



УДК 615.099.08 : 616/24-044
ББК 28.07

СОДРУЖЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВЕГЕТАТИВНЫХ ГАНГЛИЕВ И РЕСПИРАТОРНЫХ ОТДЕЛОВ ЛЕГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

Волков Александр Владимирович

Кандидат медицинских наук, начальник неврологического отделения
госпиталя МСЧ ГУВД по Волгоградской области
avlavolk@ Rambler.ru
ул. Безымянная, 2, 400107 г. Волгоград, Российская Федерация

Аннотация. В работе рассматриваются морфологические изменения в паренхиме легких и парасимпатических ганглиях, иннервирующих этот орган, в динамике хронической алкогольной интоксикации, вызванной принудительным пероральным потреблением этанола у крыс Вистар. Количественными морфологическими доказательствами повреждения паренхимы легких стали прогрессирующее уменьшение воздушности легких, поверхностной плотности бронхиального эпителия бронхов и альвеоцитов, увеличение численной плотности бронхиальных и альвеолярных макрофагов. В парасимпатических ганглиях легких в те же сроки прогрессивно уменьшались объемная доля и численная плотность нейронов, изменялись характеристики нейронов при радиальной морфометрии, увеличивались численная плотность сателлитов и коэффициент сателлиты/нейрон. Общая потеря нейронов в ганглиях достигала к 60-м суткам эксперимента 7 %, одновременно в ганглиях обнаруживались признаки компенсаторных реакций. Указанные особенности могут частично объяснить механизмы формирования патологии органов дыхания на поздних стадиях алкогольной болезни.

Ключевые слова: этанол, хроническая алкоголизация, легкие, вегетативные ганглии, морфология, крыса.

Хорошо известно, что алкогольная болезнь относится к полиорганной патологии, для которой поражения печени, почек, сердца и головного мозга традиционно считаются основными и патогенетически связанными с действием этанола и/или токсических веществ, образующихся в организме при его утилизации. Патология органов дыхания в структуре причин алкоголь-зависимой смерти стоит далеко не на первом месте, уступая по частоте травмам, заболеваниям сердца и почек [4; 7; 11].

Непосредственными причинами смерти в этом случае являются в основном пневмонии, тогда как о роли прямого токсического поражения ткани легких или нарушениях регуляции, выявленной в эксперименте [3; 5; 6], обычно не упоминается. Учитывая тот факт, что алкоголь обладает нейротропным свойством, логично предположить, что вегетативный аппарат легких также может принимать участие в развитии алкогольного поражения легких.

Цель исследования

Целью исследования является изучение морфологических изменений в бронхах, респираторных отделах и вегетативных ганглиях легких, а также их возможного взаимного влияния в эксперименте у крыс в условиях хронического принудительного потребления этанола.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на нелинейных крысах-самцах массой 180–240 грамм. У 12 животных опытной группы производили принудительную алкоголизацию пероральными дозами этанола (1 мл/кг в сутки) в течение 30 суток ($n = 6$) и 60 суток ($n = 6$), шесть крыс все это время находились в обычных условиях вивария без каких-либо манипуляций. Выведение животных из эксперимента производили передозировкой Золетила (150 мг/кг массы). После эвтаназии легкие выделяли совместно с прикорневыми тканями, чтобы получить по два блока: классический для изучения паренхимы органов, и блок, содержащий висцеральные ганглии. Материал фиксировали в 10%-м растворе формалина, после уплотнения заливали в парафин. Срезы с первого блока, представленные паренхимой легких, окрашивали гематоксилином и эозином. Со второго блока получали до 100 серийных срезов толщиной 5–7 мкм, ориентированных перпендикулярно оси ворот органа. Использовали окраски гематоксилином и эозином по Нисслю для визуализации вегетативных ганглиев легких. Микрофото съемку проводили на микроскопе БИММ Р-13 [Ломо (Ленинградское оптико-механическое объединение-производитель), Россия] с цифровой камерой ТК-С620Е JVC (Japan). Количественное морфологическое исследование осуществляли с использованием компьютерно-аппаратного комплекса Видеотест-Морфо 3.0 (г. Санкт-Петербург, Россия) в соответствии с принципами морфометрии.

Для легких определяли объемную долю воздуха альвеол (%), поверхностную плотность эпителиоцитов бронхов и альвеолоцитов ($1/\text{мм}^2$), численную плотность бронхиальных и альвеолярных макрофагов ($1/\text{мм}^3$). В висцеральных ганглиях рассчитывали объемную

долю нейронов (%), средний объем их ядер (мкм^3), численную плотность нейронов и сателлитов ($1/\text{мм}^3$) с расчетом коэффициента сателлиты/нейрон, а также общую потерю нейронов (%). На срезах, окрашенных по Нисслю, определяли степень повреждения нейронов в баллах, с учетом наличия клеток с различной степенью повреждения [10].

Классическую количественную морфологию дополняли радиальной морфометрией с помощью программы Radiana [1]. В качестве окончательных показателей использовали коэффициенты, характеризующие графическую функцию распределения тинкториальной плотности перикариона: I_m – максимальная интенсивность окраски в кольцевой зоне (усл. ед.); R – расстояние от центра ядрышка до зоны с I_m (мкм); K_S – отношение площадей под графиком при сечении через точку I_m ; V_m – максимальная вариабельность интенсивности по секторам (усл. ед.).

Математическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc., USA). Для анализа различий между выборками использовали критерий Манна – Уитни [2].

Результаты исследования и их обсуждение

Во всех образцах ткани легких животных опытной группы обнаруживали признаки хронического повреждения, воспаления и компенсаторных процессов в легочной ткани. Бронхиальная стенка была повреждена в меньшей степени, основные изменения обнаруживались в респираторных отделах легких. Часть альвеол была эмфизематозно расширена, другие – с уменьшенным просветом за счет значительного увеличения объема межальвеолярных перегородок, которые были отечны, полнокровны, с признаками повреждения эпителия и скоплениями альвеолярных макрофагов. К 60-м суткам эксперимента в легких обнаруживались начальные признаки заместительного фиброза.

Показатели морфометрии ткани легких приведены в таблице 1.

Поверхностная плотность эпителиоцитов в легких крыс в результате алкоголизации снижалась к 30-м суткам незначительно, к 60-м сут-

кам – в 1,22 раза ($P < 0,05$). Численная плотность бронхиальных МФ, напротив, имела к 60-м суткам эксперимента максимальное значение, когда превышала аналогичные величины в контрольной группе в 1,6 раза ($P < 0,01$). Принудительная алкоголизация сопровождалась значительным снижением воздушности легочной ткани, так что к 60-м суткам эксперимента величина показателя оказывалась в 1,44 ниже, чем у животных контрольной группы. Поверхностная плотность клеток альвеолярного эпителия к 30-м суткам снижалась в 1,24 раза, к 60-м суткам – в 1,35 раза ($P < 0,05$). Численная плотность альвеолярных макрофагов, в противовес этому, возрастала: на 30-е сутки – в 2,41 раза ($P < 0,01$), на 60-е сутки – в 2,90 раза ($P < 0,01$).

Вегетативные (парасимпатические) ганглии легких обнаруживались в виде трех-пяти скоплений с каждой стороны, из которых два

были наиболее крупными и содержали до 15–35 нейронов на поперечных срезах. Они располагались дорсальнее главного бронха (перибронхиальный узел) и каудальнее главного бронха вокруг легочной артерии и одноименных вен (перивазальный ганглий). На 30-е сутки эксперимента в опытной группе крыс обнаруживались проявления нейротоксичности в виде перинеуронального отека, латерализации ядер нейронов, сателлитоза и частичного невролиза. Повсеместно также наблюдали повреждение нервных проводников, ассоциированных с ганлиями, в виде утолщения и нарушения упорядоченности хода нервных волокон. К 60-м суткам эксперимента в скоплениях нейронов явления интенсивности повреждения нарастали, но, наряду с этим, выявлялись отдельные гипертрофированные перикарионы с хорошо структурированной цитоплазмой и большим ядром, в ряде случаев – двоядерные. Это было расценено как про-

Таблица 1

Показатели количественной морфологии тканей легких при хронической алкоголизации крыс ($M \pm m$)

Морфометрические показатели	Контроль	Алкоголизация	
		30 суток	60 суток
Поверхностная плотность эпителиоцитов бронхов, $1/\text{мм}^2$	$7\ 834 \pm 390,2$	$7\ 294 \pm 357,2$	$6\ 408 \pm 363,5^*$
Численная плотность бронхиальных макрофагов, $1/\text{мм}^3$	420 ± 23	$494 \pm 31,8^*$	$674 \pm 40,7^*$
Объемная доля воздуха альвеол, %	$63,6 \pm 2,9$	$50,4 \pm 2,52^*$	$44,1 \pm 2,26^*$
Поверхностная плотность альвеоцитов, $1/\text{мм}^2$	$6\ 934 \pm 327$	$5\ 602 \pm 218,1^*$	$5\ 153 \pm 196,7^*$
Численная плотность альвеолярных макрофагов, $1/\text{мм}^3$	175 ± 11	$422 \pm 25,8^*$	$507 \pm 31,5^*$

Примечание. * – достоверные различия между группами ($P < 0,05$).

Таблица 2

Показатели количественной морфологии вегетативных ганглиев легких при хронической алкоголизации крыс ($M \pm m$)

Морфометрические показатели	Контроль	Алкоголизация	
		30 суток	60 суток
Объемная доля нейронов в ганглии, %	$8,5 \pm 0,60$	$7,7 \pm 0,58$	$6,3 \pm 0,53^*$
Численная плотность нейронов в $1\ \text{мм}^3$	$365 \pm 18,1$	$349 \pm 16,3$	$311 \pm 13,4^*$
Средний объем ядер нейронов, мкм^3	$573,2 \pm 30,3$	$453,8 \pm 26,5$	$441,7 \pm 25,9$
Степень повреждения нейронов в баллах	$1,1 \pm 0,08$	$9,5 \pm 0,67^*$	$18,2 \pm 1,32^*$
Общая потеря нейронов, %	0	$4,4 \pm 0,32^*$	$6,9 \pm 0,44^*$
Численная плотность сателлитов в $1\ \text{мм}^3$	$1\ 496 \pm 97,3$	$2\ 059 \pm 117,2^*$	$2\ 176 \pm 121,9^*$
Коэффициент сателлиты/нейрон	$4,1 \pm 0,33$	$5,9 \pm 0,42^*$	$6,4 \pm 0,39^*$

Примечание. * – достоверные различия между группами ($P < 0,05$).

явление компенсаторно-приспособительных процессов в интрамуральном вегетативном аппарате легких.

При количественном исследовании изменения оказывались еще более отчетливыми. Данные представлены в таблице 2.

При классическом морфометрическом анализе выявляли, прежде всего, прогрессирующее уменьшение нейронов в вегетативных ганглиях легких. За 60 суток принудительной алкоголизации объемная доля нейронов уменьшилась в 1,35 раза ($P < 0,01$), численная плотность нейронов – в 1,16 раза ($P < 0,05$). О повреждении нейронов свидетельствовало также уменьшение средних размеров их ядер. Степень повреждения нейронов к 30-м суткам эксперимента достигала почти 10 баллов (легкое повреждение), к 60-м суткам – 18 (близкое к умеренному повреждению). Соответственно расчет общей потери нейронов указывал на гибель примерно 6,9 % клеток за все время эксперимента. Повреждение и гибель нейронов сопровождалось ярко выраженной глиальной реакцией: число сателлитов возросло к 60-м суткам эксперимента почти в 1,5 раза ($P < 0,05$), численный коэффициент сателлиты/нейрон – в 1,56 раза ($P < 0,01$).

Значительные изменения были выявлены и при радиальной морфометрии нейронов (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют о принципиальных изменениях внутриклеточной организации нейронов вегетативных ганглиев легких по мере алкоголизации лабораторных животных.

С учетом известных литературных данных о роли нейроглии как компенсирующего компонента при токсическом повреждении ней-

ронов [3; 6; 12], следует заключить, что у лабораторных животных в условиях алкоголизации развивалось достаточно раннее повреждение вегетативного компонента регуляции легких. Основным механизмом тканевого повреждения в этом случае является, скорее всего, инициализации свободно-радикального окисления и генерации оксида азота сосудистым эндотелием малого круга кровообращения [8; 9]. Это может, наряду с прямыми токсическими эффектами этанола и ацетальдегида на ткани органа, явиться существенным фактором в формировании алкогольного поражения легких.

Заключение

При хроническом поступлении этанола в организм, на фоне типичных токсических изменений в паренхиме легких, развиваются прогрессирующие изменения висцеральных ганглиев легких. Они выражаются в повреждении и нейронов и внутриганглионарных нервных проводников с потерей до 7 % клеток, а также выраженной глиальной реакции на это повреждение. Указанные особенности могут частично объяснить механизмы формирования патологии органов дыхания на поздних стадиях алкогольной болезни. Одним из информативных методов оценки токсического повреждения вегетативных ганглиев является радиальная морфометрия перикарионов их нейронов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горячев, А. Н. Радиальная морфометрия: возможности оценки токсического повреждения нейронов вегетативных ганглиев / А. Н. Горячев,

Таблица 3

Показатели радиальной морфометрии вегетативных ганглиев легких при хронической алкоголизации крыс ($M \pm m$)

Морфометрические показатели	Контроль	Алкоголизация	
		30 суток	60 суток
I_m , усл. ед.	12,8 ± 0,69	9,1 ± 0,58	8,5 ± 0,53 *
R , мкм	5,5 ± 0,29	4,7 ± 0,37	4,4 ± 0,33
K_S	1,59 ± 0,10	1,28 ± 0,07 *	1,13 ± 0,08 *
V_m , усл. ед.	13,2 ± 0,76	9,5 ± 0,67 *	8,3 ± 0,55 *

Примечание. * – достоверные различия между группами ($P < 0,05$).

Д. А. Соснин, В. В. Новочадов // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области. – 2005. – № 1. – С. 43–44.

2. Новиков, Д. А. Статистические методы в экспериментальной биологии и медицине / Д. А. Новиков, В. В. Новочадов. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2005. – 84 с.

3. Новочадов, В. В. Вегетативная дисрегуляция как компонент пато- и морфогенеза хронического эндотоксикоза / В. В. Новочадов, В. Б. Писарев, В. И. Фролов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2004. – № 10. – С. 7–11.

4. Фаршатов, Р. С. Некоторые биохимические параметры крови у больных острой алкогольной интоксикацией и их связь с выраженностью гипоксии / Р. С. Фаршатов, Р. Н. Кильдебекова, А. И. Савлюков // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 8. – С. 61–62.

5. Фролов, Д. М. Структурные изменения в легких при аэрозольном поступлении в организм липополисахарида, диспергированного в гидрофобной и водной фазе / Д. М. Фролов, А. Ю. Алексеенко, В. В. Новочадов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 10-2. – С. 345–348.

6. Block, M. L. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms / M. L. Block, L. Zecca, J. S. Hong // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2007. – Vol. 8, № 1. – P. 57–69.

7. Crabb, D. W. Overview of the role of alcohol and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology / D. W. Crabb, M. Matsumoto, D. Chang, M. You // *Proc. Nutr. Soc.* – 2004. – Vol. 63, № 4. – P. 49–63.

8. Das, S. K. Long term ethanol consumption leads to lung tissue oxidative stress and injury / S. K. Das, S. Mukherjee // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2010. – Vol. 3, № 6. – P. 414–420.

9. Koss, W. A. Effects of ethanol during adolescence on the number of neurons and glia in the medial prefrontal cortex and basolateral amygdala of adult male and female rats / W. A. Koss, R. N. Sadowski, L. K. Sherrill [et al.] // *Brain Res.* – 2012. – Iss. 1466. – P. 24–32.

10. Klionsky, D. J. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy / D. J. Klionsky, F. C. Abdalla, H. Abeliovich [et al.] // *Autophagy.* – 2012. – Vol. 8, № 4. – P. 445–544.

11. Lucas, D. L. Alcohol and the cardiovascular system research challenges and opportunities / D. L. Lucas, R. A. Brown, M. Wassef [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2005. – Vol. 45, № 12. – P. 1919–1940.

12. Taner, D. Neuroprotective Agents: is effective on toxicity in glial cells? / D. Taner, Y. Ozlem, T. Dilek, P. Gonul // *Cell. Mol. Neurobiology.* – 2007. – Vol. 27, № 2. – P. 171–177.

1. Goryachev A.N., Sosnin D.A., Novochadov V.V. Radialnaya morfometriya: vozmozhnosti otsenki toksicheskogo povrezhdeniya neyronov vegetativnykh gangliov [Radial Morphometry: Possibilities of Estimating the Toxic Injury of Neurons in Autonomic Ganglia]. *Byulleten Volgogradskogo nauchnogo tsentra RAMN i Administratsii Volgogradskoy oblasti*, 2005, no. 1, pp. 43-44.

2. Novikov D.A., Novochadov V.V. Statisticheskie metody v eksperimentalnoy biologii i meditsine [Statistical Methods in Experimental Biology and Medicine]. *Volgograd, VolgGMU Publ.*, 2005. 84 p.

3. Novochadov V.V., Pisarev V.B., Frolov V.I. Vegetativnaya dizregulyatsiya kak komponent pato- i morfogeneza khronicheskogo endotoksikoza [Autonomic Disregulation as a Component of Patho- and Morphogenesis of Chronic Endogenous Intoxication]. *Vestnik Volgogradskogo Gosudarstvennogo medicinskogo Universiteta*. 2004, no. 10, pp. 7-11.

4. Farshatov R.S., Kildebekova R.N., Savlyukov A.I. Nekotorye biokhimicheskie parametry krovi u bolnykh ostroy alkoholnoy intoksikatsiyey i ikh svyaz s vyrazhennostyu gipoksii [Some Biochemical Parameters of Blood of Patients with Acute Alcohol Intoxication and Their Connection to Hypoxia Severity]. *Fundamentalnye issledovaniya*, 2009, no. 8, pp. 61-62.

5. Frolov D.M., Alekseenko A.Yu., Novochadov V.V. Strukturnye izmeneniya v legkikh pri aerazolnom postuplenii v organism lipopolisakharida, dispergirovannogo v gidrofobnoy i vodnoy faze [Structural Changes in Lungs in Case of Aerosolic Penetration of Lipopolysaccharide, Dispersed in the Hydrophobic and Water Phase into an Organism]. *Fundamentalnye issledovaniya*, 2012, no. 10 (2), pp. 345-348.

6. Block M.L., Zecca L., Hong J.S. Microglia-Mediated Neurotoxicity: Uncovering the Molecular Mechanisms. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2007, vol. 8, no. 1, pp. 57-69.

7. Crabb D.W., Matsumoto M., Chang D., You M. Overview of the Role of Alcohol and Aldehyde Dehydrogenase and Their Variants in the Genesis of Alcohol-Related Pathology. *Proc. Nutr. Soc.*, 2004, vol. 63, no. 4, pp. 49-63.

8. Das S.K., Mukherjee S. Long Term Ethanol Consumption Leads to Lung Tissue Oxidative Stress and Injury. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2010, vol. 3, no. 6, pp. 414-420.

9. Koss W.A., Sadowski R.N., Sherrill L.K., Gully J.M., Juraska J.M. Effects of Ethanol During Adolescence on the Number of Neurons and Glia in the Medial Prefrontal Cortex and Basolateral Amygdala of Adult Male and Female Rats. *Brain Research*, 2012, iss. 1466, pp. 24-32.

10. Klionsky D.J., Abdalla F.C., Abeliovich H., Abraham R.T., Acevedo-Arozena A., Adeli K. Guidelines for the Use and Interpretation of Assays for Monitoring Autophagy. *Autophagy*, 2012, vol. 8, no. 4, pp. 445–544.

11. Lucas D.L., Brown R.A., Wassef M., Giles T.D. Alcohol and the Cardiovascular System

Research Challenges and Opportunities. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2005, vol. 45, no. 12, pp. 1919-1940.

12. Taner D., Ozlem Y., Dilek T., Gonul P. Neuroprotective Agents: is Effective on Toxicity in Glial Cells? *Cell. Mol. Neurobiology*, 2007, vol. 27, no. 2, pp. 171-177.

RELATED CHANGES OF AUTONOMIC GANGLIA AND RESPIRATORY COMPARTMENTS OF LUNGS IN CASE OF CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION IN EXPERIMENTS WITH RATS

Volkov Aleksandr Vladimirovich

Candidate of Medical Sciences,
Head of Neurology Department, Hospital of Medical Unit
at the Volgograd Department of Internal Affairs
avlavolk@rambler.ru
Bezmyannaya St., 2, 400107 Volgograd, Russian Federation

Abstract. The article deals with description of morphological alterations in lungs and their autonomic ganglia due to chronic alcohol intoxication caused by compulsory ethanol ingesting in Wistar rats. Progressive decrease of air content, superficial density of bronchial and alveolar epithelia, and the increase of quantitative density of bronchial and alveolar macrophages became quantitative morphological evidence of chronic lung injury. At the same time, in autonomic ganglia of lungs the volume fraction and quantitative density of neurons decreased dramatically and the characteristics of neurons in radial morphometry were altered. The quantitative density of glial cells and glia/neuron ratio were increased. The total loss of neurons in ganglia reached 7 % to the 60th day of experiment, the signs of compensatory reactions were revealed simultaneously. These peculiarities can particularly explain the mechanisms of chronic lung pathology in late stages of alcohol disease.

Key words: ethanol, chronic alcohol consumption, lungs, autonomic ganglia, morphology, rat.