

УДК 612.017.1:616-092.9

DOI 10.34014/2227-1848-2021-3-141-152

## ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ИМУНОФАНА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС НА ФОНЕ ИММУНОСУПРЕССИИ, ВЫЗВАННОЙ ВВЕДЕНИЕМ ЦИКЛОФОСФАНА

Е.Н. Морозова, В.Н. Морозов, А.В. Тверская

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Белгород, Россия

*Цель исследования – изучение морфометрических параметров и гистологического строения пейеровых бляшек тонкой кишки крыс после введения имунофана на фоне иммуносупрессии, вызванной циклофосфаном.*

*Материалы и методы. Исследование проводилось на 36 белых крысах-самцах массой 210–250 г. Животные были разделены на две группы. В I группе крысам в 1-е сут эксперимента вводился циклофосфан в дозе 200 мг/кг, на 2, 4, 6, 8, 10-е сут – имунофан в дозе 0,7 мкг/кг массы тела; II группу составили интактные крысы. Животные выводились из эксперимента на 7, 30, 90-е сут после завершения введения имунофана. Измерялись длина и ширина пейеровых бляшек, а также расстояние от илеоцекального угла до первой из них, а на гистологических срезах – высота и ширина их лимфатических узелков и межузелковых зон.*

*Результаты. У половозрелых животных на 7-е и 30-е сут наблюдения длина и ширина пейеровых бляшек увеличивалась на 18,71 и 16,94 % и 3,56 и 24,22 % соответственно по сравнению с данными интактных крыс, а расстояние от илеоцекального угла до первой из них уменьшалось на 6,15 и 19,80 %. При микроскопическом исследовании высота и ширина лимфатических узелков пейеровых бляшек были больше по сравнению с данными интактных крыс на 29,79 и 12,73 % (7-е сут), 10,49 и 12,46 % (30-е сут), а линейные размеры межузелковых зон – на 39,35 и 10,33 % (7-е сут), 4,77 и 4,25 % (30-е сут). К 90-м сут макроскопические параметры пейеровых бляшек, а также высота и ширина их лимфатических узелков и межузелковых зон приближались к данным интактных животных.*

*Выводы. При использовании имунофана на фоне экспериментальной иммуносупрессии значения исследуемых макро- и микроморфометрических параметров пейеровых бляшек тонкой кишки половозрелых крыс в ходе эксперимента постепенно приближались к аналогичным показателям интактных крыс, что свидетельствует о нивелировании иммуносупрессивного эффекта циклофосфана.*

**Ключевые слова:** крысы, тонкая кишка, пейеровы бляшки, имунофан, циклофосфан.

**Введение.** В связи с ухудшением экологической ситуации на планете за последние годы усилилось влияние различных экзогенных факторов на организм человека [1, 2]. Слизистая оболочка пищеварительной трубки является одной из наиболее значительных по площади поверхностей организма, которые находятся в постоянном взаимодействии с внешней средой [3]. Тонкая кишка подвергается длительному воздействию экзогенных антигенов, а контакт с ними при длительном прохождении пищи через пищеварительный тракт является очень тесным, что объясняет наличие в

тонкой кишке лимфоидной ткани, которая во многом определяет степень здоровья человека и его адаптационные возможности [4].

При попадании чужеродных веществ в организм человека и животных функции лимфоидной ткани тонкой кишки могут нарушаться. Это приводит к возникновению аллергических реакций, иммунодефицитных состояний, а также аутоиммунных заболеваний [5].

В практической медицине с целью коррекции выявленных нарушений используются как иммуномодуляторы, так и иммунодепрессанты [6, 7]. В целях обеспечения безопасно-

сти для здоровья человека препараты каждой группы должны применяться по строгим показаниям, а эффективность их использования должна подтверждаться изучением состояния органов-мишеней на макроскопическом и микроскопическом уровнях [6].

Среди препаратов иммунодепрессивного действия широкое распространение получил циклофосфан, который входит во многие схемы противоопухолевой терапии, используется для профилактики отторжения трансплантатов, а также для лечения аутоиммунных заболеваний. Ингибирование функциональной активности клеток иммунной системы является одной из главных причин токсического действия циклофосфана, поэтому проблема снижения его побочных действий является весьма актуальной [8, 9].

Одним из препаратов нового поколения, который используется в качестве иммуномодулятора с профилактической или лечебной целью в России и Украине, является имунофан [10–12]. Однако данные, касающиеся влияния имунофана на лимфоидную ткань тонкой кишки, в доступной литературе практически отсутствуют.

**Цель исследования.** Изучение морфометрических параметров и гистологического строения пейеровых бляшек тонкой кишки крыс после введения имунофана на фоне иммуносупрессии, вызванной циклофосфаном.

**Материалы и методы.** Поскольку строение и функционирование иммунной системы человека и крысы имеют много общего [4], в качестве подопытных животных в эксперименте были использованы крысы. Исследование проводили на 36 белых половозрелых крысах-самцах массой 210–250 г. Животные были разделены на две группы по 18 животных в каждой. В I группу входили крысы, которым в 1-е сут эксперимента вводили циклофосфан в дозе 200 мг/кг, на 2, 4, 6, 8, 10-е сут – имунофан в дозе 0,7 мкг/кг массы тела; II группу составили интактные крысы. Содержание и манипуляции над животными осуществляли в соответствии с правилами содержания экспериментальных животных, установленными Ди-

рективой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза [13].

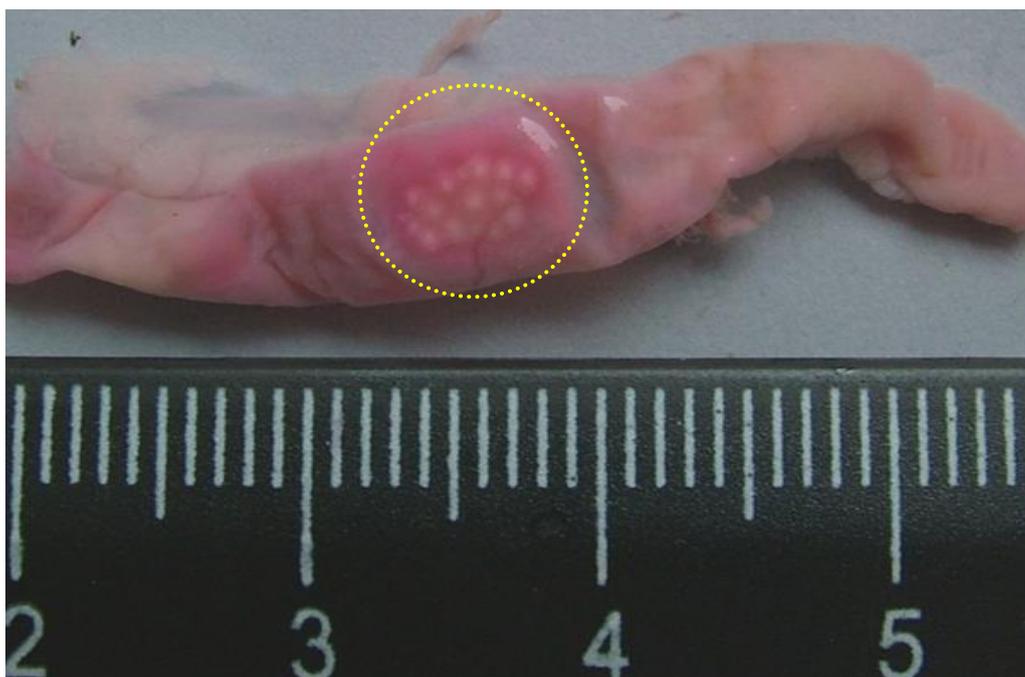
Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом на 7, 30, 90-е сут после завершения введения имунофана. Выделяли тонкую кишку при помощи специального инструмента [14], определяли ее длину. При помощи штангенциркуля измеряли длину и ширину пейеровых бляшек, а также расстояние от илеоцекального угла до первой из них. Затем тонкую кишку фиксировали в 10 % растворе формалина, после чего подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. При помощи автоматизированного морфометрического комплекса, включающего световой микроскоп Olympus CX41, цифровую фотокамеру и персональный компьютер с набором прикладных программ, измеряли высоту и ширину лимфатических узелков и межузелковых зон в каждом скоплении лимфоидной ткани [15].

Обработку цифровых данных проводили с помощью программы Statistica (определяли t-критерий Стьюдента; достоверными считали отличия с уровнем значимости  $p \leq 0,05$ ).

**Результаты и обсуждение.** Макроскопически пейеровы бляшки у крыс имеют одинаковую окраску с окружающими тканями, овальную, округлую, реже неправильную форму, выступают над поверхностью слизистой оболочки тонкой кишки со стороны свободного края органа (рис. 1). Первое скопление лимфоидной ткани определялось, как правило, в дистальном отделе двенадцатиперстной кишки, последнее – в области илеоцекального угла со стороны подвздошной кишки.

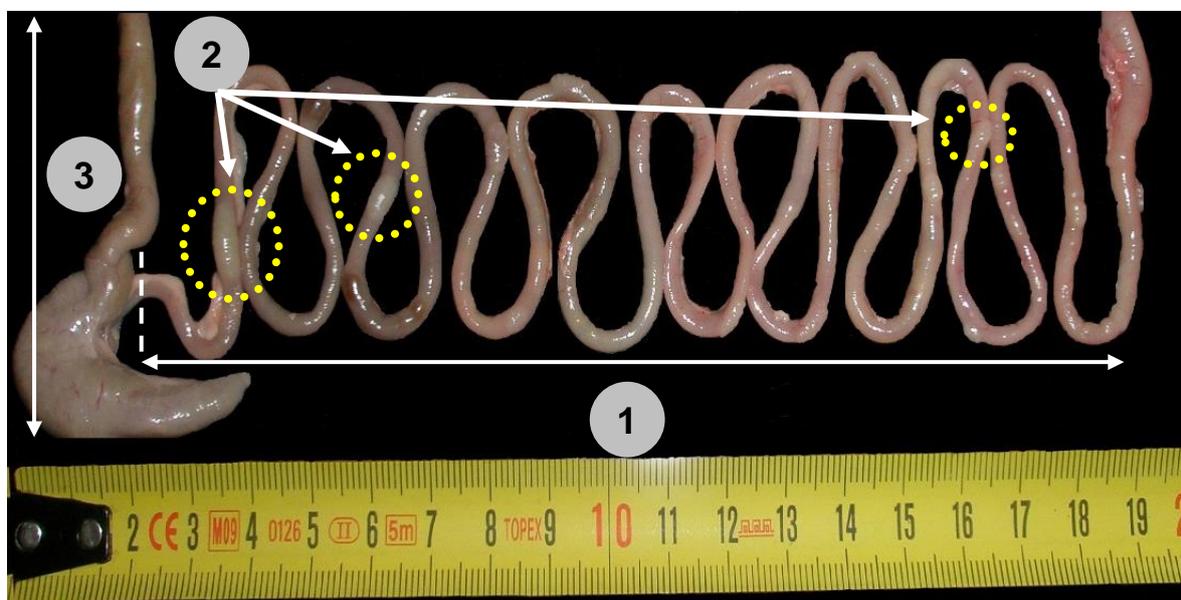
Длина органа у экспериментальных животных достоверно не отличалась от таковой у контрольных крыс во все сроки наблюдения (рис. 2).

У половозрелых животных на 7-е сут наблюдения длина и ширина групповых лимфатических узелков увеличивались на 18,71 и 16,94 % по сравнению с данными интактных крыс, а расстояние от илеоцекального угла до первого из них уменьшалось на 6,15 % (табл. 1).



**Рис. 1.** Пейерова бляшка тонкой кишки половозрелой крысы-самца на 30-е сут наблюдения после применения специального метода визуализации по С.А. Кашченко [16]

**Fig. 1.** Peyer's patch of the small intestine in a mature male rat on the 30<sup>th</sup> day of observation after using a special imaging method according to S.A. Kashchenko [16]



**Рис. 2.** Тонкая кишка (1) с пейеровыми бляшками (2) и участок толстой кишки (3) половозрелых крыс-самцов на 30-е сут наблюдения после коррекции имунофаном циклофосфаниндуцированной иммуносупрессии

**Fig. 2.** Small intestine (1) with Peyer's patches (2) and a part of the large intestine (3) of mature male rats on the 30<sup>th</sup> day of observation after treatment of cyclophosphamide-induced immunosuppression with imunofan

К 30-м сут линейные размеры пейеровых бляшек возрастали на 3,56 и 24,22 %. При этом расстояние от илеоцекального угла до первой из них уменьшалось на 19,80 % по сравнению с данными интактных крыс. К 90-м сут наблюдения экспериментальные данные приближались к контрольным параметрам.

На гистологических препаратах (рис. 3) пейеровы бляшки половозрелых крыс-самцов

состоят из скоплений лимфатических узелков (от 4 до 15). Поверхность их гладкая и обращена в просвет кишки, а прилежащие участки межузелковой зоны покрыты ворсинками, которые частично прикрывают поверхность лимфатических узелков. Лимфатические узелки залегают в собственной пластинке слизистой оболочки и подслизистой основе, располагаясь в один ряд.

Таблица 1

Table 1

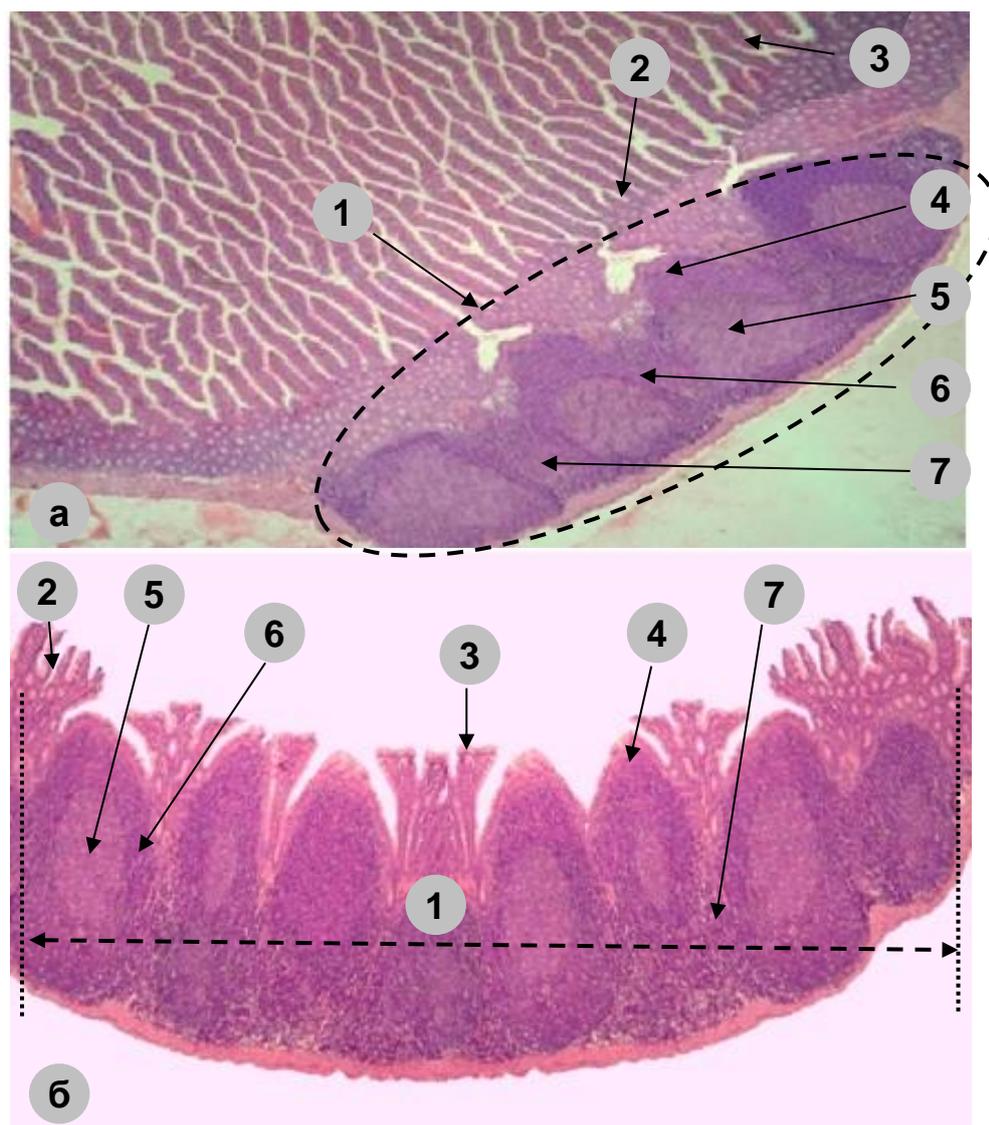
**Линейные параметры тонкой кишки половозрелых животных подопытной и интактной групп в разные сроки наблюдения после коррекции экспериментальной иммуносупрессии с помощью имунофана (M±m)**

**Linear parameters of the small intestine in mature rats in the experimental and intact groups at different stages after treatment of experimental immunosuppression with imunofan (M±m)**

Линейные параметры, мм Linear parameters, mm	7-е сут Day 7	Контроль Control	30-е сут Day 30	Контроль Control	90-е сут Day 90	Контроль Control
Длина тонкой кишки Small intestine length	842,50±25,00	836,00±26,60	915,30±31,00	900,00±24,40	1105,00±30,40	1100,00±30,00
Длина пейеровой бляшки Peyer's patch length	5,33±0,32*	4,49±0,20	5,23±0,17*	5,05±0,08	4,90±0,17	4,87±0,15
Ширина пейеровой бляшки Peyer's patch width	2,83±0,15*	2,42±0,09	2,77±0,12*	2,23±0,05	2,25±0,12	2,24±0,05
Расстояние от илеоцекального угла до первой пейеровой бляшки Distance from ileocecal angle to the first Peyer's patch	48,80±1,73	52,00±2,58	39,70±2,81*	49,50±1,07	49,00±1,20	49,50±1,07

**Примечание.** \* – различия достоверны по сравнению с контрольной группой (p≤0,05).

**Note.** \* – the differences are significant compared with the control group (p≤0.05).



**Рис. 3.** Пейеровы бляшки в стенке тонкой кишки половозрелых крыс:  
 а) интактные; б) на 30-е сут после коррекции иммунофаном циклофосфаниндуцированной иммуносупрессии (1 – пейерова бляшка; 2 – крипта; 3 – ворсинка; 4 – купол; 5 – герминативный центр; 6 – периферическая зона; 7 – межузелковая зона. Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan C N 4<sup>x</sup>/0.25 $\infty$ /-FN22)

**Fig. 3.** Peyer's patches in the small intestine wall in mature rats:  
 a) intact, b) on the 30<sup>th</sup> day after treatment of cyclophosphamide-induced immunosuppression with imunofan (1 – Peyer's patch, 2 – crypt, 3 – villus, 4 – dome, 5 – germinal center, 6 – peripheral zone, 7 – internodular zone. Staining: hematoxylin-eosin. Magnification: Zoom 162. Lens: Plan C N 4<sup>x</sup>/0.25 $\infty$ /-FN22)

У половозрелых животных экспериментальной группы высота и ширина лимфатических узелков были больше по сравнению с данными интактных крыс на 29,79 и 12,73 % (7-е сут), на 10,49 и 12,46 % (30-е сут); линейные размеры межузелковых зон возрастали на 39,35 и 10,33 % (7-е сут), на 4,77 и 4,25 % (30-е сут). К 90-м сут высота и ширина лимфа-

тических узелков и межузелковых зон приближались к данным интактных животных (табл. 2).

Микроскопически каждый лимфатический узелок в скоплении лимфоидной ткани состоит из купола, периферической зоны, герминативного центра и ограничен от соседних узелков межузелковой зоной.

Таблица 2

Table 2

**Морфометрические параметры пейеровых бляшек в тонкой кишке половозрелых животных экспериментальной и интактной групп в разные сроки наблюдения после коррекции имунофаном циклофосфаниндуцированной иммуносупрессии (M±m)**

**Morphometric parameters of Peyer's patches in the small intestine of mature rats of experimental and intact groups at different stages of observation after treatment of cyclophosphamide-induced immunosuppression with imunofan, M±m (n=36)**

Линейные параметры, мкм Linear parameters (mcm)	7-е сут Day 7	Контроль Control	30-е сут Day 30	Контроль Control	90-е сут Day 90	Контроль Control
Высота лимфатического узелка Lymphatic nodule height	1393,00± 56,30*	978,00± 31,50	1115,00± 32,30*	998,00± 38,30	998,00± 13,10	1000,00± 33,60
Ширина лимфатического узелка Lymphatic nodule width	1100,00± 27,00*	960,00± 41,60	859,00± 42,00*	752,00± 30,00	973,00± 13,90	970,00± 48,20
Высота межузелковой зоны Internodular zone height	709,00± 28,00*	430,00± 18,40	398,00± 25,50*	379,00± 17,60	288,00± 17,80	285,00± 13,40
Ширина межузелковой зоны Internodular zone width	455,00± 12,70*	408,00± 19,20	400,00± 29,60*	383,00± 17,00	516,00± 6,13	511,00± 25,20

**Примечание.** \* – различия достоверны по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ).

**Note.** \* – the differences are significant compared with the control group ( $p \leq 0.05$ ).

Купол лимфатических узелков обращен в просвет тонкой кишки, покрыт эпителиоцитами и содержит малые и средние лимфоциты, реже – макрофаги и плазмоциты. В периферической зоне клетки расположены более компактно и представлены преимущественно малыми лимфоцитами. Изредка встречаются макрофаги, ретикулоциты и единичные плазмоциты. В герминативном центре выявляются клетки с картинами митоза, большие лимфоциты, плазмоциты, макрофаги, ретикулоциты, реже – средние и малые лимфоциты (рис. 4).

Межузелковая зона хорошо выражена и отличается более низкой, чем в узелках, плотностью расположения клеток. На гистологических срезах в ней выявляется умеренное количество сосудов микроциркуляторного русла, малые, средние и большие лимфоциты, макрофаги и ретикулоциты.

Анализ результатов показал, что длина тонкой кишки у половозрелых белых крыс экспериментальной группы достоверно не превышает контрольные параметры ( $p > 0,05$ ). Таким образом, использование иму-

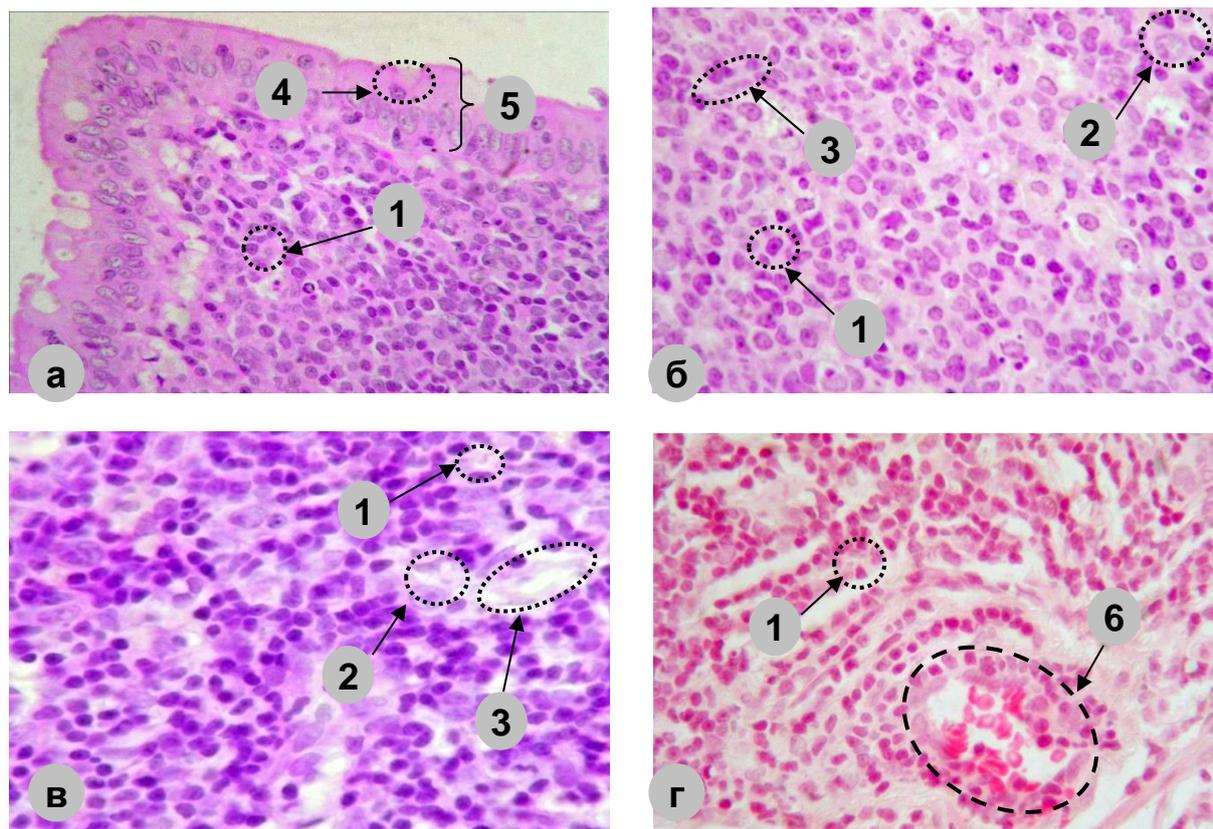
нофана на фоне иммуносупрессивного состояния не оказывает влияния на длину органа.

Исследование линейных параметров (длины и ширины) пейеровых бляшек крыс-самцов показало достоверное их увеличение, по сравнению с данными контрольной группы, в течение месяца ( $p < 0,05$ ). А.Г. Кварацхелий и соавт. (2016) также было установлено, что использование имунофана на фоне иммуносупрессии восстанавливает линейные размеры тимуса до контрольных параметров в течение месяца [17]. При этом, по данным С.А. Кашенко и соавт. (2014), за данный промежуток времени в лимфатических узлах крыс при использовании иммунокорректора происходит не только нивелирование линейных параметров, но и их увеличение по сравнению с интактной группой [18], что соответствует вышеизложенным изменениям, полученным при исследовании пейеровых бляшек тонкой кишки. Таким образом, применение имунофана изменяет линейные размеры скоплений лимфоидной ткани тонкой кишки.

Микроскопическое исследование показало, что высота и ширина лимфатических

узлов и межузловых зон превышают показатели контрольной группы на 7-е и 30-е сут после коррекции иммунофаном циклофосфандиндуцированной иммуносупрессии ( $p < 0,05$ ). К 90-м сут различия с контрольными параметрами нивелируются. Аналогичные изменения наблюдали S. Nor-Satinati et al. (2006) при оральном введении *P. Multicida* B2 крысам по-

роды Sprague-Dawley массой 200–250 г [19]. Полученные данные могут свидетельствовать о выраженной реакции пейеровых бляшек тонкой кишки на введение иммунофана на фоне иммуносупрессивного состояния в течение месяца, при этом после трех месяцев происходит восстановление линейных размеров и структуры органа.



**Рис. 4.** Зоны лимфатического узелка в пейеровой бляшке тонкой кишки половозрелых крыс экспериментальной группы на 30-е сут:  
а) купол; б) герминативный центр; в) периферическая зона; г) межузловковая зона  
(1 – лимфоцит; 2 – макрофаги; 3 – ретикулоцит; 4 – интраэпителиальный лимфоцит;  
5 – эпителий слизистой оболочки; 6 – сосуд.

Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan C N 4x/0.25∞/-/FN22)

**Fig. 4.** Lymphatic nodule in the Peyer's patch of the small intestine of mature rats, experimental group, Day 30:  
a) dome, b) germinal center, c) peripheral zone, d) internodular zone:  
(1 – lymphocyte, 2 – macrophages, 3 – reticulocyte,  
4 – intraepithelial lymphocyte, 5 – mucosal epithelium, 6 – vessel.  
Staining: hematoxylin-eosin. Magnification: Zoom 162. Lens: Plan C N 4x/0.25∞/-/FN22)

По данным Г.Ю. Стручко и соавт. (2010), фармакологическое действие пептидного иммунооксидредуктанта основано на достижении коррекции иммунной и окислительно-восстановительной систем организма [20]. И.В. Боб-

рышева (2016) утверждает, что на 7-е сут проявляется иммунорегуляторное действие препарата – восстановление нарушенных показателей клеточного и гуморального иммунитета [21]. Данное фармакологическое действие

Е.Г. Пухаева и соавт. (2019) объясняют способностью препарата восстанавливать продукцию тимического гормона тимулина до нормальных значений [22]. Это приводит к увеличению популяции Т-лимфоцитов, что И.В. Бобрышева (2016) подтверждает при исследовании тимуса крыс [21]. Вышеуказанное позволяет объяснить увеличение линейных размеров междузелковых зон (Т-зависимые зоны) пейеровых бляшек тонкой кишки, по сравнению с контрольными параметрами, в течение месяца. По данным Ryo Inoue et al. (2013), активность лимфоцитов в пейеровых бляшках тонкой кишки во многом зависит от антигенной нагрузки, которая стимулирует синтез лимфоцитами фактора некроза опухоли, а он в свою очередь позволяет поддерживать активную пролиферацию иммунокомпетентных клеток в герминативном центре [23]. Необходимо также отметить, что действие препарата направлено на восстановление поврежденных клеток [10], что способ-

ствует сохранению популяции лимфоцитов в органе и приводит к увеличению линейных размеров (длины и ширины) не только междузелковых зон, но и лимфатических узелков. Основываясь на данных И.В. Бобрышевой (2016) о том, что действие препарата длится до 3–4 мес., можно объяснить нивелирование различий между экспериментальными и контрольными показателями на 90-е сут наблюдения [21].

**Заключение.** Использование иммунофана после экспериментальной иммуносупрессии не оказывало влияния на длину тонкой кишки. При этом наблюдалось достоверное изменение морфометрических размеров пейеровых бляшек тонкой кишки (увеличение лимфатических узелков и междузелковых зон, а также размеров последних в целом, уменьшение расстояния от илеоцекального угла до первой из них) на 7-й и 30-е сут эксперимента по сравнению с контролем. К 90-м сут наблюдения данные изменения параметров нивелировались.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Литература

1. Данилова З.А. Экологическая ситуация и риски для здоровья населения. Международный научно-исследовательский журнал. 2019; 3 (81): 176–179.
2. Colao A., Muscogiuri G., Piscitelli P. Environment and Health: Not Only Cancer. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2016; 13 (7): 724.
3. Hryn V.H., Kostylenko Y.P., Bilash V.P., Ryabushko O.B. Microscopic structure of albino rats' small intestine. Wiadomości Lekarskie. 2019; LXXII (5): 733–738.
4. Haley P.J. The lymphoid system: a review of species differences. J. Toxicol. Pathol. 2017; 30 (2): 111–123.
5. Reboldi A., Cyster J.G. Peyer's patches: Organizing B cell responses at the intestinal frontier. Immunol. Rev. 2016; 271 (1): 230–245.
6. Хаумов Р.М. Иммуномодуляторы: мифы и реальность. Иммунология. 2020; 41 (2): 101–106.
7. Kim W.H., Lillehoj H.S. Immunity, immunomodulation, and antibiotic alternatives to maximize the genetic potential of poultry for growth and disease response. Animal Feed Science and Technology. 2019; 250: 41–50.
8. Ahlmann M., Hempel G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy. Cancer Chemother. Pharmacol. 2016; 78 (4): 661–671. DOI: 10.1007/s00280-016-3152-1.
9. Teles K.A., Medeiros-Souza P., Aires Correa Lima F. Cyclophosphamide administration routine in autoimmune rheumatic diseases: a review. Rev. Bras. Reumatol. Engl. Ed. 2017; 57 (6): 596–604.
10. Каценко С.А., Петизина О.Н. Ультрамикроскопическое исследование правых подмышечных лимфатических узлов крыс в эксперименте. Матеріали I Всеукраїнської науково-практичної конференції «Морфологія людини та тварин». 9–10 вересня 2011. Миколаїв; 2011: 80–82.
11. Мухамадеева О.Р., Хисматуллина З.Р., Медведев Ю.А. Эффективность применения иммуномодулятора «иммуфан» при комплексном лечении больных зооантропонозной трихофитией. Вестник современной клинической медицины. 2014; 7 (1): 31–34.
12. Sawicka J., Dzierżyńska M., Wardowska A. Immunofan-RDKVYR Peptide-Stimulates Skin Cell Proliferation and Promotes Tissue Repair. Molecules. 2020; 25 (12): 2884.

13. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg; 2012.
14. Кащенко С.А., Морозова О.М., Петізіна О.М., Морозов В.М., Андросова М.Є. Патент Україна № 59906; 2011.
15. Сапин М.Р. Иммунные структуры пищеварительных органов (функциональная анатомия). М.; 1987. 217.
16. Кащенко С.А., Морозова О.М., Петізіна О.М., Золотаревська М.В., Андросова М.Є. Патент Україна № 97894; 2010.
17. Кварацхелия А.Г., Клочкова С.В., Никитюк Д.Б., Алексеева Н.Т. Морфологическая характеристика тимуса и селезенки при воздействии факторов различного происхождения. Журнал анатомии и гистопатологии. 2016; 5 (3): 77–83.
18. Кащенко С.А., Петізіна О.Н., Морозова Е.Н. Корреляционная зависимость между параметрами лимфатических узлов крыс после коррекции иммунодефицитного состояния. Український морфологічний альманах. 2014; 12 (3): 34–37.
19. Nor-Satinati S., Zuki A.B.Z., Zamri-Saad M. The response of gut-associated Lymphoid tissue (GALT) following oral administration of *P. Multicida* B2 in rat. Journal of animal and veterinary advances. 2006; 5 (11): 1029–1034.
20. Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Михайлова М.Н., Захид М. Т-зависимые иммунорегуляторные эффекты полиоксидония и имунофана (обзор литературы). Вестник Чувашского университета. 2010; 3: 140–145.
21. Бобрышева И.В. Иммуномодулятор «Имунофан» влияет на клеточный состав морфофункциональных зон тимуса крыс и замедляет его возрастную инволюцию. Вестник РГМУ. 2016; 3: 38–42.
22. Пухаева Е.Г., Скупневский С.В., Руруа Ф.К., Фарниева Ж.Г., Бадтиев А.К. Антимутагенный эффект имунофана при сочетанном воздействии ионов CD(II), PB(II) и антибиотика цефтриаксона. Медицинская экология. 2019; 7: 49–58.
23. Inoue R., Tsukahara T., Matsukawa N., Watanabe T., Bukawa W., Nakayama K. Rapid Induction of an Immune Response in Rat Peyer's Patch after Oral Administration of *Enterococcus faecalis* Strain EC-12. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2013; 77 (4): 863–866.

Поступила в редакцию 29.11.2020; принята 16.03.2021.

#### Авторский коллектив

**Морозова Елена Николаевна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85; e-mail: morozova\_en@bsu.edu.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-6117-080x>.

**Морозов Виталий Николаевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85; e-mail: morozov\_v@bsu.edu.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1169-4285>.

**Тверская Анастасия Владимировна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85; e-mail: tverskaya@bsu.edu.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2663-8569>.

#### Образец цитирования

Морозова Е.Н., Морозов В.Н., Тверская А.В. Влияние введения имунофана на морфометрические параметры и гистологическое строение пейеровых бляшек тонкой кишки крыс на фоне иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфана. Ульяновский медико-биологический журнал. 2021; 3: 141–152. DOI: 10.34014/2227-1848-2021-3-141-152.

## EFFECT OF IMUNOPHAN ON MORPHOMETRIC PARAMETERS AND HISTOLOGICAL STRUCTURE OF PEYER'S PATCHES IN SMALL INTESTINE OF RATS UNDER IMMUNOSUPPRESSION INDUCED BY CYCLOPHOSPHAN

E.N. Morozova, V.N. Morozov, A.V. Tverskaya

Belgorod State University, Belgorod, Russia

*The aim of the study is to analyze morphometric parameters and histological structure of Peyer's patches in the small intestine of rats after imunofan administration under immunosuppression caused by cyclophosphan.*

*Materials and Methods.* The study was carried out on 36 white male rats (210–250 grams). The animals were divided into two groups. Rats of Group 1 were injected with cyclophosphamide on the 1<sup>st</sup> day of the experiment (200 mg/kg). On the 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> days they received imunofan (0.7 µg/kg). Group 2 consisted of intact rats. The animals were withdrawn from the experiment on the 7<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup>, and 90<sup>th</sup> days after imunofan administration. The authors measured the length and width of Peyer's patches, and the distance from the ileocecal angle to the first patch. We also examined the height and width of lymph nodes and internodal zones on histological sections.

*Results.* On the 7<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days of our study the length and width of Peyer's patches increased by 18.71 %/16.94 % and 3.56 %/24.22 % respectively in mature animals, compared with the intact rats. At the same time, the distance from the ileocecal angle to the 1<sup>st</sup> Peyer's patch decreased by 6.15 % and 19.80 %. The micrography showed that the height and width of the lymph nodes of Peyer's patches in experimental animals increased by 29.79 %/12.73 % (Day 7) and 10.49 %/12.46 % (Day 30) in comparison with the intact rats. The linear sizes of internodal zones increased by 39.35 %/10.33 % (Day 7) and 4.77 %/4.25 % (Day 30). By the 90<sup>th</sup> day, the macroscopic parameters of Peyer's patches, the height and width of their lymph nodules and internodal zones approximated those of intact animals.

*Conclusion.* When using imunofan under experimental immunosuppression, macro- and micromorphometric parameters of Peyer's patches of the small intestine of mature rats gradually approximated those in intact rats, which indicated the leveling of cyclophosphan immunosuppressive effect.

**Key words:** rats, small intestine, Peyer's patches, imunofan, cyclophosphan.

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

### References

1. Danilova Z.A. Ekologicheskaya situatsiya i riski dlya zdorov'ya naseleniya [Environmental situation and risks to public health]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2019; 3 (81): 176–179 (in Russian).
2. Colao A., Muscogiuri G., Piscitelli P. Environment and Health: Not Only Cancer. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2016; 13 (7): 724.
3. Hryn V.H., Kostylenko Y.P., Bilash V.P., Ryabushko O.B. Microscopic structure of albino rats' small intestine. *Wiadomości Lekarskie*. 2019; LXXII (5): 733–738.
4. Haley P.J. The lymphoid system: a review of species differences. *J. Toxicol. Pathol.* 2017; 30 (2): 111–123.
5. Reboldi A., Cyster J.G. Peyer's patches: Organizing B cell responses at the intestinal frontier. *Immunol. Rev.* 2016; 271 (1): 230–245.
6. Khaitov R.M. Immunomodulatory: mify i real'nost' [Immunomodulators: Myths and reality]. *Immunologiya*. 2020; 41 (2): 101–106 (in Russian).
7. Kim W.H., Lillehoj H.S. Immunity, immunomodulation, and antibiotic alternatives to maximize the genetic potential of poultry for growth and disease response. *Animal Feed Science and Technology*. 2019; 250: 41–50.
8. Ahlmann M., Hempel G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2016; 78 (4): 661–671. DOI: 10.1007/s00280-016-3152-1.
9. Teles K.A., Medeiros-Souza P., Aires Correa Limac F. Cyclophosphamide administration routine in autoimmune rheumatic diseases: a review. *Rev. Bras. Reumatol. Engl. Ed.* 2017; 57 (6): 596–604.

10. Kashchenko S.A., Petizina O.N. Ul'tramikroskopicheskoe issledovanie pravyykh podmyshechnykh limfaticeskikh uzlov krysa v eksperimente [Experimental ultramicroscopic examination of the right axillary lymph nodes in rats]. *Materiali I Vseukrains'koi naukovno-praktichnoi konferentsii «Morfologiya lyudini ta tvarin»*. 9–10 veresnya 2011 [Proceedings of the 1<sup>st</sup> All-Ukrainian Science-to-Practice conference "Morphology of men and animals". September 9–10, 2011]. Mikolaïv; 2011: 80–82 (in Russian).
11. Mukhamadeeva O.R., Khismatullina Z.R., Medvedev Yu.A. Effektivnost' primeneniya immunomodulyatora «imunofan» pri kompleksnom lechenii bol'nykh zoonoproponoznoy trikhofitiei [Effectiveness of "Imunofan" in complex treatment of patients with zoonanthropous trichophytosis]. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny*. 2014; 7 (1): 31–34 (in Russian).
12. Sawicka J., Dzierżyńska M., Wardowska A. Imunofan-RDKVYR Peptide-Stimulates Skin Cell Proliferation and Promotes Tissue Repair. *Molecules*. 2020; 25 (12): 2884.
13. *Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area*. St. Petersburg; 2012.
14. Kashchenko S.A., Morozova O.M., Petizina O.M., Morozov V.M., Androsova M.C. *Patent of the Ukraine № 59906; 2011* (in Ukrainian).
15. Sapin M.R. *Immunnye struktury pishchevaritel'nykh organov (funktsional'naya anatomiya)* [Immune structures of digestive organs (functional anatomy)]. Moscow: 1987. 217 (in Russian).
16. Kashchenko S.A., Morozova O.M., Petizina O.M., Zolotarevs'ka M.V., Androsova M.C. *Patent of the Ukraïna № 97894; 2010* (in Ukrainian).
17. Kvaratskheliya A.G., Klochkova S.V., Nikityuk D.B., Alekseeva N.T. Morfologicheskaya kharakteristika timusa i selezenki pri vozdeystvii faktorov razlichnogo proiskhozhdeniya [Morphological characteristics of thymus and spleen when exposed to factors of various origins]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2016; 5 (3): 77–83 (in Russian).
18. Kashchenko S.A., Petizina O.N., Morozova E.N. Korrelyatsionnaya zavisimost' mezhdru parametrami limfaticeskikh uzlov krysa posle korrektsii immunodefitsitnogo sostoyaniya [Correlation dependence between lymph node parameters in rats after immunodeficiency correction]. *Ukrains'kiy morfologichnyi al'manakh*. 2014; 12 (3): 34–37 (in Russian).
19. Nor-Satinati S., Zuki A.B.Z., Zamri-Saad M. The response of gut-associated Lymphoid tissue (GALT) following oral administration of P. Multicida B2 in rat. *Journal of animal and veterinary advances*. 2006; 5 (11): 1029–1034.
20. Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Mikhaylova M.N., Zakhid M. T-zavisimye immunoregulyatornye efekty polioksidoniya i imunofana (obzor literatury) [T-dependent immunoregulatory effects of polyoxidonium and imunofan (literature review)]. *Vestnik Chuvashskogo universiteta*. 2010; 3: 140–145 (in Russian).
21. Bobrysheva I.V. Immunomodulyator «Imunofan» vliyaet na kletochnyy sostav morfofunktsional'nykh zon timusa krysa i zamedlyaet ego vozrastnuyu involyutsiyu [Immunomodulator "Imunofan" affects cell profile of morphofunctional zones of rat thymus and delays its age-related involution]. *Vestnik RGMU*. 2016; 3: 38–42 (in Russian).
22. Pukhaeva E.G., Skupnevskiy S.V., Rurua F.K., Farnieva Zh.G., Badtiev A.K. Antimutagennyy effekt imunofana pri sochetannom vozdeystvii ionov CD(II), PB(II) i antibiotika tseftriaksona [Antimutagenic effect of Imunofan under combined effect of CD (II), PB (II) ions and ceftriaxone]. *Meditsinskaya ekologiya*. 2019; 7: 49–58 (in Russian).
23. Inoue R., Tsukahara T., Matsukawa N., Watanabe T., Bukawa W., Nakayama K. Rapid Induction of an Immune Response in Rat Peyer's Patch after Oral Administration of Enterococcus faecalis Strain EC-12. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2013; 77 (4): 863–866.

Received November 11, 2020; accepted March 16, 2021.

#### Information about the authors

**Morozova Elena Nikolaevna**, Candidate of Science (Medicine), Associate Professor, Chair of Human Anatomy and Histology, Belgorod State University. 308015, Russia, Belgorod, Pobedy St., 85; e-mail: morozova\_en@bsu.edu.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-6117-080x>.

**Morozov Vitaliy Nikolaevich**, Candidate of Science (Medicine), Associate Professor, Chair Human Anatomy and Histology, Belgorod State University. 308015, Russia, Belgorod, Pobedy St., 85; e-mail: morozov\_v@bsu.edu.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1169-4285>.

**Tverskaya Anastasiya Vladimirovna**, Candidate of Science (Medicine), Associate Professor, Chair of Human Anatomy and Histology, Belgorod State University. 308015, Russia, Belgorod, Pobedy St., 85; e-mail: [tverskaya@bsu.edu.ru](mailto:tverskaya@bsu.edu.ru), ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2663-8569>.

#### For citation

Morozova E.N., Morozov V.N., Tverskaya A.V. Vliyaniye vvedeniya imunofana na morfometricheskie parametry i gistologicheskoe stroeniye peyerovykh blyashkek tonkoy kishki krysa na fone immunosupressii, vyzvannoy vvedeniemy tsiklofosfana [Effect of imunofan on morphometric parameters and histological structure of Peyer's patches in small intestine of rats under immunosuppression induced by cyclophosphan]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2021; 3: 141–152. DOI: 10.34014/2227-1848-2021-3-141-152 (in Russian).