

## ВЛИЯНИЕ ИММУНОСУПРЕССИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОТРЕКСАТА НА СТРУКТУРУ СЕЛЕЗЁНКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ НА ВТОРОЙ НЕДЕЛЕ ГЕСТАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Захаров А. А., Лозыченко В. Г.**

ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России) 291045, кв. 50-летия Обороны Луганска, 1г, Луганск, Россия

**Для переписки:** Лозыченко Владислав Геннадиевич, ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки, e-mail: q2033f1@mail.ru

**For correspondence:** Vladislav G. Lozychenko, Assistant of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Saint Luka Lugansk State Medical University, e-mail: q2033f1@mail.ru

### Information about authors:

**Zakharov A. A.**, <https://orcid.org/000-0001-8983-2257>

**Lozychenko V. G.**, <https://orcid.org/0009-0004-9788-0565>

### РЕЗЮМЕ

Цель исследования – определить влияние иммуносупрессивного воздействия метотрексата на структуру селезёнки беременных крыс во II периоде гестации. Материал и методы. Работа проведена на 24 крысах II недели беременности, разделенных на контрольную и экспериментальную группы. После окончания эксперимента, который длился до конца II недели гестации, для оценки влияния воздействия метотрексата, осуществляли забор исследуемого материала, измеряли абсолютную и относительную массу селезёнки, линейные параметры (длину, ширину, толщину), объем. Кроме того, были определены микроморфометрические параметры иммунного органа, позволяющие оценить структурные изменения на клеточном и тканевом уровнях, включавший определение размеров лимфатического узелка (большой и меньший диаметр), размеры его отдельных зон: мантийной и краевой. Проводилось определение площади реактивного центра, центральной артерии, периартериальной зоны. Для установления системных эффектов была исследована динамика иммунологических и гормональных показателей плазмы крови грызунов. В частности, исследовали уровни медиаторов межклеточного взаимодействия интерлейкин 1-бета, интерлейкин-2, интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли-альфа, а также концентрации прогестерона, эстрадиола, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. Результаты. Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что воздействие иммуносупрессивного препарата метотрексат оказало значительное влияние на иммунную систему беременных крыс. В частности, наблюдались достоверные изменения морфометрических параметров одного из ключевых иммунных органов, по сравнению с показателями контрольной группы. Так, при изучении органомерических показателей установлено уменьшение абсолютной и относительной масс органа на 9,1% и 8,29%, длины – на 4,57%, ширины – на 7,08%, толщины – на 5,17%. Объем реактивного центра на 9,84%. Микроморфометрические показатели уменьшались следующим образом: площадь реактивного центра на 9,7%, центральной артерии на 9,05%, периартериальной зоны на 8,05%. Диаметры лимфатического узелка уменьшились на 9,37% и 9,68%, показатели мантийной и маргинальной зон на 10,65% и 8,41%. Данные структурные изменения сопровождалось заметным снижением концентрации медиаторов межклеточного взаимодействия, играющих важную роль в регуляции иммунных процессов. Кроме того, в плазме крови животных, подвергшихся воздействию метотрексата, были зафиксированы существенные изменения в гормональном фоне. Выводы. Полученные результаты свидетельствуют об активном ответе со стороны селезёнки при иммуносупрессии во время беременности.

**Ключевые слова:** селезёнка, гестация, иммуносупрессия, метотрексат, крысы.

### THE INFLUENCE OF METHOTREXATE IMMUNOSUPPRESSIVE EFFECT ON THE STRUCTURE OF RATS' SPLEEN AT THE SECOND WEEK OF GESTATION IN THE EXPERIMENT

**Zakharov A. A., Lozychenko V. G.**

Saint Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Russia

### SUMMARY

The aim of the study was to determine the effect of the immunosuppressive effect of methotrexate on the spleen structure of pregnant rats in the second gestation period. Materials and methods. The experiment was carried out on 24 rats of the second week of pregnancy, divided into control and experimental groups. The experimental scheme was tested in similar studies earlier on experimental rat models and proved its effectiveness. After the end of the experiment, which lasted until the end of the second week of gestation, to assess the effect of exposure to methotrexate, the test material was taken, the absolute and relative mass of the spleen, linear parameters (length, width, thickness), volume were measured. In addition, micromorphometric parameters of the immune organ were determined, which make it possible to assess structural changes at the cellular and tissue levels, including determining the size of the

lymph node (larger and smaller diameter), the size of its individual zones: mantle and marginal. The area of the reactive center, the central artery, and the periarterial zone were determined. To establish systemic effects, the dynamics of immunological and hormonal parameters of rodent blood plasma was studied. In particular, the levels of such mediators of intercellular interaction as interleukin 1-beta, interleukin-2, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha, as well as concentrations of progesterone, estradiol, follitropin and luteinizing hormones were studied. Results. The results of the study demonstrated that exposure to the immunosuppressive drug methotrexate had a significant effect on the immune system of pregnant rats. In particular, there were significant changes in the morphometric parameters of one of the key immune organs, compared with the indicators of the control group. These structural changes were accompanied by a marked decrease in the concentration of intercellular mediators, which play an important role in the regulation of immune processes. In addition, significant changes in the hormonal background were recorded in the blood plasma of animals exposed to methotrexate. Conclusions. The results obtained indicate an active response from the spleen during immunosuppression during pregnancy.

**Key words:** spleen, gestation, immunosuppression, methotrexate, rats.

В настоящее время ухудшение экологической ситуации и увеличение числа неблагоприятных антропогенных факторов являются общепризнанными проблемами. Совокупное воздействие этих факторов приводит к различным нарушениям в структуре и функционировании систем организма [1]. Изменения в работе иммунокомпетентных органов и клеток часто выступают в качестве отправной точки для развития многих заболеваний и, как правило, сопровождаются системным подавлением иммунитета [2]. Беременность, будучи нормальным физиологическим состоянием, также вызывает умеренное снижение иммунитета, необходимое для предотвращения иммунного конфликта между организмом матери и плодом [3].

Учитывая изложенное выше, в последние годы изучение состояния иммунных органов, таких как селезёнка, приобретает всё большую значимость. Современные исследования в этой области направлены на понимание механизмов, лежащих в основе иммунного ответа, а также на выявление изменений в структуре и функции селезёнки при различных заболеваниях. Так, воздействия стресса, инфекций, аутоиммунных заболеваний и даже фармакологических препаратов могут существенно влиять на морфологию и функциональную активность данного иммунного органа [4-6]. Одним из препаратов, позволяющих моделировать подавление активности иммунной системы, является метотрексат. Наряду с классическими иммунодепрессантами, он широко используется в клинической практике для лечения аутоиммунных и онкологических заболеваний. Данные литературы отражают результаты целого спектра клинико-лабораторных исследований, проведенных в последние годы касаясь иммуносупрессивных состояний организма, однако сведения о структурных преобразованиях иммунокомпетентных органов при беременности в условиях депрессии иммунной системы не встречаются [7].

Цель работы – выявить структурные преобразования, происходящие в селезёнке беременных

крыс, в условиях экспериментально индуцированной иммуносупрессии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 24 крысах. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России №7 от 20.07.2024 года. При постановке эксперимента и всех манипуляциях с животными пользовались действующими этическими правилами «Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных исследованиях и с другой целью» и нормами «Директивы Европейского парламента» [8, 9].

В ходе постановки эксперимента были сформированы 2 группы: первая состояла из 12 самок II недели беременности, которым внутримышечно вводили метотрексат в дозировке 10 мг/м<sup>2</sup> площади тела в начале диэструса. Во вторую группу входили 12 животных, которым вводили 0,9% раствор стерильного натрия хлорида в эквивалентном объеме. Схема эксперимента была ранее апробирована в различных вариациях и показала свою результативность [10].

Выведение животных из эксперимента проводилось в конце второй недели беременности. Производили забор материала с последующим измерением органомерических параметров: длины, ширины, толщины селезенки, абсолютной массы, объем органа устанавливался с использованием мерного цилиндра методом вытеснения дистиллированной воды.

После измерения органомерических параметров, производили фиксацию материала, а затем подвергали стандартной гистологической проводке. С целью детального изучения структуры селезенки была использована аппаратно-программная система, калибровочный файл и программное обеспечение АСКОН «Компас-3D 15.2». Морфометрическая оценка лимфатического узелка (ЛУ) включала количественное определение размеров самого узелка (большой и мень-

ший диаметр), а также размеров его отдельных областей: мантийной зоны (Мз) и маргинальной зоны (Мрз). В процессе исследования проводилось определение площади реактивного центра (РЦ), центральной артерии (ЦА), а также периаартериальной зоны (ПЗ).

Для оценки иммунорегуляторных параметров у каждого животного при жизни осуществлялся забор крови из подвздошных сосудов, которые анализировали с целью установления концентраций цитокинов методом иммуноферментного анализа с помощью наборов «Rat Elisa Kit» «Луганской диагностической лаборатории»: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 и TNF $\alpha$ .

Уровень гормонов в плазме периферической крови определяли с помощью иммуноферментного анализа с соблюдением предоставленных фирмой инструкций на базе «Луганской диагностической лаборатории» (Автоматический анализатор Immulite 2000 XPI, Siemens, США). К исследуемой пробе крови добавляли ферментный конъюгат с антителами к прогестерону, эстрадиолу, фолликулостимулирующему и лютеинизирующему гормонам «Rat Elisa Kit» с последующей калибровкой раствора.

Для статистической обработки полученных данных были использованы методы параметрической статистики. Предварительно была проведена проверка соответствия распределения данных нормальному закону с использованием критерия Шапиро-Уилка, что позволило обоснованно применить параметрические методы

анализа. Числовые данные, полученные в ходе эксперимента, обрабатывали с использованием программы Microsoft Office Excel и специализированного программного обеспечения «StatSoft Statistica v6.0», что включало в себя подсчет средних арифметических величин ( $M$ ), стандартных ошибок средних арифметических ( $m$ ), а также стандартного отклонения ( $\sigma$ ).

Для оценки статистической значимости различий между группами использовался t-критерий Стьюдента. В общем виде статистически достоверными считались различия, при которых уровень достоверности ( $p$ ) составлял более 95,0% ( $p < 0,05$ ), в остальных же случаях различия признавались статистически недостоверными ( $p > 0,05$ ).

Определяли наличие взаимосвязей между исследуемыми параметрами иммунного органа при помощи корреляционного анализа. Степень связей определяли по значению коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ). Корреляционную связь оценивали по следующей шкале:  $0 < r \leq 0,3$  – практически отсутствующая связь;  $0,3 < r \leq 0,5$  – слабая связь;  $0,5 < r \leq 0,7$  – корреляционная связь умеренной силы;  $0,7 < r \leq 0,9$  – сильная корреляционная связь;  $0,9 < r \leq 1,0$  – очень сильная корреляционная связь.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Были выявлены статистически значимые изменения концентрации цитокинов в плазме крови экспериментальных и контрольных животных (таблица 1).

**Таблица 1. Иммунологический статус экспериментальных животных после введения иммуносупрессора ( $M \pm m$ ,  $n=24$ ).**

**Table 1. Immunological status of experimental animals after administration of an immunosuppressant ( $M \pm m$ ,  $n=24$ ).**

	IL-1 $\beta$ , пг/мл	IL-2, пг/мл	IL-6, пг/мл	TNF- $\alpha$ , пг/мл
Метотрексат	11,183 $\pm$ 0,16*	8,876 $\pm$ 0,14*	7,146 $\pm$ 0,04*	11,231 $\pm$ 0,01*
Контроль	11,79 $\pm$ 0,16	9,33 $\pm$ 0,06	7,53 $\pm$ 0,05	10,58 $\pm$ 0,11

**Примечание:** \* – достоверное отличие от контрольных показателей ( $p < 0,05$ ).

В процессе наблюдения значительных изменений в структуре селезенки не было выявлено, однако были зафиксированы отклонения органомерметрических и морфометрических показателей органа по сравнению с группой контроля.

В результате исследования органомерметрических параметров, проведенного по окончании 2-й недели гестации, были обнаружены достоверные отличия по сравнению с контрольной группой (рис. 1).

Так, установлено достоверное уменьшение абсолютной и относительной масс органа на 9,1% и 8,29% в конце II недели наблюдения. Показатели линейных размеров уменьшились в те

же сроки наблюдения: длина органа – на 4,57%, ширина – на 7,08%, толщина – на 5,17%. После окончания введения метотрексата объем органа уменьшился на 9,84% по сравнению с данными контрольной группы.

Данные, полученные при микроморфометрическом исследовании, также указывают на достоверные различия анализируемых параметров (рис. 2).

После применения цитостатического препарата было отмечено уменьшение площади реактивного центра (РЦ) на 9,70%, центральной артерии (ЦА) на 9,05%, периаартериальной зоны (ПЗ) на 8,05%. Размеры остальных показателей также снизились по отношению к данным группы кон-

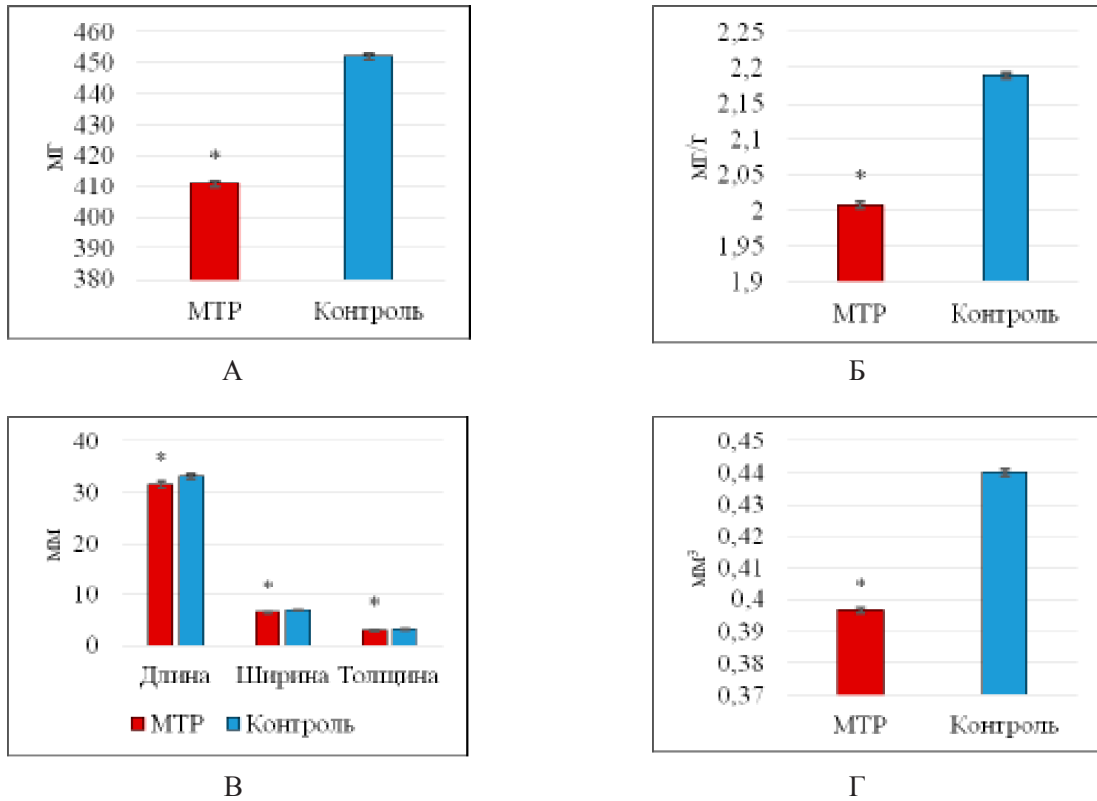
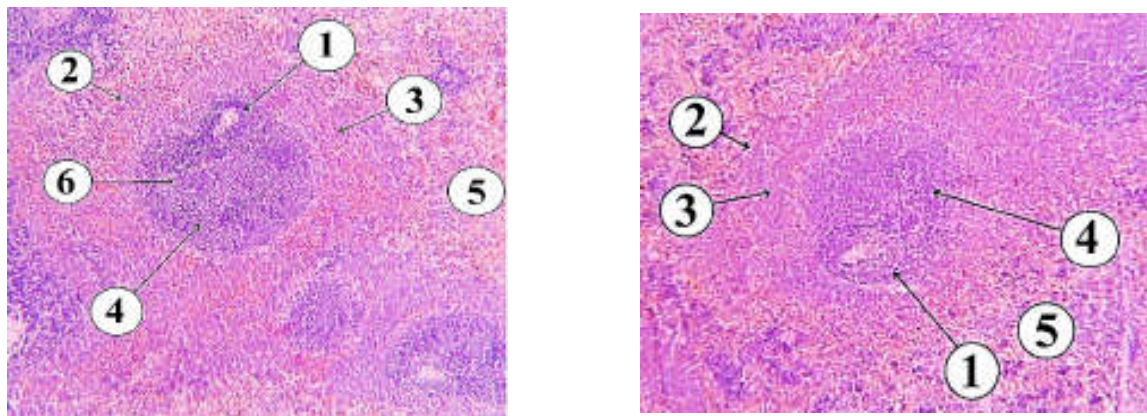


Рис. 1. Показатели органомерических параметров селезенки после окончания 2 недели гестации при введении метотрексата: А – масса, Б – относительная масса, В – линейные размеры, Г – объем. Примечание: МТР – метотрексат, \* – статистически значимое отличие от контрольных данных (p<0,05).

Fig. 1. Indicators of the organometric parameters of spleen after the end of 2nd week of gestation at the appointment of methotrexate: A – mass, B – relative mass, C – linear dimensions, D – volume. Note: MTP – methotrexate, \* – statistically significant difference from the control data (p<0.05).



А

Б

Рис. 2. – Участок белой пульпы селезенки крысы: А – при иммуносупрессии, Б – контроль: 1 – периартериальная зона, 2 – лимфатический фолликул, 3 – краевая зона, 4 – мантийная зона, 5 – красная пульпа, 6 – реактивный центр лимфоидного узелка. Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 18,5. Объектив Plan 10x/0.25∞/-/.

Fig. 2. – Section of white pulp of rat spleen: А – at immunosuppression, В – control: 1 – periarterial zone, 2 – lymphatic follicle, 3 – marginal zone, 4 – mantle zone, 5 – red pulp, 6 – reactive center of lymphoid nodule. Staining hematoxylin-eosin. Zoom 18.5. Lens: Plan 10x/0.25∞/-/.

троля: диаметры лимфатического узелка (ЛУ) уменьшились на 9,37% и 9,68%, показатели ман-

тийной и маргинальной зон на 10,65% и 8,41% соответственно (таблица 2).

**Таблица 2. Морфометрические характеристики животных опытной и контрольной группы (M±m, n=24).**

**Table 2. Morphometric characteristics of animals in the experimental and control groups (M±m, n=24).**

	РЦ, мкм <sup>2</sup>	ЦА, мкм <sup>2</sup>	Мз, мкм	Мрз, мкм	ПЗ, мкм <sup>2</sup>	ЛУ, боль- ший диа- метр, мкм	ЛУ, мень- ший диа- метр, мкм
Метотрек- сат	21683,76± 285,38*	3002,24± 51,42*	148,683± 6,99*	158,851± 0,99*	16936,85± 205,18*	824,143± 24,65*	650,573± 12,91*
Контроль	24014,33± 204,43	3301,09± 31,45	166,42± 4,42	173,45± 0,42	18421,35± 165,31	909,42± 15,51	720,34± 7,42

**Примечание:** Мз – мантийная зона, Мрз – маргинальная зона, \* – достоверное отличие от данных контрольной группы (p<0.05).

При исследовании гормональных параметров было отмечено статистически значимое увеличение содержания фоллитропина на 7,60% и лютропина на 4,04%, а также уменьшение концентрации прогестерона и эстрадиола на 4,79% и 7,60%.

В конце 2 недели исследования тесная прямая корреляционная связь выявлена между абсолютной массой и объемом (r=0,93), толщиной (r=0,78), большим диаметром лимфатического узелка (r=0,51), а также средняя положительная связь с концентрацией прогестерона (r=0,60). Средняя отрицательная связь была выявлена между относительной массой и содержанием лютеинизирующего гормона (r=-0,54). В течение установленного периода наблюдения была зафиксирована корреляционная связь между линейными параметрами, а именно: установлена положительная взаимосвязь длины органа с площадью центральной артерии (r=0,58), ширины с уровнем IL-2 (r=0,84) и прогестероном (r=0,67), толщины с объемом органа (r=0,94), уровнем IL-1β (r=0,79), эстрадиолом (r=0,63). Выявлена сильная обратная связь между шириной и уровнем фолликулостимулирующего гормона (r=-0,72), а также средняя отрицательная связь длины селезенки с меньшим диаметром лимфатического узелка (r=-0,54) и содержанием TNF-α в сыворотке крови (r=-0,50).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ряд проведенных ранее исследований селезенки при различных воздействиях показал, что она подвергается выраженным структурным изменениям, сопровождающимся разнонаправленными отклонениями количественных морфометрических параметров.

Полученные результаты находят подтверждение в данных, представленных в научной литера-

туре. В частности, в своей работе Цыренова Д. З. и соавторы выявили, что введение азатиоприна вызывает иммуносупрессивное воздействие на структуру селезенки, заключающееся в уменьшении массы лимфоидных структур, а также снижении уровня пролиферативной активности органа. Данные результаты согласуются с результатами настоящего исследования, подтверждая общее угнетающее влияние иммуносупрессивных препаратов на морфофункциональное состояние селезенки [11].

В исследовании Бобрышевой И. В. изучались морфологические изменения белой пульпы селезенки белых крыс в постнатальном онтогенезе в условиях экспериментальной иммуносупрессии. Было выявлено, что введение циклофосфана вызывает гипоплазию белой пульпы на ранних этапах наблюдения. Наиболее высокий уровень реактивности белой пульпы лимфоидного органа в ответ на введение препарата наблюдается у крыс периода полового созревания [12].

Согласно данным, полученным И. А. Белик и В. И. Лузиным, исследование органомерических показателей селезенки лабораторных крыс-самцов после костной травмы и применения корректоров показало, что на протяжении всего периода наблюдения отмечалось снижение массы, ширины, длины и толщины селезенки по сравнению с контрольной группой животных [13].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение метотрексата в качестве иммуносупрессора в дозировке 10 мг/м<sup>2</sup> площади тела существенно влияет на морфометрические характеристики селезенки беременных крыс-самок. В конце 2-й недели гестации выявлены достоверные отличия органомерических (абсолютная и относительная масса, линейные параметры, объем) и микроморфометрических параметров

иммунного органа (размеры ЛУ, его зоны, площади РЦ, ЦА, ПЗ) от контрольных значений. Эти изменения, с учетом динамики биохимических данных (уровни цитокинов, концентрации гормонов), позволяют судить о комплексном ответе на искусственное угнетение иммунной системы, включающем изменения как в структуре, так и в функциональной активности селезенки. Данные результаты свидетельствуют о выраженном влиянии метотрексата на иммунную систему беременных крыс и подчеркивают необходимость дальнейшего изучения механизмов и последствий иммуносупрессии в период гестации.

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

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Тенетилова Л. А. Влияние антропогенных факторов окружающей среды на человека в современных условиях. Вестник сельского развития и социальной политики. 2016;4(12):78-84.
2. Степанова Н. А., Висмонт Ф. И. Нарушения иммунологической реактивности (патофизиологические аспекты); Минск БГМУ; 2010.
3. Белоцерковцева Л. Д., Коваленко Л. В., Синюкова Т. А., Мордовина И. И. Состояние клеточного иммунитета и цитокинового баланса у беременных женщин при внутриутробном инфицировании. Журнал медико-биологических исследований. 2021;9(3):316-326. doi:10.37482/2687-1491-Z069
4. Захаров А. А. Изменения в строении тимуса белых крыс после применения имунофана. Морфология. 2008;2(3):34-38. doi:10.26641/1997-9665.2008.3.34-38.
5. Кашченко С. А., Захаров А. А. Особенности строения тимуса белых крыс после иммуностимуляции и иммуносупрессии. 2009;5(3-1):075-078.
6. Кашченко С. А., Семенчук С. Н. Влияние метотрексата на матку крыс молодого возраста репродуктивного периода. Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. 2021;19(2):47-52.
7. Кашченко С. А., Захаров А. А., Моисеева М. И. Морфогенез костей и органов иммунной системы лабораторных крыс под действием циклофосфана. Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. 2023;21(1):49-53.
8. 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.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg; 1986:52.
10. Захаров А. А., Лозыченко В. Г. Эффект иммуносупрессивного воздействия на структуру селезенки крыс на раннем сроке гестации. Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. 2023;21(2):56-60.
11. Цыренова Д. З., Гуляев С. М., Хобракова В. Б. Влияние экстракта *Phlomis tuberosa* (L.) Moench на структуру селезенки мышей при иммуносупрессии. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017;15(1):53-57. doi:10.17816/RCF15-1-53-57
12. Бобрышева И. В. Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуносупрессии. Journal of Siberian Medical Sciences. 2015;6:53.
13. Белик И. А., Лузин В. И. Эффект действия кверцетина на изменение органомерических параметров некоторых органов лимфоидной системы крыс-самцов, вызванных длительным воздействием высокой дозы тартразина при нанесении дефекта в большеберцовых костях. Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. 2020;18(1):57-64.

### REFERENCES

1. Tenetilova L. A. The influence of anthropogenic environmental factors on humans in modern conditions. Bulletin of Rural Development and Social Policy. 2016;4(12):78-84. (In Russ.).
2. Stepanova N. A., Vismont F. I. Violations of immunological reactivity (pathophysiological aspects); Minsk BSMU; 2010. (In Russ.).
3. Belotserkovtseva L. D., Kovalenko L. V., Sinyukova T. A., Mordovina I. I. The state of cellular immunity and cytokine balance in pregnant women with intrauterine infection. Journal of Biomedical Research. 2021;9(3):316-326. (In Russ.). doi:10.37482/2687-1491-Z069
4. Zakharov A. A. Changes in the structure of the thymus of white rats after the use of immunofan. Morphology. 2008;2(3):34-38. doi:10.26641/1997-9665.2008.3.34-38.
5. Kashchenko S. A., Zakharov A. A. Structural features of the thymus of white rats after immunostimulation and immunosuppression. 2009;5(3-1):075-078.
6. Kashchenko S. A., Semenchuk S. N. The effect of methotrexate on the uterus of young rats of the reproductive period. V. G. Koveshnikov Morphological almanac. 2021;19(2):47-52. (In Russ.).
7. Kashchenko S. A., Zakharov A. A., Moiseeva M. I. Morphogenesis of bones and organs of the immune system of laboratory rats under the action of cyclophosphamide. V. G. Koveshnikov Morphological almanac. 2023;21(1):49-53.
8. 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.

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg; 1986:52.

10. Zakharov A. A., Lozychenko V. G. Effect of immunosuppressive action on the structure of the rat spleen at an early stage of gestation. V. G. Koveshnikov Morphological almanac. 2023;21(2):56-60.

11. Tsyrenova D. Z., Gulyaev S. M., Khobrakova V. B. Effect of *Phlomis tuberosa* (L.) Moench

extract on the structure of the mouse spleen during immunosuppression. Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. 2017;15(1):53-57. (In Russ.). doi:10.17816/RCF15-1-53-57

12. Bobrysheva I. V. Morphological reactivity of the rat spleen of various age periods during immunosuppression. Journal of Siberian Medical Sciences. 2015;6:53.

13. Belik I. A., Luzin V. I. The effect of quercetin on changes in the organometric parameters of some organs of the lymphoid system of male rats caused by prolonged exposure to a high dose of tartrazine when applying a defect in the tibia. V. G. Koveshnikov Morphological almanac. 2020;18(1):57-64. (In Russ.).