



УДК 612.017.1:616-092.9

**УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ГРУППОВЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЕЛКОВ  
ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ИМУНОФАНА**  
**THE ULTRAMICROSCOPIC STRUCTURE OF THE AGGREGATED LYMPHATIC NODULES OF THE  
ADULT RATS AFTER IMUNOFAN ADMINISTRATION**

**Е.Н. Морозова, В.Н. Морозов**  
**E.N. Morozova, V.N. Morozov**

Белгородский государственный национальный исследовательский университет  
308015, г. Белгород, улица Победы, д. 85  
Belgorod National Research University  
308015, Belgorod, Pobeda St., 85

e-mail tiger2910@rambler.ru  
e-mail vitaliyy-morozov@rambler.ru

**Резюме.** Изучали ультрамикроскопическое строение групповых лимфатических узелков половозрелых крыс после введения имунофана на 7 и 30 сутки наблюдения. Выявили повышение синтетической активности в плазмочитах (развитие гранулярной эндоплазматической сети, увеличение количества свободных рибосом), активацию фагоцитоза в макрофагах (наличие большого количества лизосом), стимуляцию процессов обновления клеточной популяции в органе (активизация процессов митоза и апоптоза), а также увеличение количества фибробластических ретикулярных клеток.

**Summary.** The aim of the investigation was to study the ultramicroscopic structure of the aggregated lymphatic nodules of the small intestine in mature rats at ultramicroscopic level after administration of imunofan. The study was conducted on 24 white mature male rats weighing 210-250 g. First group of animals was injected imunofan, while the second group were intact rats. After decapitation at 7 and 30 days of observation the small intestine was removed and ultramicroscopic study of the aggregated lymphoid nodules was carry out. On 7<sup>th</sup> day after imunofan administration results of ultramicroscopic studies have shown that the cellular composition of aggregated lymphatic nodules in mature animals almost unchanged as compared with controls. On 30<sup>th</sup> day after imunofan administration in mature rats a response from the parenchyma of the organ was observed. The results of ultramicroscopic studies have shown that the ultramicroscopic picture on the 7<sup>th</sup> day after the imunofan administration is not significantly different from those in intact rats, although it revealed a moderate increase in synthetic activity in plasma cells (development of rough endoplasmic reticulum, increase the number of free ribosomes), activation of phagocytosis by macrophages (the presence of a large number of lysosomes). After the administration of imunofan to 30 days there is stimulation of updating the cell population in the body (activation of the processes of mitosis and apoptosis, development of organelles of the synthesis of plasma cells, increasing the number of fibroblastic reticular cells).

**Ключевые слова:** крыса, тонкая кишка, групповые лимфоидные узелки, имунофан, ультрамикроскопические особенности.

**Key words:** rat, small intestine, aggregated lymphatic nodules, imunofan, ultramicroscopic features.

---

#### Введение

Организм человека является открытой системой и обменивается с окружающей средой веществом, энергией и информацией. В процессе эволюции высокоорганизованная живая система приспособилась реагировать на внешние и внутренние сигналы избирательно, благодаря нервной, иммунной и эндокринной системам [Труфакин и др., 2008]. Одним из ярких примеров активного и избирательного взаимодействия с внешней средой является работа тонкой кишки. Учитывая длительный контакт с питательными веществами, которые являются по химической природе чужеродными для организма, в ее стенке сформировалось скопление лимфоидной ткани в виде групповых лимфатических узелков. Основываясь на активной способности лимфоцитов к рециркуляции, реакция на антигенный материал в одном месте приведет к формированию специфического иммунного ответа во всем организме [Січкоріз, 2006; Camile, Nugot, 2010]. На сегодняшний день учеными-фармацевтами активно разрабатываются вещества, которые способны регулировать реакцию лимфоидной системы на внешние воздействия для избежания развития или коррекции патологических состояний. При этом безопасность их широкого применения должна подтверждаться как на микроскопическом, так и

на ультрамикроскопическом уровне исследования органов мишеней на экспериментальном материале [Masihi, 2000; Хаитов, 2004, Matsuzaki et al., 2007]. Учитывая вышеуказанное, целью исследования явилось изучить ультрамикроскопическое строение групповых лимфатических узелков на ультрамикроскопическом уровне после введение иммуномодулятора имунофана у половозрелых крыс.

#### Объекты и методы исследования

Исследование проводили на 24 половозрелых белых беспородных крысах-самцах массой 210-250 г. Животные были разделены на 2 группы: первой внутримышечно вводили имунофан по схеме (на 1, 3, 5, 7, 9 сутки эксперимента) в дозе 0.7 мкг/кг массы тела животного, а второй служили интактные крысы. После декапитации на 7 и 30 сутки наблюдения извлекали тонкую кишку [Кашенко и др., 2011] и выделяли кусочки групповых лимфатических узелков (ГЛУ) объемом 1 мм<sup>3</sup>. Ультрамикроскопическое исследование проводили в лаборатории электронной микроскопии Харьковского НИИ радиологии им. С.П. Григорьева (зав. лаб. – к. мед. н. О.П. Лукашова) Украина. Для ультрамикроскопического исследования кусочки ГЛУ тонкой кишки объемом 1 мм<sup>3</sup> погружали в 2.5% раствор глутаральдегида на 0.1 М фосфатного буфера с pH 7.2 – 7.4 по М. Karnovsky на 24 часа, далее – в 1% тетроксид осмия по G. Palade на 1 час. После дегидратации в этаноле возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне материал заливали смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит). Полимеризацию проводили в течении 36 часов при 60°C. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон», контрастировали в растворе уранилацетата и цитрата свинца по E. Reynolds и изучали под электронным микроскопом EM-125 с дальнейшим фотографированием.

#### Результаты исследования

На 7 сутки наблюдения после воздействия имунофана результаты ультрамикроскопического исследования показали, что клеточный состав ГЛУ половозрелых животных практически не изменяется по сравнению с контрольными данными. Со стороны просвета тонкой кишки ЛУ покрыты М-клетками, которые имеют типичное строение. Паренхима органа, преимущественно, представлена лимфоцитами. Они содержат крупное ядро овальной формы с глыбками гетерохроматина, в цитоплазме располагаются типичные для них органеллы. Эти клетки плотно прилегают друг другу. Среди них можно выделить как светлые лимфоциты, так и темные. Для первых характерна светлая цитоплазма, которая содержит малое количество свободных рибосом. Для вторых – электронно-плотная цитоплазма, включающая много свободных рибосом, единичные митохондрии и незначительное количество других органелл (рис. 1).

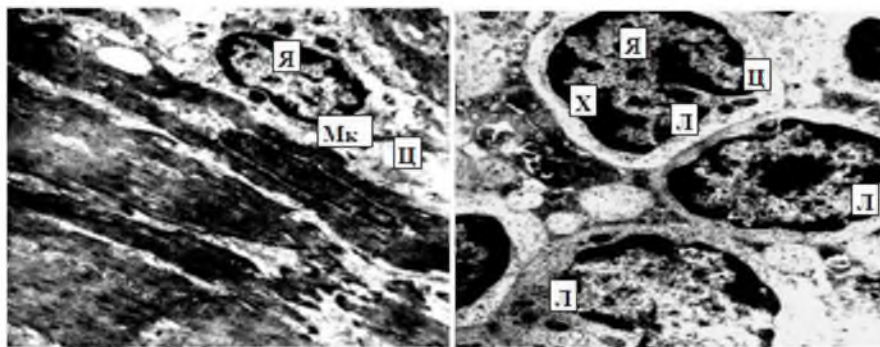


Рис. 1. Участок лимфатического узелка ГЛУ тонкой кишки половозрелых крыс на 7 сутки после воздействия имунофана: Мк-М-клетка, Л – лимфоцит, Я – ядро, Ц – цитоплазма, Х – хроматин. Увеличение×12000

The part of the lymphatic nodulus of mature rat's small intestine on 7<sup>th</sup> day after imunofan administration: M – microfold cell, L – lymphocyte, N – nucleus, C – cytoplasm, C – chromatin. Magnification×12000

Среди лимфоцитов встречаются незрелые формы – лимфобласты. Крупное ядро лимфобласта содержит небольшое количество гетерохроматина, который прилежит к кариолемме. В цитоплазме располагаются органеллы общего назначения, особенно большое количество свободных рибосом и полисом. Нередко встречаются делящиеся клетки. Среди лимфоцитов встречается умеренное количество макрофагов. Это крупные клетки, ядро которых иногда имеет неровную поверхность. Небольшое количество гетерохроматина располагается под кариолеммой. Цитоплазма базофильная, неоднородная, пятнистая благодаря наличию в ней первичных, вторичных, а также третичных лизосом. Умеренно развиты митохондрии, гранулярная эндоплазматическая сеть, комплекс Гольджи, включения гликогена, липидов. Плазмциты в ЛУ располагаются поодиночке и окружены лимфоцитами. Ядро

небольшое, расположено эксцентрично. Конденсированный хроматин под кариолеммой образует характерный рисунок – колесо со спицами. Участок светлой цитоплазмы около ядра содержит центриоли, окруженные цистернами комплекса Гольджи. Хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть, расположенная концентрически и занимающая одну треть цитоплазмы клетки. Много рибосом и митохондрий, что свидетельствует о выраженной синтетической активности данных клеток (рис. 2).

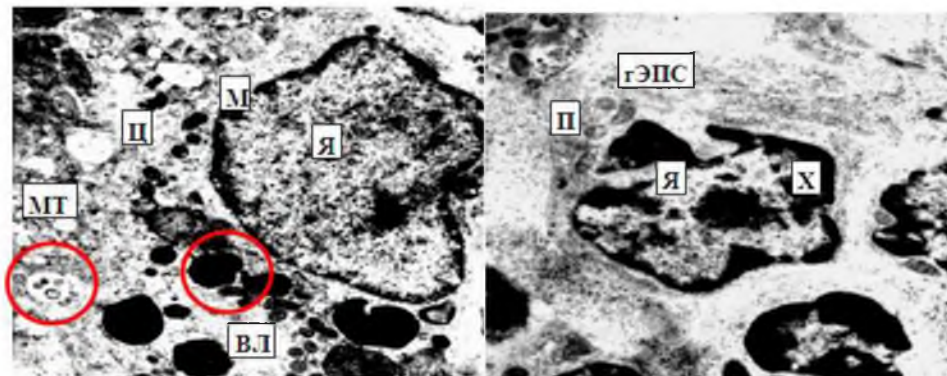


Рис. 2. Участок лимфатического узелка тонкой кишки половозрелых крыс на 7 сутки после воздействия иммунофана: П – плазмоцит, М – макрофаг, Я – ядро, Ц – цитоплазма, ВЛ – вторичные лизосомы, МТ – мультивезикулярное тельце, гЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть. Увеличение  $\times 12000$

The part of the small intestine's lymphatic nodulus of mature rats on 7<sup>th</sup> day after imunofan administration:  
P – plasma cell, M – macrophage, N – nucleus, C – cytoplasm, SL – secondary lysosomes, MB – multivesicular body, rER – rough endoplasmatic reticulum. Magnification  $\times 12000$

В составе стромального компонента определяются клетки овально-вытянутой формы с отростками, которые охватывают скопления ретикулярных волокон. В некоторых случаях, небольшие по площади скопления ретикулярных волокон погружены внутрь клетки и располагаются напротив инвагинирующей поверхности ядра. Как и в контрольной группе животных, в области ГЛУ в данный срок наблюдения выявляются единичные клетки с явлениями апоптоза. Некоторые из них целиком фагоцитированы макрофагами (рис. 3).

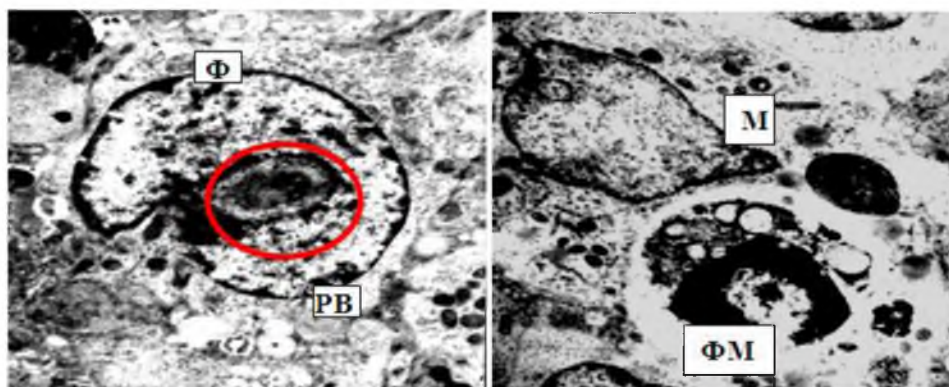


Рис. 3. Участок лимфатического узелка тонкой кишки половозрелых крыс на 7 сутки после воздействия иммунофана: Ф – фибробластическая ретикулярная клетка, М – макрофаг, РВ – ретикулярные волокна, ФМ – фагосома макрофага, содержащая клетку на ранней стадии апоптоза. Увеличение  $\times 12000$

The part of the small intestine's lymphatic nodulus of mature rats on 7<sup>th</sup> day after imunofan administration:  
F – fibroblastic reticular cell, M – macrophage, RF – reticular fibers, FM – phagosome of macrophage on the early stage of apoptosis. Magnification  $\times 12000$

Для клеток с явлениями апоптоза характерно уменьшение объема и уплотнение цитоплазмы, мембрана клетки не изменена. Органеллы имеют типичное строение, располагаются более компактно. Хроматин конденсируется под ядерной мембраной в виде характерного полулуния. В лимфоидной ткани располагается умеренное количество капилляров, имеющих типичное строение.

После воздействия иммунофана на 30 сутки у половозрелых животных наблюдается ответная реакция со стороны паренхимы органа. Она проявляется в усилении митотической активности лимфоцитов, процессов обновления клеточных популяций путем активизации апоптоза, увеличении численности фибробластических ретикулярных клеток, развитии органелл синтеза в плазмоцитах, активизацией процессов фагоцитоза в макрофагах (рис. 4).

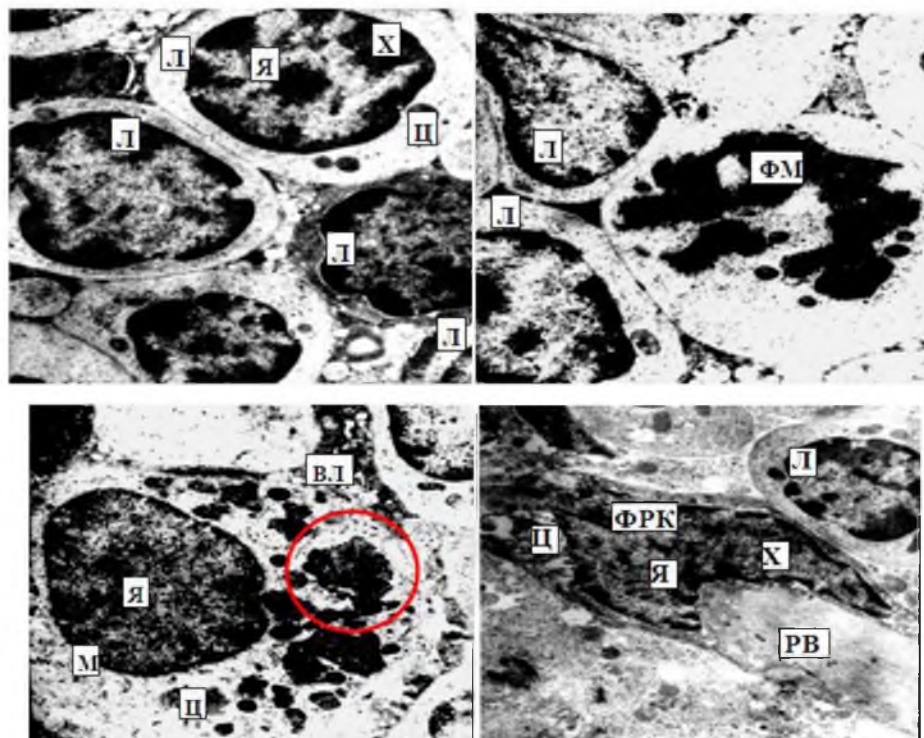


Рис. 4. Участок лимфатического узелка половозрелых крыс на 30 сутки после воздействия иммунофана: ФРК – фибробластическая ретикулярная клетка, М – макрофаг, Л – лимфоцит, Я – ядро, Х – хроматин, Ц – цитоплазма, ФМ – фигура митоза, ВЛ – вторичные лизосомы, РВ – ретикулярные волокна. Увеличение×12000

The part of the lymphatic nodulus of mature rats on 30<sup>th</sup> day after imunofan administration: FRC – fibroblastic reticular cell, M – macrophage, L – lymphocyte, N – nucleus, C – cytoplasm, FM – figures of mitosis, SL – secondary lysosomes, RF – reticular fibers. Magnification×12000

#### Выводы

Результаты ультрамикроскопического исследования показали, что полученная ультрамикроскопическая картина на 7 сутки после введения иммунофана по схеме существенно не отличается от данных у интактных крыс, хотя и выявляется умеренное повышение синтетической активности в плазмоцитах (развитие гранулярной эндоплазматической сети, увеличение количества свободных рибосом), активация фагоцитоза в макрофагах (наличие большого количества лизосом). После введения иммунофана к 30 суткам происходит стимуляции процессов обновления клеточной популяции в органе (активизация процессов митоза и апоптоза, развитие органелл синтеза в плазмоцитах, увеличение количества фибробластических ретикулярных клеток).

#### Литература

- Патент 59906 Україна, МПК В25В 9/00. Пристрій зі знімними насадками для захвату, утримання й виділення тонкої кишки та лімфатичного вузла / С.А. Кашенко, О.М. Морозова, О.М. Петізіна, В.М. Морозов, М.Є. Андросова; заявник та патентовласник С.А. Кашенко, О.М. Морозова, О.М. Петізіна, В.М. Морозов, М.Є. Андросова – № u 201011378; заявл. 24.09.10; опубл. 10.06.11, Бюл. № 11.
- Січкорізі О.Є. 2006. Імунітет слизових оболонок шлунково-кишкового тракту. Львівський медичний часопис, XII (3–4): 19–128.
- Труфакин В.А. и др. 2008. Ритм чередования света и темноты как экологический фактор, влияющий на состояние иммунной системы. Аллергология и иммунология, 9 (4):431–437.
- Хайтов Р.М. 2004. Иммуномодуляторы: классификации, фармакологическое действие, клиническое применение. Ревматология, иммунология, аллергология, 7 (85):7–11.
- Camile J., Hugot J.-P. 2010. Peyer's patches: the immune sensors of the intestine. International Journal of Inflammation, 130:1–12.
- Matsuzaki T. et al. 2007. Intestinal microflora: probiotics and autoimmunity Journal Nutrition, (137):798S–802S.



Masihi K.N. 2000. Immunomodulatory agents for prophylaxis and therapy of infections *International Journal Antimicrobial Agents*, 14 (3):181–191.

#### Literature

S.A. Kashhenko, O.M. Morozova, O.M. Petizina, V.M. Morozov, M.Je. Androsova; заявник та патентовласник S.A. Kashhenko, O.M. Morozova, O.M. Petizina, V.M. Morozov, M.Je. Androsova Patent 59906 Ukrai'na, MPK V25V 9/00. Prystrij zi znimnymy nasadkami dlja zahvatu, utrymannja j vydilennja tonkoi' kyshky ta limfatychnogo vuzla [The unit with removable nozzles for the capture, maintenance and allocation of the small intestine and lymph node]./ – № u 201011378; zajavl. 24.09.10; opubl. 10.06.11, Bjul. № 11 (in Ukrainian).

Sichkoriz O.Je. 2006. Imunitet slyzovyh obolonok shlunkovo-kyshkovogo traktu. L'vivs'kyj medychnyj chasopys, XII (3–4): 19–128 (in Ukrainian).

Trufakin V.A. i dr. 2008. The rhythm of the alternation of light and darkness as an environmental factor affecting the immune system. *Allergologija i immunologija*, 9 (4):431–437 (in Russian).

Haitov R.M. 2004. Immunomodulatory: klassifikacii, farmakologicheskoe dejstvie, klinicheskoe primenenie. *Revmatologija, immunologija, allergologija*, 7 (85):7–11 (in Russian).

Camile J., Hugot J.-P. 2010. Peyer's patches: the immune sensors of the intestine. *International Journal of Inflammation*, 130:1–12.

Matsuzaki T. et al. 2007. Intestinal microflora: probiotics and autoimmunity *Journal Nutrition*, (137):798S–802S.

Masihi K.N. 2000. Immunomodulatory agents for prophylaxis and therapy of infections *International Journal Antimicrobial Agents*, 14 (3):181–191.