

ИММУНОМОДУЛЯТОР «ИМУНОФАН» ВЛИЯЕТ НА КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЗОН ТИМУСА КРЫС И ЗАМЕДЛЯЕТ ЕГО ВОЗРАСТНУЮ ИНВОЛЮЦИЮ

И. В. Бобрышева ✉

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, стоматологический факультет, Луганский государственный медицинский университет, Луганск, Украина

В клинической практике применяется иммуномодулятор «Имунофан» («Бионокс», Россия), воздействующий на иммунную и эндокринную системы и усиливающий клеточный и гуморальный иммунитет. Целью исследования являлось изучение содержания лимфобластов, малых, средних и больших лимфоцитов, макрофагов, митотически делящихся и деструктивно измененных клеток в субкапсулярной и внутренней зонах коркового вещества и мозговом веществе паренхимы тимуса беспородных белых крыс-самцов периода выраженных старческих изменений при иммуностимуляции «Имунофаном». Животным опытной группы ($n = 30$) вводили препарат внутримышечно из расчета 0,7 мг/кг в 1, 3, 5, 7 и 9-е сутки эксперимента, а животным контрольной группы ($n = 30$) — эквивалентный объем физиологического раствора в те же сроки. Декапитацию осуществляли на 1, 7, 15, 30 и 60-е сутки после последней инъекции. Срезы изучали с помощью микроскопа Olympus CX-41, фотоаппарата Olympus SP 500UZ (Olympus, Япония) и программного пакета Morpholog (Украина). Морфологические особенности органа в опытной и контрольной группах были схожими, но клеточный состав зон различался. В субкапсулярной зоне на 7, 15 и 30-е сутки было больше клеток лимфоидного ряда и макрофагов при одновременном снижении числа клеток с признаками деструкции ($p < 0,05$). Аналогичные статистически значимые закономерности были выявлены для внутренней зоны. В мозговом веществе содержание средних лимфоцитов было достоверно выше на 7, 15 и 30-е сутки наблюдения, а малых лимфоцитов — также и на 60-е сутки. Количество деструктивно измененных клеток значительно уменьшилось на 15 и 30-е сутки ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о заметной реактивности тимуса крыс периода выраженных старческих изменений на введение «Имунофана» и временном частичном замедлении его возрастной инволюции.

Ключевые слова: тимус, возрастная инволюция, иммуностимуляция, иммуномодулятор, имунофан, белые крысы

✉ Для корреспонденции: Бобрышева Инесса Венедиктовна
91016, Украина, г. Луганск, ул. 15 линия, д. 18, кв. 8; inessa_lug@mail.ru

Статья поступила: 31.05.2016 Статья принята к печати: 22.06.2016

IMMUNOMODULATOR IMUNOFAN AFFECTS CELL PROFILE OF MORPHOFUNCTIONAL ZONES OF RAT THYMUS AND DELAYS ITS AGE-RELATED INVOLUTION

Bobrysheva IV ✉

Department of Histology, Cytology and Embryology, Faculty of Stomatology, Lugansk State Medical University, Lugansk, Ukraine

The immunomodulatory agent Imunofan (Bionox, Russia) is widely used in clinical practice. It affects the immune and endocrine systems and enhances cell-mediated and humoral immunity. The aim of this study was to investigate the cell profile (lymphoblasts, small, medium and large lymphocytes, macrophages, mitotic cells and damaged cells) in the subcapsular and inner zones of the thymic cortex and thymic medulla of random-bred male albino rats with conspicuous age-related changes after stimulating their immune system with Imunofan. The animals in the experimental group ($n = 30$) were administered to intramuscular injections of the drug (0.7 mg/kg) on the 1st, 3rd, 5th, 7th and 9th days of the experiment; the controls ($n = 30$) were administered to the equivalent amount of normal saline on the same days. Rats were decapitated on the 1st, 7th, 15th, 30th and 60th days after the final injection. Thymic sections were studied using Olympus CX-41 microscope, Olympus SP 500UZ camera (Olympus, Japan) and Morpholog software (Ukraine). Thymic morphology was similar in the experimental and control groups; however, cell profiles were different. On the 7th, 15th and 30th days, lymphoid cells and macrophages prevailed over damaged cells, the number of which decreased ($p < 0.05$). Similar statistically significant trends were found in the inner zone of the thymic cortex. The number of medium lymphocytes was statistically higher on the 7th, 15th and 30th days of the observation, while the number of small lymphocytes was also higher on the 60th day of the observation. The number of damaged cells was significantly lower on the 15th and 30th days ($p < 0.05$). The obtained results indicate conspicuous thymic response in rats with conspicuous age-related changes to Imunofan administration, and partial temporary delay of age-related thymic involution.

Keywords: thymus, age-related involution, immune stimulation, immunomodulator, Imunofan, albino rats

✉ Correspondence should be addressed: Inessa Bobrysheva
ul. 15-ya Liniya, d.18, kv. 8, Lugansk, Ukraine, 91016; inessa_lug@mail.ru

Received: 31.05.2016 Accepted: 22.06.2016

Тимус как центральный орган иммунной системы определяет выраженность защитных реакций организма и обеспечивает иммунный гомеостаз. Морфологические перестройки в тимусе, возникающие в ответ на действие различных факторов, в том числе введение препаратов с иммуностимулирующими свойствами, сопровождаются изменением цитоархитектоники и микроокружения клеток [1–7].

В клинической практике широко применяется иммуномодулятор «Имунофан», воздействующий на иммунную и эндокринную системы и усиливающий клеточный и гуморальный иммунитет [8]. Это синтетический иммунорегуляторный гексапептид (аргинил- α -аспартил-лизил-валлил-тирозил-аргинин), созданный на основе одного из фрагментов тимопоэтина, включающего аминокислотные остатки его активного центра. Фармакологическое действие «Имунофана» заключается в коррекции состояния иммунной системы и установлении баланса окислительно-антиокислительных реакций в организме. Действие препарата начинается через 2–3 ч после введения и продолжается до 4 мес. В быстрой фазе действия (первые 2–3 суток) наблюдается прежде всего детоксикационный эффект: «Имунофан» нормализует перекисное окисление липидов, ингибирует распад фосфолипидов клеточной мембраны и синтез арахидоновой кислоты. В средней фазе (длится 7–10 суток) усиливаются реакции фагоцитоза и гибели внутриклеточных бактерий и вирусов, а в медленной (длится до 4 мес.) — восстанавливаются нарушенные показатели клеточного и гуморального иммунитета.

Имеется большое число исследований, посвященных изучению влияния «Имунофана» на различные системы организма животных и человека [1, 3, 9–12], однако особенностям цитоархитектоники различных зон тимуса при иммуностимуляции препаратом, в том числе в разном возрасте, уделено недостаточно внимания. Целью исследования являлось изучение клеточного состава структурно-функциональных зон паренхимы тимуса крыс периода выраженных старческих изменений при иммуностимуляции «Имунофаном».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование провели на 60 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 20 мес. и массой 300–330 г. Животных содержали в виварии (температура — 20–25 °С, влажность — не более 50 %, искусственное освещение — 12 ч, с 8:00 до 20:00) в стандартных пластиковых клетках по шесть особей в каждой со свободным доступом к воде и пище [13]. Ежедневное наблюдение за поведением и общим состоянием крыс показало, что все они были здоровы и активны.

Животных разделили на две группы по 30 особей. Крысам опытной группы вводили внутримышечно «Имунофан» («Бионокс», Россия, регистрационное свидетельство UA/0318/01/01) из расчета 0,7 мг/кг раз в сутки по схеме: 1, 3, 5, 7 и 9-е сутки (способ введения и дозу выбрали на основе рекомендаций для человека). Крысам контрольной группы вводили внутримышечно 0,9 % раствор хлорида натрия в эквивалентном объеме и в те же сроки. В обеих группах животных выводили из эксперимента по шесть особей через 1, 7, 15, 30 и 60 суток с момента последнего введения препарата (раствора NaCl) путем декапитации под эфирным наркозом.

Объектом исследования служил тимус. Забор, фиксацию материала и изготовление парафиновых блоков

выполняли согласно общепринятым методикам работы с лимфоидными органами [14]. Для изучения структурных компонентов тимуса парафиновое срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а для идентификации клеток — азуром II и эозином. Гистологическое строение исследовали с помощью аппаратно-программного комплекса, включавшего микроскоп Olympus CX-41, цифровой фотоаппарат Olympus SP 500UZ (Olympus, Япония) и программный пакет Morpholog (Украина) [15]. Микрофотографии получали в нескольких режимах увеличения, используя объективы PlanC N x10/0,25 ∞ /-FN22, PlanC N x40/0,65 ∞ /0,17/FN22, PlanC N x60/0,80 ∞ /0,17/FN22 с приближением zoom 132 и zoom 142. Изучали по шесть гистологических срезов тимуса каждого животного в шести полях зрения, что считается достаточным для получения репрезентативных результатов [16].

Определяли относительное содержание различных клеточных элементов (лимфобластов, малых, средних и больших лимфоцитов, макрофагов, митотически делящихся и деструктивно измененных клеток) на 100 клеток в структурно-функциональных зонах паренхимы тимуса: субкапсулярной зоне, внутренней зоне коркового вещества и мозговом веществе. Малые, средние и большие лимфоциты дифференцировали, основываясь на морфометрических показателях площади ядра клеток. Согласно Кривенцову [17], лимфоциты, имеющие площадь ядра от 6 до 14 мкм², расцениваются как малые, от 14 до 22 мкм² — как средние и от 22 до 30 мкм² — как большие.

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента ($p < 0,05$). Распределение данных было нормальным. Тип распределения определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Рассчитывали среднее арифметическое и ошибку среднего арифметического ($M \pm m$).

Эксперимент был выполнен с соблюдением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), и одобрен Комиссией по вопросам биоэтики Луганского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 19.01.2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Возрастная инволюция тимуса была подтверждена сравнительным гистологическим исследованием тимуса крыс контрольной группы и крыс в период полового созревания (данные были получены нами ранее [18]). Размеры тимических долек визуально меньше, чем у более молодых животных (рис. 1). Они разделены перегородками, образованными толстыми прослойками соединительной ткани. Отмечается сглаженность корково-мозговой границы, увеличение доли мозгового вещества, замещение паренхимы долек белой жировой тканью. Подобные признаки возрастных изменений в тимусе 12-месячных крыс были описаны Морозом [19], 6–10-месячных крыс — Москвичевым и соавт. [6].

Тимус крыс опытной группы на всех этапах наблюдения сохранял морфологические особенности органа, характерные для крыс контрольной группы: так же отмечалось разрастание соединительнотканного компонента капсулы и междольковых перегородок и замещение части паренхимы жировой тканью. Но при большем увеличении микроскопа были выявлены изменения клеточного состава структурно-функциональных зон паренхимы.

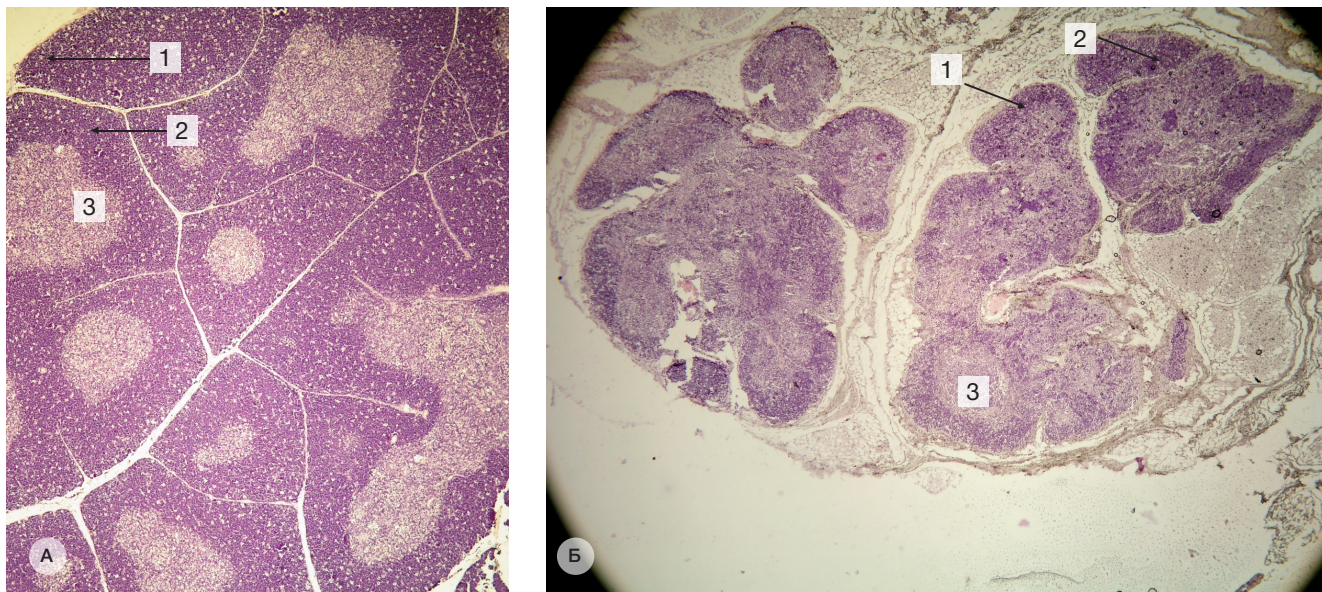


Рис. 1. Возрастная инволюция тимуса белых беспородных крыс-самцов

Микрофотографии среза тимуса самцов крысы в период полового созревания (А) и в возрасте 20 мес. (Б) через сутки после введения физиологического раствора. 1 — субкапсулярная зона коркового вещества, 2 — внутренняя зона коркового вещества, 3 — мозговое вещество. Окраска: гематоксилин-эозин. Объектив: PlanC N x10/0,25 ∞/-FN22. Приближение: zoom 132.

В петлях стромы субкапсулярной зоны коркового вещества паренхимы тимуса крыс опытной группы, образованной сетью эпителиоретикулярных клеток и макрофагами, были расположены в несколько слоев лимфоидные клетки округлой формы, представленные в основном малыми и средними лимфоцитами, а также большими лимфоцитами и лимфобластами. Изредка встречались митотически делящиеся клетки. Эпителиоретикулярные клетки имели большие размеры и более светлую цитоплазму по сравнению с лимфоцитами, а также неправильную уплощенную форму. Макрофаги были крупными, неправильной отростчатой формы с типичной «пенистой» цитоплазмой. Кроме того, обнаруживались клетки лимфоидного ряда с признаками деструкции (гиперконденсированный хроматин в сморщенном ядре). Было отмечено увеличение в сравнении с контролем числа клеток лимфоидного ряда и макрофагов при одновременном снижении числа клеток с признаками деструкции (рис. 2). Однако показатели были статистически значимыми только для животных, декапитированных на 7, 15 и 30-е сутки после последнего введения «Имунофана». Характерно, что содержание эпителиоретикулярных клеток не отличалось достоверно от контрольных значений ни в одной из опытных подгрупп.

Внутренняя зона коркового вещества отличалась максимальной плотностью расположения клеток. Она была представлена несколькими слоями средних и малых лимфоцитов, иногда — в процессе митотического деления, располагавшихся в сети, образованной эпителиоретикулярными клетками и макрофагами. Встречались также лимфоидные клетки с признаками деструкции ядра и цитоплазмы. Изменения клеточного состава внутренней зоны были аналогичны тем, что отмечались в субкапсулярной зоне. Через сутки после введения «Имунофана» на 8,5 % увеличилось содержание средних лимфоцитов и на 48,0 % уменьшилось содержание деструктивно измененных клеток ($p < 0,05$) (рис. 3). При декапитации на 7-е сутки выявили большее количество средних и малых лимфоцитов, митотически делящихся клеток, макрофагов, а меньшее — клеток эпителиоретикулярной стромы (на 15,8 %)

и клеток с признаками деструкции (на 62,2 %). На 15-е сутки наблюдали те же закономерности, что и неделей ранее, однако увеличение содержания средних лимфоцитов не было статистически значимым. На 30-е сутки отклонение от значений показателей в группе контрольных животных в положительную сторону было характерно только для малых лимфоцитов (11,3 %) и макрофагов (51,3 %), в отрицательную — для эпителиоретикулярных и деструктивно измененных клеток (14,9 и 23,1 % соответственно). При декапитации на 60-е сутки статистически значимых отличий не обнаружили.

Мозговое вещество отличалось от коркового сниженной плотностью расположения лимфоидных клеток, представленных преимущественно малыми и средними

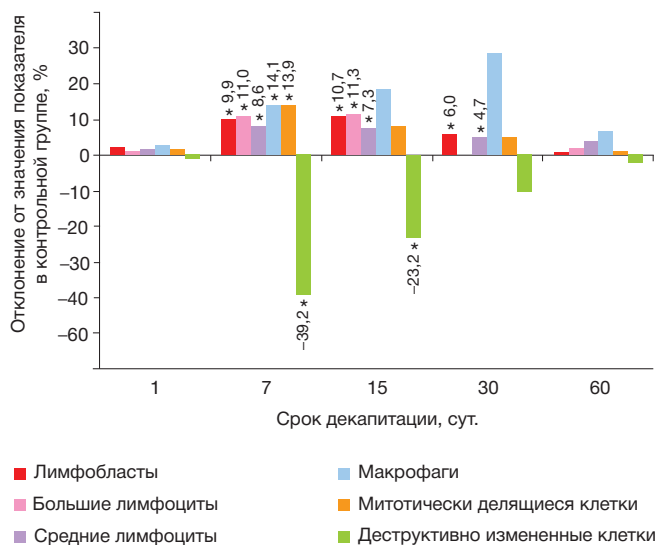


Рис. 2. Изменения в клеточном составе субкапсулярной зоны коркового вещества паренхимы тимуса крыс периода выраженных старческих изменений в зависимости от продолжительности воздействия на организм иммуномодулятора «Имунофан»

* — $p < 0,05$ при сравнении опытной и контрольной групп.

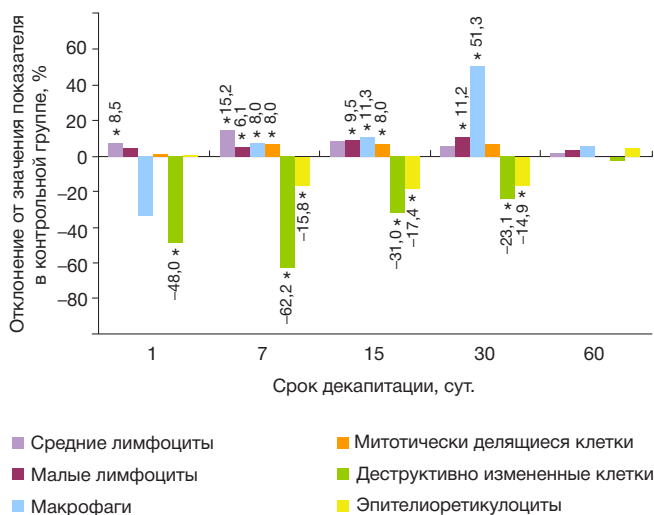


Рис. 3. Изменения в клеточном составе внутренней зоны коркового вещества паренхимы тимуса крыс периода выраженных старческих изменений в зависимости от продолжительности воздействия на организм иммуномодулятора «Имунофан»

* — $p < 0,05$ при сравнении опытной и контрольной групп.

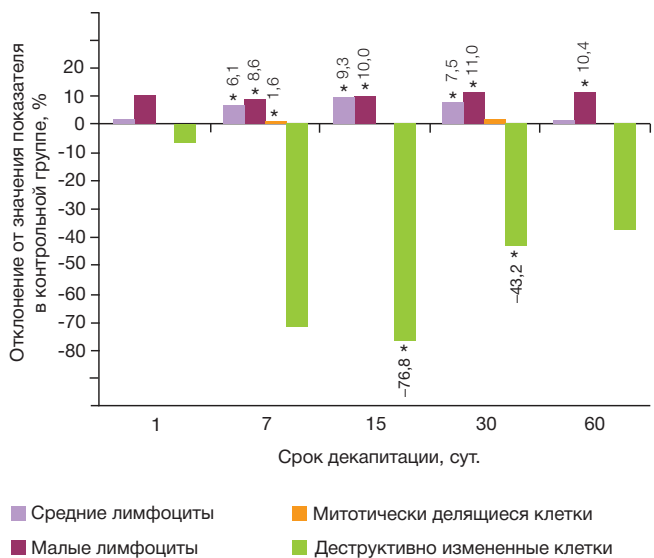


Рис. 4. Изменения в клеточном составе мозгового вещества тимуса крыс периода выраженных старческих изменений в зависимости от продолжительности воздействия на организм иммуномодулятора «Имунофан»

* — $p < 0,05$ при сравнении опытной и контрольной групп.

лимфоцитами. Здесь содержалась более густая, чем в корковом веществе, сеть крупных эпителиоретикулярных клеток, расположенных в виде тяжей или скоплений. Лимфобласты и большие лимфоциты не были обнаружены в мозговом веществе; содержание средних лимфоцитов было достоверно выше на 7, 15 и 30-е сутки наблюдения (на 6,1, 9,3 и 7,5 % соответственно), а содержание малых лимфоцитов — на 7 (8,6 %), 15 (10,0 %), 30 (11,0 %) и 60-е сутки (10,4 %) (рис. 4). Содержание митотически делящихся клеток незначительно превышало контрольный уровень лишь на 7-е сутки. Количество же деструктивно изменен-

ных клеток значительно уменьшилось на 15 и 30-е сутки. Отличия в содержании эпителиоретикулярных клеток и макрофагов были недостоверны.

К моменту окончания эксперимента (60-е сутки) численность малых и средних лимфоцитов, молодых форм клеток, митотически делящихся клеток и макрофагов уменьшалась и в целом достигала значения, выявленного для контрольных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты свидетельствуют о заметной реактивности тимуса крыс периода выраженных старческих изменений на введение иммуномодулятора «Имунофан». Схожие изменения клеточного состава в субкапсулярной и внутренней зонах коркового вещества тимуса свидетельствуют о вовлечении в перестройку цитоархитектоники всего коркового вещества. Мозговое вещество является наиболее ареактогенной зоной паренхимы тимуса [17], однако его клеточный состав у крыс опытной группы претерпевал изменения. Возможным механизмом иммуностимулирующего эффекта препарата (временного частичного замедление возрастной инволюции тимуса) может являться поддержание и/или восстановление популяции как лимфоидных клеток, так и клеток микроокружения, в частности макрофагов. Число эпителиоретикулярных клеток в субкапсулярной зоне и мозговом веществе статистически достоверно не изменялось, и это дает возможность предположить, что имунофан не угнетает резервные возможности тимуса.

Изменения цитоархитектоники паренхимы тимуса, заключающиеся в повышении плотности клеточной популяции во всех изученных структурно-функциональных зонах, увеличении содержания клеток лимфоидного ряда, в том числе молодых форм, могут свидетельствовать о более активном поступлении в тимус клеток-предшественниц из красного костного мозга и об усилении внутритимической пролиферации лимфоцитов. Такое кратковременное стимулирующее влияние на тимус некоторые авторы наблюдали для другого иммуномодулятора — «Полиоксидония» [4, 6]. Захаров [3] указывает на замедление естественных инволютивных процессов в тимусе половозрелых лабораторных крыс после введения «Имунофана».

ВЫВОДЫ

Для тимуса крыс периода выраженных старческих изменений была характерна заметная реактивность на введение «Имунофана». Курс инъекций терапевтических доз препарата животным способствовал восстановлению структуры тимуса, тем самым замедляя возрастную инволюцию органа. Наличие тесной взаимосвязи между различными клеточными компонентами тимуса определяет необходимость изучения баланса между лимфоцитами тимуса и структурами микроокружения в условиях воздействия на организм лабораторных животных иммуностимулирующих препаратов.

Литература

1. Михайлова М. Н. Морфофункциональные изменения тимуса и показатели крови после введения циклофосфана, иммунофана и их комбинации [диссертация]. М.: Московская медицинская академия имени И. М. Сеченова; 2004.
2. Шаршембиев Ж. А. Особенности строения тимуса при воздействии полиоксидония. Морфология. 2004; 125 (2): 59–60.
3. Захаров А. А. Изменение в структуре тимуса белых крыс после применения иммунофана. Морфология. 2008; 2 (3): 34–8.
4. Стручко Г. Ю., Меркулова Л. М., Москвичев Е. В., Кострова О. Ю., Михайлова М. Н., Мухаммад Захид и др. Морфологические изменения тимуса после применения полиоксидония. Фундаментальные исследования. 2012; 5 (1): 197–202.
5. Лосева Л. Ф., Лебединская Е. А., Лебединская О. В. Морфогистохимические аспекты изменений в тимусе мышей под влиянием иммуностимулирующих препаратов на фоне индуцированной иммуносупрессии. Фундаментальные исследования. 2008; 10: 78.
6. Москвичев Е. В., Меркулова Л. М., Стручко Г. Ю., Михайлова М. Н., Кострова О. Ю. Влияние курсового введения иммуномодулятора «полиоксидоний» на течение возрастной инволюции тимуса. Современные проблемы науки и образования. 2013; 3. Доступно по ссылке: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9374>.
7. Мухаммад Захид, Стручко Г. Ю., Москвичев Е. В. Морфофункциональное состояние тимуса при введении иммуномодулятора «Полиоксидоний». Вестник ЧГПУ им. И. Я. Яковлева. 2011; 4 (72): 88–93.
8. Лебедев В. В., Покровский В. И. Иммунофан — синтетический пептидный препарат нового поколения. Вестник РАМН. 1999; 4: 56–61.
9. Бажигитова Б. Б., Шортанбаев А. А. Динамика иммунологических показателей у больных с частыми повторными заболеваниями респираторного тракта в результате применения иммунофана. Inter J Immunorehabilitation. 2003; 5 (2): 205.
10. Венедиктова М. Г. Применение тактивина и иммунофана при

лечении больных аденокарциномой эндометрия. Эксперим. и клинич. фармакол. 2001; 64 (5): 46–9.

11. Забродский П. Ф., Германчук В. Г., Нодель М. Л., Василенко О. А., Аредаков О. Н. Влияние иммунофана на показатели системы иммунитета и перекисного окисления липидов после острых отравлений токсичными химическими веществами. Эксперим. и клинич. фармакол. 2004; 67 (5): 28–30.
12. Кащенко С. А., Морозова Е. Н. Особенности морфометрических параметров лимфатических узлов пейеровых бляшек тонкой кишки крыс под влиянием иммунофана. Украинский морфологичний альманах. 2011; 9 (2): 34–6.
13. Западнюк В. И., Западнюк И. П., Захария Е. А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Изд-во «Вища школа»; 1983. 254 с.
14. Волошин М. А., Чайковский Ю. Б., Куц О. Г. Основы иммунології та імуноморфології. Запоріжжя-Київ; 2010. 170 с.
15. Овчаренко В. В., Маврич В. В., авторы. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» [патент]. № 9604 от 19.03.2004 (Украина).
16. Кащенко С. А., Золотаревская М. В. Изменения морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс под воздействием иммуностимулирующих препаратов. Украинский медицинский альманах. 2011; 14 (5): 74–7.
17. Кривенцов М. А. Структурная организация тимуса крыс раннего постнатального периода при парентеральном введении спинномозговой жидкости. Украинский медицинский альманах. 2013; 16 (2): 40–2.
18. Бобрышева И. В. Морфофункциональные особенности тимуса крыс различных возрастных периодов в норме и после экспериментальной иммуностимуляции. Морфология. 2013; 7 (4): 11–7.
19. Мороз Г. А. Морфофункциональные особенности тимуса двенадцатимесячных крыс при многократно повторяющемся гипергравитационном воздействии. Морфология. 2010; IV (3): 23–7.

References

1. Mikhaylova MN. Morfofunktsional'nye izmeneniya timusa i pokazateli krovi posle vvedeniya tsiklofosfana, imunofana i ikh kombinatsii [dissertation]. Moscow: I. M. Sechenov Moscow Medical Academy; 2004. Russian.
2. Sharshembiev ZhA. Osobennosti stroeniya timusa pri vozdeystvii polioksidoniya. Morfologiya. 2004; 125 (2): 59–60. Russian.
3. Zakharov AA. Changes of thymus structure of experimental animals after imunofan treatment. Morfologiya. 2008; 2 (3): 34–8. Russian.
4. Struchko GYu, Merkulova LM, Moskvichev EV, Kostrova OYu, Mikhaylova MN, Mukhammad Zakhid, et al. Morphological changes of thymus after use polioxidonium. Fundamental research. 2012; 5 (1): 197–202. Russian.
5. Loseva LF, Lebedinskaya EA, Lebedinskaya OV. Morfogistokhimicheskie aspekty izmeneniy v timuse myshey pod vliyaniem immunostimuliruyushchikh preparatov na fone indutsirovannoy immunosupressii. Fundamental research. 2008; 10: 78. Russian.
6. Moskvichev EV, Merkulova LM, Struchko GYu, Mikhaylova MN, Kostrova OYu. Effect of course administration of immunomodulator polioksidonium on age-related thymic involution. Modern problems of science and education. 2013; 3. Available from: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9374>. Russian.
7. Mukhammad Zakhid, Struchko GYu, Moskvichev EV. Morfofunktsional'noe sostoyanie timusa pri vvedenii immunomodulyatora «Polioksidoniya». Vestnik ChGPU im. I. Ya. Yakovleva. 2011; 4 (72): 88–93. Russian.
8. Lebedev VV, Pokrovskiy VI. Imunofan — sinteticheskiy peptidnyy preparat novogo pokoleniya. Vestnik RAMN. 1999; 4: 56–61. Russian.
9. Bazhigitova BB, Shortanbaev AA. Dinamika immunologicheskikh pokazateley u bol'nykh s chastymi povtornymi zabolevaniyami respiratornogo trakta v rezul'tate primeneniya imunofana. Inter J Immunorehabilitation. 2003; 5 (2): 205. Russian.

10. Venediktova MG. Primenenie taktivina i imunofana pri lechenii bol'nykh adenokartsinomoy endometriya. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2001; 64 (5): 46–9. Russian.
11. Zabrodskiy PF, Germanchuk VG, Nodel ML, Vasilenko OA, Aredakov ON. The effect of immunofan on the immunity system characteristics and lipid peroxidation parameters upon acute chemical poisoning. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2004; 67 (5): 28–30. Russian.
12. Kashchenko SA, Morozova EN. Features of morphometric parameters of limphatic nodulus of rats' small intestine peyers patches after imunofan influence. Ukrains'kiy morfologichniy al'manakh. 2011; 9 (2): 34–6. Russian.
13. Zapadnyuk VI, Zapadnyuk IP, Zakhariya EA. Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v eksperimente. Kiev: Izd-vo "Vishcha shkola"; 1983. 254 p. Russian.
14. Voloshin MA, Chaykovskiy YuB, Kushch OG. Osnovi imunologii ta imunomorfologii. Zaporizhzhya-Kiiv; 2010. 170 p. Ukrainian.
15. Ovcharenko VV, Mavrich VV, inventors. Komp'yuterna programa dlya morfometrichnikh doslidzhen' «Morholog» [patent]. № 9604 from 19.03.2004 (Ukraine).
16. Kashchenko SA, Zolotarevskaya MV. The changes of morphometric indexes of white pulp of rats' spleen under influence of immunomodulate drugs. Ukrains'kiy medichniy al'manakh. 2011; 14 (5): 74–7. Russian.
17. Kriventsov MA. Structural organization of the thymus of the neonatal rats after parenteral administration of the cerebrospinal fluid. Ukrains'kiy medichniy al'manakh. 2013; 16 (2): 40–2. Russian.
18. Bobrysheva IV. Morphological and functional features of the thymus of rats of different age periods in health and at experimental immunostimulation. Morfologiya. 2013; 7 (4): 11–7.
19. Moroz GA. Morfofunctional features of thymus of twelve-month-old rats exposed to repeated hypergravity. Morfologiya. 2010; IV (3): 23–7.