

Влияние хронической алкогольной интоксикации и постоянного освещения на морфофункциональное состояние печени

Ю.А. Кириллов¹, М.А. Козлова¹, Л.А. Макарецва¹, И.А. Чернов², Д.А. Арешидзе^{1,3}

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, Тюмень, Россия

³ ФГБУН Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия

Введение. Злоупотребление алкоголем – одна из наиболее острых медико-социальных проблем современного общества, сущность которой заключается в увеличении показателей заболеваемости и смертности не только от алкогольной болезни и ее осложнений, но и от ассоциированной с ней коморбидной патологии. Наиболее значительно повреждающее действие этанола и его метаболитов реализуется в печени. Весомым фактором, ведущим к возникновению в ней мелатонин-ассоциированных морфологических проявлений, является нарушение сложившегося в популяции режима света–темноты, так называемое световое загрязнение. При этом алкогольные эксцессы и иные формы алкогольной болезни часто бывают сопряжены с различными нарушениями сна. Целью исследования стало изучение морфофункционального состояния печени крыс линии Вистар при экспериментальной алкогольной интоксикации в условиях фиксированного светового режима и постоянного освещения. **Материалы и методы.** Исследование проведено на 160 самцах крыс, содержащихся при фиксированном световом режиме, постоянном освещении, а также при сочетании обоих световых режимов с одновременной экспериментальной алкогольной интоксикацией. Проведено патоморфологическое исследование печени, установлены морфометрические показатели, плоидность и доля двуядерных гепатоцитов. **Результаты.** Употребление лабораторными животными 15% раствора этанола в качестве питья ad libitum в течение 3 недель при фиксированном световом режиме вызывает развитие в печени жировой дистрофии. На этом фоне изменение фиксированного освещения на постоянное сопровождается возникновением алкогольного гепатита примерно у половины животных. Результаты микроморфометрии свидетельствуют о значительных изменениях исследованных параметров гепатоцитов, наименее выраженных при употреблении этанола в условиях фиксированного освещения и в наибольшей степени затрагивающих клетки паренхимы печени крыс с хронической алкогольной интоксикацией на фоне постоянного освещения.

Заключение. Алкогольная интоксикация, реализующаяся на фоне дефицита мелатонина, вызванного постоянным освещением, сопровождается значительно большей выраженностью, распространенностью и интенсивностью воспалительных тканевых реакций и разнообразием проявлений патологии печени.

Ключевые слова: гепатоцит, алкоголь, световой режим, стресс, жировая дистрофия

Для корреспонденции: Давид Александрович Арешидзе. E-mail: labcelpat@mail.ru

Для цитирования: Кириллов Ю.А., Козлова М.А., Макарецва Л.А., Чернов И.А., Арешидзе Д.А. Влияние хронической алкогольной интоксикации и постоянного освещения на морфофункциональное состояние печени. Клини. эксп. морфология. 2021;10(S4):68–76. DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.68-76.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 20.09.2021. Получена после рецензирования 21.10.2021. Принята в печать 16.12.2021.

The effect of chronic alcohol intoxication and constant illumination on the morphological and functional state of the liver

Yu.A. Kirillov¹, M.A. Kozlova¹, L.A. Makartseva¹, I.A. Chernov², D.A. Areshidze^{1,3}

¹ A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

² Tyumen State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tyumen, Russia

³ Institute of Problems of Chemical Physics of the Russian Academy of Science, Chernogolovka, Russia

Introduction. Alcohol abuse is one of major health and social problems of modern society, the essence of which is an increase in morbidity and mortality not only from alcohol misuse and its complications, but also from associated comorbid pathologies. The liver is the organ that is affected most by ethanol and its

metabolites. A significant factor leading to melatonin-associated morphological manifestations in the liver is the so-called light pollution, a violation of the light–dark regime. At the same time, heavy consumption of alcohol over a short period of time (alcoholic excesses) and other forms of alcoholic illness are often associated with various sleep disorders. The aim of the study was to investigate the morphological and functional state of the liver of Wistar rats under experimental alcohol intoxication in conditions of a fixed light regime and constant illumination.

Materials and methods. Male rats (n=160) were kept under a fixed light regime, constant illumination, and at a combination of both light regimes with simultaneous experimental alcohol intoxication. We performed a pathological examination of the liver and determined morphometric parameters, hepatocyte ploidy, and the proportion of binuclear hepatocytes.

Results. The consumption of 15% ethanol solution as a drink *ad libitum* for 3 weeks at a fixed light regime causes the development of fatty degeneration in the liver of laboratory animals. Secondary to it, changing lighting from fixed to constant is accompanied by the development of alcoholic hepatitis in about half of the animals. The results of micromorphometry indicate significant changes in the studied parameters of hepatocytes, which are expressed least of all in the case of ethanol consumption under fixed lighting conditions and affect most the cells of the liver parenchyma of rats with chronic alcohol intoxication secondary to constant lighting.

Conclusion. Alcohol intoxication that occurs secondary to a melatonin deficiency caused by constant lighting is accompanied by a much greater severity, prevalence, and intensity of inflammatory tissue reactions and a variety of manifestations of liver pathology.

Keywords: hepatocyte, alcohol, lighting regime, stress, fatty degeneration

Corresponding author: David A. Areshidze. E-mail: labelpat@mail.ru

For citation: Kirillov Yu.A., Kozlova M.A., Makartseva L.A., Chernov I.A., Areshidze D.A. The effect of chronic alcohol intoxication and constant illumination on the morphological and functional state of the liver. *Clin. exp. morphology.* 2021;10(S4):68–76. DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.68-76 (In Russ.).

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 20.09.2021. Received in revised form 21.10.2021. Accepted 16.12.2021.

Введение

Злоупотребление алкоголем – одна из наиболее острых медико-социальных проблем современного общества. При этом внимание специалистов в основном сосредоточено на пациентах, страдающих заключительной стадией алкогольной болезни, хотя значительная часть людей (до 90% от общего числа подтвержденных хронической алкогольной интоксикации, ХАИ), злоупотребляющих алкоголем в течение длительного времени, остается в этом статусе, не достигая стадии алкоголизма [1]. Одним из органов, в которых в условиях алкогольной интоксикации наиболее значительно проявляется повреждающее действие этанола и его метаболитов, является печень, а нарушение ее функций сказывается на метаболизме других систем организма [2].

Печень также служит местом реализации многочисленных мелатонин-ассоциированных эффектов, имеющих морфологическое проявление и возникающих вследствие нарушения режима света–темноты, так называемого светового загрязнения. В частности, мелатонин проявляет гепатопротекторные свойства при нарушениях углеводного и жирового обмена, холангиопатии, фиброзе, поражении органа при ишемии–реперфузии и разнообразных токсических повреждениях [3]. Также этот гормон принимает участие в регуляции процессов апоптоза и пролиферации гепатоцитов [4]. В силу ряда социальных причин человек в настоящее

время подвергается обильному воздействию искусственного освещения в темное время суток, что помимо сильного стрессорного воздействия может привести к развитию десинхроноза [5]. В свою очередь, и алкоголь обладает выраженным хронотоксическим действием, вызывающим десинхроноз [6–8].

Резонно предположить, что сочетание нарушения светового режима и ХАИ может привести к более выраженным изменениям в строении и функциональном состоянии печени, чем воздействие каждого из них в отдельности. Значимыми параметрами для оценки состояния печени являются совокупность микроморфометрических параметров гепатоцитов, а также их плоидность [9].

В связи с этим целью настоящего исследования стало изучение морфофункционального состояния печени крыс линии Вистар при экспериментальной алкогольной интоксикации в условиях фиксированного светового режима и постоянного освещения.

Материалы и методы

Животные

Исследование проведено на 160 самцах крыс линии Вистар в возрасте 6 месяцев массой 300±20 граммов, полученных из питомника НЦБМТ ФМБА России «Столбовая».

Дизайн эксперимента

Все лабораторные животные были разделены на четыре равные группы (по 40 особей в каждой) и содержались в стандартных лабораторных условиях (пластиковые клетки, свободный доступ к питью и пище) в течение 3 недель.

Животных контрольной группы содержали при фиксированном световом режиме (свет–темнота 10:14 часов с включением света в 08.00 и выключением в 18.00).

Животным 1-й группы при сохранении светового режима, установленного для особей контрольной группы, в качестве питья был предоставлен 15% водный раствор этанола *ad libitum*.

2-ю группу животных содержали при постоянном освещении.

Режим участия в эксперименте животных 3-й группы предусматривал их нахождение при постоянном освещении и использовании в качестве питья 15% водного раствора этанола *ad libitum*.

Критерием отбора крыс в исследование наряду с отсутствием видимых отклонений в состоянии здоровья и поведении было исходное предпочтение 15% раствора этилового спирта водопроводной воде, установленное в предварительном эксперименте с предоставлением свободного доступа к обеим жидкостям.

Выведение из эксперимента осуществляли спустя 3 недели после его начала в углекислотной камере, оборудованной устройством для верхней подачи газа (100% CO₂) в 09.00, 15.00, 21.00 и 03.00. Заполнение объема камеры газом производили со скоростью 20% в минуту во избежание возникновения у животных диспноэ и боли. Предварительно им измеряли ректальную температуру.

После выведения животных из эксперимента проводили эвисцерацию, печень фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, образцы заливали в парафин, полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону–Фуше. Для идентификации жировой дистрофии использовали стандартное селективное окрашивание замороженных срезов раствором судана-III в 70% этиловом спирте. Для плоидометрии изготавливали мазки-отпечатки печени, которые окрашивали по Фельгену; для установления контрольных значений плоидности (2n), то есть диплоидного набора хромосом, аналогично окрашивали ДНК ядер малых лимфоцитов. Плоидность гепатоцитов рассчитывали в единицах плоидности относительно оптической плотности результатов окрашивания диплоидных ядер малых лимфоцитов [10]. Также определяли долю двуядерных гепатоцитов.

Микроскопию гистологических препаратов проводили на цифровом микроскопе Nikon Eclipse 80I с применением цифровой фотокамеры Nikon DI-FI (Nikon, Япония). С каждого исследованного препарата выполняли по 10 цифровых снимков случайно выбранных полей зрения при $\times 400$, $\times 1000$, которые в дальнейшем использовали для карио- и цитометрии. Для проведения морфометрических исследований применяли про-

грамму ImageJ (США) с использованием библиотеки плагинов MorphoLibJ. Осуществляли микроморфометрию гепатоцитов без признаков патологических изменений. Определяли площадь поперечного сечения ядра (площадь ядра, S_я), короткий (d) и длинный (D) диаметры ядра, периметр ядра (P_я), площадь поперечного сечения клетки (площадь клетки, S_{кел}), короткий (a) и длинный (b) диаметры клетки [10–13].

В дальнейшем с помощью соответствующих формул вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), объем ядер, объем клеток, отношение объема ядра к площади ядра (V/A коэффициент), индекс удлинненности ядра, индекс контура ядра и коэффициент формы ядра [14, 15].

Иммуногистохимически исследовали экспрессию белка Ki-67, для чего использовали первичные кроличьи поликлональные антитела (Cloud-Clone Corp., США), 1:300. Срезы инкубировали с антителами в течение 60 минут при комнатной температуре. В качестве системы детекции применяли набор UltraVision Quanto Detection System (Thermo Fisher Scientific, США). Контролем служили реакции с заменой первичных антител на раствор фосфатного буфера. Оценку проводили в 4 полях зрения при $\times 400$. На препаратах подсчитывали ядра гепатоцитов, окрашенные с помощью антител, затем вычисляли соответствующий индекс как отношение числа окрашенных ядер гепатоцитов к их общему числу в процентах.

Все эксперименты проведены в соответствии с требованиями директивы ЕС 86/609/ЕЕС и российского законодательства, регулирующего эксперименты на животных. Эксперимент одобрен этическим комитетом Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына (протокол № 27/3 от 11.10.2021).

Методы статистической обработки

Полученные данные анализировали с использованием программы Graph Pad Prism 6.0 путем расчета средних величин, стандартного отклонения, средней ошибки средней арифметической. Статистическую разницу определяли с использованием теста Краскела–Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Исследование среднесуточных значений микроморфометрических и иммуногистохимических параметров гепатоцитов

Периметр ядер гепатоцитов, площадь их поперечного сечения и объем в 1-й и 2-й экспериментальных группах практически соответствовали показателям контроля, но в 3-й экспериментальной группе отмечено существенное достоверное снижение этих параметров относительно контроля (табл.). В то же время значение ЯЦО было наименьшим, а среднего диаметра ядра ге-

Результаты микроморфометрических исследований гепатоцитов крыс |
Results of micromorphometric study of hepatocytes of rats

	Контроль Control	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	3-я группа Group 3
Площадь поперечного сечения ядра, мкм ² Cross-sectional area of the nucleus, μm ²	41,79±8,13	42,65±4,80	42,72±5,63	35,50±3,01***
Объем ядра, мкм ³ Volume of the nucleus, μm ³	205,90±59,54	210,51±35,39	211,30±41,67	159,59±20,23***
Отношение объема ядра к площади ядра (V/A коэффициент) Volume of the nucleus to nucleus area ratio (V/A coefficient)	4,84±0,47	4,90±0,27	4,90±0,12***	4,48±0,19**
Периметр ядра, мкм Perimeter of the nucleus, μm	14,96±4,78	15,34±4,78	15,11±3,39	9,59±2,49***
Длинный диаметр ядра, мкм Long diameter of the nucleus, μm	7,98±0,58	8,04±0,50	8,26±0,55	7,78±0,52
Короткий диаметр ядра, мкм Small diameter of the nucleus, μm	6,52±0,51	6,63±0,58	7,29±0,61***	6,56±0,38
Средний диаметр ядра, мкм Mean diameter of the nucleus, μm	7,25±0,91	7,34±0,89	7,77±0,75***	7,17±0,76
Индекс удлиненности ядра Elongation index of the nucleus	1,23±0,06	1,22±0,08	1,14±0,05***	1,19±0,07
Коэффициент формы Coefficient of form	2,35±0,11	2,28±0,15	2,35±0,11	4,85±0,17*
Индекс контура Contour index	2,31±0,10	2,35±0,13	2,31±0,11	1,61±0,18***
Площадь поперечного сечения клетки, мкм ² Cross-sectional area of cell, μm ²	185,80±31,95	190,10±34,03	261,90±55,30***	184,80±21,67
Объем клетки, мкм ³ Volume of the cell, μm ³	1926,01±486,21	1994,02±510,02	3317,21±818,81***	1898,25±326,85
ЯЦО N:C ratio	0,230±0,056	0,233±0,055	0,162±0,022***	0,194±0,018**
Плоидность гепатоцитов, n Ploidy of hepatocytes, n	4,47±2,12n	5,02±2,18n	4,04±2,16n*	5,18±2,14n
Доля двуядерных гепатоцитов, % Proportion of binuclear hepatocytes, %	7,44±2,66	8,92±3,60	4,73±2,03**	6,51±2,56

* (p≤0,05); ** (p≤0,005); *** (p≤0,0005) – в сравнении с показателями контрольной группы

* (p≤0,05); ** (p≤0,005); *** (p≤0,0005) – in comparison with the parameters of the control group

патоцитов, напротив, достоверно наибольшим во 2-й экспериментальной группе.

Во 2-й опытной группе отмечено также увеличение короткого и среднего диаметров ядер гепатоцитов, что свидетельствовало об изменении индекса удлиненности и формы ядер. В гепатоцитах крыс 3-й экспериментальной группы по сравнению с контролем были существенно снижены значения площади поперечного сечения, периметра, объема ядра, ЯЦО, а также отношения объема ядра к его площади. Сочетанное воздействие этанола и постоянного освещения выразилось в снижении средних показателей площади поперечного сечения клеток и периметра ядра по сравнению со 2-й группой.

Изменения плоидности гепатоцитов и доли двуядерных клеток отмечены во всех экспериментальных группах. При этом максимальный показатель плоидности зафиксирован у особей 3-й экспериментальной группы, а доля двуядерных гепатоцитов была наибольшей в 1-й, однако к статистически значимым могли быть отнесены лишь показатели животных 2-й экспериментальной группы.

В печени крыс контрольной группы число Ki-67⁺ гепатоцитов было крайне незначительным – 1,0±0,17%. Среди гепатоцитов 1-й и 2-й экспериментальных групп доля пролиферирующих клеток была также невелика – 1,03±0,15% и 1,35±0,50%, соответственно. В 3-й экспериментальной группе обнаружено существенное увеличение числа Ki-67⁺ гепатоцитов – до 5,73±0,35%.

Исследование морфологического состояния печени

На светооптическом уровне печень особей контрольной группы соответствовала возрастной норме (рис. 1 А). В печени животных 1-й экспериментальной группы (рис. 1 В) обнаружены проявления мелкокапельной жировой дистрофии, умеренное расширение синусоидов, отек стромы, некроз и апоптоз единичных гепатоцитов (рис. 2 А).

В печени особей 2-й экспериментальной группы наблюдали белковую дистрофию гепатоцитов и очаговую клеточную инфильтрацию по ходу синусоидов (рис. 1 С).

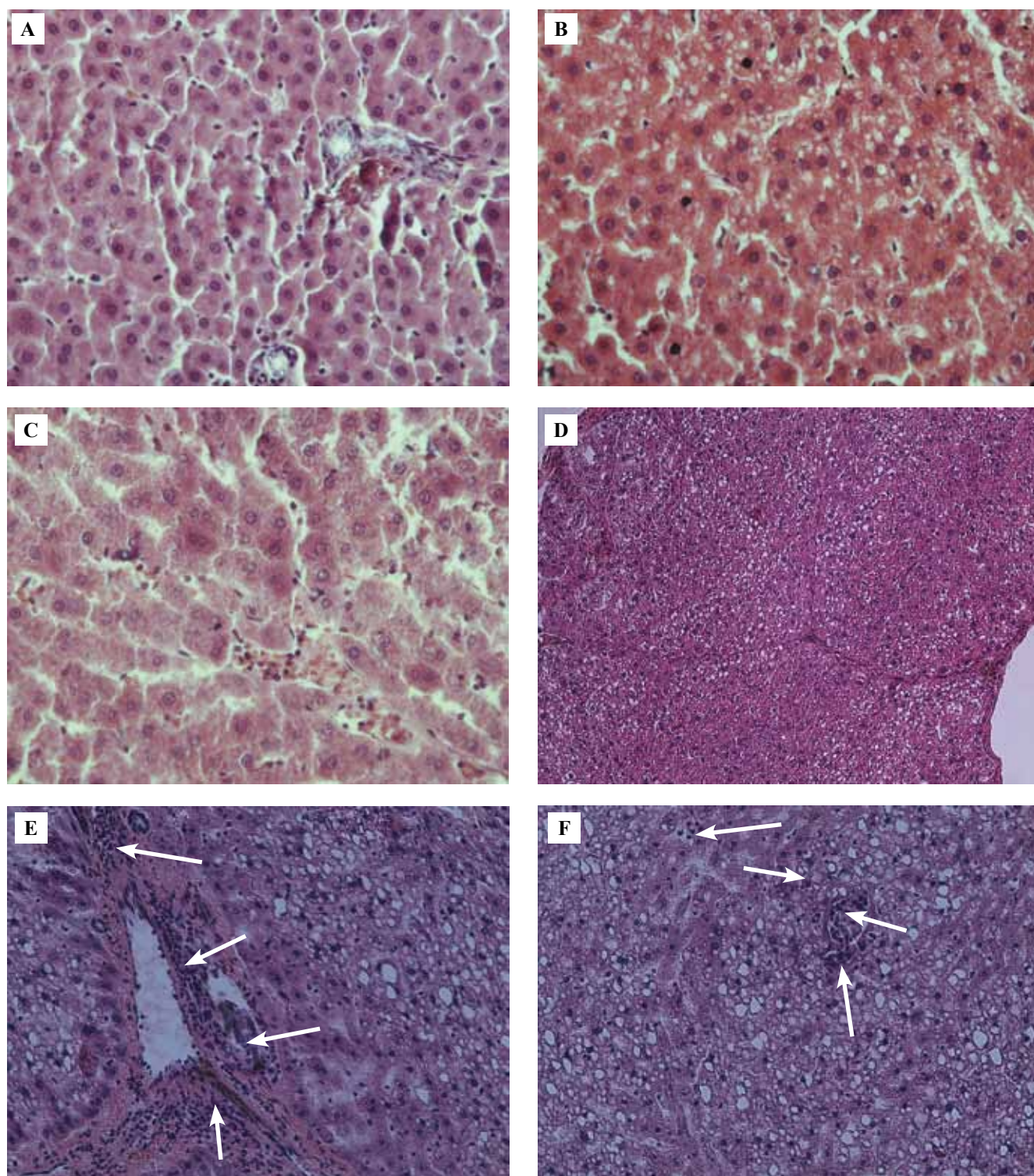


Рис. 1. Печень крыс. А – контрольная группа, В – 1-я экспериментальная группа, С – 2-я экспериментальная группа, D, E, F – 3-я экспериментальная группа, стрелками указаны скопления воспалительного инфильтрата. G – печень крыс 3-й экспериментальной группы, стрелками обозначены тельца Мэллори–Денка. H – скопления липофуцина в гепатоцитах крыс 3-й экспериментальной группы. Окраска гематоксилином и эозином. А, В, С, E, F, G, H $\times 400$, D $\times 200$

Fig. 1. Liver of rats. A – control group, B – experimental group 1, C – experimental group 2, D, E, F – experimental group 3, arrows show the accumulations of inflammatory infiltrate. G – livers of rats of experimental group 3, arrows indicate the Mallory–Denk bodies, H – lipofuscin aggregates in hepatocytes of rats of experimental group 3. H&E stain. A, B, C, E, F, G, H $\times 400$, D $\times 200$

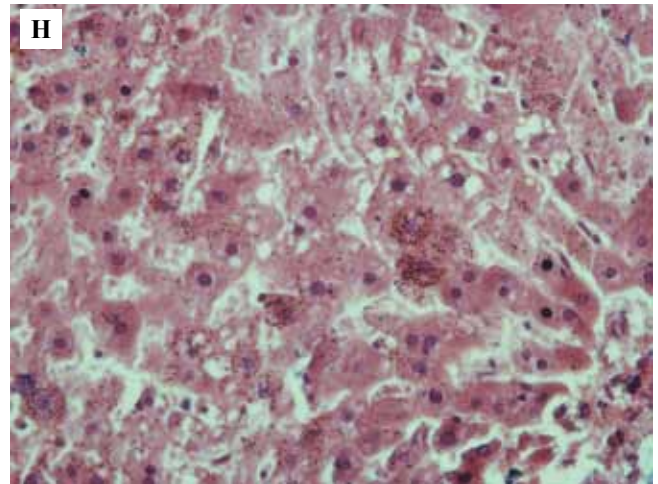
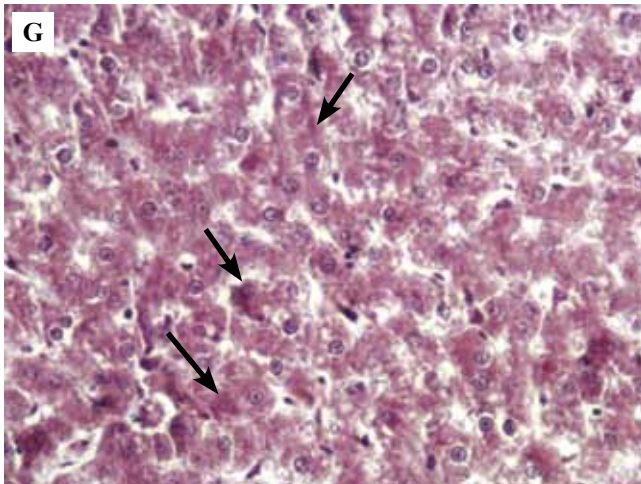


Рис. 1 (окончание)
Fig. 1 (end)

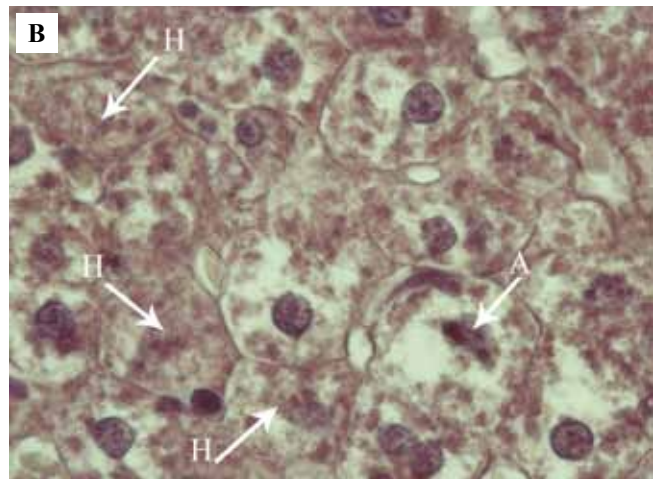
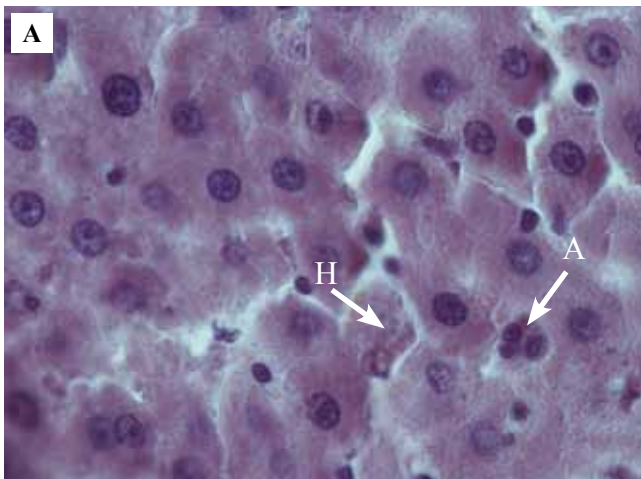


Рис. 2. Печень крыс. А – 1-я экспериментальная группа, В – 3-я экспериментальная группа. Стрелками обозначены клетки в состоянии апоптоза (А), некроза (Н). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 1000$
Fig. 2. Liver of rats. А – experimental group 1, В – experimental group 2. Arrows indicate cells in the state of apoptosis (А), necrosis (Н). H&E staining, $\times 1000$

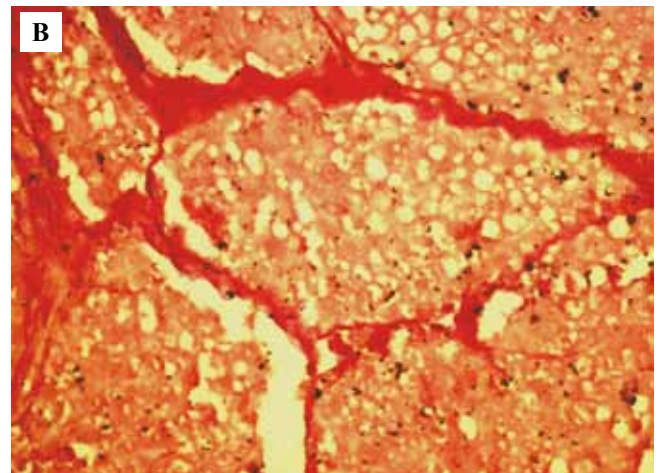
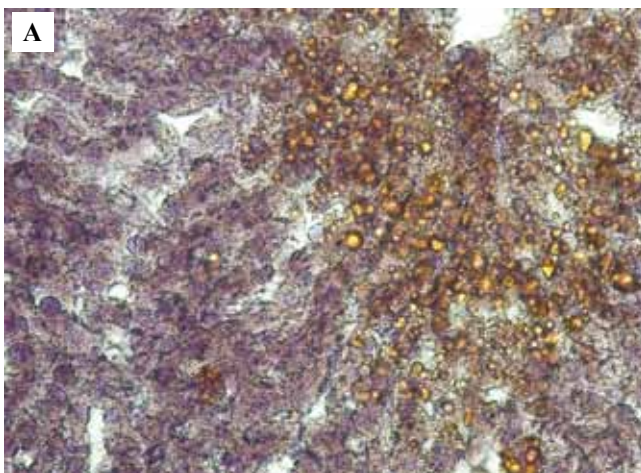


Рис. 3. А – липидосодержащие вакуоли в клетках печени животных 3-й экспериментальной группы. Окраска суданом-III с докраской гематоксилином, $\times 200$. В – ложная долька, образованная прослойками соединительной ткани в печени животных 3-й экспериментальной группы. Окраска пикрофуксином по ван Гизону–Фуше, $\times 200$
Fig. 3. А – lipid-containing vacuoles in the liver cells of animals of experimental group 3. Sudan III staining with hematoxylin after stain, $\times 200$. В – false lobule formed with connective tissue layers in the livers of animals of experimental group 3. Van Gieson–Fouchet picrofuchsin staining, $\times 200$

В половине случаев в печени крыс 3-й экспериментальной группы обнаружены очаговая, а местами распространенная мелко- и крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (рис. 1 D), дисконфракция печеночных балок, инфильтрация портальных трактов нейтрофильными лейкоцитами и макрофагами (рис. 1 E, F). В другой части случаев выявлены гепатоциты, содержавшие в цитоплазме включения липофусцина (15% случаев) и тельца Мэллори–Денка (10% случаев) (рис. 1 G, H), многочисленные некротизированные клетки, а также гепатоциты, находившиеся в состоянии апоптоза (рис. 2 B). В двух наблюдениях отметили преобладание мелко- и крупнокапельной жировой дистрофии (рис. 3 A), нарушение балочного строения печени с появлением мелких узлов-регенератов, разделенных узкими прослойками соединительной ткани (рис. 3 B).

Обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что алкогольная интоксикация в течение 3 недель в условиях фиксированного светового режима обусловила реализацию комплекса стереотипных морфологических изменений в паренхиме печени. Сущность и особенности альтеративных и эксудативных проявлений и механизм токсического воздействия этанола и его метаболитов на структуры печени подробно изложены в работах В.С. Паукова и его учеников [2]. В то же время воздействие этанола не вызвало существенных изменений большинства исследованных микроморфометрических параметров гепатоцитов, что связано, по-видимому, с его непродолжительным воздействием на печень. Вместе с тем доля двуядерных гепатоцитов в данной экспериментальной группе была наибольшей, что может быть расценено в качестве предтечи инициации пролиферативной реакции в органе.

В печени крыс 2-й экспериментальной группы обнаружены существенные отклонения отдельных показателей от значений контрольной группы (увеличение площади и объема гепатоцитов, диаметров ядер и т.д.), а также уменьшение плоидности и снижение доли двуядерных клеток. Есть мнение, что в отдельных случаях это наблюдается при снижении интенсивности пролиферативных процессов [16]. Темновая депривация также сопровождается отсутствием многих эффектов мелатонина. Если в условиях стандартного светового режима мелатонин обладает способностью активировать пролиферацию гепатоцитов за счет ингибирования IKK α , JNK1 и cJUN (c-Jun N-terminal kinases), угнетающих митотическую и апоптотическую активность [17], то в отсутствие эпифизарного мелатонина наблюдается их резкое снижение [18]. Известно, что одним из эффектов мелатонина является увеличение плоидности и доли двуядерных гепатоцитов [19, 20], а эпифизэктомия снижает интенсивность пролиферации в печени после ее частичной резекции [21].

Увеличение площади и объема гепатоцитов обычно связывают с повышением уровня гормонов стресса. Стимуляция α 1-адренорецепторов увеличивает ядерный объем гепатоцитов и плотность ядрышек вследствие высвобождения внутриклеточного Ca²⁺ и последующей активации ДНК-полимеразы. Помимо этого эндотоксины и ФНО α увеличивают объем гепатоцитов за счет активации сигнальных путей и задержки Na⁺ и воды [22, 23].

Набухание гепатоцитов увеличивает экскрецию желчи и имеет гепатопротективный эффект [24], вызывает анаболический ответ, считается своеобразным триггером, запускающим подавление пролиферации при регенерации клеток печени [25].

Развитие мелкокапельной жировой дистрофии в гепатоцитах при стрессе коррелирует с продолжительностью стрессорного воздействия [26, 27], ассоциируется с повышением уровня гормонов коры надпочечников, в первую очередь глюкокортикоидов, что вызывает усиление экспрессии серотониновых рецепторов 5-HT_{2A} и 5-HT_{2B}, триптофангидроксилазы 1 и синтеза серотонина [28]. Накопление гепатоцитами липидных капель при стрессе сопровождается усилением экспрессии генов липолиза и β -окисления жирных кислот [29, 30].

Увеличение среднего диаметра ядер при одновременном уменьшении их индекса удлинённости и тенденции к увеличению размеров свидетельствует о развитии паранекроза [31, 32].

В гепатоцитах крыс 3-й экспериментальной группы отклонения величин исследованных кариометрических параметров (уменьшение площади поперечного сечения, периметра и объема ядра, снижение ЯЦО, а также отношения объема ядра к площади, рост доли двуядерных гепатоцитов) от показателей контроля носят более выраженный характер. Вместе с тем снижение индекса контура на фоне возросшего коэффициента формы очевидно свидетельствует о большей выраженности альтеративных процессов вследствие кумуляции токсического воздействия этанола и его метаболитов в результате отсутствия мелатонин-ассоциированных эффектов [33].

В то же время в гепатоцитах животных данной группы имеет место существенное увеличение экспрессии Ki-67, что свидетельствует об интенсификации пролиферативного процесса.

Заключение

Анализ патоморфологических изменений печени позволил установить, что совместное влияние двух факторов – постоянного освещения и алкогольной интоксикации в течение 3 недель вызывает выраженные альтеративные изменения в структуре органа у всех животных.

Токсическое воздействие этанола и его метаболитов в условиях стандартного фиксированного светового режима приводит к развитию альтеративных (жировая дистрофия, некроз гепатоцитов), эксудативных (рас-

стройства кровообращения, отек) и пролиферативных (увеличение доли двуядерных гепатоцитов) изменений, наблюдаемых у 70% животных. Алкогольная интоксикация, реализующаяся на фоне дефицита мелатонина, вызванного постоянным освещением, сопровождается значительно большей выраженностью, распространенностью, интенсивностью воспалительных тканевых реакций и разнообразием проявлений патологии печени у всех животных. В этих условиях понимание сущности моделированной патологии открывает перспективы как этиотропного лечения, так и патогенетического таргетирования.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Ю.А. Кириллов, Д.А. Арешидзе

Сбор и обработка материала – М.А. Козлова, Л.А. Макарецца, И.А. Чернов.

Написание текста – М.А. Козлова.

Редактирование – Ю.А. Кириллов, Д.А. Арешидзе.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – Yu.A. Kirillov, D.A. Areshidze.

Collected the data and performed the analysis – M.A. Kozlova, L.A. Makartseva, I.A. Chernov.

Wrote the paper – M.A. Kozlova.

Edited the manuscript – Yu.A. Kirillov, D.A. Areshidze.

Литература/References

1. Лебедева-Несебря Н.А., Жданова-Заплевичко И.Г., Рерке В.И., Барг А.О. Потребление алкоголя как фактор риска здоровью населения: обзор российских исследований. Анализ риска здоровью. 2017;4:147–160. DOI: 10.21668/health.risk/2017.4.15. Lebedeva-Nesevrya NA, Zhdanova-Zaplevichko IG, Rerke VI, Barg AO. Alcohol consumption as a factor causing risks for population health (Russian research review). Health Risk Analysis. 2017;4:147–160 (In Russ.). DOI: 10.21668/health.risk/2017.4.15.
2. Пауков В.С., Ерохин Ю.А. Патологическая анатомия алкогольной болезни. Альманах клинической медицины. 2020;48(2):84–93. DOI: 10.18786/2072-0505-2020-48-015. Paukov VS, Erokhin Yu.A. The pathological anatomy of alcoholic disease. Almanac of Clinical Medicine. 2020;48(2):84–93 (In Russ.). DOI: 10.18786/2072-0505-2020-48-015.
3. Арушанян Э.Б. Мелатонин и деятельность печени. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018;81(11):32–37. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-11-32-37. Arushanyan EB. Melatonin and liver activity. Experimental and Clinical Pharmacology. 2018;81(11):32–37 (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-11-32-37.
4. Majidinia M, Reiter RJ, Shakouri SK, Mohebbi I, Rastegar M, Kaviani M et al. The multiple functions of melatonin in regenerative medicine. Ageing Res Rev. 2018;45:33–52. DOI: 10.1016/j.arr.2018.04.003.
5. Fárková E, Schneider J, Šmotek M, Bakštein E, Herlesová J, Koprřivová J et al. Weight loss in conservative treatment of obesity in women is associated with physical activity and circadian phenotype: A longitudinal observational study. Biopsychosoc Med. 2019;13:24. DOI: 10.1186/s13030-019-0163-2.
6. Kovanen L, Saarikoski ST, Haukka J, Pirkola S, Aromaa A, Lönnqvist J et al. Circadian clock gene polymorphisms in alcohol use disorders and alcohol consumption. Alcohol Alcohol. 2010;45(4):303–11. DOI: 10.1093/alcal/agq035.
7. Hasler BP, Soehner AM, Clark DB. Sleep and circadian contributions to adolescent alcohol use disorder. Alcohol. 2015;49(4):377–87. DOI: 10.1016/j.alcohol.2014.06.010.
8. Seggio JA, Fixaris MC, Reed JD, Logan RW, Rosenwasser AM. Chronic ethanol intake alters circadian phase shifting and free-running period in mice. J Biol Rhythms. 2009;24(4):304–12. DOI: 10.1177/0748730409338449.
9. Junatas KL, Tonar Z, Kubíková T, Liška V, Pálek R, Mik P et al. Stereological analysis of size and density of hepatocytes in the porcine liver. J Anat. 2017;230(4):575–88. DOI: 10.1111/joa.12585.
10. Автандилов Г.Г. Диагностическая медицинская плоидометрия: Учебное пособие. Москва: Медицина, 2006. 191 с. Avtandilov GG Diagnostic medical ploidyometry: Tutorial. Moscow: Medicina, 2006. 191 p. (In Russ.).
11. Legland D, Arganda-Carreras I, Andrey P. MorphoLibJ: Integrated library and plugins for mathematical morphology with ImageJ. Bioinformatics. 2016;32(22):3532–4. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw413.
12. Soille P. Morphological image analysis: Principles and applications. 2nd ed. Berlin: Springer Science & Business Media, 2013. 392 p. DOI:10.1007/978-3-662-05088-0.
13. Худоевков Р.М. Методы компьютерной морфометрии в нейроморфологии: Учебное пособие. Москва: ФГБУ НЦН РАМН, 2014. 53 с. Khudoerkov RM. Methods of computer morphometry in neuro-morphology: Tutorial. Moscow: Scientific Center of Neurology of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014. 53 p. (In Russ.)
14. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: Учебное пособие. Москва: Медицина, 2002. 240 с. Avtandilov GG. Fundamentals of Quantitative Pathological Anatomy: Tutorial. Moscow: Medicina, 2002. 240 p. (In Russ.)
15. Smitha T, Sharada P, Girish H. Morphometry of the basal cell layer of oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma using computer-aided image analysis. J Oral Maxillofac Pathol. 2011;15(1):26–33. DOI: 10.4103/0973-029X.80034.
16. Miyaoka Y, Ebato K, Kato H, Arakawa S, Shimizu S, Miyajima A. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. Curr Biol. 2012;22(13):1166–75. DOI:10.1016/j.cub.2012.05.016.
17. Stiegler P, Bausys A, Leber B, Strupas K, Schemmer P. Impact of melatonin in solid organ transplantation – is it time for clinical trials? A comprehensive review. Int J Mol Sci. 2018;19(11):3509. DOI:10.3390/ijms19113509.
18. Liang R, Nickkholgh A, Hoffmann K, Kern M, Schneider H, Sobirey M et al. Melatonin protects from hepatic reperfusion injury through inhibition of IKK and JNK pathways and modification of cell proliferation. J Pineal Res. 2009;46(1):8–14. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2008.00596.x.
19. Zavodnik LB, Zavodnik IB, Lapshina EA, Belonovskaya EB, Martinchik DI, Kravchuk RI et al. Protective effects of melatonin against carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats. Cell Biochem Funct. 2005;23(5):353–9. DOI: 10.1002/cbf.1160.

20. *Mathes AM*. Hepatoprotective actions of melatonin: possible mediation by melatonin receptors. *World J Gastroenterol*. 2010;16(48):6087–97. DOI: 10.3748/wjg.v16.i48.6087.
21. *Abbasoglu O, Berker M, Ayhan A, Palaoglu S, Sayek I*. The effect of the pineal gland on liver regeneration in rats. *J Hepatol*. 1995;23(5):578–81. DOI: 10.1016/0168-8278(95)80065-4.
22. *Wilkinson PD, Duncan AW*. Differential roles for diploid and polyploid hepatocytes in acute and chronic liver injury. *Semin Liver Dis*. 2020;41(1):42–9. DOI: 10.1055/s-0040-1719175.
23. *Kobayashi T, Saito Y, Ohtake Y, Maruko A, Yamamoto Y, Yamamoto F et al*. Effect of aging on norepinephrine-related proliferative response in primary cultured periportal and perivenous hepatocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;303(7):G861–9. DOI: 10.1152/ajpgi.00081.2012.
24. *Häussinger D, Graf D, Weiergräber O.H*. Glutamine and cell signaling in liver. *J Nutr*. 2001;131(9 Suppl):2509S–14S; discussion 2523S–4S. DOI:10.1093/jn/131.9.2509S.
25. *Bardeck N, Paluschinski M, Castoldi M, Luedde T, Häussinger D, vom Dahl S et al*. Liver cell swelling leads to upregulation of miR-141-3p in perfused rat liver and primary rat hepatocytes. *Z Gastroenterol*. 2021;59(01):1–16. DOI: 10.1055/s-0040-1721965.
26. *Lang F*. Mechanisms and significance of cell volume regulation. *J Am Coll Nutr*. 2007;26(5 Suppl):613S–623S. DOI: 10.1080/07315724.2007.10719667.
27. *Corona-Pérez A, Díaz-Muñoz M, Rodríguez IS, Cuevas E, Martínez-Gómez M, Castelán et al*. High sucrose intake ameliorates the accumulation of hepatic triacylglycerol promoted by restraint stress in young rats. *Lipids*. 2015;50(11):1103–13. DOI: 10.1007/s11745-015-4066-0.
28. *Vásquez B, Sandoval C, Smith RL, del Sol M*. Effects of early and late adverse experiences on morphological characteristics of Sprague–Dawley rat liver subjected to stress during adulthood. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(8):4627–35. PMID: 25197335.
29. *Fu J, Ma S, Li X, An S, Li T, Guo K et al*. Long-term stress with hyperglucocorticoidemia-induced hepatic steatosis with VLDL overproduction is dependent on both 5-HT2 receptor and 5-HT synthesis in liver. *Int J Biol Sci*. 2016;12(2):219–34. DOI: 10.7150/ijbs.13062.
30. *Konstandi M, Shah YM, Matsubara T, Gonzalez FJ*. Role of PPAR α and HNF4 α in stress-mediated alterations in lipid homeostasis. *PLoS One*. 2013;8(8):e70675. DOI: 10.1371/journal.pone.0070675.
31. *Schott MB, Rasineni K, Weller SG, Schulze RJ, Sletten AC, Casey CA et al*. β -Adrenergic induction of lipolysis in hepatocytes is inhibited by ethanol exposure. *J Biol Chem*. 2017;292(28):11815–28. DOI: 10.1074/jbc.M117.777748.
32. *Rodrigues FM, Adélio JI, Santana VO, De Marco Ornelas E, de Souza RR, Cardoso CG et al*. Physical exercise alters hepatic morphology of low-density lipoprotein receptor knockout ovariectomized mice. *Med Mol Morphol*. 2019;52(1):15–22. DOI: 10.1007/s00795-018-0198-7.
33. *Tsomaia K, Patarashvili L, Karumidze N, Bebiashvili I, Azmaipharashvili E, Modebadze I et al*. Liver structural transformation after partial hepatectomy and repeated partial hepatectomy in rats: A renewed view on liver regeneration. *World J Gastroenterol*. 2020;26(27):3899–916. DOI: 10.3748/wjg.v26.i27.3899.

Информация об авторах

Юрий Александрович Кириллов – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Мария Александровна Козлова – научный сотрудник лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Людмила Андреевна Макарецва – младший научный сотрудник лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Игорь Алексеевич Чернов – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины Тюменского ГМУ.

Давид Александрович Арешидзе – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией патологии клетки НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химической биологии физиологически активных соединений Института проблем химической физики РАН.

Author information

Yuri A. Kirillov – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology. <https://orcid.org/0000-0003-3555-0902>

Maria A. Kozlova – Researcher, Laboratory of Cell Pathology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology. <https://orcid.org/0000-0001-6251-2560>

Lyudmila A. Makartseva – Junior Researcher, Laboratory of Cell Pathology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology. <https://orcid.org/0000-0002-1882-8848>

Igor A. Chernov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Tyumen State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-6475-5731>

David A. Areshidze – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; Leading Researcher of the Laboratory of Physicochemical Biology of Physiologically Active Compounds, Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences. <https://orcid.org/0000-0003-3006-6281>