

UDC 612.017.1:616-092.9

УДК 612.017.1:616-092.9

## MORPHOLOGICAL FEATURES OF PEYER'S PATCHES OF THE SMALL INTESTINE OF RATS AFTER INJECTION OF CYCLOPHOSPHAMIDE

E.N. Morozova, Candidate of Medical sciences  
Lugansk State Medical University, Ukraine

Peculiarities of structure of the Peyer's patches of the small intestine of immature rats after cyclophosphamide injection are studied. The author revealed that at the 7th and 30th day the drug shows a clear immunosuppressive effect manifested in the reduction of linear indicators of patches, emergence of the bifurcated dome, sections of arterial hyperemia, aggregates of macrophages - in comparison with data on the controlled animals.

**Keywords:** Peyer's patches, small intestine, rats, cyclophosphamide, immunosuppression.

Conference participant, National Research Analytics Championship,  
Open European-Asian Research Analytics Championship

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА

Морозова Е.Н., канд. мед. наук, ассистент  
Луганский государственный медицинский университет,  
Украина

Изучены особенности строения пейеровых бляшек тонкой кишки неполовозрелых крыс после введения циклофосфана. Выявлено, что на 7 и 30 сутки препарат оказывает выраженный иммуносупрессивный эффект, который проявляется в снижении линейных показателей бляшек, появлении раздвоенного купола, участков артериальной гиперемии, агрегатов макрофагов по сравнению с данными контрольных животных.

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

Участник конференции, Национального первенства по научной аналитике,  
Открытого Европейско-Азиатского первенства по научной аналитике

Одной из глобальных проблем человечества на планете является загрязнение окружающей среды, которое постепенно дестабилизирует иммунную систему и как следствие приводит к разрушению живые организмы [5].

Кишечник у человека и животных занимает особое место среди внутренних органов как экологический барьер между экзогенными и алиментарными веществами, обеспечивающий многообразные контакты пищевых и иммунных веществ, микробных, грибковых, паразитарных и других патогенных и сапрофитных агентов с целью сохранения оптимального гомеостаза организма человека и животных.

Тонкая кишка занимает центральное место среди органов пищеварения с ее многочисленными жизненно необходимыми функциями. Особое место здесь выполняют пейеровы бляшки (ПБ), которые являются частью иммунной системы организма [2].

Учитывая вышеперечисленное целью исследования явилось изучить морфологические особенности ПБ тонкой кишки крыс после введения циклофосфана.

Работа является частью научно-исследовательской работы кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»: «Особенности будови органів імунної та ендокринної систем при імуностимуляції та імносупресії» (державний реєстраційний номер 0112U000096).

**Табл.1.**  
**Линейные параметры тонкой кишки у неполовозрелых крыс интактной и подопытной групп в разные сроки наблюдения после воздействия циклофосфана  $M \pm m$  (n=36)**

Линейные параметры (мм)	Неполовозрелые крысы					
	7 сутки	Контроль	30 сутки	Контроль	90 сутки	Контроль
Длина тонкой кишки	710,00 $\pm 20,50$	718,00 $\pm 21,50$	826,00 $\pm 22,50$	836,00 $\pm 40,10$	901,00 $\pm 21,20$	900,00 $\pm 14,40$
Количество ПБ	16,00 $\pm 0,63$	16,70 $\pm 0,73$	15,80 $\pm 0,52^*$	17,00 $\pm 0,28$	18,00 $\pm 0,80$	18,50 $\pm 0,88$
Длина ПБ	4,13 $\pm 0,11^*$	4,75 $\pm 0,23$	4,04 $\pm 0,15^*$	4,49 $\pm 0,22$	5,00 $\pm 0,23$	5,05 $\pm 0,22$
Ширина ПБ	2,63 $\pm 0,05$	2,83 $\pm 0,14$	2,02 $\pm 0,11^*$	2,42 $\pm 0,02$	2,22 $\pm 0,11$	2,23 $\pm 0,12$

Примечание: \* - достоверные отличия от контрольных данных при  $p < 0,05$ .

**Материалы и методы.** Исследование проводили на 36 белых беспородных неполовозрелых крысах-самцах массой 210-250 г. Животные были разделены на две группы по 18 в каждой. Животным **I группы** вводили циклофосфан однократно внутримышечно в дозе 200 мг/кг. Крысы **II группы** служили контролем. После выведения животных из эксперимента на 7, 30, 90 сутки выделяли тонкую кишку. Измеряли ее длину, а также линейные размеры и количество ПБ. По стандартной методике изготавливали гистологические препараты, окрашивали их гематоксилин-эозином. При помощи автоматизированного морфометрического комплекса измеряли морфометрические параметры ПБ, подсчитывали количество ядер на еди-

ницу площади препарата (1000  $\mu\text{m}^2$ ) в куполе, герминативном центре и периферической зоне лимфатических узелков, а также в межузелковой зоне ПБ. Обработку цифровых данных проводили с помощью программы «Statistica» (определяли t-критерий Стьюдента, достоверными считали отличия с уровнем значимости при  $p < 0,05$ ).

**Результаты исследования.** После введения циклофосфана у неполовозрелых крыс на 7, 30 и 90 сутки наблюдения длина тонкой кишки приближалась к контрольным параметрам. Под влиянием иммуносупрессора у животных форма, месторасположение пейеровых бляшек в стенке тонкой кишки сходны с данными в контрольной группе. Лимфатические узелки трудно

Табл.2.

Морфометрические параметры ПБ тонкой кишки у неполовозрелых животных интактной и подопытной групп в разные сроки наблюдения после воздействия циклофосфана  $M \pm m$  (n=36)

Линейные параметры (мкм)	Неполовозрелые крысы					
	7 сутки	Контроль	30 сутки	Контроль	90 сутки	Контроль
Высота лимфатических узелков	964,00 $\pm 15,70$	973,00 $\pm 27,20$	781,00 $\pm 12,40^*$	978,00 $\pm 31,53$	997,00 $\pm 31,30$	998,00 $\pm 38,34$
Ширина лимфатических узелков	611,00 $\pm 11,70^*$	686,00 $\pm 24,40$	887,00 $\pm 29,00^*$	960,00 $\pm 41,61$	745,00 $\pm 23,40$	753,00 $\pm 30,00$
Высота герминативных центров	524,00 $\pm 14,70$	538,00 $\pm 23,90$	445,00 $\pm 19,90^*$	661,00 $\pm 33,02$	484,00 $\pm 14,90$	488,00 $\pm 14,05$
Ширина герминативных центров	335,00 $\pm 18,70^*$	530,00 $\pm 27,50$	469,00 $\pm 22,70^*$	737,00 $\pm 42,65$	502,00 $\pm 21,40$	513,00 $\pm 25,25$
Высота межузелковых зон	398,00 $\pm 14,90$	410,00 $\pm 20,40$	408,00 $\pm 11,70^*$	430,00 $\pm 18,36$	377,00 $\pm 16,00$	379,00 $\pm 19,03$
Ширина межузелковых зон	305,00 $\pm 10,20^*$	315,00 $\pm 18,40$	358,00 $\pm 11,40^*$	408,00 $\pm 19,20$	379,00 $\pm 15,60$	383,00 $\pm 17,03$

Примечание: \* - достоверные отличия от контрольных данных при  $p < 0,05$ .

Табл.3.

Количество ядер клеток на единицу площади (1000 мкм<sup>2</sup>) в разных зонах ПБ тонкой кишки у неполовозрелых животных интактной и подопытной групп на 7, 30, 90 сутки после воздействия циклофосфаном  $M \pm m$  (n=36)

Зоны лимфатических узелков	Неполовозрелые крысы					
	7 сутки	Контроль	30 сутки	Контроль	90 сутки	Контроль
Купол	0,53 $\pm$ 0,01*	0,61 $\pm$ 0,03	0,39 $\pm$ 0,01*	0,47 $\pm$ 0,03	0,55 $\pm$ 0,02	0,54 $\pm$ 0,02
Герминати-вный центр	0,61 $\pm$ 0,01*	0,68 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,01*	0,72 $\pm$ 0,03	0,70 $\pm$ 0,02	0,73 $\pm$ 0,03
Перифери-ческая зона	0,60 $\pm$ 0,03*	0,66 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,01*	0,53 $\pm$ 0,03	0,70 $\pm$ 0,01	0,68 $\pm$ 0,02
Межузелковая зона	0,55 $\pm$ 0,03*	0,60 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,02	0,46 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,02

Примечание: \* - достоверные отличия от контрольных данных при  $p < 0,05$ .

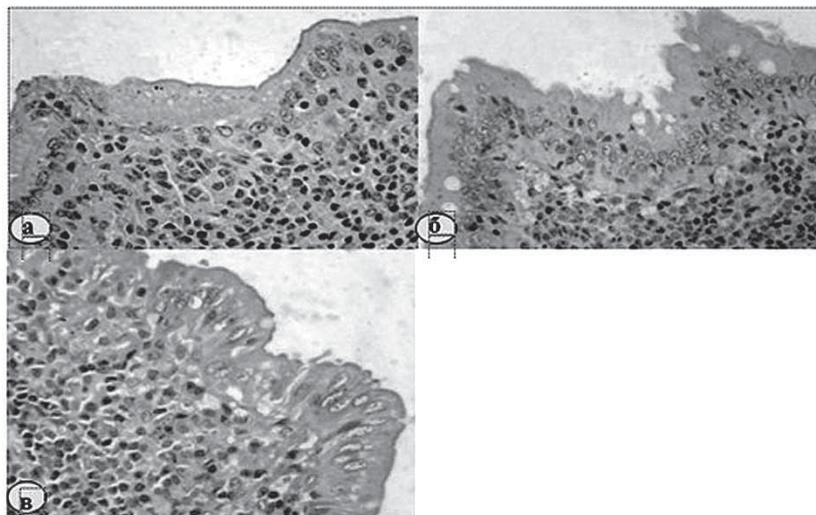


Рис. 1. Купол лимфатического узелка неполовозрелой крысы на 7 (а), 30 (б) и 90 (в) сутки после воздействия циклофосфана.

Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 132. Объектив: Plan C N 60/0.25 $\infty$ /-FN22.

дифференцируются и практически не выступают над поверхностью слизистой оболочки, поэтому для выявления ПБ был разработан и использован «Спосіб виявлення імунного апарату тонкої кишки й лімфатичних вузлів серед оточуючих тканин» [3].

У неполовозрелых животных на 7 и 30 сутки наблюдения после воздействия циклофосфана количество, длина и ширина ПБ снижались на 4,19%, 13,05%, 7,07% и 7,06%, 10,02%, 16,53% соответственно по сравнению с контрольными данными (табл. 1). К 90 суткам наблюдения линейные параметры приближались к данным интактных крыс.

При исследовании гистологических препаратов ПБ тонкой кишки выявили, что они состоят из скоплений лимфатических узелков и диффузной

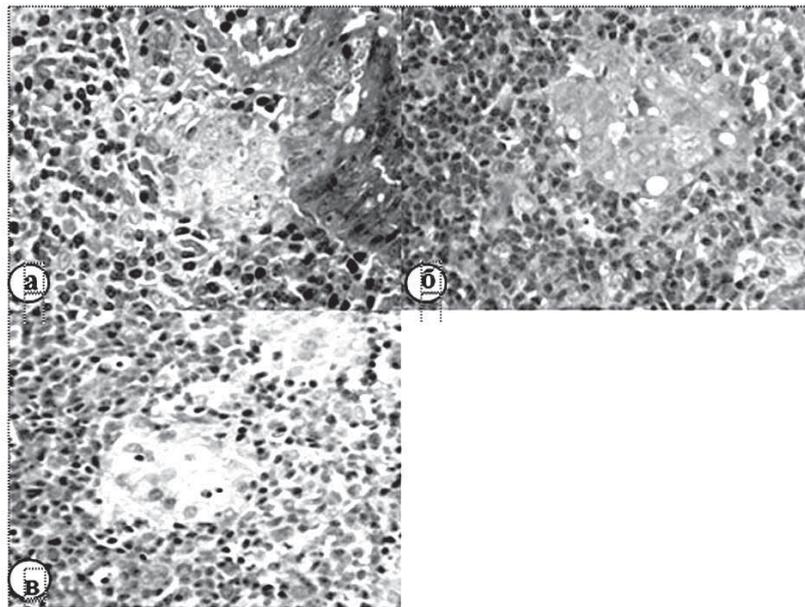
лимфоидной ткани. Лимфатические узелки располагались в один ряд в пределах слизистой оболочки органа, что соответствовало результатам, полученным в контрольной группе. Клеточный состав качественно не отличался от показателей интактных животных, в отличие от количества ядер клеток на единицу площади препарата.

На 7 сутки наблюдения у неполовозрелых крыс линейные размеры высоты лимфатических узелков, их герминативных центров и межузелковых зон уменьшались на 0,92%, 2,60% и 2,93%, а ширины (табл. 2) снижались на 10,93%, 36,79%, 3,17% соответственно. Количество ядер клеток на единицу площади препарата в области купола, герминативного центра, периферической зоны и межузелковой зоны было меньше показателей интактных крыс на 13,11%, 10,29%, 9,09% и 8,33%.

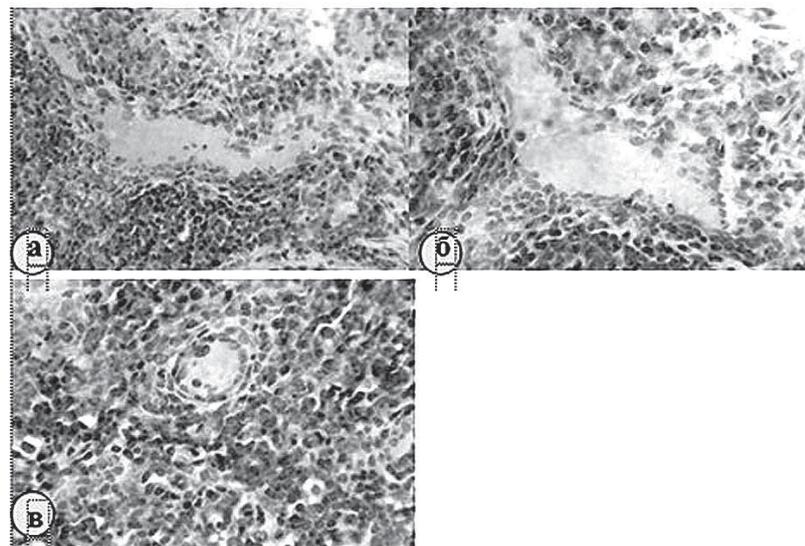
К 30 суткам наблюдения высота лимфатических узелков, их герминативных центров и межузелковых зон снижалась на 20,14%, 3,68% и 5,12%, а ширина – на 7,60%, 36,36% и 12,25%. Количество ядер клеток на единицу площади препарата в области купола, герминативного центра, межузелковой зоны и периферической зоны уменьшалось на 17,02%, 25,00%, 8,70% и 18,87% по сравнению с контрольными данными (табл. 3). На 90 сутки наблюдения все показатели приближалось к контрольным параметрам.

Микроскопическое исследование показало, что после введения циклофосфана у неполовозрелых крыс нередко встречались ЛУ с раздвоенным куполом (рис. 1). Возможно, данные изменения связаны с тем, что введение высокой дозы иммуносупрессора оказывало влияние на процессы их формирования.

На фоне искусственно созданного иммунодефицитного состояния в ПБ тонкой кишки на 7, 30 и 90 сутки наблюдения (рис. 2), по сравнению с интактной группой, были выявлены единичные, округлой формы образования. Они состояли из 9-10 крупных клеток, цитоплазма которых окрашивалась в бледно-розовый цвет и окружала центрально расположенное ядро овальной



**Рис. 2.** Скопление агрегатов макрофагов в разных зонах ПБ неполовозрелых крыс на 7 (а), 30 (б) и 90 (в) сутки после введения циклофосфана. Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 132. Объектив: Plan C N 40<sup>x</sup>/0.25<sup>x</sup>/-/FN22.



**Рис. 3.** Артериальная гиперемия в ткани ПБ неполовозрелых крыс на 7 (а), 30 (б) и 90 (в) сутки после введения циклофосфана. Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 132. Объектив: Plan C N 40<sup>x</sup>/0.25<sup>x</sup>/-/FN22.

формы. Данные скопления выявлялись в разных зонах ПБ и граничили с лимфоцитами на разных этапах дифференцировки и ретикулярными клетками. Причем размеры их увеличиваются на 30 сутки, а количество на 90 сутки после введения циклофосфана. Учитывая данные литературы можно предположить, что это скопления макрофагов. При этом следует под-

черкнуть, что аналогичные скопления были описаны С. Fricke-Kuper (2006) в ПБ тонкой кишки крыс породы Wistar при внутривенном введении бактериального пептидогликаново-полисахаридного комплекса, а также во время псевдотуберкулезной инфекции у коз [4]. Д.А. Ильин (2011) утверждает, что агрегаты макрофагов могут свидетельствовать о реализации компенсаторно-

приспособительных реакций, направленных на изоляцию и элиминацию чужеродного агента [1].

Следует отметить при введении циклофосфана у ряда неполовозрелых крыс на 7, 30 и 90 сутки в ткани ПБ наблюдается артериальная гиперемия (рис. 3), которая может быть связана с развитием воспалительного процесса в тонкой кишке на фоне иммуносупрессивного состояния.

Необходимо отметить, что снижение вышеуказанных показателей, а также морфологические изменения выявленные на 7 и 30 сутки после воздействия циклофосфана могут быть связаны с выраженным иммуносупрессивным действием циклофосфана на ПБ тонкой кишки. К 90 суткам количество и линейные размеры ПБ приближались к контрольным параметрам. Данные изменения свидетельствуют о том, что иммунный аппарат способен адаптироваться к действию циклофосфана.

## References:

1. Il'in D.A. Aktual'nye voprosy izucheniya mnogoyadernykh makrofafov [Topical issues of studying multicore macrophages] D.A. Il'in, Problemy i perspektivy sovremennoi nauki [Problems and perspectives of modern science]. – 2011; V. 3, No. 1; pp. 110–111.

2. Nozdrachev A.D. Anatomiya krysy (Laboratory rats) [Anatomy of rats (Laboratory rats)] Nozdrachev A.D., Polyakov E.L. – Sankt-Peterburg., Publisher «Lan'», 2001. - 464 p.

3. Patent na vinakhid 97894 Ukraïna, MPK A61V 5/00. Sposib viyavlennya immunogo aparatu tonkoï kishki i limfatichnikh vuzliv sered otouchuyuchikh tkanin [Patent for an invention 97894, Ukraine, IPC A61V 5/00. Method of detecting the immune apparatus of the small intestine and lymph nodes in the surrounding tissue] Kashchenko S.A., Morozova O.M., Petizina O.M., Zolotarevs'ka M.V., Androsova M.C.; zayavnik ta patentovlasnik Kashchenko S.A., Morozova O.M., Petizina O.M., Zolotarevs'ka M.V., Androsova M.C. – a 2010 13140; appl. 05.11.2010; published 26.03.12, Bull. No. 6.

4. Fricke-Kuper C. Histopathology of mucosa-associated lymphoid tissue. C. Fricke-Kuper, Toxicologic Pathology. – 2006; No. 34., pp. 609–615.

5. Bardana E.J. Indoor air pollution and health. E. J. Bardana, A. Montanaro. Occup. Environ. Med. – 2000; No. 57., pp. 285–288.

макрофагов / Д.А. Ильин // Проблемы и перспективы современной науки. – 2011. – Т. 3, № 1. – С. 110–111.

2. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (Лабораторные крысы) / Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. – СПб.: Издательство «Лань», 2001. – 464 с.

3. Патент на винахід 97894 Україна, МПК А61В 5/00. Спосіб виявлення імунного апарату тонкої кишки й лімфатичних вузлів серед оточуючих тканин / Кашченко С.А., Морозова О.М., Петізіна О.М., Золотаревська М.В., Андросова М.С.; заявник та патентовласник Кашченко С.А., Морозова О.М., Петізіна О.М., Золотаревська М.В., Андросова М.С. – а 2010 13140; заявл. 05.11.2010; опубл. 26.03.12, Бюл. № 6.

4. Fricke-Kuper C. Histopathology of mucosa-associated lymphoid tissue / C. Fricke-Kuper // Toxicologic Pathology. – 2006. – № 34. – P. 609–615.

5. Bardana E.J. Indoor air pollution and health / E.J. Bardana, A. Montanaro // Occup. Environ. Med. – 2000. – № 57. – P. 285–288.

## Information about author:

1. Elena Morozova - Candidate of Medical sciences, Lugansk State Medical University; address: Ukraine, Lugansk city; e-mail: tiger2910@rambler.ru

## Литература:

1. Ильин Д.А. Актуальные вопросы изучения многоядерных

