

© К. И. Панченко, А. К. Панченко, Д. В. Сухов, 2014
УДК 616.831.018:613.81-099

К. И. Панченко, А. К. Панченко и Д. В. Сухов

СВЯЗЬ СТЕПЕНИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ЭТАНОЛА В КРОВИ И МОЧЕ

Кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины с правоведением (зав. — проф. К. И. Панченко),
Институт последипломного образования, Ярославская государственная медицинская академия

Проведен регрессионный анализ связей между изменениями гистологических структур головного мозга (нейронов, нейроглии и микрососудов) и степенью отравления этанолом (по данным о концентрации спирта в крови и моче). Материал получен от 40 трупов мужчин и женщин в возрасте от 20 и 81 года. Показано, что уменьшение диаметра микрососудов в коре больших полушарий мозга и мозжечка и увеличение его в белом веществе, увеличение количества сосудов со стазом, астроцитов с зернистостью цитоплазмы и различных признаков отёка мозга, а также уменьшения количества отростков астроцитов и способности эритроцитов в зоне стаза окрашиваться глицинкрезоловым красным, коррелируют со средней квадратической концентрацией этанола (СККЭ) в крови и моче. Это даёт возможность оценить этот показатель при гистологическом исследовании мозга. Наоборот, зная СККЭ, можно судить о наличии определённых гистологических изменений в мозгу.

Ключевые слова: *головной мозг, микрососуды, нейроны, нейроглия, отравление этанолом*

Актуальность исследования поражения ЦНС этанолом не вызывает сомнения [4]. В настоящее время в судебно-медицинской практике для оценки отравления этанолом (ОЭ) используют газохроматографический метод, с помощью которого определяют концентрации этанола, как правило, в двух биологических жидкостях: крови и моче. Однако на практике в утверждённой методике при оценке степени ОЭ учитывается только концентрация этанола в крови (КЭК). Однако вывод о степени ОЭ только по КЭК, без учета концентрации этанола в моче (КЭМ) и внутренних органах, не может быть достоверным [1].

Ряд исследователей [5, 6] определили отделы головного мозга, наиболее чувствительные к алкоголеми, причём отмечены изменения как серого, так и белого вещества, выражающиеся в уменьшении количества нейронов, изменении их формы, увеличении количества олигодендроцитов, изменении нейрно-глиальных отношений. Выявлена связь гистологических изменений в головном мозгу человека с КЭК и КЭМ, и установлена возможность их оценки [2], а также — общего показателя концентраций с точностью до 2%, что позволяет судить об ОЭ даже в случаях, в которых кровь и мочу не исследовали [3]. Однако этот показатель имеет в 1,5 раза более длинную шкалу, чем привычная КЭК, что может дезориентировать исследователей. Кроме того,

он состоит из множителей и обращается в 0, если один из них имеет такое значение, хотя другой — может быть значимым, что ведёт к потере информации. Этим недостатком не имеет показатель, представляющий собой среднее квадратическое из КЭК и КЭМ (СККЭ). Всё же решающее значение в выборе любого аналитического решения остаётся за морфологической практикой.

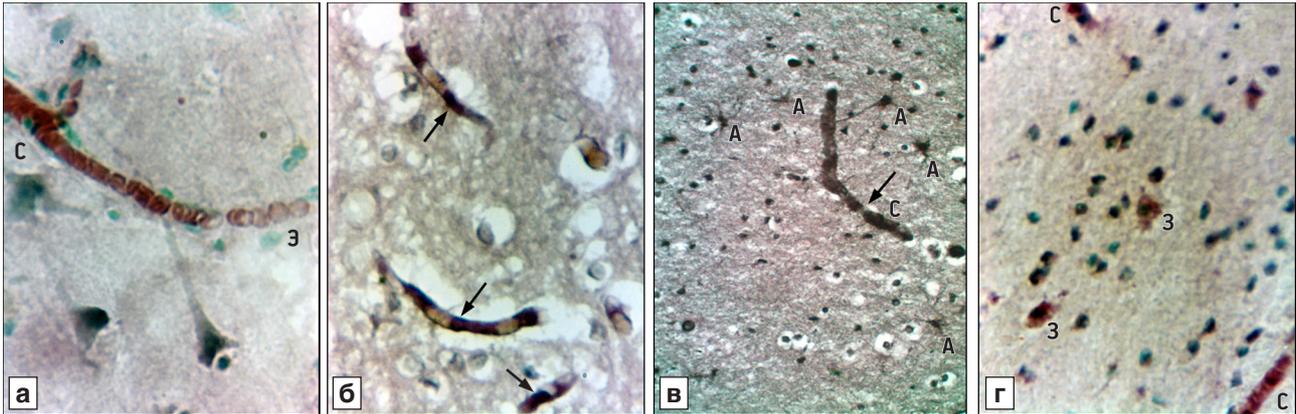
Целью настоящей работы явилось исследование силы связи между морфологическими изменениями мозга и показателем СККЭ, для улучшения степени оценки ОЭ и нахождения её новых предикторов.

Материал и методы. Нами использован материал от 40 трупов людей (10 женщин и 30 мужчин) в возрасте от 20 до 81 года (49 ± 1) через 12–48 ч после их смерти, полученный в Рыбинском межрайонном отделении Ярославского бюро судебно-медицинской экспертизы. КЭК варьировала от 0 до 6‰ ($1,30 \pm 0,15\%$), а КЭМ — от 0 до 6,9‰ ($1,89 \pm 0,19\%$). Кусочки мозга были взяты из различных его отделов: кора из предцентральной извилины большого мозга с субкортикальным белым веществом, гиппокампа и мозжечка (всего 160 кусочков). В случаях с тяжёлыми очаговыми изменениями материал брали из отделов, не вовлечённых в процесс. Кусочки фиксировали в нейтральном формалине, а криостатные срезы окрашивали глицинкрезоловым красным (рисунок).

Нужно иметь в виду, что практически все люди, погибающие в состоянии алкогольного опьянения, употребляли алкоголь длительно. Это может отражаться на морфологических изменениях в мозгу и затруднять оценку изменений,

Сведения об авторах:

Панченко Константин Иванович (e-mail: K-I-Panchenko@yandex.ru), Панченко Анна Константиновна (e-mail: iovin@yandex.ru), Сухов Дмитрий Викторович (e-mail: avner6246@rambler.ru), кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины с правоведением, Ярославская государственная медицинская академия, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5



Большой мозг людей, злоупотреблявших алкоголем.

а — эритроциты (Э) и их сладж (С) в капилляре, переходящем слева в венулу, в коре большого мозга; б — сладж эритроцитов (не контурируются) в венулах (стрелки) в белом веществе, периваскулярный, перичеселлюлярный и тканевый отёк; в — сладж (С) в венуле (стрелка), волокнистые астроциты (А) и олигодендроглициты в белом веществе; г — сладж (С) в венуле, зернистые астроциты (З), олигодендроглициты в основном без отёка в белом веществе. Окраска глицинкрезоловым красным — метиловым зеленым. а, б, г — об.40, ок.10; в — об.20, ок.10

возникших от последнего приёма. Однако хорошо известно, что печень — такой же орган-мишень для этанола, как и мозг. Её жировая дистрофия развивается быстро у всех злоупотребляющих алкоголем. Поэтому исследовали также печень. Срезы кусочков печени, залитых в парафин, окрашивали гематоксилином — эозином. При микроскопии изменения печени оценивали в баллах: 1 — жировая дистрофия гепатоцитов практически отсутствует; 2 — гепатоциты с жировой дистрофией занимают менее 50% поля зрения; 3 — гепатоцитов с жировой дистрофией более 50% в поле зрения; 4 — определяется цирроз печени. При микроскопии ткани головного мозга для обработки данных с помощью программы ImageScore Color (система цифровой фотовидеомикроскопии) была создана цифровая база данных микрофотографий всех исследуемых отделов (до 10 микрофотоснимков каждого отдела). С помощью программы ImageTool 3.0 (на микрофотографиях) в трех полях зрения микроскопа (об.40, ок.7) в белом веществе подсчитывали астроциты с различным количеством отростков, зернистые астроциты (амебонидные с зернистостью цитоплазмы) и олигодендроглициты как без отека, так с перичеселлюлярным отеком, как с хроматолизом (просветлением) ядер, так и без него. Оценивали наличие и характер отека белого вещества, присваивая баллы от 1 до 3 (1 — мелковакуолярный, 2 — периваскулярный, 3 — крупновокуолярный). При исследовании серого вещества мозга в поле зрения микроскопа подсчитывали количество микрососудов с признаками стаза (слипшиеся эритроциты заполняют весь просвет расширенного сосуда). В слое V коры большого мозга, гиппокампе и мозжечка в слое клеток Пуркинье считали количество картин нейронофагии. Кроме того, во всех препаратах определяли окраску сладжей (склеенных эритроцитов) в зоне стазов (коды: отсутствие стазов — 100, только красные — 101, желтые и красные — 102, только желтые — 103). Находили максимальный диаметр микрососудов отдельно в коре большого мозга и белом веществе. Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты исследования. Определена регрессия связей для показателя СККЭ: $R=0,78$; скорректированный коэффициент детерминации $RI=0,58$; $F(9,150)=26$; $P<0,00000$; стандартная ошибка (с \bar{x}) регрессии=1,46 (табл. 1).

Уравнение регрессии для СККЭ:

$$Y=2,15-0,04 \times X_1-0,67 \times X_2-0,65 \times X_3+0,23 \times X_4+0,65 \times X_5+0,32 \times X_6+0,41 \times X_7-0,12 \times X_8+0,10 \times X_9,$$

где Y — СККЭ (%), X_1 – X_9 — показатели, перечисленные в левом столбце табл. 2, начиная с возраста, коэффициенты при них — в столбце В.

Программа учла 2 фактора (возраст и поражение печени). Включение их с отрицательным знаком свидетельствует о том, что, чем они больше, тем меньше требуется концентрация этанола для достижения определённого набора гистологических изменений в мозгу. В судебно-медицинской практике они не всегда известны гистологу. Поэтому мы смоделировали такую ситуацию, исключив их из анализа. Регрессия связей для показателя СККЭ изменилась: $R=0,72$; скорректированный коэффициент детерминации $RI=0,51$; $F(6,153)=28$; $P<0,00000$; стандартная ошибка (с \bar{x}) регрессии=1,6 (см. табл. 2).

Уравнение регрессии для СККЭ:

$$Y=-29,67-0,65 \times X_1-0,03 \times X_2+0,36 \times X_3+0,36 \times X_4+0,29 \times X_5+0,40 \times X_6,$$

где Y — СККЭ (%), X_1 — X_9 — показатели, перечисленные в левом столбце табл. 2, начиная с А6, коэффициенты при них — в столбце В. Так как программой были использованы отчасти другие показатели, итоговые параметры ухудшились не существенно. Чуть снизился коэффициент детерминации и возросла ошибка, зато количество предикторов уменьшилось до 6. Следует отметить, что ни в одно из уравнений не вошло количество картин нейронофагии, которая входила в регрессию объединённого показателя ОЭ, но в данном случае оказалась избыточной информацией. Мы не обнаружили никаких значимых изменений ней-

Таблица 1

Регрессия связей варианты СККЭ

Показатели	β	$m\beta$	B	mB	t(152)	P<
Свободный член			2,15	0,93	2,32	0,02
Возраст, года	-0,22	0,05	-0,04	0,01	-4,06	8E-05
Поражение печени, баллы	-0,32	0,06	-0,67	0,13	-5,11	1E-06
Количество А6	-0,12	0,05	-0,65	0,29	-2,27	0,02
Количество ООХЯ	0,23	0,07	0,23	0,07	3,05	0,003
Количество ЗА	0,37	0,08	0,65	0,15	4,33	3E-05
Количество МССК	0,35	0,06	0,32	0,05	5,94	2E-08
МТОБ, баллы	0,12	0,05	0,41	0,18	2,23	0,03
МДМСК, мкм	-0,12	0,06	-0,12	0,06	-2,12	0,04
МДМСБ, мкм	0,14	0,05	0,10	0,04	2,58	0,01

Примечание. Здесь и в табл. 2: А6 — астроциты с числом отростков, равным или больше 6; ООХЯ — олигодендроциты с перичеллюлярным отеком и хроматолизом ядра; ЗА — зернистые астроциты; МССК — микрососуды со стазом в коре мозга; МТОБ — межтканевый отек белого вещества; МДМСК и МДМСБ — максимальный диаметр микрососудов, соответственно, коры и белого вещества мозга.

Таблица 2

Регрессия связей варианты СККЭ без учёта возраста и поражения печени

Показатели	β	$m\beta$	B	mB	t(153)	P<
Свободный член			-29,67	13,18	-2,25	0,03
Количество А6	-0,12	0,06	-0,65	0,31	-2,10	0,04
Количество ОБОХЯ	-0,18	0,08	-0,03	0,01	-2,42	0,02
Количество ООХЯ	0,36	0,08	0,36	0,08	4,39	2E-05
Количество ЗА	0,20	0,08	0,36	0,15	2,45	0,02
Окраска стазов (коды)	0,13	0,06	0,29	0,13	2,24	0,03
Количество МССК	0,43	0,07	0,40	0,06	6,36	2E-09

Примечание. ОБОХЯ — олигодендроциты без перичеллюлярного отека и хроматолиза (просветления) ядра.

ронов, связанных с различиями в концентрациях этанола в крови и моче.

Обсуждение полученных данных. Учитывая β -коэффициенты и t-критерии, СККЭ прямо пропорционально связано с признаками нарушения микроциркуляции в мозгу (количеством микрососудов со стазом в сером веществе, тканевым отеком и числом олигодендроцитов с перичеллюлярным отеком и хроматолизом ядра в белом веществе) и количеством зернистых астроцитов, а обратно пропорционально количеству астроцитов с числом отростков больше шести и олигодендроцитов без отека. Зернистость цитоплазмы клетки раньше считали лёгкой дистрофией, а теперь — признаком усиленного обмена. Потеря отростков астроцитов возможно является повреждением. Изменения микроциркуляции (различные проявления отека) и повреждение глиоцитов отмечены и другими исследователями [5, 6]. Отсутствие данных о связи поражения нейронов с концентрациями этанола в организме также согласуется с результатами, полученными

другими исследователями [7], которые в эксперименте выявили обратимость изменений в нервной системе после однократного тяжёлого запоя. Нами обнаружены 2 новых факта: 1) расширение микрососудов в белом и сужение их в сером веществе, т. е. перераспределение кровотока, которое объективно предохраняет кору мозга от действия токсического агента, но способствует её гипоксии; 2) изменение тинкториальных свойств эритроцитов (окраски их глицинкрезоловым красным) в зоне стазов, что, учитывая свойства комплексонометрического индикатора, по-видимому, связано с гипоксией, следовательно, к метаболической гипоксии, которой в основном объясняется повреждающее действие этанола, может добавляться механическая (ухудшение кровоснабжения). Таким образом, состояние микрососудов и глиоцитов головного мозга позволяет оценить показатель СККЭ (среднее квадратическое концентраций этанола в биологических жидкостях) и, наоборот, зная СККЭ, можно судить о наличии определённых гистологических изменений в мозгу. Обнаружение их даёт возможность более

объективно оценить степень ОЭ, чем только по концентрации этанола в крови, полученной при судебно-химическом исследовании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Капустин А.В., Панфиленко О.А. и Серебрякова В.Г. Пособие для врачей судебно-медицинских экспертов: судебно-медицинская диагностика острых смертельных отравлений алкоголем. М., изд. РЦСМЭ, 2005.
2. Панченко А.К., Сухов Д.В. и Панченко К.И. Идентификация этанольной интоксикации по трансформации нервных клеток и нейроглии. Информатика и системы управления, 2010, т. 24, № 2, с. 146–149.
3. Панченко К.И., Панченко А.К., Сухов Д.В. и Ромодановский П.О. Экспертная оценка отравления этанолом по концентрации его в крови и моче с учётом трансформации ткани мозга. Мед. экспертиза и право, 2013, № 6, с. 16–18.
4. Пиголкин Ю.И., Морозов Ю.Е. и Мамедов В.К. Судебно-медицинская диагностика острой и хронической алкогольной интоксикации. Суд.-мед. эксперт., 2012, т. 54, № 1, с. 30–33.
5. Дробленков А.В. и Карелина Н.Р. Усиление запрограммированной гибели и дегенеративные изменения нейронов мезокортико-лимбической дофаминергической системы как возможная причина врожденной алкогольной зависимости. Морфология, 2012, т. 141, вып. 1, с. 16–22.
6. Hayes D. M. Determining the Threshold for Alcohol-Induced Brain Damage: New Evidence with Gliosis Markers. Alcohol Clin. Exp. Res., 2013, v. 37, № 3, p. 425–434.
7. Zahr N.M., Mayer D., Rohlfing T. et al. Brain injury and recovery following binge ethanol: evidence from in vivo magnetic

resonance spectroscopy. Biol. Psychiatry, 2010, v. 67, № 9, p. 846–854.

Поступила в редакцию 21.05.2014
Получена после доработки 22.07.2014

THE RELATIONSHIP OF THE DEGREE OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BRAIN WITH THE ETHANOL CONCENTRATIONS IN BLOOD AND URINE

K.I.Panchenko, A.K.Panchenko and D.V.Sukhov

Regression analysis was performed to detect the relationship between the changes in the histological structures of the brain (neurons, glial cells and microvessels) and the degree of ethanol poisoning (according to the data of alcohol concentration in the blood and urine). The material was obtained from 40 bodies of men and women aged between 20–81 years. It was shown that the reduction of the diameter of microvessels in the cerebral and cerebellar hemisphere cortex and its increase in the white matter, together with the increased number of blood vessels with the stasis, of astrocytes demonstrating cytoplasmic granularity and of various signs of brain edema, as well as the reduction in the number of processes of astrocytes and the stainability of red blood cells in the zone of stasis with glycine cresyl red, correlated with the root mean square ethanol concentration (RMSEC) in the blood and urine. These results give the opportunity to assess this index during the histological examination of the brain. On the contrary, knowing RMSEC, it is possible to evaluate the presence of certain histological changes in the brain.

Key words: *brain, microvessels, neurons, neuroglia, ethanol poisoning*

Department of Pathological Anatomy with the Course of Forensic Medicine and Medical Law; Institute of Postgraduate Education, Yaroslavl' State Medical Academy