

УДК: 612.453.018

## МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МАКРОФАГОВ ПЕЧЕНИ И ЛЕГКИХ У КРЫС ПЕРЕНЕСШИХ ХРОНИЧЕСКИЙ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТРЕСС

Аракелян Г.Г.<sup>1</sup>, Дойдоян Л.С.<sup>2</sup>, Сароян М.Ю.<sup>2</sup>, Худавердян Д.Н.<sup>2</sup>, Торгомян А.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, РФ

<sup>2</sup>ЕГМУ им. М. Гераци, Кафедра физиологии

Получена: 19.12.2020, рецензирована: 14.01.2021, принята: 12.04.2021.

**Ключевые слова:** макрофаг, психоэмоциональный стресс, печень, легкие, иммунитет.

Согласно данным ВОЗ, за последние 50 лет показатели заболеваемости населения различных стран продолжают расти. Причем, предварительный глобальный анализ этих показателей свидетельствует о том, что по сравнению с развитыми странами, где условия проживания населения относительно благоприятны, в странах, население которых находится под постоянным длительным влиянием различных стрессогенных воздействий окружающей среды (социальные потрясения, войны, неблагоприятные бытовые условия и пр.), заболеваемость как взрослого, так и детского населения различными нейро-психическими, эндокринными, сердечно-сосудистыми, онкологическими и инфекционными болезнями значительно выше [4].

В сложной структуре обеспечения защитных реакций организма при действии различных агентов важнейшую роль играет система мононуклеарных фагоцитов, которая включается в защитный механизм на самых ранних стадиях его реализации.

Исследование морфо-функционального состояния системы мононуклеарных фагоцитов в нарушении иммунных механизмов защиты может являться ключевым в понимании причин повышения заболеваемости детского и взрослого населения экономически “неблагоприятных” стран.

Мононуклеарные фагоциты представляют собой большую, широко распространенную и морфологически гетерогенную группу клеток мезодермального происхождения. К этой группе клеток относятся моноциты периферической крови и тканевые макрофаги [2, 5].

Макрофаги – уникальные в человеческом организме клетки. Они являются одним из важнейших звеньев в генерации и регуляции иммунного ответа, который осуществляется посредством синтеза цитокинов и специфического взаимодействия макрофагов с лимфоцитами и фибробластами. С помощью синтеза и высвобождения специфических цитокинов макрофаги контролируют систему комплемента, стимулируют рост лейкоцитов, активируют коагуляционный каскад, являются источником метаболитов арахидоновой кислоты [3].

Механизмы адаптации сложным образом взаимосвязаны и имеют разнонаправленный характер, в этой связи возможны переходы от защитных к разрушительным. Они становятся основой развития патологических процессов, которые зависят от количества, интенсивности и продолжительности действия стрессогенных факторов, а также особенностей организма, предрасположенности к различным патологическим процессам. Стрессовая реакция становится неспецифической причиной многочисленных патологических состояний. Исследование иммунитета на клеточном уровне поможет пролить свет на важные биологические механизмы, лежащие в основе воздействия стресса на здоровье человека.

### Материалы и методы

Исследование было проведено на 20 беспородных крысах-самцах массой 180-200 г (n=10 в каждой группе) до и после воздействия на них хронического психоэмоционального стресса. Животные получали полноценный рацион и были задействованы в экспериментах после 1-2-х недельной адаптации к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20-22°C, что в пределах термонейтральной зоны для крыс. В эксперименте была использована модель психоэмоционального стресса, которая включает сочетанное воздействие двух экзогенных факторов- звукового и светового раздражителей. Параметры экспозиции: звук с мощностью 70 дБ, частотой

### \* АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

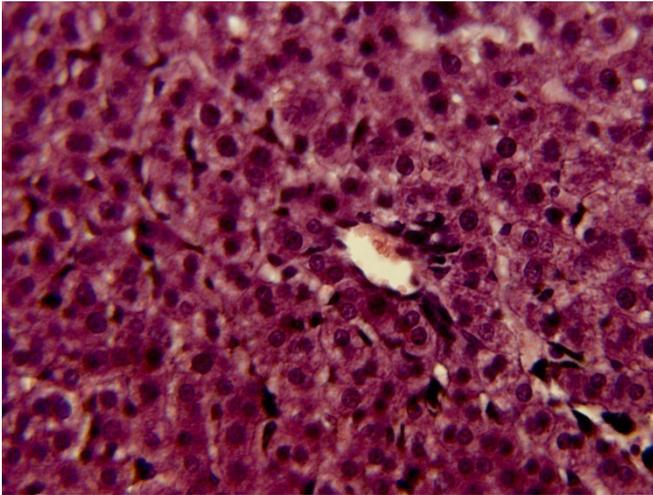
А.Л. Торгомян

ЕГМУ, Кафедра физиологии

Адрес: РА, Ереван, 0025, ул. Корюна 2

Эл. почта: adelinatorgomyan@yahoo.com

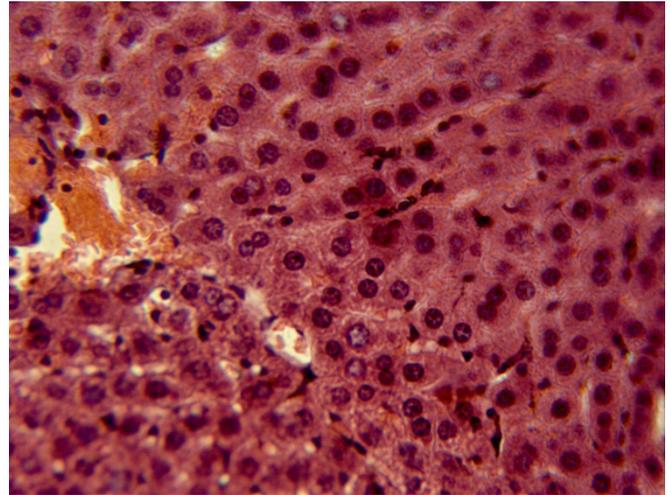
Тел.: (+374) 99 55 74 24



**Рис. 1** Печень, стресс. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.  $\times 400$

4 кГц и свет с частотой 13 Гц, длительностью воздействия 350 сек с интервалами между воздействиями в 15000 сек (6 экспозиций за сутки в течение всей беременности). Подобный выбор экспозиции объясняется тем, что механизмы реализации адаптивных реакций достаточно подробно изучены в случаях воздействия на организм животных и человека какого-либо одного стрессогенного фактора (болевого раздражения, шумового, электрического, светового, иммобилизации и др.), а комбинированное воздействие психоэмоционального стресса на организм, что ближе к условиям повседневной жизни, изучено недостаточно. Выбор светового раздражителя объясняется тем, что крысы более активны в темное время суток, и хроническая световая экспозиция в течение дня и ночи отрицательно влияет на их поведение и психоэмоциональный статус. Длительное хроническое пребывание темноты любивых ночных грызунов на свету и инверсию светового режима следует рассматривать как стрессовые факторы, способные отрицательно воздействовать на различные функциональные системы организма.

Материалом для гистологического исследования являлись кусочки печени и легких. Для выявления макрофагов животным, предварительно, за 1 час до забоя, был внутривенно введен раствор туши (2 мл туши + 2 мл физиологического раствора). Для целей световой микроскопии кусочки органов толщиной не более 0,5-1 см фиксировали в течение 24-х часов в 10% растворе формалина, промывали в проточной воде в течение 12 часов, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации (60-100°) и были залиты в парафин. Срезы были окрашены гематоксилин-эозином, что позволило выявить общую гистоструктуру



**Рис. 2** Печень, стресс. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.  $\times 400$

исследуемых органов и клеточные элементы. Подсчет количества макрофагов производился в 10 полях зрения. Весь цифровой материал, полученный в ходе исследований, статистически обработан с использованием t критерия Стьюдента и программы MS EXCEL. Данное исследование было одобрено Комитетом по этике Ереванского государственного медицинского университета.

### Результаты и их обсуждение

В препаратах печени, окрашенных гематоксилин-эозином, видны крупные треугольные и клиновидные клетки, выпячивающиеся в просвет капилляра, иногда они имеют отростки, выступающие в просвет капилляра. Периферическая часть синусов представлена непрерывной эндотелиальной выстилкой с подлежащей базальной мембраной. В промежуточной части между соседними эндотелиальными клетками имеются просветы. Соседние эндотелиальные клетки могут соединяться друг с другом с помощью десмосом, в то время как купферовские клетки не соединяются десмосомами; базальная мембрана, подстилающая эндотелиальные клетки, часто не выявляется под купферовскими клетками. Купферовские клетки – это крупные клетки с низким ядерно-цитоплазматическим отношением, на поверхности имеются многочисленные пальцевидные и клапанообразные псевдоподии. Клетки более многочисленны на периферии печеночных долек.

Исследование количества макрофагов у крыс, перенесших хронический психоэмоциональный стресс, обнаружило их меньшую численность (рис. 1, табл. 1), чем в контрольной группе (рис. 3), кроме этого наблю-

Таблица 1

Количество макрофагов печени и легких

	Количество макрофагов печени (M±m) (y. ед.)	Количество макрофагов легких (M±m) (y. ед.)
Контроль	10,6 ± 0,86	11,0 ± 2,03
Стресс	8,1±0,31 P<0,05	1,1±0,4 P<0,05

дается расширение сосудов внутри долек (синусоидальных капилляров и вен системы печеночной вены) и их переполнение кровью, а также нарушения балочной структуры паренхимы (рис. 2).

Данные изменения свидетельствуют об увеличении кровотока в печени при хроническом стрессе.

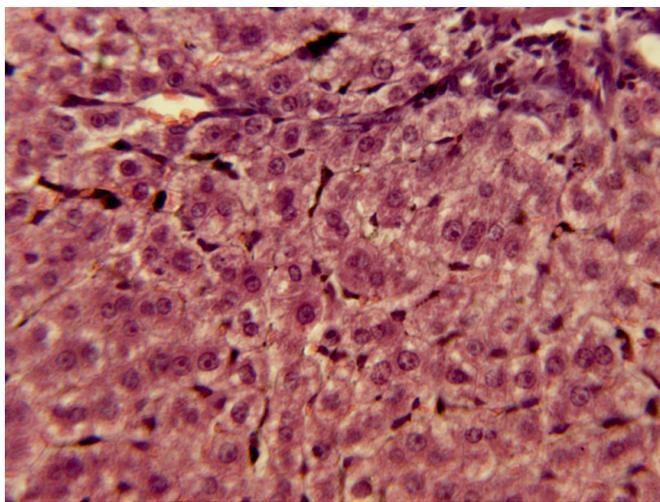
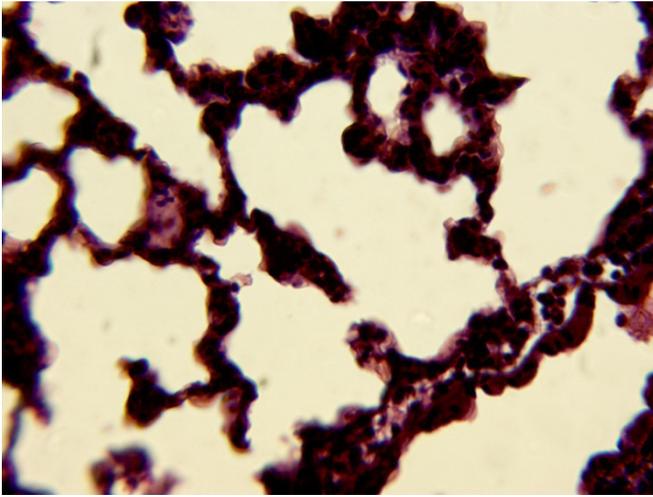


Рис. 3 Печень, контроль. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×400

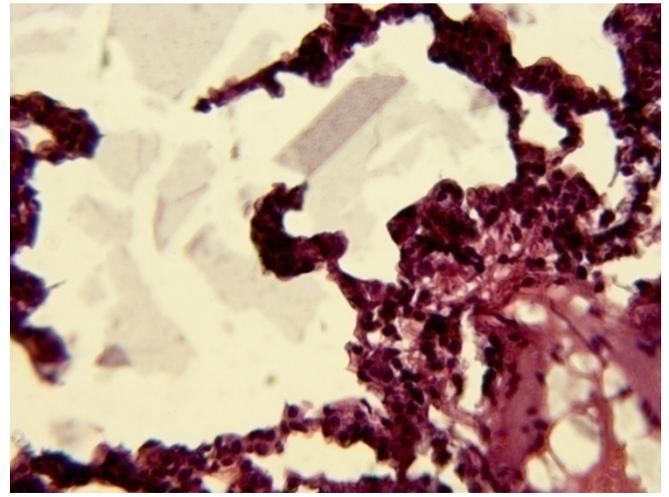
Альвеолярные макрофаги играют очень важную роль в поддержании специфического и неспецифического иммунитета легких. Стенка альвеолы выстлана тонкими эпителиальными клетками (пневмоциты I типа). Кроме того, здесь можно видеть многочисленные кубические клетки, которые могут иметь диаметр 20 мкм и более. Некоторые из них являются пневмоцитами II типа, другие - истинными макрофагами, которые обладают выраженной фагоцитарной активностью. Большинство макрофагов активно мигрируют в бронхиолы, передвигаясь по поверхности слизистой оболочки за счет мерцания ресничек. Альвеолярные фагоциты могут содержать пигмент гемосидерин (при сердечной недостаточности) или угольную пыль, поэтому их называют «клетками сердечной недостаточности» или «пылевыми клетками». Они содержат умеренное количество гладкой эндоплазматической сети, на поверхности имеют многочисленные отростки и инвагинации. В цитоплазме содержатся лизосомы, в

которых часто обнаруживаются миелоидные фигуры или ферритин. Иногда эти структуры бывают паракристаллическими.

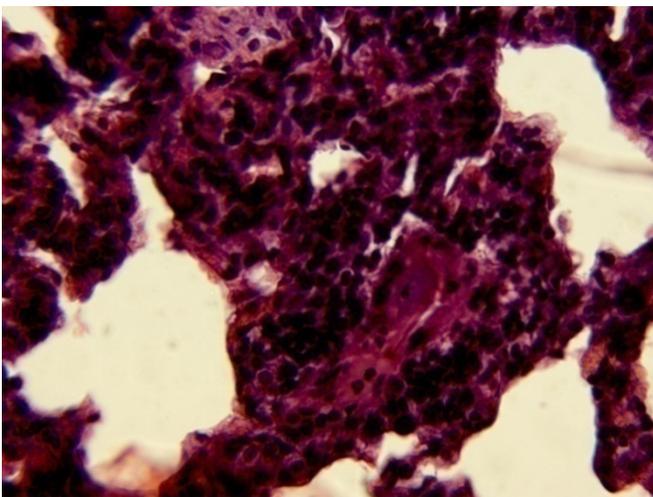
Макрофаги легкого являются клетками с высокой реактивностью, которые регулируют сурфактантный гомеостаз и участвуют в липидном обмене. В ткани легкого макрофаги находятся в интерстициальной соединительной ткани альвеолярной стенки; среди эпителиальных клеток, выстилающих альвеолы; встречаются также свободно мигрирующие клетки в просвете альвеол. Легочные макрофаги делятся на 3 вида. Они различаются как по анатомической локализации, так и по функциям. Наиболее многочисленны альвеолярные макрофаги. Альвеолярные макрофаги представляют собой крупные мононуклеарные фагоцитирующие клетки, находящиеся на поверхности альвеол. Они не включаются в формирование непрерывного эпителиального слоя, который состоит из пневмоцитов типа I и больших альвеолярных клеток (пневмоцитов типа II). Второй вид - это макрофаги дыхательных путей. Они содержатся в бронхах разного калибра. Третий вид - интерстициальные макрофаги, которые располагаются в разных отделах легких, включая стенки альвеол, синусы лимфоузлов, перибронхиальные и периваскулярные пространства. Часть этой разновидности макрофагов находится в контакте с висцеральной плеврой. Макрофаги в препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, характеризуются небольшими размерами, округлой или ветвистой формой, с овальным или почковидным ядром. Число макрофагов зависит от функциональной активности иммунной системы. Так, при исследовании легких, при экспериментальном стрессе у крыс опытной группы отмечается снижение количества макрофагов (рис. 4, табл. 1). Кроме того, отмечается повреждение легочной паренхимы, что проявляется расширением альвеолярных просветов и утолщением межальвеолярных перегородок в результате отека интерстициальной ткани (рис. 5, 6). В контрольной группе таких изменений не наблюдается (рис. 7).



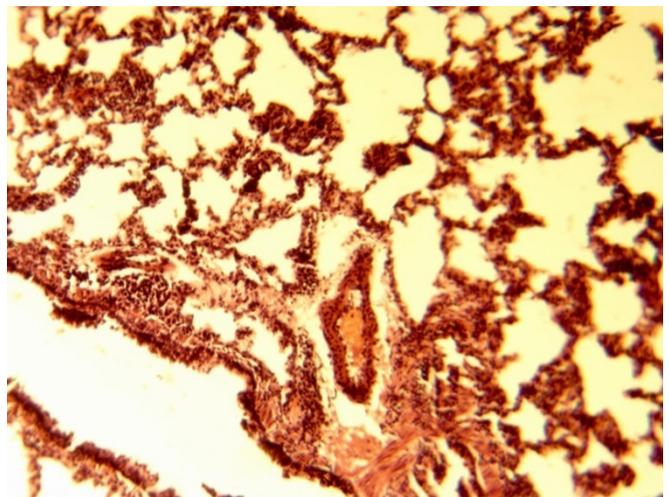
**Рис. 4** Легкое, стресс. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.  $\times 400$



**Рис. 5** Легкое, стресс. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.  $\times 400$



**Рис. 6** Легкое, стресс. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.  $\times 400$



**Рис. 7** Легкое, контроль. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.  $\times 100$

Как известно, клетки системы мононуклеарных фагоцитов являются одним из важных клеточных эффекторов обеспечения резистентности организма, так как они одними из первых взаимодействуют с чужеродным объектом, появившимся в организме, осуществляют контроль за пролиферацией и дифференцировкой гемопоэтических клеток. Макрофаги осуществляют взаимодействие неспецифических и специфических звеньев резистентности организма, являясь источником интерферона, ИЛ-1 и других иммуномодулирующих монокинов, которые способны работать в качестве коммуникационного сигнала между различными популяциями клеток, проникать внутрь клетки, изменяя ее метаболизм [1].

### Заключение

Итак, хроническое действие психо-эмоциональных факторов неблагоприятно влияет на структурно-функ-

циональное состояние паренхим печени и легких.

В печени выявляются расширения синусоидных капилляров и патологические изменения в балочной структуре с разной степенью выраженности.

В легких наблюдается увеличение объемной доли межальвеолярных перегородок в результате развития отека интерстициальной ткани. Нарушения структуры респираторных отделов легких приводит к снижению газообмена. Также, наблюдается снижение количества макрофагов, что свидетельствует о стресс-индуцированном подавлении активности иммунной системы.

Изменения в паренхиме органов предположительно можно объяснить неблагоприятным воздействием симпатической нервной системы и избыточным производством глюкокортикоидов, при которых реакции распада преобладают над реакциями синтеза.

Результаты проведенных экспериментов показа-

ли, что имеет место выраженная тенденция к снижению количества макрофагов в исследуемых органах при хроническом психоэмоциональном стрессе, что свидетельствует о подавлении активности иммунитета у исследуемых животных, которое проявляется снижением количества макрофагов в паренхиме печени и легких. Таким образом, хронический психоэмо-

циональный стресс оказывает пагубное воздействие на “иммунный гомеостаз” печени и легких, снижая не только общее количество макрофагов, но и приводя к различным структурным изменениям паренхимы.

Работа осуществлена при финансовой поддержке ЕГМУ (базовое финансирование).

ЛИТЕРАТУРА

- Cekici A., Kantarci A., Hasturk H., Van Dyke T.E. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol.*, 2000, 2014;64(1):57-80. doi:10.1111/prd.12002
- Gordon S., Plüddemann A. Tissue macrophages: heterogeneity and functions. *BMC Biol.*, 2017;15(1):53. doi:10.1186/s12915-017-0392-4
- Labro M.T. Interference of antibacterial agents with phagocyte functions: Immunomodulation or “Immuno-Fairy Tales”? *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000;13(4):615-650. doi:10.1128/CMR.13.4.615-650.2000
- WHO Bulletin: Issue 87, January-December 2009, Selected Articles and Summary
- Yona S., Gordon S. From the reticuloendothelial to mononuclear phagocyte system. The unaccounted years [Internet]. V. 6, *Frontiers in Immunology*, Frontiers Research Foundation, 2015 [cited 2020 May 13]. p. 328. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26191061>

ԱՍՓՈՓՈՒՄ

ՔՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ՀՈԳԵՅՈՒՉԱԿԱՆ ՍԹՐԵՍԻ ԵՆԹԱՐԿԱԾ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ԵՎ ԹՈՔԵՐԻ ՄԱԿՐՈՖԱԳԵՐԻ ՁԵՎԱԳՈՐԾԱՌՈՒԹԱՅԻՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Առաքելյան Գ. Գ.<sup>1</sup>, Դոյրոյան Լ. Ս.<sup>2</sup>, Սարոյան Մ. Յու.<sup>2</sup>, Խուդավերդյան Դ. Ն.<sup>2</sup>, Թորգոմյան Ա. Լ.<sup>2</sup>

1. Մոսկվայի Մեչենովի անվան առաջին պետական բժշկական համալսարան, Մոսկվա, ՌԴ

2. Երևանի Մ. Զեյնալու անվան պետական բժշկական համալսարանի ֆիզիոլոգիայի ամբիոն, Երևան, Հայաստան

**Բանալի բառեր` մակրոֆագ, հոգեհուզական սթրես, լյարդ, թոքեր, իմունիտետ:**

**Նպատակը:** Ժամանակակից աշխարհում մարդու մարմնի վրա ազդող բացասական գործոնների ամբողջ սպեկտրից սթրեսը նշանակալի տեղ ունի: Այսօր չկա մարդ, որը պարբերաբար չի ենթարկվում սթրեսի վնասակար ազդեցությանը: Սթրեսի կործանարար ազդեցությունը գիտակցելու ուղիներից մեկը մարդու իմունիտետի տարբեր բաղադրիչների փոփոխությունն է:

Ուսումնասիրության նպատակն է մանրադիտակային հետազոտությամբ ուսումնասիրել լյարդի և թոքերի մակրոֆագերի ձևաբանական և գործառնության փոփոխությունները քրոնիկական համակցված սթրեսի ենթարկված առնետների դեպքում, ինչպես նաև պարզել քրոնիկական հոգեհուզական սթրեսի ենթարկված առնետների լյարդի և թոքերի մակրոֆագերի քանակը հսկիչ խմբի համեմատ:

**Նյութերը և մեթոդները:** Ուսումնասիրությունն իրականացվել է 20 ոչ ցեղային առնետների վրա քրոնիկական հոգեհուզական սթրեսի ազդեցությունից առաջ և հետո: Լյարդի և թոքերի կտորներն օգտագործվել են որպես նյութ հյուսվածաբանական հետազոտության համար: Մակրոֆագերը բացահայտելու համար կենդանիներին

սպանդից 1 ժամ առաջ ներարկվել է թանաքի լուծույթ:

**Արդյունքները:** Ուսումնասիրության ընթացքում լյարդի և թոքերի մակրոֆագերում նկատվել են քանակական և որակական տեսանելի փոփոխություններ: Սթրես տանող առնետների լյարդի պարենխիմում նկատվել են սինուսոիդային մազանոթների ընդլայնում և ճառագայթային կառուցվածքի խանգարում: Հայտնաբերվել է նաև մակրոֆագերի քանակի նվազում: Թոքերի պարենխիմում նկատվել է ինտերավելուլային միջնապատերի ծավալի մասնաբաժնի աճ միջաստղային հյուսվածքի այտուցի պատճառով: Թոքերի շնչառական մասերի նման փոփոխությունները, ի վերջո, կարող են հանգեցնել գազերի փոխանակման նվազման, որի հետևանքով առաջանում է շնչառական հիպօքսիա: Թոքերում նույնպես մակրոֆագերի քանակը նվազել է, որը վկայում է սթրեսի արդյունքում իմունային համակարգի գործունեության ճնշման մասին:

**Եզրակացություն:** Այսպիսով, քրոնիկական հոգեհուզական սթրեսը վնասակար ազդեցություն է ունենում լյարդի և թոքերի «իմունային հոմեոստոզի» վրա` նվազեցնելով ոչ միայն մակրոֆագերի ընդհանուր քանակը, այլև հանգեցնելով օրգանների պարենխիմի կառուցվածքային տարբեր փոփոխությունների:

## SUMMARY

**MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF LIVER AND LUNGS MACROPHAGES IN RATS UNDERGOING CHRONIC PSYCHO-EMOTIONAL STRESS**

Arakelyan G.<sup>1</sup>, Doydoyan L.<sup>2</sup>, Saroyan M.<sup>2</sup>, Khudaverdyan D.<sup>2</sup>, Torgomyan A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, the Russian Federation

<sup>2</sup>YSMU, Department of Physiology

**Keywords:** *macrophage, psychoemotional stress, liver, lungs, immune system.*

**Introduction and Objective.** Out of the whole spectrum of negative factors affecting the human body, stress has its permanent and significant place in the modern world. You will no longer meet a person who is not exposed to stress periodically. One of the ways to realize the destructive effect of stress is to change the various components of human immunity.

The objective of this study is to examine morphological and functional changes in the liver and lungs by microscopic examination of these organs in rats exposed to chronic combined stress and determine the number of macrophages in stress-induced parenchyma as compared with the control group.

**Materials and Methods.** The studies were conducted on 20 outbred male rats, before and after their exposure to chronic psycho-emotional stress. Pieces of the liver and lungs were the material for the histological examination. To identify macrophages, the animals were pre-administered with a ink solution for an hour before the euthanasia.

**Results.** Visible quantitative and qualitative changes in the liver and lungs were observed. Chronic psycho-emotional stress action causes the development of stress-induced changes in the liver parenchyma such as expansions of sinusoidal capillaries and parenchyma structure disturbance. In addition, there is immune system suppression by a decrease in macrophages number. In the lungs, stress also induced alterations, such as an increased thickness of inter alveolar septa as a result of the interstitial tissue edema development. Lungs respiratory passages structure disturbance leads to a decrease in gas exchange, and as a result, to respiratory hypoxia. Also, there is a decrease in the number of lung macrophages, which indicates a stress-induced suppression of the immune system activity.

**Conclusion.** Thus, chronic psycho-emotional stress has a detrimental effect on the “immune homeostasis” of the liver and lungs, reducing not only the total number of macrophages, but also leading to various structural changes in the parenchyma.