепатоцитов ($r=0,59$, $p=0,04$), тем больше гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,49$, $p=0,05$) и более выражены дистрофические изменения органа ($r=0,77$, $p=0,03$).

Также при данном виде комбинированного воздействия выявлены следующие корреляционные взаимосвязи морфологических параметров печени, отражающих ее функциональное состояние, друг с другом. С увеличением кровенаполнения увеличивается выраженность очаговой мононуклеарной инфильтрации ($r=0,74$, $p=0,01$), количество диффузно расположенных лимфоцитов ($r=0,84$, $p=0,01$), количество гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,61$, $p=0,04$) Чем больше лимфоцитов обнаруживается в ткани печени, тем больше выраженность очаговой инфильтрации ($r=0,71$, $p=0,01$), тем больше гепатоцитов с двумя ядрами ($r=0,69$, $p=0,03$), гепатоцитов в состоянии некроза ($r=0,51$, $p=0,05$), и тем более выражены дистрофические изменения гепатоцитов ($r=0,44$, $p=0,05$).

Корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени данной группы представлены на рисунке 30.

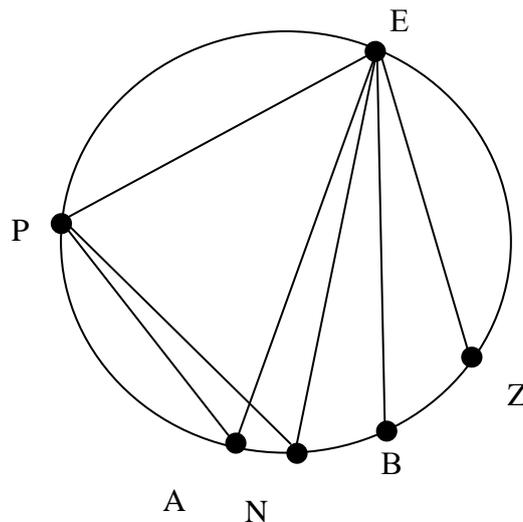


Рисунок 30 – Корреляционные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния печени при действии температуры атмосферного воздуха $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг массы тела: А – очаговая мононуклеарная инфильтрация; Е – количество лимфоцитов; Р – кровенаполнение печени; N – количество гепатоцитов с двумя ядрами; М – количество гепатоцитов с двумя ядрышками в ядре; В – количество некротизированных гепатоцитов; Z – выраженность дистрофических изменений гепатоцитов;

— — положительная корреляция, - - - отрицательная корреляция

Результаты исследования морфофункционального состояния печени в динамике общего переохлаждения организма при температуре атмосферного

воздуха -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Морфологические изменения печени при общем переохлаждении организма при температуре -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг

Параметры	Группы животных					Коэффициент регрессии
	Контроль	Время взятия материала в экспериментальной группе				
		1 час	3 часа	5 часов	7 часов	
	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	
Количество лимфоцитов в поле зрения	1,4±0,24	1,9±0,21	2,2±0,31	2,4±0,21*	2,6±0,23*	0,51**
Выраженность очаговой инфильтрации	1,0±0,0	1,2±0,21	1,5±0,21*	1,7±0,21*	2,0±0,00*	0,47**
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,6±0,21*	1,9±0,23*	2,2±0,21*	2,4±0,25*	0,56**
Степень кровенаполнения сосудов	2,6±0,24	3,8±0,21*	3,8±0,21*	3,8±0,21*	4,0±0,00*	0,15
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,2±0,31	2,6±0,25	3,0±0,00*	3,4±0,40*	3,6±0,30*	0,77**
Выраженность отека	1,0±0,00	1,4±0,21	1,6±0,21	1,8±0,21*	2,0±0,00*	0,27**
Выраженность некроза	1,0±0,00	1,6±0,26	1,9±0,20	2,0±0,00*	2,0±0,00*	0,29**
Количество двуядерных гепатоцитов	1,0±0,00	2,0±0,0	2,6±0,40*	3,4±0,20*	3,8±0,20*	0,49**
Количество ядер с двумя ядрышками	1,0±0,00	2,3±0,2*	3,0±0,00*	3,2±0,2*	3,8±0,2*	0,59**

В таблице 21 представлена динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма общего переохлаждения организма при температуре -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг.

Таблица 21 – Динамика ультраструктурных изменений гепатоцитов при общем переохлаждении организма при температуре -18°C на фоне алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг

Наименование параметра	Контроль M±m n=5	Время взятия материала				Коэффициент регрессии
		1 час M±m n=5	3 часа M±m n=5	5 часов M±m n=5	7 часов M±m n=5	
Первая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,1±0,2*	2,3±0,2*	5,8±0,6*	8,4±0,7*	0,55**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	20,9±2,2	24,1±0,9	24,9±1,1	21,6±1,1*	19,7± 0,6*	-0,31
Удельный объем ядра, %	25,2±1,3	26,5±1,1	27,3±0,7*	25,9±1,3	24,8±1,1	0,27
Удельный объем ядрышка, %	1,93±0,2	1,95±0,1	2,06±0,1*	2,45±0,18*	2,61±0,18*	0,32**
Вторая зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	1,7±0,4*	2,1±0,3*	4,3±0,6*	6,9±0,5*	0,52**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,1±1,8	24,4±0,9	25,4±1,1*	25,1±1,1*	22,1±1,1	0,17
Удельный объем ядра, %	27,4±2,1	29,1±1,1	29,6±0,9	28,4±1,1	26,4±0,9	0,21
Удельный объем ядрышка, %	1,88±0,14	1,93±0,1	1,95±0,1	1,77±0,1	1,85±0,2	0,19
Третья зона ацинуса						
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	0	2,1±0,4*	2,2±0,2*	6,9±0,5*	9,4±0,7*	0,71**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	21,9±2,1	26,9±1,2	27,8±1,1*	25,1±1,2*	22,5± 1,1	0,12
Удельный объем ядра, %	26,2±1,4	27,5±1,2	28,93±0,4*	27,6±1,1*	25,7±0,6*	0,18
Удельный объем ядрышка, %	1,86±0,11	2,09±0,2	2,52±0,1*	2,88±0,1*	2,42±0,1*	0,49

Как видно из таблицы, среди статистически значимых морфометрических изменений по сравнению с контрольной группой выявлено увеличение в

гепатоцитах всех зон ацинуса удельного объема митохондрий, ядра и ядрышка начиная через 3 часа комбинированного воздействия, что можно расценить как солидарное значительное усиление функциональной активности гепатоцитов всех зон ацинуса печени. При этом возникающие к 5-му часу воздействия нарастание явлений кариопикноза гепатоцитов, снижение удельного объема митохондрий и ядра гепатоцитов можно расценить как синергию, в которой гепатотоксический эффект алкоголя усиливается гипотермией до того, что удельный объем ядра и митохондрий снижается даже ниже контрольных значений.

3.11 Изменения биохимических показателей при острой алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма

Исследуемые биохимические показатели, которые отражают функционально-морфологическое состояние печени контрольной группы животных, представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Биохимические показатели крыс в контрольной группе

Исследуемый параметр	Концентрация в сыворотке крови	Референтные значения
Концентрация глюкозы (ммоль/л)	9,5±1,4	8,8–16,3
Активность АЛТ (Е/л)	117,2±5	110,0–140,0
Активность АСТ (Е/л)	114±7,7	72,0–196,0
Содержание гликогена (ммоль/л)	78,2±6,8	60–100

Как видно из таблицы, величина показателей внутри группы достаточно вариабельна, при этом ни один из показателей ни у одного из животных не выходит за рамки референтных значений.

Результаты исследования биохимических показателей при изучаемых изолированных и комбинированных воздействиях представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Изменения биохимических показателей в динамике острой алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма

ГРУППА (вид воздействия)	Часы	Исследуемые показатели			
		Активность АСТ (Е/л) М	Активность АЛТ (Е/л) М	Гликоген печени (ммоль/л) М	Глюкоза сыворотки (ммоль/л) М
КОНТРОЛЬ		114	117,2	78,2	9,5
Холод (-10°C)	1	73	115	43*	5,9
	3	192	135	22*	6,4
	5	110	124	13*	7,2
	7	175	139	10*	8,8
Холод (-18°C)	1	135	137	35*	5,7
	3	117	120	28*	6,9
	5	162	140	21*	7,9
	7	58	98	8*	8,4
Этанол 2 мл/кг массы тела	1	121	123	79	7,5
	3	129	139	63	8,1
	5	124	119	81	6,3*
	7	102	133	62	9,9
Этанол 4 мл/кг массы тела	1	76	114	62,3*	9,4
	3	154	124	49,3*	7,5
	5	163	126	32,1*	6,5*
	7	113	132	10,5*	4,7*
Этанол 8 мл/кг массы тела	1	126	133	55,4*	7,9
	3	138	139	42,4*	6,1*
	5	176*	151*	23,7*	5,2*
	7	203*	167*	8,5*	3,9*
Холод (-10°C) + этанол 4 мл/кг	1	161	134	68*	9
	3	115	138	22*	7,1
	5	146	145	14*	6,1*
	7	107	151	7*	4,5*
Холод (-10°C) + этанол 8 мл/кг	1	121	131	25*	7,9
	3	129	145	8*	5,9*
	5	159	158*	0*	5,2*
	7	190*	157*	0*	3,2*
Холод (-18°C) + этанол 4 мл/кг	1	126	133	32*	7,5
	3	138	139	17*	6,4*
	5	125	120	0*	5,8*
	7	104	143	0*	3,7*
Холод (-18°C) + этанол 8 мл/кг	1	122	137	26*	8,5
	3	145	139	8*	6,9*
	5	157	149*	0*	5,5*
	7	195*	164*	0*	2,1*

Примечания. * – статистически значимые различия с контрольной группой (p<0,05)

Как видно из таблицы, моновоздействия холодового стрессора приводят к однотипным изменениям – в печени снижается содержание гликогена, и чем сильнее воздействие, тем значительнее это снижение. При этом можно однозначно заключить, что изолированное действие холода в течение 7 часов не вызывает ни срыва адаптации, ни истощения, что доказывается нормальным содержанием глюкозы в сыворотке крови животных.

Моновоздействие алкогольной интоксикации приводит к несколько иным биохимическим изменениям. Если при введении этанола в дозе 2 мл/кг массы тела все биохимические показатели стабильны (за исключением концентрации глюкозы в сыворотке крови через 5 часов воздействия, что может являться ошибкой наблюдения), то большие дозы вызывают снижение содержания гликогена в печени. Это снижение выражено дозозависимо – чем выше доза введенного этанола, тем быстрее и значительнее снижается запасы этого макроэрга в печени. При этом параллельно снижается и концентрация глюкозы в сыворотке крови аналогично истощению запасов гликогена – чем выше доза введенного этанола, тем быстрее и значительнее снижение глюкозы в сыворотке крови. При введении этанола в дозе 8 мл/кг через 5 часов появляются признаки синдрома цитолиза – увеличение в крови активности ферментов АСТ и АЛТ.

При различных вариантах комбинированного воздействия происходит суммация эффектов гипотермии и алкогольной интоксикации относительно истощения запасов гликогена и снижения содержания глюкозы в сыворотке крови. Принцип – чем сильнее стрессор, тем быстрее и значительнее снижение содержания гликогена в печени и глюкозы в сыворотке, характерный для моновоздействий, сохраняется и при комбинации стрессоров. Стоит отметить, что гипотермия не предотвращает развитие синдрома цитолиза и повышения активности ферментов АСТ и АЛТ при введении этанола в дозе 8 мл/кг, а лишь задерживает на 2 часа.

3.12 Морфобioхимические параллели при алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма

Одним из важных аспектов, отражающих закономерности структурных перестроек печени при изучаемых вариантах внешних воздействиях, является зависимость состояния органа от параметров, характеризующих алкогольную интоксикацию, главным из которых является концентрация этанола в крови.

По результатам корреляционного анализа (таблица 24) наибольшее влияние степень этанолэмии оказывает на структурные компоненты печени при алкогольной интоксикации без холодового стресса.

Таблица 24 – Количество корреляционных взаимосвязей морфологических параметров печени, отражающих функциональное состояние органа с концентрацией этанола в крови в группах исследования

Группа	Положительные корреляции	Отрицательные корреляции	Всего
Этанол 2 мл/кг	5	2	7
Этанол 4 мл/кг	4	4	8
Этанол 8 мл/кг	4	3	7
Холод –10 °С Этанол 4 мл/кг	4	1	5
Холод –10 °С Этанол 8 мл/кг	2	1	3
Холод –18 °С Этанол 4 мл/кг	3	1	4
Холод –18 °С Этанол 8 мл/кг	4	0	4

Из таблицы 24 видно, что факт действия низкой температуры на фоне алкогольной интоксикации индуцирует уменьшение влияния концентрации этанола в крови на структурную перестройку печени. Объясняется это, скорее всего, тем, что этанол используется как источник энергии для поддержания температуры тела при продолжающейся гипотермии. Поэтому концентрация

алкоголя в крови не отражает истинной степени опьянения [Югов К.М., Исаев Ю.С., 2000, 2004; Алексеев И.В., Зайцев А.П., Исаев Ю.С., Проскурин В.И., Югов К.М., 2006]. В связи с этим более детально о действии алкогольного опьянения на состояние печени можно было бы судить по совокупности критериев. Основным таким критерием является стадия, которая определяется по соотношению концентраций этанола в крови и в моче – коэффициенту элиминации. Из-за малых размеров экспериментальных животных и частых мочеиспусканий произвести у них забор достаточного для исследования количества мочи оказалось не возможным. Таким образом, по имеющимся данным можно лишь судить о том, что при комбинированном воздействии алкоголя и холода, морфофункциональное состояние печени в большей мере зависит от самого факта алкогольной интоксикации, чем от ее степени, зависящей от концентрации этилового спирта в крови.

При корреляционном анализе установлено, что изменениям морфологических критериев, отражающим функциональную характеристику печени, соответствуют изменения биохимических параметров – изменения активности ферментов, содержание гликогена в печени и глюкозы в сыворотке крови. Эти взаимосвязи однотипны во всех исследуемых группах, но при некоторых воздействиях эти взаимодействия не проявляются на уровне статистической значимости. Подробно установленные в данном исследовании морфобиохимические параллели представлены в таблице 25. Как видно из таблицы, морфологические проявления повреждения печени сопровождаются увеличением активности трансаминаз крови, а морфологические признаки гиперфункции гепатоцитов соответствуют уменьшению содержания глюкозы в сыворотке крови. При этом относительно содержания гликогена в печени одни и те же морфологические признаки и положительно и отрицательно коррелируют с данным показателем в различных группах. Это касается таких параметров, как кровенаполнение печени, удельный объем ядер гепатоцитов всех зон ацинуса, удельный объем митохондрий 1 и 3 зон ацинуса.

Таблица 25 – Морфобиохимические параллели в исследуемых группах

Положительная корреляция	Биохимический параметр	Отрицательная корреляция
	Концентрация глюкозы в сыворотке	<ol style="list-style-type: none"> 1. Удельный объем митохондрий, 2. Удельный объем ядра гепатоцитов 1 и 3 зон ацинуса 3. Кровенаполнение печени 4. Выраженность диффузной мононуклеарной инфильтрации
<ol style="list-style-type: none"> 1. Выраженность дистрофических изменений печени 2. Выраженность некроза гепатоцитов 3. Выраженность диффузной мононуклеарной инфильтрации 4. Количество лимфоцитов в печени 	Активность АЛТ крови	Кровенаполнение печени
<ol style="list-style-type: none"> 1. Выраженность дистрофических изменений печени 2. Выраженность некроза гепатоцитов 3. Выраженность диффузной мононуклеарной инфильтрации 4. Количество лимфоцитов в печени 	Активность АСТ крови	Кровенаполнение печени
<ol style="list-style-type: none"> 1. Кровенаполнение печени 2. Удельный объем ядер гепатоцитов всех зон ацинуса 3. Удельный объем митохондрий 1 и 3 зон ацинуса 4. Количество двуядерных гепатоцитов 5. Удельный объем ядрышка гепатоцитов 2 зоны ацинуса 	Содержание гликогена в печени	<ol style="list-style-type: none"> 1. Кровенаполнение печени 2. Удельный объем ядер гепатоцитов всех зон ацинуса 3. Удельный объем митохондрий 1 и 3 зон ацинуса

Для контрольной группы и группы с комбинированным воздействием этанола в дозе 8 мл/кг и гипотермии при -18°C корреляции положительные, а при моно воздействиях гипотермии и алкогольной интоксикации – отрицательные.

Относительно корреляций с активностью трансаминаз крови – они регистрируются в группах моновоздействия алкогольной интоксикации и при комбинированном воздействии этанола в дозе 8 мл/кг и гипотермии при -18°C , то есть в тех группах, в которых гепатотоксический эффект этанола значим в формировании морфологических изменений.

3.13 Модифицирующая роль общего переохлаждения организма при алкогольной интоксикации

Учитывая, что первичным по хронологии действия стрессором из двух изучаемых является алкогольная интоксикация, то логично допустить, что общее воздействия холода на организм может вызвать модификацию морфологического состояния печени, вызываемого алкогольной интоксикацией. Это может быть связано, в первую очередь, с использованием этанола как источника энергии для поддержания теплового баланса ядра тела.

Модификация влияния интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг массы тела, общей гипотермией проявляется в следующем. На светооптическом уровне (таблица 26) регистрируется ряд признаков в динамике комбинированного воздействия, которые позволяют сделать вывод о том, что более сильное охлаждение приводит с течением времени наблюдения к более выраженным деструктивным изменениям печени, чем менее сильное, это проявляется в выраженности дистрофических изменений гепатоцитов. В свою очередь гипотермия -10°C обладает явно протективным эффектом в отношении некротических изменений гепатоцитов, вызываемых этанолом. При этом независимо от температуры экспозиции холода кровенаполнение печени значимо выше, чем при моно воздействии этанола.

Таблица 26 – Модификация морфологических изменений печени при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг, общим переохлаждением организма при температуре -10°C и -18°C

Параметры	Группы животных			
	Время взятия материала в экспериментальной группе			
	1 час	3 часа	5 часов	7 часов
	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5
Количество лимфоцитов в поле зрения	2,4±0,23	2,0±0,00	2,0±0,00	3,0±0,00
	1,2±0,50*	1,4±0,31*	1,8±0,21	2,6±0,23*
	2,2±0,31	2,6±0,24*,**	2,0±0,00	2,5±0,21*
Выраженность очаговой инфильтрации	2,0±0,00	2,4±0,23	1,0±0,00	2,0±0,00
	1,2±0,21*	1,4±0,23*	1,6±0,24*	2,0±0,00
	1,0±0,00*,**	1,2±0,23*	1,6±0,24*	2,0±0,00
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,6±0,24
	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,6±0,24
	1,0±0,00	1,4±0,42	1,5±0,31	2,0±0,00*,**
Степень кровенаполнения сосудов	3,6±0,21	3,0±0,00	2,6±0,23	3,6±0,24
	3,6±0,21	3,8±0,41*	3,2±0,20*	4,0±0,00
	3,0±0,00*,**	3,6±0,27*	4,0±0,00*,**	4,0±0,00
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	2,8±0,20	2,6±0,24	3,0±0,0	3,0±0,00
	2,6±0,25	3,0±0,00	3,4±0,43	3,6±0,30*
	2,8±0,20	3,0±0,00	3,6±0,21*	3,8±0,35*
Выраженность отека	1,2±0,20	1,4±0,21	2,2±0,24	2,1±0,20
	1,8±0,41	2,0±0,00*	1,6±0,20*	1,4±0,26*
	1,0±0,00	1,0±0,00**	1,0±0,00*,**	1,6±0,53
Выраженность некроза	2,0±0,00	2,6±0,24	2,0±0,00	3,0±0,00
	1,0±0,00*	1,0±0,00*	1,0±0,00*	1,0±0,00*
	2,0±0,00**	2,4±0,24**	2,2±0,45**	2,8±0,20**
Количество двуядерных гепатоцитов	2,0±0,50	2,2±0,24	3,2±0,20	2,6±0,21
	3,4±0,43*	2,0±0,0	2,6±0,50	3,8±0,21*
	1,8±0,21**	2,6±0,31	2,8±0,15	3,6±0,54*
Количество ядер с двумя ядрышками	2,6±0,20	3,0±0,40	3,6±0,50	3,8±0,45
	3,8±0,21*	3,0±0,00	3,2±0,43	2,8±0,24*
	2,0±0,00*,**	2,4±0,47	2,4±0,31*	1,6±0,33*,**

Примечание. Здесь и далее:
 Первая строка в ячейке – величина показателя при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг.
 Вторая строка в ячейке – величина показателя при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг и общем переохлаждении организма при -10°C .
 Третья строка в ячейке – величина показателя при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг и общем переохлаждении организма при -18°C .
 * – Различия статистически значимы по сравнению с показателем в первой строке.
 ** – Различия статистически значимы по сравнению с показателем во второй строке

Модификация ультраструктурных изменений гепатоцитов имеет явно выраженный зональный характер (таблица 27).

Таблица 27 – Модификация ультраструктурных изменений гепатоцитов при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 4 мл/кг, общим переохлаждением организма при температуре -10°C и -18°C

Наименование параметра	Время взятия материала			
	1 час M±m n=5	3 часа M±m n=5	5 часов M±m n=5	7 часов M±m n=5
Первая зона ацинуса				
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	3,4±1,3 1,7±0,6* 0*,**	5,5±1,3 1,9±0,8* 3,5±0,4*,**	6,4±1,0 3,3±1,0* 4,3±0,5*	7,2±0,3 3,1±0,9* 5,1±0,4*,**
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,6±2,7 21,7±1,1 23,5±0,8	23,2±1,3 23,5±1,1 26,1±0,8*,**	21,0±2,3 24,0±1,3* 27,3±1,1*,**	19,8±1,5 26,2±1,2* 28,2±1,1*
Удельный объем ядра, %	24,4±3,4 27,5±1,3 26,5±1,1	21,8±1,1 28,3±0,2* 27,3±0,7*	23,6±2,6 28,9±1,5* 25,9±1,3**	22,1±3,7 29,8±1,2* 24,8±1,1**
Удельный объем ядрышка, %	1,99±0,6 1,99±0,1 1,96±0,1	1,86±0,4 2,27±0,1 2,06±0,1	2,15±0,5 2,47±0,2 2,61±0,2	2,23±0,2 2,76±0,2* 2,67±0,1*
Вторая зона ацинуса				
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	2,3±0,4 0* 0*	2,6±0,6 1,9±0,8 2,5±0,3	3,1±0,7 3,3±1,0 3,3±0,4	3,9±0,3 4,1±0,5 5,8±0,3*
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	22,9±1,2 24,9±1,1 25,4±0,9*	21,1±1,2 25,8±1,3* 26,4±1,1*	22,9±1,5 25,9±1,1* 27,7±1,1*	24,1±1,7 26,8±1,5 29,1±1,3*
Удельный объем ядра, %	27,9±2,1 28,9±0,9 29,1±1,1	28,1±1,2 29,6±0,9 29,6±0,9	28,4±3,4 30,7±1,1 28,7±1,2	29,1±2,1 30,9±1,1 27,1±0,9
Удельный объем ядрышка, %	1,98±0,3 1,94±0,1 1,99±0,1	1,97±0,2 1,99±0,1 2,28±0,1*	2,08±0,3 2,09±0,1 2,55±0,1	1,91±0,3 2,23±0,2 2,75±0,2*
Третья зона ацинуса				
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	2,1±0,2 0* 0*	2,6±0,4 2,9±0,4 3,1±0,4	3,3±0,5 3,7±0,3 5,7±0,4*,**	3,6±0,4 3,3±0,4 7,2±0,4*
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	25,1±1,1 23,9±1,2 24,9±1,2	25,5±1,3 24,6±1,1 26,8±1,1	26,9±1,2 28,0±1,2 28,1±1,2	27,1±1,1 29,9±1,1 29,5±1,4
Удельный объем ядра, %	26,3±1,1 27,5±1,2 26,5±1,2	26,8±1,1 28,9±0,4* 28,3±0,6	27,1±1,4 29,9±1,1* 27,6±1,1**	28,1±1,1 31,3±1,1* 25,9±0,9*,**
Удельный объем ядрышка, %	1,98±0,3 2,09±0,2* 2,12±0,2*	1,71±0,2 2,32±0,1* 2,62±0,1*,**	1,81±0,2 2,79±0,1* 2,79±0,1*	1,77±0,3 2,96±0,1* 3,16±0,1*

Как видно из таблицы, для первой зоны ацинуса характерно стабильно меньшее количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами при комбинации действия холода и алкоголя на протяжении всех 7 часов наблюдения. Для второй

зоны это характерно только через 1 час воздействия, а к 7-му часу при действии этанола и сильной гипотермии кариопикнотичных гепатоцитов становится больше, чем при моно действии этанола в дозе 4 мл/кг массы тела. Для третьей зоны ацинуса характерна такая же картина, однако явления кариопикноза выражены к окончанию воздействия сильнее, и регистрируются раньше – через 5 часов. Вовлеченность гепатоцитов первой и второй зон ацинуса в энергетический обмен, судя по статистически значимому увеличению удельного объема митохондрий, наблюдается и при мягкой и при сильной гипотермии, но более выражена при действии холода -18°C . Удельный объем ядер гепатоцитов первой зоны ацинуса при комбинированном воздействии значимо больше, чем при моно воздействии, во второй зоне ацинуса значимых изменений не регистрируется, а в третьей зоне ацинуса наблюдается увеличение данного параметра при комбинации действия этанола в дозе 4 мл/кг массы тела с действием холода -10°C и уменьшение – при комбинации действия этанола в дозе 4 мл/кг массы тела с действием холода -18°C по сравнению с моно действием этанола. Удельный объем ядрышкового организатора к окончанию воздействия при комбинированных воздействиях значимо больше, чем при моно воздействии этанола у гепатоцитов всех зон ацинуса, причем в 3-й зоне это увеличение развивается уже через 1 час воздействия, а в 1-й и во 2-й зонах только в конце наблюдения.

Относительно модифицирующего действия гипотермии на изменения печени при интоксикации этанолом, введенным в дозе 8 мл/кг массы тела, установлены следующие закономерности. На светооптическом уровне (таблица 28) наблюдается увеличение числа лимфоцитов и диффузной инфильтрации к окончанию периода наблюдения, причем выраженность этого признака выше при действии холода -18°C . Выраженность отека и некроза гепатоцитов под действием обеих температур значимо снижается. При этом число гепатоцитов с двумя ядрами при комбинации действия стрессоров значимо меньше, чем при изолированном действии токсических доз этанола.

Таблица 28 – Модификация морфологических изменений печени при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг, общим переохлаждением организма при температуре -10°C и -18°C

Параметры	Группы животных			
	Время взятия материала в экспериментальной группе			
	1 час	3 часа	5 часов	7 часов
	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5	M±m n=5
Количество лимфоцитов в поле зрения	2,0±0,00	2,0±0,00	2,0±0,00	1,4±0,24
	1,8±0,21	1,9±0,31	2,2±0,21	2,6±0,23*
	1,9±0,21	2,2±0,31	2,4±0,21	2,6±0,23*
Выраженность очаговой инфильтрации	1,6±0,24	2,0±0,00	2,0±0,00	2,0±0,00
	1,2±0,21	1,5±0,23*	1,7±0,21	2,0±0,00
	1,2±0,21	1,5±0,21*	1,7±0,21	2,0±0,00
Выраженность диффузной инфильтрации	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00
	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00	1,6±0,24*
	1,6±0,21*,**	1,9±0,23*,**	2,2±0,21*	2,4±0,25*,**
Степень кровенаполнения сосудов	3,0±0,00	4,0±0,00	3,0±0,00	3,4±0,24
	3,2±0,20	3,6±0,21	3,8±0,41*	4,0±0,00*
	3,8±0,21*	3,8±0,21	3,8±0,21*	4,0±0,00*
Степень дистрофических изменений в гепатоцитах	3,0±0,00	4,0±0,00	4,0±0,00	4,0±0,00
	2,6±0,25	3,0±0,00*	3,4±0,43*	3,6±0,30
	2,6±0,25	3,0±0,00*	3,4±0,40*	3,6±0,30
Выраженность отека	1,8±0,20	2,0±0,00	2,4±0,40	2,6±0,20
	1,0±0,00*	1,0±0,00*	1,0±0,00*	1,0±0,00*
	1,4±0,21**	1,6±0,21**	1,8±0,21**	2,0±0,00*,**
Выраженность некроза	2,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00	3,0±0,00
	1,4±0,26*	1,6±0,20*	1,8±0,41*	2,0±0,00*
	1,6±0,26*	1,9±0,20*	2,0±0,00*	2,0±0,00*
Количество двуядерных гепатоцитов	1,2±0,20	1,0±0,00	1,0±0,00	1,0±0,00
	2,0±0,00*	2,6±0,50*	3,4±0,43*	3,8±0,21*
	2,0±0,00*	2,6±0,40*	3,4±0,20*	3,8±0,20*
Количество ядер с двумя ядрышками	3,0±0,40	3,6±0,50	3,8±0,45	4,0±0,00
	2,8±0,24	3,0±0,00*	3,2±0,43	3,8±0,21
	2,3±0,20*	3,0±0,00*	3,2±0,2	3,8±0,20

Примечание. Здесь и далее:

Первая строка в ячейке – величина показателя при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг.

Вторая строка в ячейке – величина показателя при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг и общем переохлаждении организма при -10°C .

Третья строка в ячейке – величина показателя при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг и общем переохлаждении организма при -10°C .

* – Различия статистически значимы по сравнению с показателем в первой строке.

** – Различия статистически значимы по сравнению с показателем во второй строке

Зарегистрированное снижение количество ядер гепатоцитов с двумя ядрышками в первые три часа наблюдения при комбинации алкогольной интоксикации и гипотермии трактовать с функциональных позиций трудно, тем более, что комбинация гипотермии с интоксикацией этанолом в дозе 4 мл/кг массы тела приводила к такому же снижению в первый и в седьмой часы наблюдения (см. таблицу 26).

Модификация гипотермией ультраструктурных изменений гепатоцитов имеет несколько иной характер, чем при интоксикации этанолом в дозе 4 мл/кг характер (таблица 29). Сравнение показателей, полученных в данных сериях эксперимента показывает, что охлаждение при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ приводит в конце периода наблюдения к снижению удельного объема митохондрий в гепатоцитах всех зон ацинуса, во второй и третьей зонах – к снижению удельного объема ядер гепатоцитов, а в третьей – к увеличению удельного объема ядрышка ядер гепатоцитов. Такие изменения вполне возможно трактовать как признаки функционального снижения активности гепатоцитов. Для обоих вариантов гипотермии характерно снижение количества гепатоцитов с пикнотичными ядрами, причем для гепатоцитов первой и третьей зон ацинуса это наблюдается в середине воздействия, а для второй зоны ацинуса – на протяжении всего воздействия. Также стоит упомянуть о том, что к 7-му часу воздействия при комбинации интоксикации этанолом в дозе 8 мл/кг массы тела и гипотермии при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ в гепатоцитах первой зоны ацинуса увеличивается значимо по сравнению с моно действием этанола удельный объем митохондрий. Это можно расценить как усиление активности гепатоцитов для энергопродукции.

Таблица 29 – Модификация ультраструктурных изменений гепатоцитов при алкогольной интоксикации, вызванной введением этанола в дозе 8 мл/кг, общим переохлаждением организма при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$

Наименование параметра	Время взятия материала			
	1 час M±m n=5	3 часа M±m n=5	5 часов M±m n=5	7 часов M±m n=5
	Первая зона ацинуса			
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	2,7±0,6	3,9±0,8	7,3±1,0	9,1±0,9
	2,7±0,4	3,9±0,8	5,3±1,0*	7,1±0,9*
	2,1±0,2	2,3±0,2*	5,8±0,6*	8,4±0,7
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	24,6±2,1	23,1±1,1	22,0±1,3	21,3±1,2
	21,5±0,9	23,1±1,1	23,6±1,3	25,2± 1,1*
	24,1±0,9	24,9±1,1	21,6±1,1	19,7± 0,6**
Удельный объем ядра, %	28,4±2,4	27,8±1,1	25,6±2,6	25,1±3,7
	26,5±1,1	27,3±0,7	27,9±1,3	28,8±1,1
	26,5±1,1	27,3±0,7	25,9±1,3	24,8±1,1
Удельный объем ядрышка, %	1,92±0,3	1,89±0,3	2,02±0,2	2,30±0,2
	1,95±0,1	2,06±0,1	2,65±0,2*	2,67±0,2
	1,95±0,1	2,06±0,1	2,45±0,2	2,61±0,2
	Вторая зона ацинуса			
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	3,7±0,5	4,9±0,5	6,3±1,2	8,1±0,6
	1,7±0,4*	2,9±0,3*	4,3±0,6*	5,1±0,5*
	1,7±0,4*	2,1±0,3*	4,3±0,6*	6,9±0,5*
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	26,1±1,2	26,9±1,2	25,3±1,2	24,8±1,2
	24,4±0,9	25,4±1,1	25,7±1,1	27,1±1,3
	24,4±0,9	25,4±1,1	25,1±1,1	22,1±1,1**
Удельный объем ядра, %	29,2±2,1	29,9±1,2	30,4±2,4	32,1±2,1
	29,1±1,1	29,6±0,9	31,7±1,1	30,4±1,1
	29,1±1,1	29,6±0,9	28,4±1,1**	26,4±0,9*,**
Удельный объем ядрышка, %	1,92±0,2	1,95±0,3	2,10±0,2	1,92±0,2
	1,93±0,1	1,95±0,1	2,11±0,1	2,18±0,2
	1,93±0,1	1,95±0,1	1,77±0,1*,**	1,85±0,2
	Третья зона ацинуса			
Количество гепатоцитов с пикнотичными ядрами, %	3,1±0,3	5,9±0,5	7,7±0,6	8,8±0,7
	2,1±0,4	3,2±0,8*	6,3±0,5*	8,1±0,7
	2,1±0,4	2,2±0,2*	6,9±0,5	9,4±0,7
Удельный объем митохондрий в цитоплазме гепатоцитов, %	23,6±1,1	25,9±1,1	27,5±1,1	29,1±1,2
	22,9±1,2	24,8±1,1	28,1±1,2	28,5± 1,1
	26,9±1,2*,**	27,8±1,1**	25,1±1,2**	22,5± 1,1*,**
Удельный объем ядра, %	26,8±1,1	27,9±1,1	28,5±1,1	28,8±1,3
	26,5±1,2	28,3±0,4	29,6±1,1	30,7±0,9
	27,5±1,2	28,9±0,4	27,6±1,1	25,7±0,6*,**
Удельный объем ядрышка, %	1,91±0,3	1,78±0,2	1,83±0,3	1,89±0,3
	2,09±0,2	2,32±0,1	2,79±0,1	2,56±0,1*
	2,09±0,2	2,52±0,1	2,88±0,1	2,42±0,1*

4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как показало проведенное исследование, общее переохлаждение организма при температурах -10°C и -18°C и алкогольная интоксикация, вызванная интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4 и 8 мл/кг, как при моновоздействии, так и в комбинации, вызывают как структурную перестройку печени, так и изменение биохимических показателей, связанных с ее тканевой и клеточной целостностью и функционированием. Показано, что степень выраженности структурных изменений, отражающих как усиление, так и снижение функционирования при различных дозах введенного этанола и при различной температуре охлаждения, а также при комбинации этих внешних факторов – различны. Как строма, так и паренхима печени в адаптивную реакцию вовлекаются не одинаково при различных вариантах воздействий, причем гепатоциты различных зон ацинуса реагируют на изучаемые воздействия по-разному, что согласуется с литературными данными о функциональной гетерогенности гепатоцитов различных зон [Осьминкин В.А., 2015], полученными на различных биологических моделях.

Своего обсуждения требуют следующие ключевые моменты, которые позволят сформировать единое знание о морфофункциональной реакции печени при алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма – во-первых, динамика структурных изменений печени при однократной алкогольной интоксикации, общем переохлаждении организма и при комбинации действия этих стрессоров, во-вторых, связь морфологических изменений печени при изучаемых вариантах воздействия с общей адаптивной реакцией организма, в-третьих, взаимосвязь структурных изменений печени с биохимическими показателями, отражающими состояние некоторых функций печени. Следует отметить, что изучаемые внешние воздействия влияют в основном всего на две функции печени – детоксицирующую (алкоголь) и энергетическую (общее переохлаждение организма). Именно каждая из этих двух функций органа

максимально активизируются для адаптации организма к острому экзогенному стрессору, а обе они активизируются при адаптации к комбинации действия алкоголя и холода. Стимулятором, который запускает детоксицирующую функцию печени, является сам этиловый спирт, действующий напрямую и подвергающийся метаболизму в печени, а также косвенно – нейрогуморальные пути регуляции функции печени, звенья которых подвергаются как прямому действию этанола, так и являются частью системной реакции организма на острую алкогольную интоксикацию. Общая гипотермия, первично воздействуя на кожу и слизистые оболочки, может влиять на энергетическую функцию печени лишь опосредованно через нейрогуморальные механизмы, являющиеся звеньями единой адаптивной реакции организма направленной на выживание в экстремальных условиях. Стоит отметить, что энергетическая функция печени заключается в обеспечении организма глюкозой, что реализуется через гликогенолиз и глюконеогенез.

Морфологические изменения печени при однократной острой алкогольной интоксикации заключаются в появлении и нарастании в динамике воздействия мононуклеарной инфильтрации, числа лимфоцитов в паренхиме, увеличении кровенаполнения органа, увеличения числа гепатоцитов с пикнотичными ядрами, а также появление и увеличение количества гепатоцитов в состоянии дистрофии и некроза. Причем при введении этанола в дозе 2 мл/кг деструктивные изменения проявляются к окончанию наблюдения, а при введении этанола в дозах 4 и 8 мл/кг, – гораздо раньше. Доза этанола 2 мл/кг массы тела вызывает развитие ультраструктурных перестроек гепатоцитов, свидетельствующее о повышении их функциональной активности – увеличение удельного объема ядер гепатоцитов, митохондрий и ядрышек. При этом проявления гепатотоксического действия этанола в данной группе минимальны. Поэтому можно сделать заключение о том, что стимулирующее действие малых доз этанола доминирует над гепатотоксическим, что подтверждается отсутствием повышения активности трансаминаз и снижения содержания гликогена в печени. При повышении дозы вводимого алкоголя деструктивный эффект этанола на печень становится более

выраженным, по сравнению со стимулирующим, что проявляется в явном увеличении проявлений дистрофии и некроза гепатоцитов, снижении запасов гликогена в печени, концентрации глюкозы в сыворотке крови, а также в повышении активности трансаминаз (при дозе 8 мл/кг) через 5 часов интоксикации (см. таблицу 23). На ультраструктурном уровне изменения гепатоцитов явно зависят от дозы введенного алкоголя и длительности воздействия (таблицы 7, 9), причем с четкой дифференцировкой по зонам ацинуса. Тяжелая алкогольная интоксикация (8 мл/кг) вызывает в первые три часа структурную перестройку, которую можно расценить как отражающую повышение функциональной активности гепатоцитов 1-й и 2-й зон ацинуса (увеличение объемной доли митохондрий и ядра), а затем – снижение. В третьей зоне ацинуса изменения характеризуют постепенное увеличение функциональной активности. При этом гепатотоксическое действие этанола во всех трех зонах ацинуса, судя по нарастанию процента гепатоцитов с пикнотичными ядрами – только нарастает в динамике. При алкогольной интоксикации средней тяжести (4 мл/кг) картина немного иная. Процент гепатоцитов с пикнотичными ядрами нарастает во всех зонах ацинуса, но больше всего в первой (см. таблицу 7), а удельный объем митохондрий и ядра в гепатоцитах этой зоны не отличается от контрольных значений. В то время как в гепатоцитах третьей зоны ацинуса увеличивается удельный объем ядра и митохондрий, а во второй – только ядра.

Гипотермия -10°C вызывает значимое увеличение количества лимфоцитов и выраженности очаговой лимфоидной инфильтрации в паренхиме печени (см. таблицу 10), а также числа гепатоцитов с двумя ядрами и двумя ядрышками в ядре. Гипотермия -18°C – выраженности очаговой лимфоидной инфильтрации, дистрофических изменений, некроза, а также числа гепатоцитов с двумя ядрышками в ядре (см. таблицу 12). На ультраструктурном уровне при мягком охлаждении (-10°C) происходит всего лишь увеличение объемной доли митохондрий в гепатоцитах 1-й и 3-й зон ацинуса к окончанию экспозиции холода (см. таблицу 11), а при сильном охлаждении (-18°C) – увеличение объемной доли митохондрий, ядра, ядрышка в гепатоцитах всех зон ацинуса. Это

отражает явное повышение функциональной активности печени, в основном за счет энергетической функции именно при сильном охлаждении, что приводит к истощению запасов гликогена в печени гораздо раньше, чем при мягкой гипотермии (см. таблицу 23).

Результаты собственных исследований в различных группах выявили наличие лимфоцитов в сосудах, в пространстве Диссе и в паренхиме печени вплоть до формирования очаговых инфильтратов. Каковы же причины такого феномена, как мононуклеарная инфильтрация печени при алкогольной интоксикации и общей гипотермии? Нельзя исключить несколько причин избирательного появления лимфоцитов и накопления лимфоцитов в печени при изучаемых воздействиях. Во-первых, повреждение клеточных мембран гепатоцитов или эндотелия как ответ на экстремальное внешнее воздействие. В этом случае лимфоидная инфильтрация будет являться ответом иммунной системы на повреждение. Причем признаки альтерации в виде некроза и дистрофии были выявлены в некоторых из исследуемых групп. Однако, следует обязательно упомянуть, что литературные данные показывают, что гипотермия действует протективно для тканей в ответ на альтеративные постгипоксические изменения [Bossenmeyer-Pourie C., Koziel V., Daval J.-L., 2000]. Стоит учитывать иммуносупрессивное действие глюкокортикоидов, концентрация которых в крови повышается при общей гипотермии [Алябьев Ф.В., 2007-2009]. Во-вторых, нельзя исключить регуляторную роль мононуклеаров на функцию печени, которая может быть реализована посредством выделения лимфоцитами в микроокружение гепатоцитов биологически активных молекул, даже при условии, что первично лимфоциты задерживаются в печени из-за альтеративных процессов, которые, как следует из полученных в данной работе результатов, тем более выражены, чем выше сила стрессоров и длительность воздействия.

Для понимания причин развития морфологических изменений печени при алкогольной интоксикации и общей гипотермии необходимо понимать, какие патофизиологические изменения происходят в организме под влиянием этих

факторов, и каким образом они могут прямо или косвенно влиять на регуляцию функции печени.

Как известно, холод является мощным активатором симпатической нервной системы и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [Алябьев Ф.В. с соавт., 2007]. Повышение активности симпатической нервной системы реализуется в печени как через прямую стимуляцию гепатоцитов контактирующими с ними нервными окончаниями, так и опосредованно через микроокружение, с которым также имеется прямой контакт нервов – капилляры, купферовские клетки, липоциты [Berthoud H.R. et al., 1992, 2004; Scoazec J.Y. et al., 1993; Oda M. et al., 2000]. Относительно гуморальной стимуляции, то, общеизвестно, что к быстрому высвобождению глюкозы приводит стимуляция печени адреналином, норадреналином, которые высвобождаются из мозгового вещества надпочечников [Алябьев Ф.В. с соавт., 2007], кортизолом, вырабатываемым пучковой зоной коркового вещества надпочечников, и глюкагоном. Однако о повышении выработки глюкагона поджелудочной железой, так же как и снижения выработки инсулина, во время общей гипотермии в научной литературе достоверных указаний нет. Поэтому значимым фактором стимуляции печени являются при гипотермии все-таки, гормоны надпочечников. Учитывая тот факт, что глюкокортикоиды влияют на многие обменные процессы в организме в том числе, запуская глюконеогенез и расщепление нейтральных жиров, приводящие к повышению в крови концентрации глюкозы и свободных жирных кислот [Jungermann K., Mohler H., 1980], что обеспечивает организм высокомолекулярными макроэргами, расщепление которых даст организму тепловую энергию, следует признать их влияние на печень основным.

Этиловый спирт, как известно, обладает нейротоксическим и ангиотоксическим действием [Пиголкин Ю.И. с соавт., 2000, 2006], в том числе и на сосуды печени. Причем некоторые авторы связывают гепатотоксический эффект этанола с первичным капилляротоксическим [Sarphe G., 1997], а лишь потом с ацетальдегидом. Каких-либо существенных различий в подавляющем его влиянии на состояние симпатической или парасимпатической нервной систем в

научной литературе не описано. Поэтому разделить вклад этих звеньев вегетативной нервной системы в регуляцию функции печени при алкогольной интоксикации весьма непросто. Что касается гуморальных влияний на печень, которые могут активироваться при алкогольной интоксикации, то это в первую очередь влияние на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, которое зависит от дозы введенного алкоголя, концентрации этилового спирта в крови и длительности воздействия [Алябьев Ф.В. с соавт., 2006–2010], а также на поджелудочную железу, где в островковом аппарате вырабатываются глюкагон и инсулин – основные гормоны-регуляторы концентрации глюкозы в крови. Основным действием этанола на поджелудочную железу является деструктивный эффект, который проявляется в первую очередь в некрозе экзокринных клеток, кровоизлияниях в паренхиму и в строму, отеке, лейкоцитарной инфильтрации, нарушении микроциркуляции, что может сказываться и на эндокринной функции органа. Некоторые авторы при отравлениях этанолом описывали признаки гипертрофии островкового аппарата поджелудочной железы [Пермяков А.В. и соавт, 1993], не давая этому функциональной трактовки. Поэтому однозначно высказаться о вкладе гормонов поджелудочной железы в модификацию морфологического состояния печени при алкогольной интоксикации не представляется возможным.

Так каковы же возможные механизмы модификации морфологического состояния печени при одновременном действии алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма? Ответить на данный вопрос просто и односложно вряд ли будет корректно, так как в данной работе исследованы 4 различные комбинации факторов: этанол 4 мл/кг + гипотермия при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, этанол 4 мл/кг + гипотермия при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, этанол 8 мл/кг + гипотермия при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, этанол 8 мл/кг + гипотермия при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Структурные перестройки печени и изменения биохимических параметров, отражающих состояние печени, при этих различных комбинациях – неодинаковы, иногда они однонаправлены, иногда – разнонаправлены. Уложить данные изменения в единую схему патогенеза с четкой градацией изменений, присущих влиянию каждого из внешних факторов

не получится, так как здесь принципиальное значение имеет сила каждого из них. Относительно этанола, это доза, введенная в организм, относительно гипотермии – температура воздействия. Однако, по результатам проведенного исследования, все-таки можно отметить принципиальные моменты, которые определяют сущность влияния комбинации факторов на организм. Во-первых, можно заключить, что общее переохлаждение организма уменьшает зависимость морфологических изменений печени, вызываемых алкогольной интоксикацией, от концентрации этанола в крови. Об этом свидетельствует меньшее число корреляционных взаимосвязей, выявленных между морфологическими характеристиками печени и концентрацией этанола в крови в группах комбинированного воздействия по сравнению с группами, где этанол выступал в качестве моно стрессора (см. таблицу 24). Кроме того, судя по результатам биохимического исследования (см. таблицу 23), общая гипотермия и при -10°C и при -18°C на 2 часа – с 5 до 7, отсрочивает статистически значимое повышение активности в крови фермента АСТ, которое регистрируется при действии этанола, введенного в организм в дозе 8 мл/кг массы тела, и явно связано с его гепатотоксическим действием, проявляющимся синдромом цитолиза. Во-вторых, совокупное влияние алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма на ультраструктурные изменения гепатоцитов, зависит от силы действующих факторов (см. таблицы 15, 17, 19, 21). Три из четырех исследуемых комбинаций факторов: гипотермия при -10°C + этанол 4 мл/кг, гипотермия при -10°C + этанола 8 мл/кг, гипотермия при -18°C + этанол 4 мл/кг, вызывают принципиально иную динамику ультраструктурной перестройки гепатоцитов. Все эти комбинации приводят к появлению морфологических признаков повышения функции печени в динамике всего семичасового периода наблюдения, что проявляется в повышении в гепатоцитах удельного объема ядер и митохондрий (см. таблицы 15, 17, 19). А комбинация «гипотермия при -18°C + этанол 8 мл/кг» вызывает появление признаков гиперфункции (повышение удельного объема митохондрий и ядра гепатоцитов) до 3 часа воздействия, а затем происходит снижение величины этих параметров (см. таблицу 21). Это может быть связано с

истощением энергетических запасов, так как развивающееся при монодействии стрессоров снижение содержания в печени гликогена, при комбинации стрессоров происходит гораздо выраженнее и быстрее, так что к 5-му часу воздействия комбинаций «гипотермия при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ + этанол 8 мл/кг» «гипотермия при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ + этанол 4 мл/кг» «гипотермия при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ + этанол 8 мл/кг» гликоген из клеток печени исчезает полностью (см. таблицу 23). Может это быть связано и с тем, что алкогольная интоксикация усиливает теплоотдачу, и температура ядра тела снижается, а как известно при низкой температуре ядра тела снижается и функциональная активность внутренних органов [Алябьев с соавт., 2007], что обусловлено неоптимальной температурой для действия ферментов в гомойотермном организме. Не исключено также, что в данной комбинации гипотермия усугубляет гепатотоксическое действие этанола, так как он расщепляется уже не с той скоростью, что при нормальной температуре ядра тела, поэтому его высокая концентрация оказывает токсическое действие более продолжительное время.

Схематически возникающие структурные изменения печени при острой алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма представлены на рисунках 31–34, из которых видны различия модифицирующего действия общей гипотермии различной силы на изменения печени при различных дозах вводимого этанола.

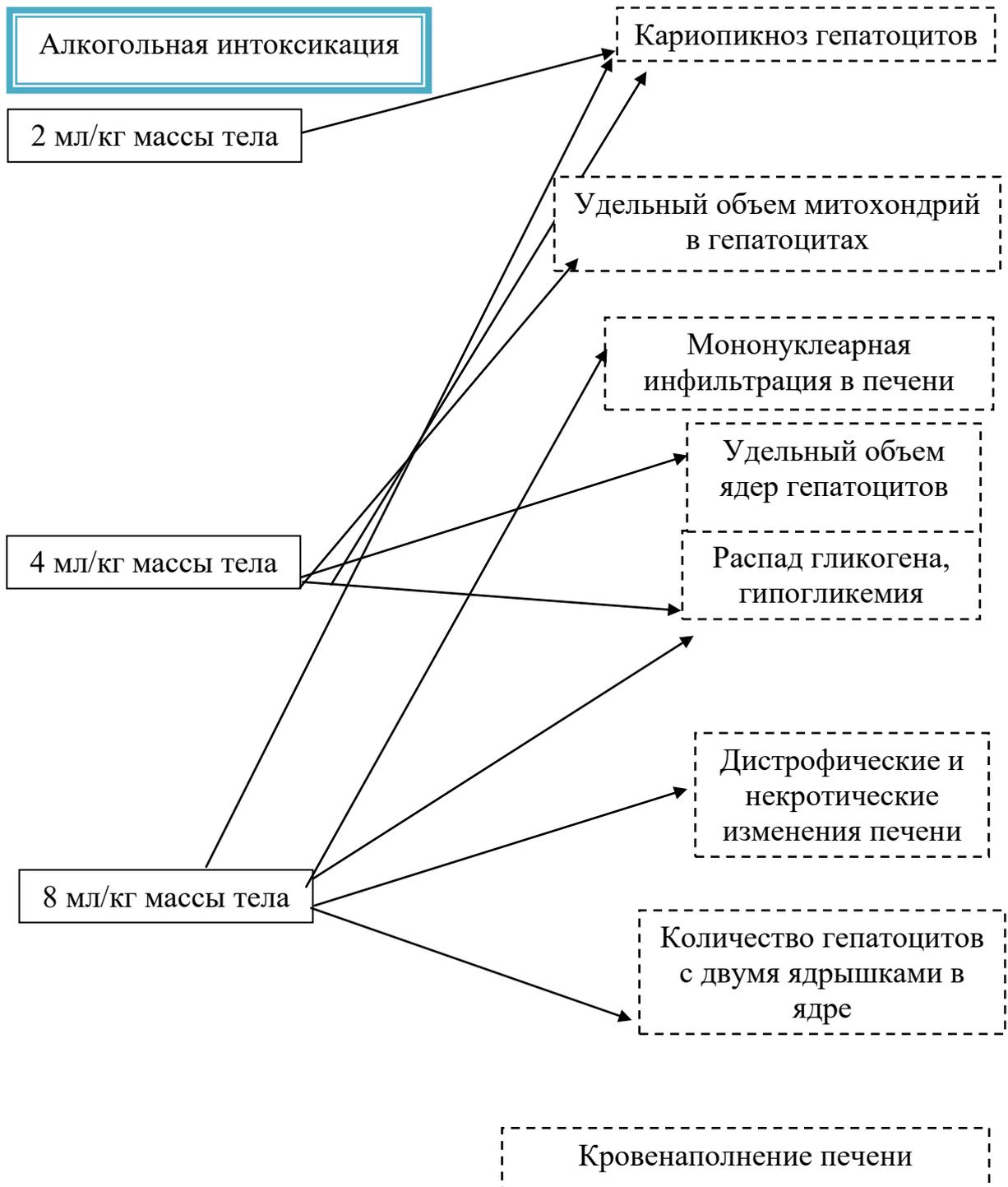


Рисунок 31 – Изменения печени при алкогольной интоксикации при интрагастральном введении этанола в дозах 2, 4, 8 мл/кг массы тела

Здесь и далее:

- Усиление выраженности признака
- - - - - → Ослабление выраженности признака

Общее переохлаждение

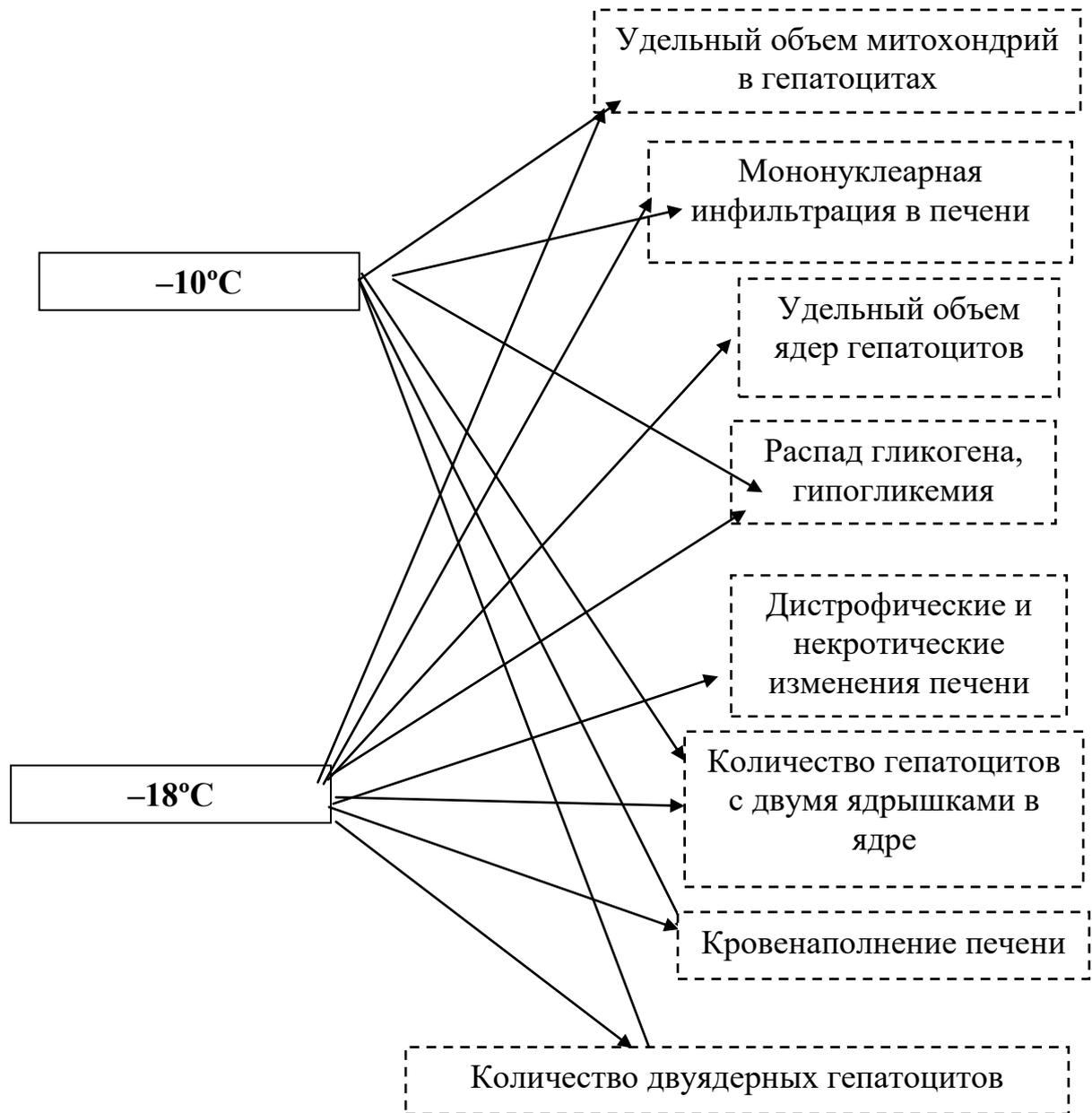


Рисунок 32 – Изменения печени при общем переохлаждении организма при температурах воздуха -10°C и -18°C

На следующих рисунках представлены наглядно модифицирующие влияния гипотермии, имеющие явные различия для температур -10°C и -18°C .

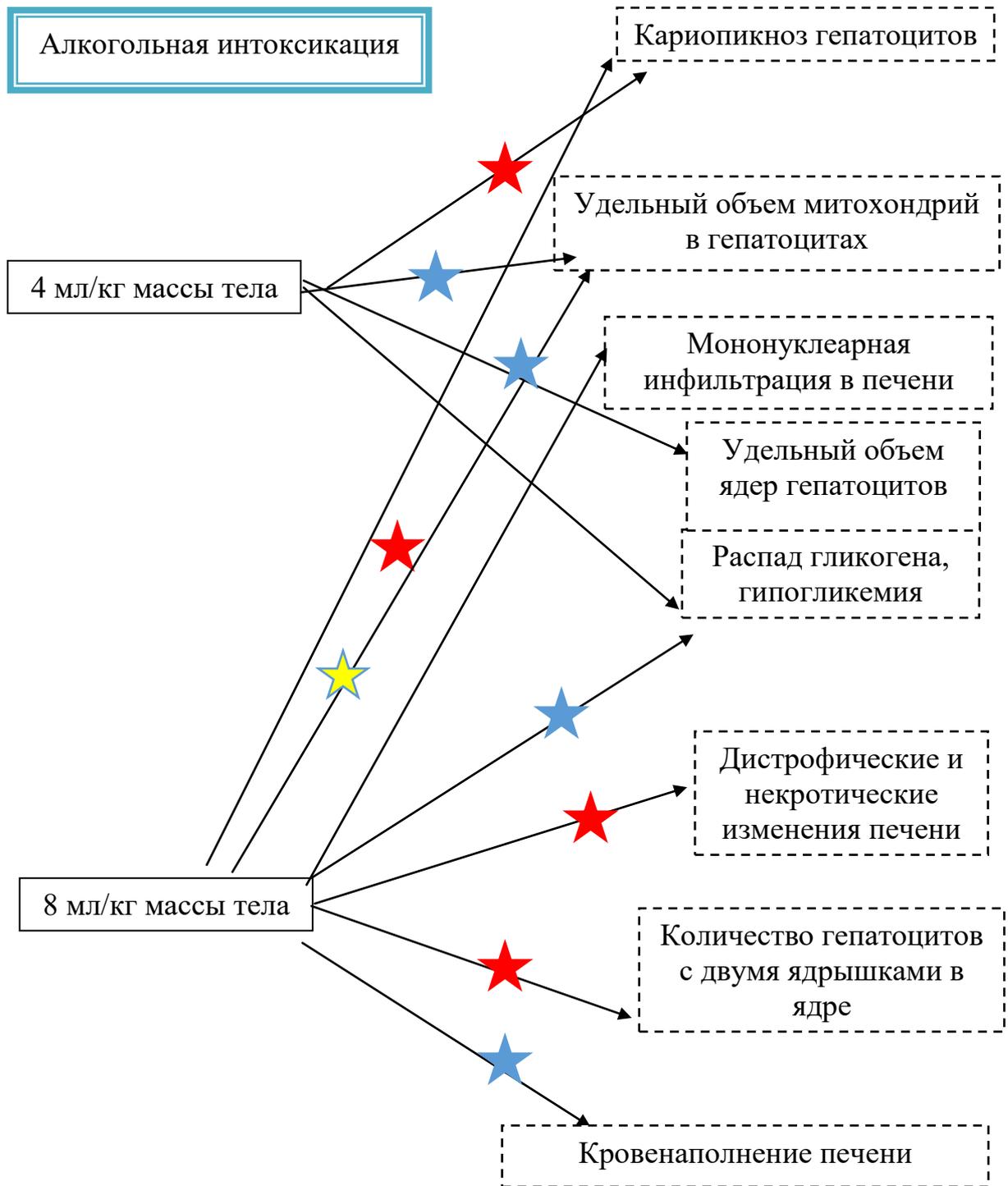


Рисунок 33 – Модификация морфологических изменений печени при алкогольной интоксикации при интрагастральном введении этанола в дозах, 4, 8 мл/кг массы тела общим переохлаждением организма при температуре воздуха -10°C :

★ – ослабление признака; ★ – усиление признака; ★ – появление признака

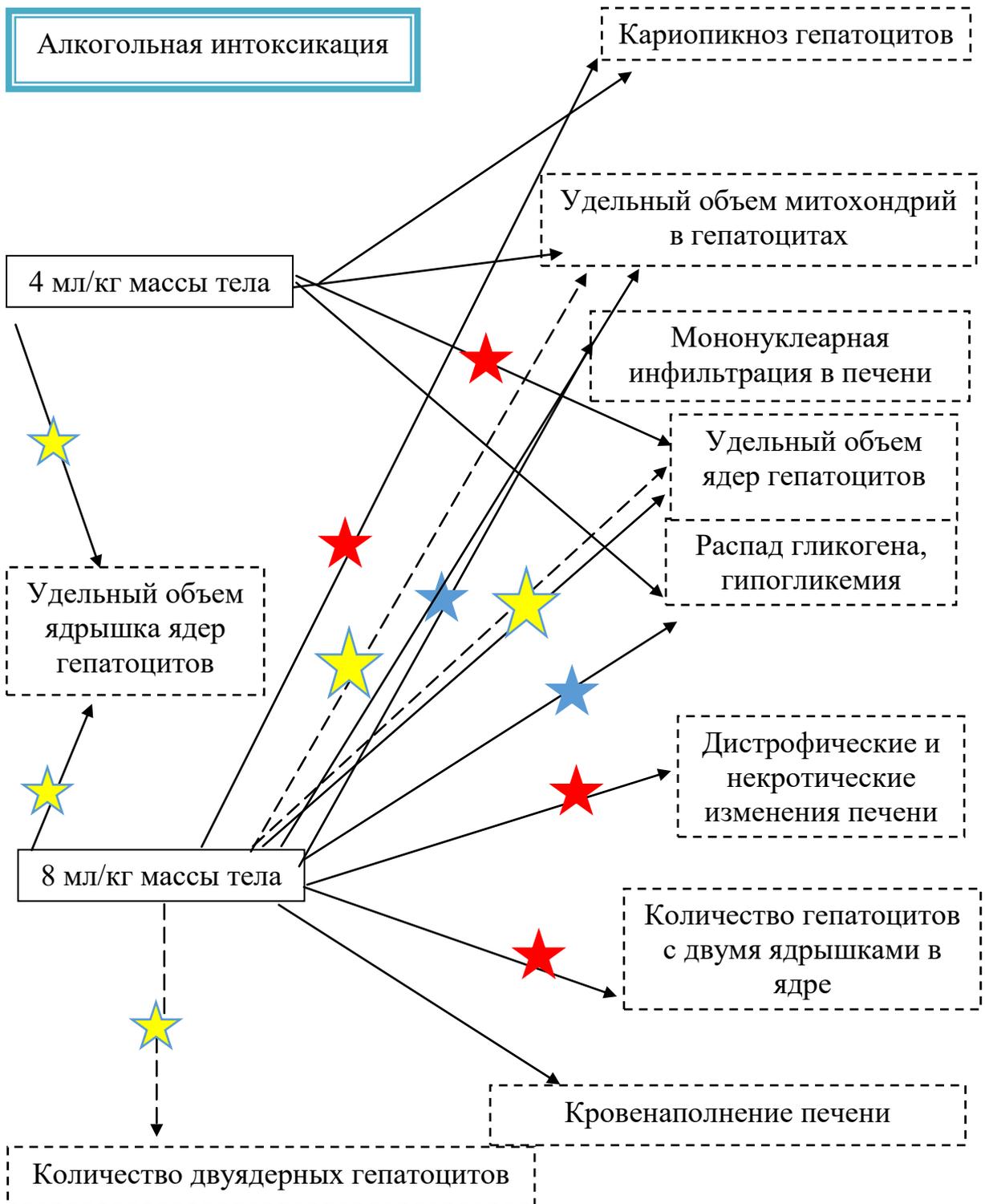


Рисунок 34 – Модификация морфологических изменений печени при алкогольной интоксикации при интрагастральном введении этанола в дозах, 4, 8 мл/кг массы тела общим переохлаждением организма при температуре воздуха -18°C :

★ – ослабление признака; ★ – усиление признака; ★ – появление признака

Как видно из рисунков 32–35, гипотермия при -18°C приводит к разнонаправленным изменениям одних и тех же параметров, касающихся функционального состояния гепатоцитов – удельного объема ядер и митохондрий. В этом и проявляется хронологическая зависимость морфологических изменений печени от действия комбинации стрессоров. Вначале регистрируется значимое увеличение этих параметров, в затем – снижение.

На основе полученных данных невозможно создать единую интегральную схему патогенеза морфологических изменений печени при изучаемых видах воздействий, так как конечные морфологические изменения зависят и от силы воздействующих стрессоров. Однако установленные изменения можно представить в двух принципиальных схемах патогенеза – при алкогольной интоксикации, общей гипотермии.

На первой схеме (рисунок 35) представлен патогенез морфобиохимических изменений печени при острой алкогольной интоксикации. При этом алкогольная интоксикация влияет на изменения структуры печени как прямо, так и опосредованно через вегетативную нервную систему и эндокринную систему. Ранние изменения характерны для опосредованного действия этанола, а более поздние – для прямого действия этанола. Прямое действие реализуется через непосредственное влияние этанола на гепатоциты и через ангиотоксическое действие на сосуды микроциркуляции.

На второй схеме (рисунок 36) представлен патогенез морфобиохимических изменений печени при общем переохлаждении организма. При этом гипотермия влияет на изменения структуры печени только опосредованно через вегетативную нервную систему и эндокринную систему. Эффекты воздействия этих систем вызывают стимуляцию функции и соответствующие этому морфологические изменения. Лишь при сильном охлаждении при наступлении истощения энергетических запасов гепатоцитов и вследствие расстройств микроциркуляции происходит увеличение выраженности дистрофических и некротических изменений.



Рисунок 35 – Патогенез морфофункциональных изменений печени при острой алкогольной интоксикации

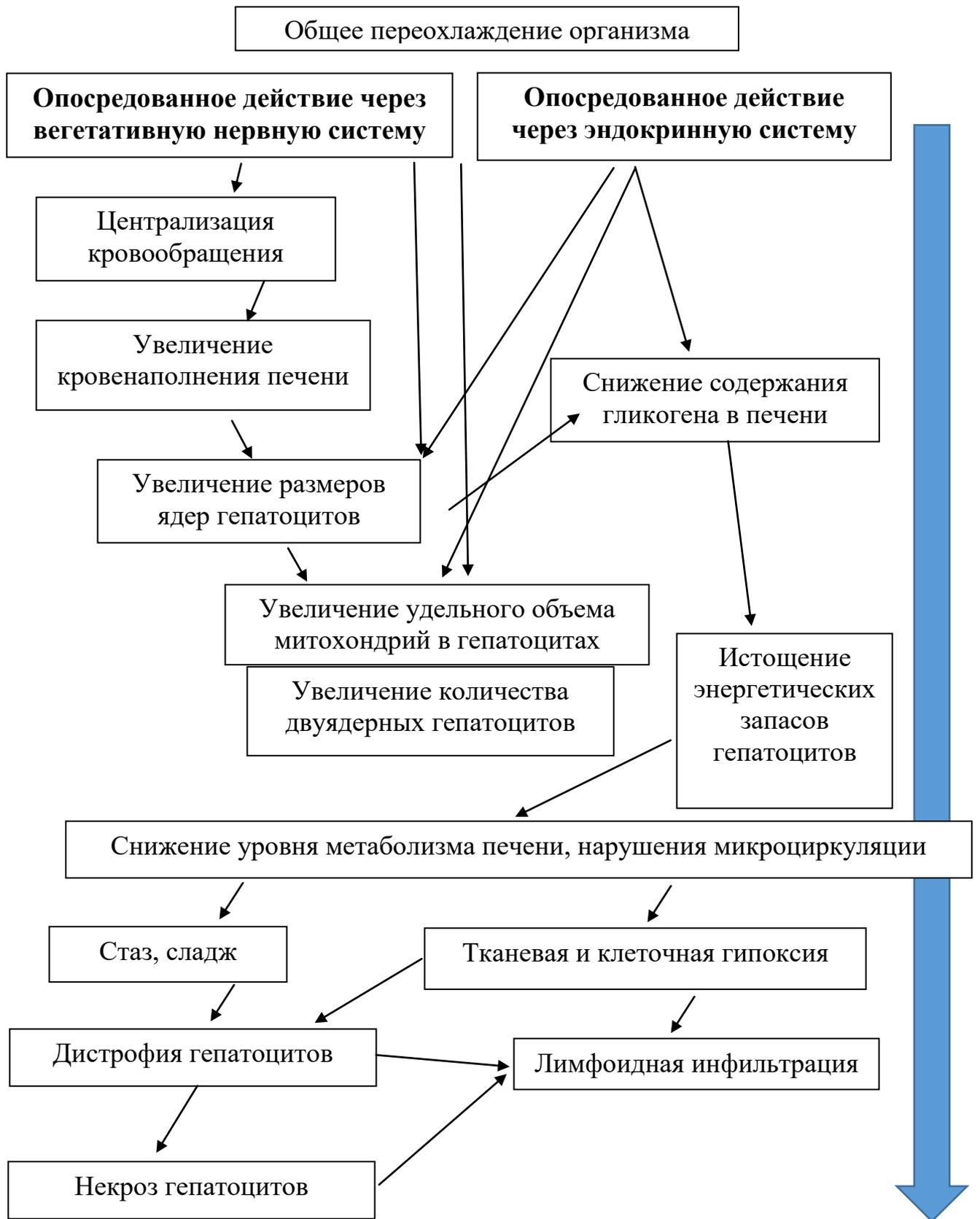


Рисунок 36 – Патогенез морфофункциональных изменений печени при общем переохлаждении организма

Здесь  – направление усиления действия экзогенного стрессора.

В настоящее время актуально по морфологическим критериям изменений внутренних органов суметь определить вид воздействующего внешнего фактора, силу и длительность его действия, это можно было бы использовать как способ дифференциальной диагностики экстремальных внешних воздействий [Алябьев Ф.В. с соавт., 2005, 2009]. Но такая методика не может быть единственной, а должна являться лишь вспомогательной в комплексе с клиническими, биохимическими и химическими признаками, характерными для действия того или иного стрессора. Поиск специфических признаков, характерных для конкретного стрессора, бесперспективен, так как морфологические изменения печени в процессе адаптации стереотипны. По результатам исследования можно заключить, что структурные изменения печени при алкогольной интоксикации и общем переохлаждении организма имеют различия. Эти различия в комплексе могут называться «специфической совокупностью качественно-количественных характеристик признаков морфологических признаков, отражающих функциональное состояние печени», которая встречается при определенном виде внешнего моно- или комбинированного воздействия, а иногда и через определенный период их действия. Для дифференциации различных видов воздействий друг с другом качественно-количественные параметры этой «совокупности» будут различными. Это может быть обусловлено различными внутритканевыми и межтканевыми взаимосвязями, развивающимися в печени при изучаемых воздействиях. Так как работа экспериментальная, в ней исследована динамика изменений печени без окончательного финала, в качестве которого может выступать только смерть животного от конкретной причины, помимо эвтаназии, при каком-либо из изучаемых воздействий. В связи с этим проводить на основе полученных в данной работе результатов статистические обоснования различия групп по совокупностям морфологических изменений печени для дифференциальной диагностики воздействий нецелесообразно, так как это не будет иметь практического значения – животные выжили. А экстраполяция полученных результатов на людей для помощи в дифференциальной диагностике причины

смерти в данном случае не будет актуальной из-за отсутствия у животных летальных исходов от изучаемых воздействий. Куда более полезно будет прогнозировать изменения печени через определенное время от начала действия какого-либо фактора или их комбинации. Полученные в данной работе результаты позволяют положительно ответить на вопрос о том, можно ли принципиально решать такую задачу путем математического моделирования. Хотя применительно к человеку эта методика оценки и прогноза вряд ли будет востребована, так как крайне маловероятно, что кто-нибудь согласится на проведение у него биопсии печени для проверки длительности воздействия на него алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма при монодействии стрессоров или в комбинации. Однако, куда важнее выяснить, возможны ли в принципе такая оценка и прогноз. Для этого самым эффективным способом проверки гипотезы будет проведение математического моделирования ситуации, когда исследуются зависимости различных морфологических параметров, отражающих функциональное состояние печени в динамике того или иного воздействия. Также принципиально важно установить, какие из всей совокупности морфологических параметров, пригодны для данного моделирования.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ

Зависимость величин морфологических параметров, отражающих функциональное состояние печени, от длительности воздействия при монодействии стрессоров и их комбинации изучалось по формуле уравнения регрессии [Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер с англ. – М., Практика, 1998. – 459 с.]:

$$y = a + bx,$$

где x – независимая переменная (время воздействия);

y – зависимая переменная (морфологический признак);

a – коэффициент сдвига, рассчитываемый по формуле

$$a = \frac{(\sum Y)(\sum XX) - (\sum X)(\sum XY)}{n(\sum XX) - (\sum X)(\sum X)};$$

b – коэффициент наклона (регрессии), рассчитываемый по формуле

$$b = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum XX) - (\sum X)(\sum X)}.$$

Используя уравнение регрессии можно определить, насколько изменяется количественная величина морфологического признака за единицу времени того или иного воздействия. Изменения количественных характеристик морфологических критериев, определенных на светооптическом уровне и при электронной микроскопии, для каждого из изучаемых моно- и комбинированных воздействий отражены в таблицах 4–21. В правом столбце каждой из таблиц указан коэффициент регрессии для каждого из признаков, значимые отмечены. Для доказательства не только различий между группами по влиянию моно- или комбинированного действия стрессоров различной силы, но и возможности прогнозирования, уместно в качестве демонстрации привести в сравнительном аспекте параметры регрессии какого-либо одного признака, определенного количественно в каждой из групп исследования, например, удельного объема ядер гепатоцитов третьей зоны ацинуса печени. В таблице 30 приведены сводные данные по параметрам регрессии.

Таблица 30 – Параметры регрессии удельного объема ядер гепатоцитов третьей зоны ацинуса в группах исследования

Группа	1 час	3 часа	5 часов	7 часов	Коэффициент сдвига (а)	Коэффициент наклона (b)
Этанол 2 мл/кг	26,6±1,3	27,3±1,1	27,4±1,4	28,6±1,1	26,2	0,31
Этанол 4 мл/кг	26,3±1,1	26,8±1,1	27,1±1,4	28,1±1,1	26,1	0,25
Этанол 8 мл/кг	26,8±1,1	27,9±1,1	28,5±1,1	28,8±1,3	26,4	0,38
Холод (-10°C)	27,5±1,3	27,3±0,2	28,4±1,5	27,1±1,1	26,9	0,13
Холод (-18°C)	28,5±1,3	29,3±0,2	29,9±1,5	30,7±1,1	27,1	0,55
Холод (-10°C) + этанол 4 мл/кг	27,5±1,2	28,9±0,4	29,9±1,1	31,3±1,1	26,6	0,69
Холод (-10°C) + этанол 8 мл/кг	26,5±1,2	28,3±0,4	29,6±1,1	30,7±0,9	26,1	0,68
Холод (-18°C) + этанол 4 мл/кг	26,5±1,2	28,3±0,6	27,6±1,1	25,9±0,9	26,4	0,02
Холод (-18°C) + этанол 8 мл/кг	27,5±1,2	28,9±0,4	27,6±1,1	25,7±0,6	27,4	-0,08

Примечание. В таблице жирным шрифтом выделены статистически значимые параметры регрессии

Учитывая, что величина параметра в контроле составляет $26,2 \pm 1,4$ % для времени 0, то функция позволяет спрогнозировать в группах, где линейная регрессия статистически значима, величину параметра в определенную временную точку с доверительными интервалами.

Пример 1

Нам надо узнать удельный объем ядра в гепатоцитах крыс, которые подверглись охлаждению при температуре -10 °C после введения этанола в дозе 4 мл/кг через 12 часов воздействия.

В формулу $y = a + bx$ подставляем значения $y = 26,6 + 0,69 \cdot 12 = 34,8$ %.

При доверительном интервале 95% удельный объем ядер гепатоцитов 3-й зоны ацинуса будет в интервале значений 33,3–36,4%, а при доверительном интервале 99% будет в интервале значений 31,9–37,7 %.

Пример 2

Нам надо узнать удельный объем ядра в гепатоцитах крыс, которые подверглись охлаждению при температуре -18°C после через 6 часов воздействия.

В формулу $y = a + bx$ подставляем значения $y = 27,1 + 0,55 \cdot 6 = 30,5\%$.

При доверительном интервале 95% удельный объем ядер гепатоцитов 3-й зоны ацинуса через 6 часов воздействия будет в интервале значений 28,8–32,1%, а при доверительном интервале 99% будет в интервале значений 27,4–33,5%.

Пример 3

Нам надо узнать удельный объем ядра в гепатоцитах после введения этанола в дозе 4 мл/кг через 4 часа воздействия.

В формулу $y = a + bx$ подставляем значения $y = 26,1 + 0,25 \cdot 4 = 27,1\%$.

При доверительном интервале 95% удельный объем ядер гепатоцитов 3-й зоны ацинуса через 4 часа воздействия будет в интервале значений 26,8–27,4%, а при доверительном интервале 99% будет в интервале значений 26,5–27,7%.

ВЫВОДЫ

1. Алкогольная интоксикация, вызванная интрагастральным введением этанола в дозе 2 мл/кг массы тела, приводит к морфологическим изменениям печени белых крыс, отражающим повышение ее функции, через 1 час воздействия. Направленность этих изменений сохраняется в течение всего семичасового периода наблюдения. Проявления гепатотоксического эффекта этанола минимальны.
2. Алкогольная интоксикация у белых крыс, вызванная интрагастральным введением этанола в дозах 4 и 8 мл/кг массы тела, приводит к морфологическим изменениям печени, отражающим как повышение ее функции, так и гепатотоксическое действие этанола, через 1 час воздействия. Проявления гепатотоксического эффекта этанола, вызывающие дистрофию и некроз гепатоцитов, уменьшение удельного объема органелл, обеспечивающих высокий уровень функционирования гепатоцитов, нарастают в динамике воздействия и зависят от степени алкогольного опьянения, определяемой по концентрации этанола в крови.
3. Общее переохлаждение организма у белых крыс при температурах -10°C и -18°C приводит к морфологическим изменениям печени, отражающим повышение ее функции через 1 час воздействия. Выраженность этих изменений усиливается в динамике семичасового воздействия.
4. Общее переохлаждение организма при температурах -10°C и -18°C уменьшает зависимость морфологических изменений печени белых крыс при алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола в дозах 2, 4 и 8 мл/кг от концентрации этанола в крови, что проявляется в уменьшении числа корреляционных связей между концентрацией в крови этанола и количественными характеристиками морфологических изменений печени при различных вариантах

комбинированных воздействий по сравнению с наблюдаемыми при моно воздействии алкогольной интоксикации.

5. Общее переохлаждение организма при температурах -10°C и -18°C у белых крыс не предотвращает проявляющийся гепатотоксический эффект этанола, введенного в организм интрагастрально в дозе 8 мл/кг массы тела, что проявляется в увеличении активности трансаминаз крови через 5 часов воздействия. В свою очередь этанол, введенный в организм интрагастрально в дозе 4 или 8 мл/кг массы тела, ускоряет мобилизацию запасов гликогена из печени, потенцированное общим переохлаждением организма при температурах -10°C и -18°C , что приводит к резкому уменьшению гликогена в печени при комбинации стрессоров «гипотермия при -18°C + этанол 8 мл/кг», «гипотермия при -10°C + этанол 8 мл/кг» «гипотермия при -18°C + этанол 4 мл/кг» через 5 часов воздействия, при комбинации «гипотермия при -10°C + этанол 4 мл/кг» через 7 часов воздействия.
6. Параллели между морфологическими изменениями печени белых крыс, отражающими ее функциональное состояние, и содержанием в ней гликогена разнонаправлены: при моновоздействии алкогольной интоксикации и общего переохлаждения организма – чем больше выражены морфологические признаки гиперфункции печени (кровенаполнение, удельный объем ядер и митохондрий в гепатоцитах), тем меньше содержание гликогена в печени; при комбинации стрессоров «гипотермия при -18°C + этанол 8 мл/кг» – чем меньше выражены морфологические признаки гиперфункции печени, тем меньше содержание гликогена в печени. Это отражает потенцированный депрессивный эффект на печень алкогольной интоксикации, вызванной введением высоких доз этанола, и гипотермии, вызванной охлаждением при температуре -18°C .
7. В механизмах структурных изменений печени белых крыс при комбинированных воздействиях алкогольной интоксикации и общего

переохлаждения организма первичными являются потенцированные прямым стимулирующим и токсическим действием этанола на гепатоциты внутриклеточные изменения – увеличение размеров ядер гепатоцитов, удельного объема митохондрий, деструкция митохондрий, кариопикноз, вторичными – вызванные прямым действием этанола на сосуды микроциркуляции и опосредованным действием общего переохлаждения организма через вегетативную нервную систему и эндокринную систему.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

°С – градусы по Цельсию

АБП – алкогольная болезнь печени

АДГ – алкогольдегидрогеназа

АлДГ – альдегиддегидрогеназа

АМК – аминокислота

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АЦД – ацетальдегид

ГГТ—гамма-глутамилтрансфераза

ИЛ – интерлейкин

мл/кг – миллилитр на килограмм

МЭОС – микросомальная этанолоокислительная система

НАД – никотинамидадениндинуклеотид

НАДН – восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотида

НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат

НАДФН – восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотидфосфата

ОП – общее переохлаждение

РЭС – ретикуло-эндотелиальная система

ФНО – фактор некроза опухоли

ЦНС – центральная нервная система

ЦТК – цикл трикарбоновых кислот

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдурахманов, Д.Т. Алкогольная болезнь печени / Д.Т. Абдурахманов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2007. – № 6. – С. 4–10.
2. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 1990. – 384 с.
3. Акимов, П.А. Показатели углеводного обмена в тканях при действии на организм низких температур / П.А. Акимов // Пермский медицинский журнал. – 2016. – Т. 33, № 6. – С. 66–71.
4. Алябьев, Ф.В. 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 / Ф.В. Алябьев, Ю.М. Падеров // Вестник ТГУ. – 2004. – № 283. – С. 86–87.
5. Алябьев, Ф.В. Сравнительная морфология надпочечников при отравлении этиловым алкоголем, общем переохлаждении организма и несовместимой с жизнью механической травме / Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, А.А. Климачевский // Бюллетень оперативной научной информации Вестника Томского государственного университета. – 2006. – № 93. – С. 5–23.
6. Алябьев, Ф.В. Морфометрические показатели надпочечников крыс в динамике общей гипотермии / Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, С.В. Логвинов // Морфология. – 2007. – Т. 132, № 6. – С. 52–56.
7. Асташкина, О.Г. Значение и возможности судебно-биохимических исследований при дифференциальной диагностике различных видов патологических состояний / О.Г. Асташкина, Н.В. Власова // Проблемы экспертизы в медицине. – 2006. – № 4. – С. 17–19.

8. Асташкина, О.Г. Исследование биохимических показателей трупного материала при наркотической интоксикации / О.Г. Асташкина // Проблемы экспертизы в медицине. – 2004. – Т. 4, № 3. – С. 15–17.
9. Афанасьев, В.В. Острая интоксикация этиловым алкоголем : оперативное руководство / В.В. Афанасьев, Л.Т. Рубитель, А.В. Афанасьев. – Санкт-Петербург, 2002. – 88 с.
10. Ацетальдегид и некоторые биохимические параметры при алкогольных интоксикациях / Е.В. Васильева, Ю.Е. Морозов, О.Н. Лопаткин [и др.] // Судебно-медицинский эксперт. – 2004. – Т. 27, № 2. – С. 23–27.
11. Бакулин, И.Г. Патогенез алкогольной болезни печени: современные представления / И.Г. Бакулин, Н.В. Шаликиани // Доктор.Ру. – 2015. – Т. 113, № 12. – С. 7–13.
12. Балукова, Е.В. Поражения печени различного генеза (токсического, лекарственного, дисметаболического): от этиологической гетерогенности к единой унифицированной терапии пациентов / Е.В. Балукова, Ю.П. Успенский, Ю.А. Фоминых // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2018. – Т. 2, № 1-1. – С. 35–40.
13. Биохимия : учебник / под ред. Е.С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 768 с.
14. Биохимия и алкоголизм: развитие белковой дистрофии и патогенез алкоголизма / И.М. Рослый, С.В. Абрамов, Т.А. Шипико [и др.] // Вопросы наркологии. – 2004. – № 6. – С. 59–66.
15. Биохимия и алкоголизм: типовые клинко-биохимические синдромы при хронической алкогольной интоксикации / И.М. Рослый, С.В. Абрамов, В.Р. Агаронов [и др.] // Вопросы наркологии. – 2004. – № 5. – С. 46–56.
16. Биоэнергетика и смерть / Б.В. Черняк, О.Ю. Плетюшкина, Д.С. Изюмов [и др.] // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 294–301.
17. Буеверов, А.О. Жирная печень. Причины и последствия / А.О. Буеверов // Consilium medicum. – 2007. – № 9. – С. 74–77.

18. Венгеровский, А.И. Лекции по фармакологии для врачей и провизоров : учебное пособие / А. И. Венгеровский. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва, 2007. – 704 с.
19. Вермель, А.Е. 56-е ежегодное совещание американской ассоциации по изучению болезней печени / А.Е. Вермель // Клиническая медицина. – 2006. – № 8. – С. 70–75.
20. Висмонт, Ф.И. Участие аргиназы печени и клеток купфера в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс при хронической этаноловой интоксикации / Ф.И. Висмонт, В.В. Лобанова // Весці Нацыянальнай акадэміі навук. – 2017. – № 2. – С. 15–20.
21. Висмонт, Ф.И. Об участии аргиназы печени и клеток Купфера в регуляции детоксикационной функции печени и температуры тела при хронической этаноловой интоксикации / Ф.И. Висмонт, В.В. Лобанова // Медицинский журнал. – 2017. – № 1. – С. 48–51.
22. Витер, В.И. Анализ содержания этанола в крови и моче при смертельной гипотермии / В.И. Витер, П.А. Акимов // Медицинская экспертиза и право. – 2012. – № 3. – С. 27–28.
23. Вклад алкоголя в смертность от внешних причин / С.П. Сапожников, В.А. Козлов, В.А. Кичигин [и др.] // Экология человека. – 2018. – № 3. – С. 51–57.
24. Влияние острой алкогольной интоксикации на содержание гликогена в печени и скелетных мышцах / П.А. Акимов, А.Г. Орбиданс, Г.А. Терехин, Н.А. Терехина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2010. – № 2. – С. 15–17.
25. Вовченко, А.Ф. Гистохимические изменения ткани печени в условиях хронической алкогольной интоксикации / А.Е. Лазько, А.Ф. Вовченко // Естественные науки. Журнал фундаментальных и прикладных исследований. – 2016. – № 2. – С. 50–75.

26. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение : руководство для врачей / под ред. А.В. Калинина, А.Ф. Логинова, А.И. Хазанов. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : МЕДпресс-информ, 2013. – 848 с.
27. Генетический полиморфизм ферментов метаболизма этанола / З.А. Шангареева, Т.В. Викторова, Х.М. Насыров [и др.] // Наркология. – 2004. – № 3. – С. 36–38.
28. Гистоморфологические исследования в диагностике алкогольных интоксикаций / В.А. Породенко, Е.Н. Травенко, Е.И. Быстрова [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 5. – С. 137–140.
29. Гланц, С. Медико-биологическая статистики : пер с англ. / С. Гланц. – Москва : Практика, 1998. – 459 с.
30. Горный, Б.Э. Потребление алкоголя и смертность от алкоголь-обусловленных состояний в отдельных странах Европейского региона / Б.Э. Горный, А.М. Калинина, А.С. Бунова // Наркология. – 2018. – Т. 17, № 10. – С. 75–79.
31. Десятов, В.П. Патоморфология смерти от переохлаждения организма / В.П. Десятов, Т.В. Симанин, Ю.А. Шамарин // Проблемы теории и практики судебной медицины. – 1994. – № 2. – С. 56.
32. Десятов, В.П. Смерть от переохлаждения организма / В.П. Десятов. – Томск, 1977. – 128 с.
33. Диагностическое значение определения содержания гликогена в тканях при острой алкогольной интоксикации / П.А. Акимов, Г.А. Терехин, А.Г. Орбиданс, Н.А. Терехина // Клинико-лабораторная диагностика. – 2013. – № 9. – С. 118.
34. Друзья или враги. Активные формы кислорода и азота / Д.Б. Зоров, С.Ю. Банникова, В.В. Белоусов [и др.] // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 265–272.
35. Дубинина, Е.Е. Свободнорадикальные процессы при старении, нейродегенеративных заболеваниях и других патологических состояниях /

- Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53, № 4. – С. 351–372.
36. Еремина, Е.Ю. Алкоголь и печень / Е.Ю. Еремина, Н.Т. Морозов // Медицинский алфавит. – 2013. – Т. 1, № 2. – С. 15–17.
37. Зейтц, Г. Алкогольная болезнь печени / Г. Зейтц // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2001. – № 4. – С. 62–63.
38. Зиматкин, С.М. Роль ацетальдегида в патогенезе алкоголизма / С.М. Зиматкин // Наркология. – 2007. – Т. 72, № 12. – С. 91–103.
39. Зобнин, Ю.В. Некоторые биохимические показатели функции печени и липидограммы у пострадавших при массовом отравлении алкоголем дневник / Ю.В. Зобнин, А.В. Тяжова // Казанской медицинской школы. – 2015. – Т. 8, № 2. – С. 61–62.
40. Зороастров, О.М. Критерии диагностики острого отравления этиловым алкоголем как причины смерти / О.М. Зороастров // Судебно-медицинский эксперт. – 2005. – Т. 48, № 2. – С. 16–18.
41. Зубрилин, И.С. Судебно-медицинское значение жировой дистрофии печени / И.С. Зубрилин, А.И. Осипов, Ю.А. Шамарин // Проблемы теории и практики судебной медицины. – 1994. – № 2. – С. 43–44.
42. Зюзина, А.А. Клинико-морфологическая характеристика стадии повреждения печени при злоупотреблении алкоголем / А.А. Зюзина, Ю.Р. Волкова // Известия Российской Военно-медицинской академии. – 2018. – Т. 37, № 1 S1. – С. 237–239.
43. Ивашкин, В.Т. Болезни печени и желчевыводящих путей : руководство для врачей / В.Т. Ивашкин. – Москва : М-Вести, 2005. – 536 с.
44. Ивкова, А.Н. Роль цитокинов в развитии фиброза печени / А.Н. Ивкова, И.Г. Федоров, Г.И. Сторожаков // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2006. – № 1. – С. 2–9.
45. Изменение этиологических факторов циррозов печени у стационарных больных (1992–2005 гг.): алкогольный цирроз / А.И. Хазанов,

- А.П. Васильев, С.Г. Пехташев [и др.] // Клиническая гепатология. – 2006. – № 2. – С. 11–16.
46. Израилова, Г.Р. Современные подходы к исследованию гипотермии / Г.Р. Израилова, Р.А. Халилов, А.А. Адиева // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 11–5. – С. 1046–1058.
47. Калинин, А.В. Злоупотребление алкоголем и алкогольная болезнь / А.В. Калинин // Фарматека. – 2012. – № 13. – С. 19–25.
48. Камышников, В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностическое значение / В.С. Камышников. – Москва, 2007. – 313 с.
49. Карупу, В.Я. Электронная микроскопия / В.Я. Карупу. – Киев, 1984. – 208 с.
50. Качина, Н.Н. Посмертная оценка гликемии по уровню глюкозы и гликозилированного гемоглобина крови / Н.Н. Качина // Судебно-медицинская экспертиза. – 1991. – № 4. – С. 7–10.
51. Кильдюшов, Е.М. К проблеме диагностики острой интоксикации этиловым алкоголем в экспертной практике / Е.М. Кильдюшов, И.В. Буромский, О.В. Кригер // Судебно-медицинская экспертиза. – 2007. – Т. 50, № 2. – С. 14–16.
52. Клинецвич, Г.Н. Общее переохлаждение (клинико-экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Г.Н. Клинецвич. – Ленинград, 1973. – 37 с.
53. Комиссарова, И.А. Механизмы действия этанола и подходы к коррекции обменных нарушений при хронической алкоголизации / И.А. Комиссарова, Ю.С. Ротенберг, А.П. Мастеропуло // ВНИМИ: Терапия. – 1986. – № 6. – С. 2–7.
54. Крюков, В.Н. Судебная : учебник / В.Н. Крюков. – Москва : Медицина, 1990. – 448 с.
55. Кузнецова, И.Ю. Модификация биохимического определения гликогена в трупных тканях по методу Kemp-Kitzen van Heijningen с учетом современных лабораторно-методологических требований / И.Ю. Кузнецова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2004. – № 3. – С. 32–34.

56. Кузнецова, М.А. Влияние низкобелкового рациона питания беременных крыс на морфофункциональное состояние печени их потомства / М.А. Кузнецова // Вестник проблем биологии и медицины. – 2018. – Т. 2, № 4(147). – С. 151–155.
57. Кулинский, В.И. Биохимические аспекты воспаления / В.И. Кулинский // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 6. – С. 733–746.
58. Ленинджер, А.Л. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки : пер. с англ. / А. Ленинджер. – Москва : Мир, 1976. – 957 с.
59. Лопухин, Ю.М. Ультраструктурные основы жизнеспособности печени, почек и сердца / Ю.М. Лопухин, Э.М. Коган, Я.Л. Караганов. – Москва : Медицина, 1977. – 256 с.
60. Маевская, М.В. Клинические варианты алкогольной болезни печени / М.В. Маевская, А.О. Буеверов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2006. – № 2. – С. 9–12.
61. Маевская, М.В. Патогенез алкогольной болезни печени и роль генетической предрасположенности в ее развитии / М.В. Маевская // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2004. – № 5. – С. 2–10.
62. Майстрах, Е.В. Патологическая физиология охлаждения человека / Е.В. Майстрах. – Ленинград : Медицина, 1975. – 216 с.
63. Маянский, Д.Н. Лекции по клинической патологии : руководство для врачей / Д.Н. Маянский, И.Г. Урсов. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 464 с.
64. Мозолева, С.П. Структурная организация печени и звездчатых макрофагов у новорожденных мышей линий СВА и С57BL/6 / С.П. Мозолева, А.П. Надеев, С.В. Позднякова [и др.] // Морфология. – 2017. – Т. 152, № 4. – С. 44–48.
65. Молекулярные механизмы апоптоза и некроза гепатоцитов. Особенности гибели гепатоцитов при обструктивном холестазае / В.Г. Давыдов, С.В. Бойчук, Р.Ш. Шаймарданов, М.М. Миннебаев // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2006. – № 5. – С. 11–18.

66. Молодых, О.П. Структурные основы адаптивно-компенсаторной реорганизации печени при экстремальных экологических воздействиях : автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.П. Молодых. – Новосибирск, 2002. – 38 с.
67. Морфометрическая характеристика гепатоцитов при адаптации к экстремальным факторам Антарктиды / М.Д. Шмерлинг, В.Ш. Белкин, Е.Е. Филюшина [и др.] // Морфология. – 2008. – Т. 134, № 6. – С. 46–50.
68. Морфология надпочечников при смертельной гипотермии на фоне алкогольной интоксикации / Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, С.В. Логвинов, А.А. Климачевский // Морфология. – 2006. – № 4. – С. 8–9.
69. Морфофункциональные изменения внутренних органов и некоторых биохимических показателей в динамике острой алкогольной интоксикации / Ф.В. Алябьев, Н.В. Крахмаль, Ю.А. Арбыкин [и др.] // Сибирский медицинский журнал (Томск). – 2012. – Т. 27, № 2. – С. 127–130.
70. Мухин, А.С. Алкогольная болезнь печени : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.С. Мухин. – Москва, 1980. – 32 с.
71. Надеев, А.П. Печень плодов человека при гематогенном инфицировании (морфометрическое исследование) / А.П. Надеев, В.А. Шкурупий // Архив патологии. – 2006. – Т. 68, № 1. – С. 30–33.
72. Надеев, А.П. Структурные нарушения в печени новорожденных мышей линии СВА и С57В1/6 после внутриутробной гипоксии / А.П. Надеев, И.В. Кузнецова, В.А. Шкурупий // Морфология. – 2004. – Т. 126, № 4. – С. 87–88.
73. Науменко, В.Г. Гистологический и цитологический методы исследования в судебной медицине / В.Г. Науменко, Н.А. Митяева. – Москва : Медицина, 1980. – 304 с.
74. Немцов, А.В. Сезонность смертельных отравлений алкоголем, алкогольных психозов и потребления (продажи) алкоголя в Москве в 2000–2015 гг. / А.В. Немцов, К.В. Шелыгин, Д.В. Савельев // Социальная и клиническая психиатрия. – 2017. – Т. 27, № 4. – С. 32–37.

75. Никитин, И.Г. Алкогольная болезнь печени: иммунологические механизмы патогенеза / И.Г. Никитин // Наркология. – 2007. – № 6. – С. 53–56.
76. Новиков, В.С. Острая гипотермия: физиологические и судебно-медицинские аспекты / В.С. Новиков, А.Ю. Чудаков, В.Д. Исаков. – Санкт-Петербург, 1997. – 152 с.
77. Огурцов, П.П. Вредные последствия потребления алкоголя в России: роль генетического полиморфизма АДГ 2 / П.П. Огурцов // Алкогольная политика России и Норвегии. – Москва : Радуга, 2002. – С. 50–57.
78. Осипов, А.И. Особенности танатогенеза при остром отравлении этанолом / А.И. Осипов, Г.В. Симанин, Ю.А. Шамарин // Проблемы теории и практики судебной медицины : тезисы докладов научно-практической конференции. – Томск, 1994. – Вып. 2. – С. 13–29.
79. Осьминкин, В.А. Некоторые гистологические критерии поражения почек и печени при смерти от острого отравления этиловым алкоголем / В.А. Осминкин // Бюро судебной медицинской экспертизы. – 2015. – Т. 58, № 1. – С. 18–21.
80. Особенности строения коры надпочечников в динамике общей гипотермии и алкогольной интоксикации / Ф.В. Алябьев, С.В. Логвинов, А.М. Парфирьева, А.А. Климачевский // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 5. – С. 24.
81. Острая алкогольная интоксикация как фактор, модифицирующий ответную реакцию надпочечников человека при танатогенных воздействиях различной природы / Ф.В. Алябьев, С.Ю. Кладов, Ю.М. Падеров [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2005. – № 1. – С. 39–42.
82. Осьминкин, В.А. Пато- и танатологические аспекты переохлаждения / В.А. Осьминкин // Архив патологии. – 1990. – № 8. – С. 60–62.
83. Пальцев, М.А. Патологическая анатомия : учебник : в 2 т. Т. 2. Частный курс / М.А. Пальцев, Н.М. Аничков. – Москва : Медицина, 2001. – 732 с.

84. Парфирьева, А.М. Морфофункциональные изменения надпочечников в динамике общего переохлаждения организма : дис. ... канд. мед. наук / А.М. Парфирьева. – Томск, 2007. – 134 с.
85. Пат. 2259804 Российская Федерация, МПК А61В 5/117, G01N 33/48, G01N 1/30. Способ дифференциальной диагностики смерти от острого отравления этиловым спиртом, общего охлаждения организма или механической травмы / Ф.В. Алябьев, Ю.М. Падеров, С.Ю. Кладов. – № 2004103452/15 ; заявл. 05.02.04 ; опубл. 10.09.05, Бюл. № 25. – 7 с.
86. Пат. 2259805 Российская Федерация, МПК А61В 5/117, G01N 33/48, G01N 1/30. Способ дифференциальной диагностики смерти от отравления этиловым спиртом и несовместимой с жизнью механической травмы / Ф.В. Алябьев, Ю.М. Падеров, С.Ю. Кладов. – № 2004103453/15 ; заявл. 05.02.04 ; опубл. 10.09.05, Бюл. № 25. – 6 с.
87. Пат. 2259806 Российская Федерация, МПК А61В 5/117, G01N 33/48, G01N 1/30. Способ дифференциальной диагностики и смерти от общего охлаждения организма и несовместимой с жизнью механической травмы / Ф.В. Алябьев, Ю.М. Падеров, Е.В. Захарова, Е.В. Зудова. – № 2004103454/15 ; заявл. 05.02.2004 ; опубл. 10.09.2005, Бюл. № 25. – 6 с.
88. Пауков, В.С. Патологическая анатомия пьянства и алкоголизма / В.С. Пауков, Ю.А. Ерохин // Архив патологии. – 2004. – № 4. – С. 3–9.
89. Пермяков, А.В. Патоморфология и танатогенез алкогольной интоксикации / А.В. Пермяков, В.И. Витер. – Ижевск, 2002. – 91 с.
90. Пиголкин, Ю.И. Судебно-медицинские аспекты патоморфологии внутренних органов при алкогольной интоксикации / Ю.И. Пиголкин, Ю.Е. Морозов, Д.В. Богомолов, П.П. Огурцов // Судебно-медицинская экспертиза. – 2000. – № 3. – С. 34–38.
91. Повышение компенсаторных свойств печени крыс с помощью иммобилизованного Г-КСФ в условиях цитостатического воздействия / Т.Ю. Дубская, Л.А. Сандрикина, Е.П. Федорова [и др.] // Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов: материалы Восьмой

- Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / под ред. В.А. Шкурупия. – 2018. – С. 36–37.
92. Полунина, Т.Е. Алкогольные поражения печени / Т.Е. Полунина // Фарматека. – 2019. – Т. 26, № 2. – С. 106–115.
93. Попов, В.Л. Судебная медицина / В.Л. Попов. – Санкт-Петербург : Питер, 2002. – 608 с.
94. Попова, Т.Н. Активность систем детоксикации пероксидов в тканях крыс при алкогольной интоксикации / Т.Н. Попова, Т.И. Рахманова, О.А. Сафонова // Наркология. – 2008. – Т. 74, № 2. – С. 32–36.
95. Поражение печени при алкоголизме / И.А. Никифоров, Т.В. Чернобровкина, Е.В. Жовнерчук и др. // Профилактическая медицина. – 2014. – Т. 17, № 3. – С. 55–61.
96. Пурдяев, Ю.С. Диагностика жировой дистрофии печени на свежем, формалиновом и гнилостно измененном трупном материале / Ю.С. Пурдяев, В.И. Алисиевич // Судебно-медицинская экспертиза. – 1991. – Т. 34, № 2. – С. 8–11.
97. Пушкина, А.Л. Патоморфологические изменения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при ООА, алкогольной делирии и хронической алкогольной интоксикации : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Л. Пушкина. – Владивосток, 2006. – 20 с.
98. Разводовский, Ю.Е. Экономическая доступность водки и алкогольные проблемы в России / Ю.Е. Разводовский, А.В. Меринов // Наркология. – 2018. – Т. 17, № 4. – С. 76–79.
99. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – Москва : Медиа Сфера, 2006. – 312 с.
100. Рожанец, В.В. Первичный метаболизм этанола в желудочно-кишечном тракте / В.В. Рожанец, В.П. Нужный // Вопросы наркологии. – 2007. – № 5. – С. 104–113.

101. Роль терморцепции в функциональных изменениях эффекторных систем при термических воздействиях на организм / Т.В. Козырева, Е.Я. Ткаченко, Л.Е. Елисеева [и др.] // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2004. – № 2. – С. 123–130.
102. Рослый, И.М. Биохимия и алкоголизм: длительная алкоголизация как механизм развития белковой дистрофии / И.М. Рослый, С.В. Абрамов, В.Р. Агаронов // Вопросы наркологии. – 2004. – № 4. – С. 70–79.
103. Рослый, И.М. Биохимия и алкоголизм: метаболические процессы при алкоголизме / И.М. Рослый // Вопросы наркологии. – 2004. – № 2. – С. 70–79.
104. Рябов, Г.А. Гипоксия критических состояний / Г.А. Рябов. – Москва : Медицина, 1988. – 288 с.
105. Селье, Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье ; пер. с англ. В.И. Кандрора, А.А. Рогова. – Москва : Медгиз, 1960. – 254 с.
106. Сизых, Т.П. Печень, экология, стресс и клинические синдромы ее дизадаптации / Т.П. Сизых // Печень, стресс, экология : материалы I Межреспубликанского симпозиума. – Новосибирск ; Иркутск, 1994. – С. 48–58.
107. Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени / Ч.С. Павлов, Ю.О. Шульпекова, В.Б. Золотаревский, В.Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2005. – № 2. – С. 13–19.
108. Стресс и нейроэндокринная система: современные морфо-функциональные аспекты / С.Л. Кузнецов, М.Ю. Капитонова, Ю.В. Дегтярь, В.Л. Загребин // Вестник ВолГМУ. – 2008. – Т. 26, № 2. – С. 10–14.
109. Струков, А.И. Патологическая анатомия : учебник / А.И. Струков, В.В. Серов. – 4-е изд., стер. – Москва : Медицина, 1995. – 688 с.
110. Структурные изменения печени при действии холодового фактора (в эксперименте) / В.П. Зуевский, Н.Н. Петрук, Т.В. Дерпак, Р.Г. Макарова // Научный медицинский вестник Югры. – 2014. – № 1–2. – С. 60–64.

111. Судебно-медицинская диагностика отравлений спиртами / Ю.И. Пиголкин, И.Н. Богомоллова, Д.В. Богомоллов [и др.] ; под ред. Ю.И. Пиголкина. – Москва : МИА, 2006. – 576 с.
112. Сумбатов, Л.А. Искусственная гипотермия / Л.А. Сумбатов. – Москва : Медицина, 1985. – 88 с.
113. Суханова, Г.А. Биохимия клетки : учебно-методический комплекс / Г.А. Суханова, В.Ю. Серебров. – Томск : Чародей, 2000. – 184 с.
114. Судебно-медицинские аспекты патоморфологии внутренних органов при алкогольной интоксикации / Ю.И. Пиголкин, Ю.Е. Морозов, Д.В. Богомоллов, П.П. Огурцов // Судебно-медицинская экспертиза. – 2000. – № 3. – С. 34–38.
115. Судебно-медицинская диагностика отравлений спиртами / Ю.И. Пиголкин, И.Н. Богомоллова, Д.В. Богомоллов и др. – Москва : МИА, 2006. – 576 с.
116. Сывороточные фосфолипиды и механизмы повреждения при алкогольной болезни печени / Н.И. Гейвандова, А.В. Ягода, Л.И. Малыхина и др. // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2006. – № 6. – С. 28–32.
117. Тагаев, Н.Н. Судебная медицина / Н.Н. Тагаев. – Харьков : Факт, 2003. – 253 с.
118. Терехина, А. Влияние острой алкогольной интоксикации на содержание гликогена в печени при общем переохлаждении организма / А. Терехина, П.А. Акимов // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 2, № 20. – С. 36–38.
119. Тканевая и внутриклеточная реорганизация печени крыс при общем охлаждении организма / О.П. Молодых, М.Г. Клиникова, Е.Л. Лушникова, Л.М. Непомнящих // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – № 6. – С. 714–720.
120. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов : учебное пособие / ред. Н.И. Калетина. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1016 с.
121. Травенко, Е.Н. Патоморфологические признаки отравления этанолом в диагностике механизмов наступления смерти / Е.Н. Травенко,

- В.А. Породенко // Вестник судебной медицины. – 2016. – Т. 5, № 1. – С. 28–30.
122. Уикли, Б.С. Электронная микроскопия для начинающих / Б.С. Уикли ; пер. с англ. под ред. Ю.В. Полякова. – Москва : Мир, 1975. – 324 с.
123. Уланова, Н.С. Нарушение гистоструктуры печени и почек при неправильном питании и чрезмерном употреблении алкоголя / Н.С. Уланова, Д.Р. Шамиева // Молодежь и медицинская наука в XXI веке: сборник трудов XVII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием, Киров, 13–15 апреля 2016 г. / под ред. И.В. Шешунова, Н.К. Мазиной, Ю.В. Кислицына. – 2016. – С. 71–73.
124. Усынин, И.Ф. Адаптивная роль функциональной гетерогенности гепатоцитов / И.Ф. Усынин // Бюллетень сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2007. – № 5. – С. 17–23.
125. Факторы риска летального исхода при заболевании печени (ретроспективный и проспективный анализ) / А.Е. Шкляев, И.Г. Малахова, Ю.В. Горбунов [и др.] // Практическая медицина. – 2014. – Т. 77, № 1. – С. 74–77.
126. Хазанов, А.И. Анализ летальных исходов острых вирусных и алкогольных гепатитов, а также циррозов печени / А.И. Хазанов, С.В. Плюснин, А.П. Васильев // Вирусные гепатиты : материалы 6-й Всероссийской конференции. – Москва, 2005. – С. 355–357.
127. Хазанов, А.И. Острый алкогольный гепатит: клиника, диагностика и лечение / А.И. Хазанов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2007. – № 3. – С. 3–12.
128. Хесин, Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток / Я.Е. Хесин. – Москва : Медицина, 1967. – 424 с.
129. Хонин, Г.А. Морфологические методы исследования в ветеринарной медицине / Г.А. Хонин, С.А. Барашкова, В.В. Семченко. – Омск, 2004. – 198 с.

130. Хуснутдинов, А.Р. Морфофункциональная оценка тканей печени : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.Р. Хуснутдинов. – Санкт-Петербург, 2001. – 24 с.
131. Хэм, А. Гистология : в 5 т. Т. 2. / А. Хэм, Д. Кормак ; пер. с англ. Л.И. Вайсфельд, Б.А. Лейбовича. – Москва : Мир, 1983. – 254 с.
132. Циммерман, Я.С. Хронический алкогольный и неалкогольный стеатогепатиты / Я.С. Циммерман // Клиническая медицина. – 2004. – № 7. – С. 9–14.
133. Чистова, Т.И. Количественная оценка гликогена и содержащих аминокислот в гистологических срезах печени при смерти от острого отравления алкоголем / Т.И. Чистова // Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики. Диагностика механизмов, последовательности, прижизненности и давности образования повреждений : сборник научных трудов / Томский государственный медицинский институт. – Барнаул, 1990. – С. 162–166.
134. Чудаков, А.Ю. Судебно-медицинская и физиологическая характеристика острой общей глубокой акцидентальной гипотермии : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Ю. Чудаков. – Санкт-Петербург, 1997. – 23 с.
135. Шамарин, Ю.А. Очерки по судебной медицине : практикум / Ю.А. Шамарин, Ф.В. Алябьев, С.Ю. Кладов. – Томск : СТТ, 2005. – 480 с.
136. Шигеев, В.Б. Холодовая смерть / В.Б. Шигеев, С.В. Шигеев, Е.М. Колударова – Москва, 2004. – 183 с.
137. Шкурупий, В.А. Исследование деструктивных и репаративных процессов в печени при хроническом гранулематозе смешанной (силикотической и туберкулезной) этиологии в эксперименте / В.А. Шкурупий, А.П. Надеев, М.А. Карпов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 149, № 6. – С. 622–626.
138. Этанол и его суррогаты. Острые отравления [Электронный ресурс] / под ред. Ю.Ю. Ботиненко // Биомедицинский журнал. Medline.ru. – 2003. – Т. 4, ст. 125. – Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/art/tom4/art125.phtml>.

139. Эффективность бетулоновой кислоты и ее аланинамидных производных при восстановлении паренхимы печени крыс в постцитостатический период / О.Р. Грек, С.В. Позднякова, А.П. Надеев [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68, № 6. – С. 49–51.
140. Югов, К.М. Судебно-медицинская оценка степени алкогольной интоксикации при смерти от переохлаждения : автореф. дис. ... канд. мед. наук / К.М. Югов. – Барнаул, 2003. – 24 с.
141. Ярыгин, Н.Е. Атлас патологической гистологии / Н.Е. Ярыгин, В.В. Серов. – Москва : Медицина, 1977. – 200 с.
142. β -Adrenergic agonist and antagonist regulation of autophagy in HepG2 cells, primary mouse hepatocytes, and mouse liver [Electronic resource] / B.L. Farah, R.A. Sinha, Y. Wu [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, N 6. – URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0098155>.
143. A fatal case of hypothermia caused by dog bites / Y. Li, R. Shen, R. Ding [et al.] // Med. SCI LAW. – 2017. – Vol. 57, N 3.
144. Activity of alcohol dehydrogenase isoenzymes and aldehyde dehydrogenase in sera of patients with hepatitis C / W. Jelski, A. Strumnik, K. Orywal [et al.] // Arch. Med. Sci. – 2018. – Vol. 14, N 2. – P. 281–287.
145. Alcohol and acetaldehyde dehydrogenase gene polymorphism and alcoholism / D.I. Sherman, R.J. Ward, A. Yoshida, T.J. Peters // EXS. – 1994. – Vol. 71. – P. 291–300.
146. Alcohol-associated mortality in Russia (based on the materials for the period from 2011 till 2016 / A.V. Kovalev, Y.E. Morozov, O.V. Samokhodskaya [et al.] // SudMedEkspert. – 2017. – Vol. 60, N 6. – P. 4–8. – doi: 10.17116/sudmed20176064-8.
147. Anatomy of the liver: an outline with three levels of complexity--a further step towards tailored territorial liver resections / P. Majno, G. Mentha, C. Toso [et al.] // J. Hepatol. – 2014. – Vol. 60, N 3. – P. 654–662.
148. Antioxidant and hepatoprotective effects of Capparis spinosa L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide- induced acute liver damage in mice /

- H. Kalantari, H. Foruozaandeh, M.J. Khodayar [et al.] // *J. Tradit. Complement. Med.* – 2017. – Vol. 8, N 1. – P. 120–127.
149. Arroyo, V. New treatments for hepatorenal syndrome / V. Arroyo // *Liver Transpl.* – 2000. – Vol. 6, N 3. – P. 287–289.
150. Berthoud, H.R. An anterograde tracing study of the vagal innervation of rat liver, portal vein and biliary system / H.R. Berthoud, M. Kressel, W.L. Neuhuber // *Anatomy and Embryology (Berlin)*. – 1992. – Vol. 186, N 5. – P. 431–442.
151. Berthoud, H.R. Anatomy and function of sensory hepatic nerves / H.R. Berthoud // *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.* – 2004. – Vol. 280, N 1. – P. 827–835.
152. Bertola, A. Rodent models of fatty liver diseases [Electronic resource] / A. Bertola // *Liver Research*. – 2018. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2542568418000156>.
153. Chronic ethanol consumption disrupts diurnal rhythms of hepatic glycogen metabolism in mice / U.S. Udoh, T.M. Swain, A.N. Filiano [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2015. – Vol. 308, N 11. – P. 964–974.
154. Cook, R.T. Alcohol abuse, alcoholism and damage to the immune system – a review / R.T. Cook // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 1999. – Vol. 22. – P. 1927–1942.
155. Connexin 32 gap junctions enhance stimulation of glucose output by glucagon and noradrenaline in mouse liver / F. Stümpel, T. Ott, K. Willecke [et al.] // *Hepatology*. – 1998. – Vol. 28, N 6. – P. 1616–1620.
156. Danzl, D.F. Accidental hypothermia / D.F. Danzl, R.S. Pozos // *N. Engl. J. Med.* – 1994. – Vol. 331, N 26. – P. 1756–1760.
157. Diaz, L.T. Influence of alcohol consumption on immunological status: a review / L.T. Diaz, A. Montero, M. Gonzales-Gross // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2002. – Vol. 56, Suppl. 3. – P. 50–54.
158. Differentiation of fibrotic liver tissue using laser-induced breakdown spectroscopy / E. Teran-Hinojosa, H. Sobral, C. Sánchez-Pérez [et al.] // *Biomed. Opt. Express*. – 2017. – Vol. 8, N 8. – P. 3816–3827.

159. Gissen, P. Structural and functional hepatocyte polarity and liver disease / P. Gissen, I.M. Arias // *J. Hepatol.* – 2015. – Vol. 63, N 4. – P. 1023–1037.
160. Ethanol and acetaldehyde induce the expression of CXC chemokines in HEPG2 cells / G. Notas, J. Drigiannakis, C. Xidakis [et al.] // *J. Hepatol.* – 2006. – Vol. 44, Suppl. 2. – P. S259.
161. Evaluation of Acute Alcohol Intoxication as the Primary Cause of Death: A Diagnostic Challenge for Forensic Pathologists / R. Li, L. Hu, X. Zhang [et al.] // *J. Forensic. Sci.* – 2017. – Sep. – Vol. 62, N 5. – P. 1213–1219. – doi: 10.1111/1556-4029.13412.
162. Gastineau, C.F. Alcohol and the endocrine system / C.F. Gastineau // *Metabolic effects of alcohol* / eds. P. Avogaro, C.R. Sirtori, E. Tremoli. – Elsevier, 1979. – P. 103–110.
163. Haele, Van M. Hepatic Progenitor Cells: An Updateb / M. Van Haele, T. Roskams // *Gastroenterol. Clin. North. Am.* – 2017. – Vol. 46, N 2. – P. 409–420.
164. Hanania, N.A. Accidental hypothermia / N.A. Hanania, J.L. Zimmerman // *Crit. Care Clin.* – 1999. – Vol. 15, N 2. – P. 235–249.
165. Hottmar, P. Death due to fatal hypothermia in victims dissected in Department of Forensic Medicine in Hradec Králové between 1992–2003 / P. Hottmar, P. Hejna // *Soud. Lek.* – 2005. – Vol. 50, N 3. – P. 38–41.
166. Jolly, B.T. Accidental hypothermia / B.T. Jolly, K.T. Ghezzi // *Emerg. Med. Clin. North Am.* – 1992. – Vol. 10, N 2. – P. 311–327.
167. Jungermann, K. Functional heterogeneity of periportal and perivenous hepatocytes / K. Jungermann // *Enzyme.* – 1986. – Vol. 35. – P. 161–180.
168. Juza, R.M. Clinical and surgical anatomy of the liver: a review for clinicians / R.M. Juza, E.M. Pauli // *Clin. Anat.* – 2014. – Vol. 27, N 5. – P. 764–769.
169. Kuntz, E. *Hepatology Principles and Practice* / E. Kuntz, H.D. Kuntz. – Heidelberg : Springer-Verlag, 2002. – P. 52–54.

170. Lauth, W.W. Hepatic Circulation. Physiology and Pathophysiology [Electronic resource] / W.W. Lauth. – Morgan & Claypool Life Sciences, 2009. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53073>.
171. Lee, F.I. Cirrhosis and hepatoma in alcoholics / F.I. Lee // Gut. – 1966. – Vol. 7. – P. 77–85.
172. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases / J. Poisson, S. Lemoine, C. Boulanger [et al.] // J. Hepatol. – 2017. – Vol. 66, N 1. – P. 212–227.
173. Long-term histological, evaluation of the natural history and prognostic factors of alcoholic liver disease / U. Marbet, L. Bianchi, U. Meury, G.A. Stalder // J. Hepatol. – 1987. – Vol. 4, N 3. – P. 364–372.
174. Mild Hypothermia Pretreatment Attenuates Liver Ischemia Reperfusion Injury Through Inhibiting c-Jun NH2-terminal Kinase Phosphorylation in Rats / W. Wang, Q. Xiao, X.Y. Hu [et al.] // Transplant. Proc. – 2018. – Vol. 50, N 1. – P. 259–266.
175. Mitochondrial ROS induced by chronic ethanol exposure promote hyperactivation of the NLRP3 inflammasome / L.R. Hoyt, M.J. Randall, J.L. Ather [et al.] // Redox. Biol. – 2017. – Vol. 12. – P. 883–896.
176. Mizuno, K. Autonomic Nervous System and the Liver / K. Mizuno, Y. Ueno // Hepatol. Res. – 2017. – Vol. 47, N 2. – P. 160–165.
177. Nelson, D.L. Lehninger Principles of Biochemistry / D.L. Nelson, M.M. Cox. – 3-rd ed. – New-York : Worth Publishers, 2000. – 1200 p.
178. Oda, M. Local regulators of hepatic sinusoidal microcirculation: recent advances / M. Oda, J.E. Han, H. Yokomori // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2000. – Vol. 23, N 2–4. – P. 85–94.
179. Offenstadt, G. Accidental deep hypothermia / G. Offenstadt // N. Engl. J. Med. – 1998. – Vol. 338, N 16. – P. 1160–1162.
180. Out of the cold: management of hypothermia and frostbite / J. Biem, N. Koehncke, D. Classen, J. Dosman // CMAJ. – 2003. – Vol. 168. – P. 305–311.

181. Parenchymal innervation of normal and cirrhotic human liver: a light and electron microscopic study using monoclonal antibodies against the neural cell-adhesion molecule / J.Y. Scoazec, L. Racine, A. Couvelard [et al.] // *J. Histochem. Cytochem.* – 1993. – Vol. 41, N 6. – P. 899–908.
182. Parker, R. Transplanting Patients with Alcohol-related Liver Disease in the National Health System: New Rules and Decisions / R. Parker, A. Holt // *Alcohol and Alcoholism.* – 2018. – Vol. 53, N 2. – P. 145–150.
183. Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrosis in the baboon / C.S. Lieber, S.L. Robin, J. Li [et al.] // *Gastroenterology.* – 1994. – Vol. 106. – P. 152–159.
184. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex, and age: a prospective population study / U. Becker, A. Deis, T.I. Sorensen [et al.] // *Hepatology.* – 1996. – Vol. 23. – P. 1025–1029.
185. Protective effects of moderate hypothermia on phosphoenergetic metabolism in rat liver during gradual hypoxia studied by in vivo ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy / K. Takahashi, S. Morikawa, T. Inubushi, S. Nosaka // *J. Surg. Res.* – 2004. – Vol. 117, N 2. – P. 323–328.
186. Rehm, J. Global burden of alcoholic liver diseases / J. Rehm, A.V. Samokhvalov, K.D. Shield // *J. Hepatol.* – 2013. – Vol. 59, N 1. – P. 160–168.
187. Reynolds, E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S. Reynolds // *J. Cell Biology.* – 1963. – Vol. 17. – P. 208–212.
188. Role of alcohol dehydrogenase polymorphism in ethanol metabolism and alcohol-related diseases / P. Couzigou, B. Fleury, A. Groppy [et al.] // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1991. – Vol. 284. – P. 263–270.
189. Role of A-Kinase Anchoring Protein Phosphorylation in Alcohol-Induced Liver Injury and Hepatic Stellate Cell Activation / K. Ramani, M.L. Tomasi, J. Berlind [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2018. – Vol. 188, N 3. – P. 640–655.
190. Schuckit, M.A. Science, medicine, and the future. Substance use disorders / M.A. Schuckit // *BMJ.* – 1997. – Vol. 314, N 7094. – P. 1605–1608.

191. Sherman, D.I. Ethanol and the Liver Mechanisms and Management / D.I. Sherman, V. Preedy, R.R. Watson. – New-York : Taylor and Francis, 2002. – 689 p.
192. Sorrell, M.F. Hypothesis: alcoholic liver injury and the covalent binding of acetaldehyde / M.F. Sorrell, D.J. Tuma // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1998. – Vol. 9. – P. 306–310.
193. Spontaneous cytokine production and effect on induced production / D. Walker, J. Jason, K. Wallace [et al.] // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2002. – Vol. 9, N 5. – P. 1049–1056.
194. Stanger, B.Z. Probing hepatocyte heterogeneity / B.Z. Stanger // *Cell. Res.* – 2015. – Vol. 25, N 11. – P. 1181–1182.
195. Stares, J. Hypothermia as a cause of death in British Columbia, 1998-2012: a descriptive assessment / J. Stares, T. Kosatsky // *CMAJ.* – 2015. – Oct 2. – Vol. 3, N 4. – P. E352–E358. – doi: 10.9778/cmajo.20150013.
196. Steatohepatitis-inducing drugs cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes / A. Berson, V. De Beco, P. Letterson [et al.] // *Gastroenterology.* – 1998. – Vol. 114. – P. 764–774.
197. Taher, J. Central nervous system regulation of hepatic lipid and lipoprotein metabolism / J. Taher, S. Farr, K. Adeli // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2017. – Vol. 28, N 1. – P. 32–38.
198. The Adaptive Immune System and Liver Toxicity / C. Ju, E. Phillips, M.P. Holt [et al.] // *Comprehensive Toxicology : Reference Module in Biomedical Sciences* / ed. C. McQueen. – 3rd ed. – Elsevier Science, 2018. – Vol. 2, Ch. 2.14. – P. 346–367.
199. Tributsch, W. Forensic medicine aspects of death caused by hypothermia in high altitude / W. Tributsch, E. Ambach, R. Henn // *Beitr. Gericht. Med.* – 1992. – Vol. 50. – P. 337–341.
200. Undeen, A.H. Research methods for entomopathogenic Protozoa / A.H. Undeen, J.I. Vavra // *Manual of techniques in insect pathology* / ed. L.A. Lacey. – San Diego : Academic Press, 1997. – P. 117–151.

201. Urbaschek, R. Endotoxin, endotoxin-neutralizing capacity, sCD14, sICAM-1, and cytokines in patients with various degrees of alcoholic liver disease / R. Urbaschek // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2001. – Vol. 25. – P. 261–268.
202. Vogel, H. Effect of ethanol and stress on plasma catecholamines and their relation to changes in emotional state and performance / H. Vogel, P. Neffer // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1989. – Vol. 13, N 2. – P. 284–291.
203. Wilson, J.W. Hepatic structure in relation to function / J.W. Wilson // *Liver function, a symposium on approaches to the quantitative description of liver function.* – Washington, 1958. – P. 175–197.
204. Zieger, M.A. Endothelial cell preservation at 10 degrees C minimizes catalytic iron, oxidative stress, and cold-induced injury / M.A. Zieger, M.P. Gupta // *Cell. Transplant.* – 2006. – Vol. 15, N 6. – P. 499–510.
205. Zieger, M.A. Endothelial cell fatty acid unsaturation mediates cold-induced oxidative stress / M.A. Zieger, M.P. Gupta, R.A. Siddiqui // *J. Cell. Biochem.* – 2006. – Vol. 99, N 3. – P. 784–796.