

## Печень и ее лимфатический регион при воздействиях бенз[а]пирена в эксперименте

Бенз[а]пирен (БаП) — широко распространенный в окружающей среде токсикант, обладающий канцерогенной активностью. БаП подвергается метаболической активации в системе микросомных монооксигеназ печени, а ее регионарные лимфатические узлы выступают в роли периферических фильтров, очищающих образующуюся в печени лимфу. Остается открытым вопрос о значимости интегральной работы печени и лимфатической системы в обеспечении процессов адаптации и резистентности к воздействиям БаП. **Цель исследования:** изучить структурно-метаболические изменения в печени и ее лимфатическом регионе у самцов крыс линии Wistar массой 180–220 г. **Методы:** животным опытной группы (n=20) ежедневно в течение 3 сут проводили инъекции БаП внутривентриально по 2 мг на 100 г веса тела в 0,2–0,3 мл оливкового масла. Крысы контрольной группы (n=20) получали в таком же режиме инъекции оливкового масла. Выполняли морфометрическое исследование светооптических препаратов и электроннограмм печени, морфометрический анализ ее регионарных лимфатических узлов. Об интенсивности перекисного окисления липидов в печени судили по числу диеновых конъюгатов (ДК), кетотриеновых конъюгатов (КТ) и малонового диальдегида (МДА). **Результаты:** при воздействии БаП происходит синхронное увеличение относительной площади печеночных синусоидов и удельной площади синусной системы регионарных лимфатических узлов. На ультраструктурном уровне отмечена дилатация пространств Диссе, заполнение их клеточным детритом пучками коллагеновых волокон. В гепатоцитах обнаружены повреждения ядерного аппарата, баллонообразные расширения профилей гранулярного эндоплазматического ретикулума, наблюдалось конденсирование митохондриального матрикса. В регионарных лимфатических узлах возросли относительные размеры В-зависимых зон и уменьшилась удельная площадь Т-зависимой паракортикальной зоны. Выявлено повышение содержания КТ и МДА в печени. **Заключение:** воздействие бенз[а]пирена приводит к развитию взаимосвязанного каскада реакций в печени и ее лимфатическом регионе: нарушению организации гематолимфатического барьера, изменению корней лимфатической системы в печени, затруднению оттока лимфы от органа. Это способствует развитию тканевой гипоксии и апоптоза, нарушению белковосинтетического и энергетического аппаратов клеток, образованию временных скоплений лимфоидной ткани в печени.

**Ключевые слова:** бенз[а]пирен, печень, пространство Диссе, лимфатические узлы, кетотриеновые конъюгаты, малоновый диальдегид.

(Для цитирования: Мичурина С.В., Бородин Ю.И., Колесников С.И., Ищенко И.Ю., Коненков В.И. Печень и ее лимфатический регион при воздействиях бенз[а]пирена в эксперименте. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (2): 242–248. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1319)

S.V. Michurina<sup>1</sup>, Yu.I. Borodin<sup>1</sup>, S.I. Kolesnikov<sup>2</sup>, I.Yu. Ischenko<sup>1</sup>, V.I. Konenkov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> The Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup> The Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation

## Liver and Its Lymph Region at Benzo[a]pyrene Effects in an Experiment

**Background:** Benzo[a]pyrene (BaP) is the widespread environmental toxicant with carcinogenic activity. BaP undergoes metabolic activation in the liver microsomal monooxygenase system, and its regional lymph nodes act as peripheral filters, purifying lymph formed in the liver. It remains an open question about the significance of the integral liver and lymphatic system work in supporting processes of adaptation and resistance to the BaP effects. **Objective:** The purpose of our investigation was to study structural and metabolic changes in the liver and its lymph region in males Wistar rats weighing 180–220 g. **Methods:** Animals of the experimental group (n=20) daily for 3 days was performed BaP injections: intraperitoneal with 2 mg per 100 g of body weight in 0.2–0.3 ml of olive oil. Rats in the control group (n=20) received in the same mode of injection of olive oil. The light and electron microscopy morphometric study of the liver and its regional lymph nodes morphometric analysis were performed. The intensity of lipid peroxidation in the liver was measured by the number of diene conjugates (DC), ketotriene conjugates (KC) and malondialdehyde (MDA). **Results:** Simultaneous increase of the hepatic sinusoids relative area and the specific area of the regional lymph nodes sinus system under the BaP effect was found. At ultrastructural level dilatation of the Disse spaces, filling of cell detritus and collagen fibers bundles of these spaces were noted. Damage of nuclear apparatus, balloon transformation of granular endoplasmic reticulum profiles were found in hepatocytes, condensation of the mitochondrial matrix was observed. The relative squares of B-dependent zones increased and T-dependent paracortical zone reduced in the regional lymph nodes. The increase in the content of KC and MDA in liver was identified. **Conclusion:** benzo[a]pyrene causes interrelated cascade of reactions in the liver and in its lymphatic region: a disturbance of the blood-lymph barrier morphological organization, and so obstruction of the lymphatic drainage from the organ. These promotes development of tissue hypoxia and apoptosis, protein synthesizing and energy cell apparatus disruptions, formation of lymphoid tissue temporary infiltrates in the liver.

**Key words:** benzo[a]pyrene, liver, the hematic-lymphatic barrier, Disse space, lymph nodes, ketotriene conjugates and malonil dialdehyde.

(For citation: Michurina S.V., Borodin Yu. I., Kolesnikov S.I., Ischenko I.Yu., Konenkov V.I. Liver and Its Lymph Region at Benzo[a]pyrene Effects in an Experiment. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (2): 242–248. Doi: 10.15690/vramn.v70i2.1319)

## Обоснование

Бенз[а]пирен (БаП) — широко распространенный в окружающей среде полициклический ароматический углеводород (ПАУ), обладающий канцерогенной активностью. Основными источниками БаП являются дымы различного происхождения, выхлопы транспорта, табачный дым, пыль, продукты копчения и т.д. [1–3].

БаП, как гидрофобный ксенобиотик, проходит один из этапов ферментативной конверсии в водорастворимые метаболиты в эндоплазматических мембранах гепатоцитов. Печень и лимфатическая система участвуют в реализации многих гомеостатических процессов, поскольку в печени образуется более 50% всей лимфы организма [4], а ее регионарные лимфатические узлы выступают в роли периферических фильтров, очищающих образующуюся в печени лимфу.

Ю.И. Бородиным [4] сформулировано понятие лимфатического региона как морфофункциональной единицы, включающей в себя транспортную и детоксикационную составляющую. Он охватывает регионарный лимфатический аппарат органа (части тела) и бассейн его лимфосбора. В лимфатическом регионе выделяют 3 звена лимфатического дренажа: интерстициальные несосудистые пути массопереноса из перичеллюлярного пространства к корням лимфатического русла, лимфатические сосуды (капилляры, посткапилляры, сосуды) и регионарные лимфатические узлы. Русло несосудистой микроциркуляции печени устроено достаточно сложно и состоит как минимум из 2 каскадов: пространства Диссе и перипортального пространства Малла.

Однако роль и взаимоотношения этих каскадов изучены недостаточно, и комплексных исследований влияния БаП на морфологические особенности печени и лимфатической системы ранее не проводилось, что и определило цель нашего исследования: изучить структурно-метаболические изменения в печени и ее лимфатическом регионе при воздействиях БаП (как нагрузочного токсического теста) на крыс.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено экспериментальное рандомизированное (рандомизация методом случайной выборки) контролируемое исследование.

### Методы регистрации исходов

Для светооптического исследования кусочки печени и целые лимфатические узлы фиксировали в 10% формалине (рН =7,4), обезживали в серии спиртов и заключали в гистомикс (БиоВитрум, Россия). Полученные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Морфометрический анализ срезов печени проводили при помощи стереометрического метода точечного счета с использованием закрытой тестовой системы при увеличении в 1000 раз. На гистологических препаратах, полученных от каждого животного, исследовали по 100 полей зрения. Определяли долю площади (%), занимаемой кровеносными капиллярами и синусоидными клетками (гетерогенная клеточная популяция, состоящая из эндотелиоцитов, клеток Купфера, клеток Ито и рiт-клеток), цитоплазмой и ядрами гепатоцитов. В регионарных лимфатических узлах определяли долю площади (%), занимаемую корковым и мозговым веществом, краевым и мозговыми синусами, паракортикальной зоной, первичными и вторичными лимфоидными узелками, гер-

минативными центрами, мозговыми тяжами, численную плотность лимфоидных узелков с центрами размножения и рассчитывали корково-мозговой индекс.

Для электронно-микроскопических исследований образцы печени фиксировали в 4% параформальдегиде на 0,1 М фосфатном буфере (рН =7,4) с последующей дофиксацией в 1% OsO<sub>4</sub>, обезживали и заключали в эпон-812. Срезы толщиной 35–45 нм получали на ультратоме LEICA TM UC7 (Германия), контрастировали водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали на электронном микроскопе JEOL JEM-1400 (Япония). В эндотелиоцитах и клетках Купфера оценивали поверхностную плотность внутренних мембран митохондрий (мкм<sup>2</sup>/мкм<sup>3</sup>). В гепатоцитах определяли объемные плотности митохондрий и гранулярного эндоплазматического ретикулула (ГЭР; мкм<sup>3</sup>). На каждом этапе наблюдений измеряли до 30 профилей срезов клеток.

Об интенсивности перекисного окисления липидов в печени судили по числу диеновых конъюгатов (ДК), кетотриеновых конъюгатов (КТ) и малонового диальдегида (МДА) [5]. Содержание ДК (нмоль/мг белка) оценивали по характерному для них поглощению при 233 нм, КТ — при 275 нм; содержание МДА (нмоль/мг белка) определяли в цельном гомогенате по реакции с тиобарбитуровой кислотой.

### Этическая экспертиза

Эксперименты были выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Результаты исследования одобрены к публикации Этическим комитетом НИИ клинической и экспериментальной лимфологии г. Новосибирска (протокол № 109 от 30.04.2015).

### Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием пакета программ STATISTICA v. 6 (StatSoft Inc., США) с подсчетом средних арифметических величин (M) и их стандартных ошибок (m). Значимость различий оценивали по критерию Стьюдента; различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

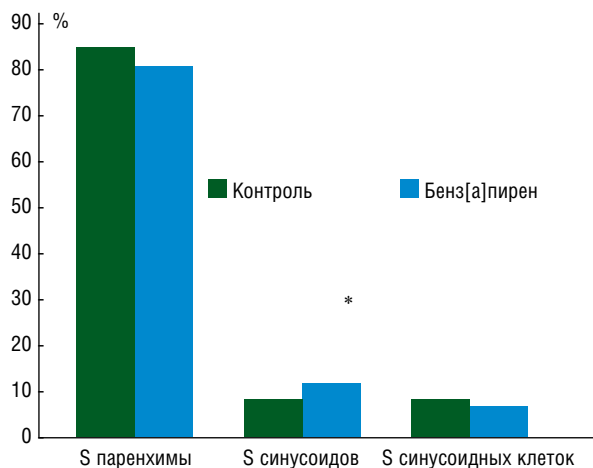
### Объект исследования

Исследование выполнено на половозрелых самцах крыс линии Wistar в возрасте 2 мес массой 180–220 г, содержащихся в стандартных условиях. Животных распределили на 2 группы: контрольную и опытную. Крысам опытной группы ( $n=20$ ) ежедневно в течение 3 сут в 10 утра проводили инъекции БаП внутривентрально по 20 мг/кг массы тела (либо по 2 мг на 100 г веса тела) в минимальном объеме оливкового масла (0,2–0,3 мл). Крысы контрольной группы ( $n=20$ ) получали в таком же режиме инъекции оливкового масла. Гибели животных во время эксперимента не было. На следующий день после последней инъекции животных умерщвляли под эфирным наркозом и производили взятие образцов печени и ее регионарных лимфатических узлов для морфологических и биохимических исследований.

### Морфологические изменения в печени при введениях БаП

Воздействия БаП приводят к развитию застойных явлений в междольковых артериях и венах, а также в лимфа-

тических капиллярах, располагающихся преимущественно параллельно кровеносным сосудам. По расширенным тканевым щелям внутريدольковой соединительной ткани и лимфатическим сосудам происходит миграция лимфоидных элементов и макрофагов, приводящая к образованию периваскулярных инфильтратов (лимфоидных узелков), которые рассматриваются как временные скопления лимфоидной ткани [4] или нелимфоидные агрегаты [6], формирующиеся в ответ на повреждение. Возрастает площадь кровеносных синусоидных капилляров (рис. 1). Печеночные балки сохранены, но отмечается гибель отдельных гепатоцитов.



**Рис. 1.** Морфометрические показатели площади различных компартментов тканевого микрорайона печени самцов крыс при воздействии бенз[а]пирена.

*Примечание.* S — относительная площадь,  $M \pm m$  в %, \* — различие статистически достоверно при  $p < 0,05$ .

На ультраструктурном уровне воздействия БаП приводят к повреждению ядерного аппарата паренхиматозных и синусоидных клеток, внутриклеточных органелл, межклеточных контактов, а в ряде случаев — и к разрушению клеток (рис. 2а). Пространства Диссе становятся дилатированными, заполняются слабоосмиофильным мелкодисперсным веществом, нередко — клеточным детритом, миелоноподобными структурами, пучками новообразованных коллагеновых волокон, что затрудняет диффузию веществ из кровеносных синусоидных капилляров через пространство Диссе к клеткам печени и препятствует току лимфы (рис. 2 а–в).

В эндотелиальных клетках при введении токсиканта наблюдается снижение поверхностной плотности внутренних мембран митохондрий до  $1,580 \pm 0,130 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$  по сравнению с контролем ( $2,580 \pm 0,520 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$ ).

Воздействия БаП приводят к выраженной стимуляции образования коллагена в печени (см. рис. 2б). В качестве индукторов фиброгенеза могут выступать продукты распада гепатоцитов, в т.ч. липоперекиси мембран повреждаемых клеток. Ранее нами было показано, что в печени крыс самцов определяется большое число клеток Ито, находящихся в состоянии активации, характеризующихся потерей запасов витамина А и развитым гранулярным эндоплазматическим ретикулулом (ГЭР) [7].

В клетках Купфера при воздействиях БаП происходит снижение поверхностной плотности внутренних мембран митохондрий до  $2,800 \pm 0,200 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$  по сравнению с контролем ( $3,900 \pm 0,500 \text{ мкм}^2/\text{мкм}^3$ ), определяются многочисленные вторичные лизосомы и клеточный детрит (см. рис. 2в).

Митохондрии гепатоцитов при воздействиях БаП как бы конденсируются: происходит уплотнение их матрикса, в котором часто видны укрупненные интрамитохондриальные гранулы (рис. 2г, 3а, 3в, 3г). Объемная плотность митохондрий гепатоцитов снижается и составляет  $15,500 \pm 0,600 \text{ мкм}^3$  (по сравнению с контролем  $19,980 \pm 1,750 \text{ мкм}^3$ ), что свидетельствует о недостаточности их функции. В цитоплазме гепатоцитов обнаруживают баллонообразные расширения профилей ГЭР и «осыпание» рибосом с их мембран, что является морфологическим проявлением нарушения синтеза белков (см. рис. 3а, 3в). Объемная плотность ГЭР в клетках снижается по сравнению с контролем почти в 1,5 раза ( $3,940 \pm 0,270$  и  $5,750 \pm 0,310 \text{ мкм}^3$ , соответственно). Это сопровождается усиленной экскрецией миелоноподобных структур (см. рис. 3б, 3г) и кламатозом профилей эндоплазматического ретикулаума (ЭПР) (см. рис. 2г).

На поверхности отдельных гепатоцитов происходит формирование гипоксических пузырей и инвагинаций, что является морфологическим признаком развития апоптоза (см. рис. 2г). Нами отмечено, что при воздействиях БаП желчные капилляры расширяются, их микроворсинки неравномерно утолщаются.

#### **Перекисное окисление липидов в печени при введении БаП**

Введение БаП сопровождалось снижением содержания диеновых конъюгатов, при этом наблюдали накопление КТ и МДА как более поздних продуктов окисления (рис. 4). Выявленное нами при воздействиях БаП возрастание концентрации продуктов ПОЛ (КТ и МДА), по сравнению с контролем, можно рассматривать как универсальный механизм повреждения биомембран.

#### **Регионарные лимфатические узлы печени при введении БаП**

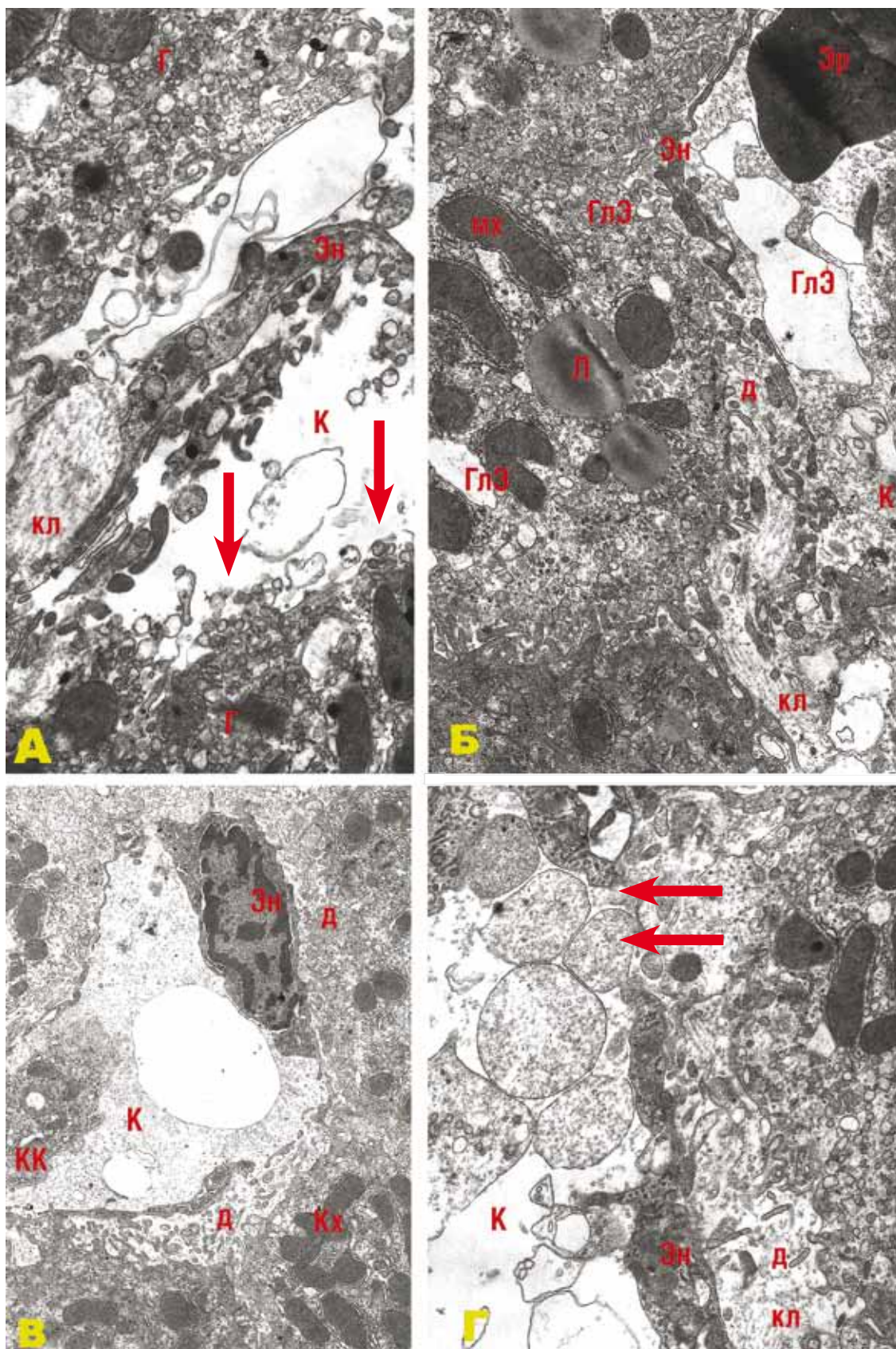
Воздействия БаП приводят к целому каскаду реакций в лимфатическом регионе печени. Это подтверждается синхронным увеличением относительной площади кровеносных синусоидных капилляров печени и удельной площади синусоидной системы регионарных лимфатических узлов, преимущественно за счет мозговых синусов ( $17,930 \pm 4,330\%$  против  $8,160 \pm 1,970\%$  у животной контрольной группы).

Лимфоидный компартмент в лимфатических узлах печени реагирует на острое введение БаП очень характерно: уменьшением удельной площади Т-зависимой паракортикальной зоны до  $3,160 \pm 0,760\%$  (контроль  $5,900 \pm 1,420\%$ ) и увеличением относительных размеров структур, занимаемых В-зависимыми зонами, особенно мягкотных тяжей до  $35,780 \pm 8,630\%$  (контроль  $11,170 \pm 2,700\%$ ) и герминативных центров до  $5,470 \pm 1,320\%$  (контроль  $1,0940 \pm 0,540\%$ ). Возрастает численная плотность вторичных лимфоидных узелков до  $2,190 \pm 0,530$  (контроль  $1,090 \pm 0,270$ ). Корово-мозговой индекс в условиях интоксикации БаП достоверно уменьшается до  $0,530 \pm 0,030$  (контроль  $1,530 \pm 0,080$ ). Такая перестройка конструкции лимфатических узлов связана со значительным увеличением относительной площади всего мозгового вещества до  $57,310 \pm 2,850\%$  (контроль  $19,210 \pm 0,620\%$ ) на фоне незначительного снижения относительной площади коркового вещества при воздействии БаП.

#### **Обсуждение**

Структурным следом метаболических изменений и интенсивности гематотканевого обмена в печени при

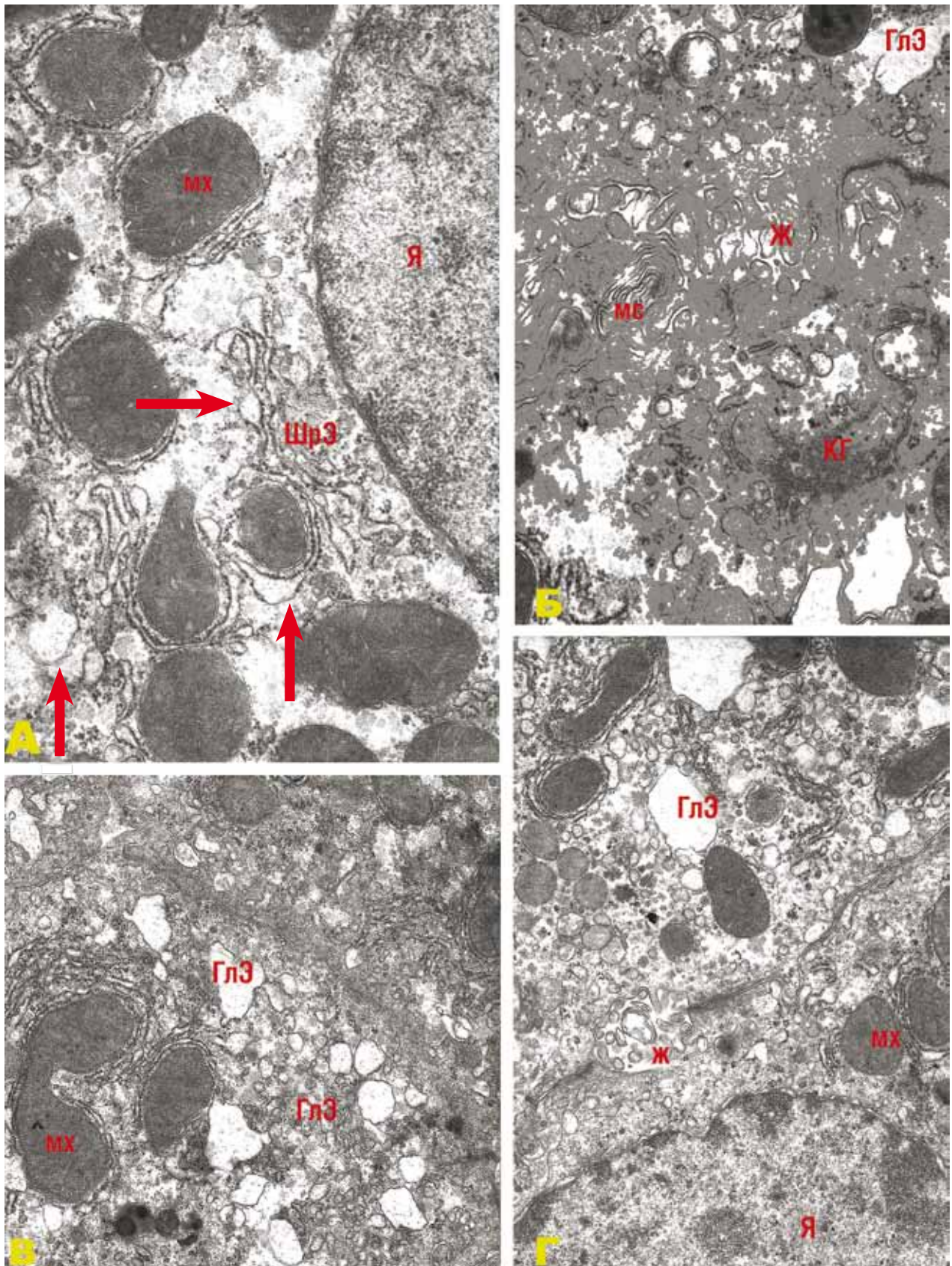




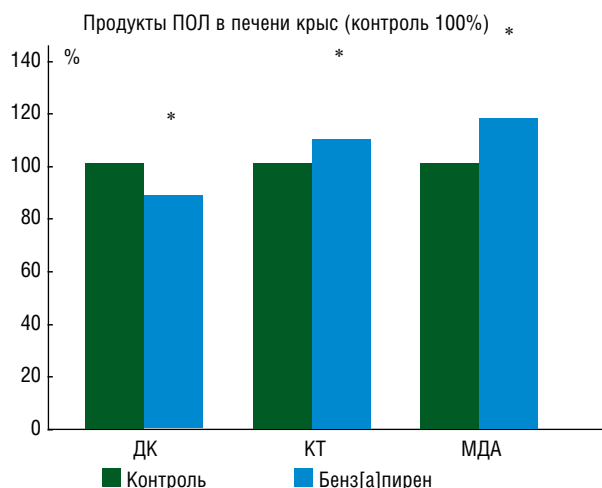
**Рис. 2.** Ультраструктурные изменения в клетках печени крыс после воздействия бенз[а]пирена.

*Примечание.* А — разрушение гематолимфатического барьера и попадание клеточного детрита в просвет синусоидного капилляра; стрелками показано отсутствие эндотелиальной стенки капилляра ( $\times 8000$ ). Б — наличие коллагена в пространстве Диссе и кламатоз гладкого эндоплазматического ретикулама (т.е. выход участков ГлЭПР из гепатоцитов в просвет капилляра) ( $\times 8000$ ). В — переполнение пространства Диссе и синусоидного капилляра хлопьевидным материалом и клеточным детритом ( $\times 4000$ ); Г — кламатоз участков цитоплазмы гепатоцита и выход их между отростками эндотелиоцита в просвет капилляра (указано стрелками) ( $\times 8000$ ). Г — гепатоцит; Эн — эндотелиальная клетка; К — просвет синусоидного капилляра; Д — пространство Диссе; мх — митохондрии; КК — клетка Купфера; Эр — эритроцит; Л — липиды; ГлЭ — гладкий эндоплазматический ретикулум; кл — пучок коллагена.





**Рис. 3.** Ультраструктурные изменения в гепатоцитах крыс после воздействия бенз[а]пирена.  
*Примечание.* А — «осыпание» рибосом с мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума и его деструктуризация (указано стрелками) ( $\times 15\ 000$ ); Б — миелоноподобные структуры в просвете желчного капилляра, образованного стенками гепатоцитов ( $\times 20\ 000$ ); В — гиперплазия цистерн гладкого эндоплазматического ретикулума в гепатоцитах ( $\times 10\ 000$ ); Г — миелоноподобные структуры в просвете желчного капилляра, образованного стенками гепатоцитов, и гиперплазия ГлЭПР в гепатоцитах ( $\times 10\ 000$ ); Я — ядро; ШрЭ — шероховатый эндоплазматический ретикулум; ГлЭ — гладкий эндоплазматический ретикулум; мх — митохондрии; ж — желчный капилляр; мс — миелоноподобные структуры; КГ — комплекс Гольджи.



**Рис. 4.** Содержание диеновых конъюгатов (ДК), кетотриеновых конъюгатов (КТ) и малонового диальдегида (МДА) в контроле и при воздействиях БаП (в %).

*Примечание.* ПОЛ — перекисное окисление липидов, \* — различие статистически значимо при  $p < 0,05$ .

воздействиях БаП в значительной степени является состояние синусоидных клеток как части гематолимфатического барьера. Последний включает в себя также стенку синусоидных капилляров (с эндотелиальными клетками и клетками Купфера), пространство Диссе с единичными аргирофильными волокнами и коллагеновыми фибриллами, перисинусоидальные липоциты (или Ито-клетки), Pit-клетки и тканевую жидкость [4].

Наличие прерывистой базальной мембраны в периферических и центральных отделах печеночных долек и ее отсутствие в промежуточной части позволяет большому количеству жидкости и белка проходить в пространство Диссе. Интерстициальная жидкость из синусоидов перемещается вдоль перисинусоидальных пространств Диссе и собирается в глубокие лимфатические сосуды печеночной паренхимы, связанные с портальными триадами. В настоящее время интерстициальная жидкость пространств Диссе расценивается как печеночная лимфа [8]. В пользу этого свидетельствует выявленная способность эндотелиальных клеток синусоидов экспрессировать маркер лимфатических сосудов LYVE-1 [8]. Нами отмечено, что при воздействиях БаП желчные капилляры расширяются, их микроворсинки неравномерно утолщаются. Имеются данные о повышении активности фермента N-ацетил-b, D-глюкозаминидазы в желчи крыс после введения БаП, индуцирующего выброс ферментов лизосом в желчь [9]. По-видимому, при воздействии БаП происходит перестройка путей везикулярного транспорта в гепатоцитах, способствующая ускорению выведения органических анионов из клеток печени в желчь, вероятно, направленная на активное удаление БаП и его метаболитов из гепатоцитов.

Выявленные нами ультраструктурные перестройки митохондрий гепатоцитов, на фоне снижения их объемной плотности свидетельствуют о недостаточности функции этих органелл. В настоящее время установлено, что митохондриальная ДНК является главной мишенью химических канцерогенов [1, 2]. Воздействия БаП непосредственно или через вторичный механизм окислительного повреждения в 4–15 раз сильнее ингибируют синтез ДНК митохондрий клеток печени, чем ядерной ДНК [1]. Развивающийся в условиях гипоксии дефицит энергопродукции на фоне активации процессов перекисного окисления липидов приводит к нарушениям метаболизма клеток [10].

Выявленное нами при воздействиях БаП возрастание концентрации продуктов ПОЛ (КТ и МДА), по сравнению с контролем, можно рассматривать как универсальный механизм повреждения биомембран. Известно, что БаП, воздействуя на цитоплазматические мембраны, влияет на гомеостаз внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , участвующего в механизмах передачи сигналов и клеточной пролиферации практически в каждом типе клеток. При этом метаболиты токсиканта более эффективны в повышении концентрации  $Ca^{2+}$ , чем сам исходный БаП [11]. Обнаружено, что воздействие БаП приводит к индукции апоптоза и накоплению липидов в гепатоцитах, и этот процесс зависит от активности цитохрома P-450 [10–12].

Ранее нами было показано, что острая загрузка БаП самцов крыс линии Wistar приводила к увеличению содержания цитохрома P-450, повышению активности цитохром P-448-зависимых ферментов, анилингидроксилазы и бенз[а]пиренгидроксилазы. В настоящее время известно, что биологическая роль процесса свободнорадикального окисления канцерогенов определяется, с одной стороны, его защитной функцией, а с другой — приводит к токсификации исходного канцерогена, ведущей к клеточному повреждению. ПАУ, индуцируя активность цитохрома P-450, повышает содержание активных форм кислорода и вызывает окислительный стресс [12–14], приводящий к формированию структурного следа в печени и ее лимфатическом регионе при воздействиях БаП. В настоящее время известно, что у млекопитающих периферические лимфоидные органы служат первоначальным местом В-клеточного «воспламенения» и родственного созревания, тогда как индукция Т-клеточных управляемых иммунных ответов может происходить вне вторичных лимфоидных тканей. Описан альтернативный путь индукции клеточного иммунитета, в котором антигенпрезентирующие клетки определяют антиген и мигрируют в печень, где они стимулируют развитие нелимфоидных агрегатов (лимфоидных узелков). По-видимому, развивающаяся в условиях воздействия БаП недостаточность паракортикальной зоны регионарных печеночных лимфоузлов компенсируется образованием в самой печени временных скоплений лимфоидной ткани (лимфоидных узелков) [4], где, согласно современным представлениям, инициируются процессы Т-клеточного иммунитета [6].

Рассматривая механизмы этих изменений, необходимо отметить усиление детоксикационной функции регионарных лимфатических узлов печени при острых воздействиях БаП. Так, после введения крысам БаП выявлена индукция цитохрома P-450 в глубокой коре мезентеральных лимфатических узлов, в литоральных клетках, ретикулярных клетках, макрофагах, а также диффузно в мозговых синусах лимфатических узлов [15]. Эти данные свидетельствуют о том, что поступающая из печени лимфа, содержащая БаП и его метаболиты, подвергается активной обработке в регионарных лимфатических узлах, что еще раз подтверждает наличие взаимосвязанной реакции печени и ее регионарного лимфатического аппарата на воздействие БаП.

### Заключение

Наши исследования показали, что при воздействиях БаП в печени и ее лимфатическом регионе изменяются не только структура клеточных элементов, но и лимфатический дренаж во всех его звеньях, включая пути несосудистого массопереноса в интерстиции, лимфатические капилляры и сосуды, регионарные лимфатические узлы. Обнаруженные микро- и ультраструктурные перестройки



свидетельствуют о разбалансировке корней лимфатической системы в печени, нарушении морфологической организации гематолимфатического барьера, затруднении оттока лимфы от органа. Это способствует развитию тканевой гипоксии и апоптоза, нарушению энергетического и белоксинтетического аппарата клеток, образованию временных скоплений лимфоидной ткани в печени.

Воздействия БАП приводят к синхронному увеличению относительной площади кровеносных синусоидных капилляров печени и удельной площади синусоидной системы регионарных лимфатических узлов, преимущественно за счет мозговых синусов. Лимфоидный компартмент в регионарных лимфатических узлах печени реагирует на введение БАП уменьшением относительной площади структур, относящихся к Т-зависимым зонам и нарастанием удельной площади структур, занимаемых В-зависимыми зонами. Повышение содержания кетотриеновых конъюгатов и малонового диальдегида в органе

способствует формированию структурного следа в клетках печени при токсических воздействиях БАП.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

### Выражение признательности

Авторы благодарят сотрудников Центра коллективно-пользования «Электронной и оптической микроскопии» НИИ физиологии и фундаментальной медицины г. Новосибирска за предоставленную возможность работать на электронном микроскопе JEOL JEM-1400 и содействие в подготовке материалов для данной статьи.

### ЛИТЕРАТУРА

- Pessah I.N., Beltzner C., Burchiel S.W., Sridhar G., Penning T., Feng W. A bioactive metabolite of benzo(a)pyrene, benzo(a)pyrene 7,8-dione, selectively alters microsomal Ca<sup>2+</sup> transport and guanine receptor function. *Mol. Pharmacol.* 2001; 59 (3): 506–513.
- Pieters N., Koppen G., Smiten K., Napierska D., Plusquin M., De Prins S., Van De Weghe H., Nelen V., Cox B., Cuypers A., Hoet P., Schoeters G., Nawrot T.S. Decreased mitochondrial DNA content in association with exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in house dust during wintertime: from a population enquiry to cell culture. *PLoS One.* 2013; 8 (5): 63208.
- Alexander J.S., Ganta V.C., Jordan P.A., Marlys H. Gastrointestinal lymphatics in health and disease. *Pathophysiology.* 2010; 17 (4): 315–335.
- Бородин Ю.И., Мичурина С.В., Ищенко И.Ю., Белкин А.Д. Лимфатический регион и гематолимфатический барьер печени в норме. В кн.: Лимфология. Под ред. В.И. Коненкова, Ю.И. Бородина, М.С. Любарского. *Новосибирск: Манускрипт.* 2012. С. 215–220.
- Путилина Ф.Е., Галкина О.В., Ещенко Н.Д., Диде Г.П., Красовская И.Е. Практикум по свободнорадикальному окислению. *СПб: СПбГУ.* 2006. С. 3–10.
- Greter M., Hofmann J., Becher B. Neo-lymphoid aggregates in the adult liver can initiate potent cell mediated immunity. *PLoS Biol.* 2009; 7 (5): 1000109.
- Мичурина С.В. Влияние острых воздействий 3,4-бензпирена на липоциты печени крыс разного пола. *Бюллетень СО РАМН.* 1995; 2: 66–69.
- Mouta C.C., Nasser S.M., di Tomaso E., Padera T.P., Boucher Y., Tomarev S.I., Jain R.K. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis. *Cancer Res.* 2001; 61 (22): 8079–8084.
- Pupyshev A.B., Gutina E.M., Fedina R.G., Michurina S.V., Shurygina A.V., Verbitskaya L.V. Effect of Benz(a)pyrene and Constant Light Exposure on Rat Liver Lysosomes and Biliary Excretion of Lysosomal Enzymes. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005; 139 (1): 34–37.
- Podechard N., Tekpli X., Catheline D., Holme J.A., Rioux V., Legrand P., Rialland M., Fardel O. Mechanisms involved in lipid accumulation and apoptosis induced by 1-nitropyrene in Hepa1c1c7 cells. *Toxicol. Lett.* 2011; 206 (3): 289–299.
- Barhoumi R., Mouneimne Y., Awooda I., Safe S., Donnelly K.C., Burghardt R.C. Characterization of calcium oscillations in normal and benzo(a)pyrene-treated clone 9 cells. *Toxicol. Sci.* 2002; 68 (2): 444–450.
- Kula B., Sobczak A. and Kuska R. Effects of static and ELF magnetic fields on free radical processes in rat liver and kidney. *Electro-Magnetobiol.* 2000; 19 (1): 99–105.
- Черняк Ю.И., Грассман Д.А., Колесников С.И. Влияние стойких органических загрязнителей на биотрансформацию ксенобиотиков. *Новосибирск: Наука.* 2007. 134 с.
- Черняк Ю.И., Колесников С.И., Черняк Е.В. Цитохром P450: основные представления, методы исследования, значение для практической медицины. *Иркутск: ИТУ.* 2014. 47 с.
- Borodin Yu.I., Maiborodin I.V., Safina A.F., Strunkin D.N. The Possibility of Cytochrome P450 1A1/1A2 Induction in Cells of Distant Lymph Nodes of Rats after Enteral Treatment with Benzo(a)pyrene. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005; 140 (5): 564–567.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Мичурина Светлана Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы НИИ клинической и экспериментальной лимфологии  
**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (383) 335-98-52, **e-mail:** S.Michurina@NGS.ru

**Бородин Юрий Иванович**, академик РАН, директор Центра эндоэкологической реабилитации НИИ клинической и экспериментальной лимфологии

**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (383) 335-93-53, **e-mail:** lympha@niikel.ru

**Колесников Сергей Иванович**, академик РАН, главный научный сотрудник НЦ ПЗСРЧ

**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, **тел.:** +7 (3952) 20-76 36, **e-mail:** sikolesnikov2012@gmail.com

**Ищенко Ирина Юрьевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы НИИ клинической и экспериментальной лимфологии

**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (383) 335-98-52, **e-mail:** irenisch@mail.ru

**Коненков Владимир Иосифович**, академик РАН, директор НИИ клинической и экспериментальной лимфологии.

**Адрес:** 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2, **тел.:** +7 (3833) 33-64-09, **e-mail:** vikonenkov@gmail.com