

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

### ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕЛЕЗЁНКИ У МЫШЕЙ, ЗАРАЖЁННЫХ ГРИППОМ, НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ САПОНИНА ТАУРОЗИДА Sx1

Малыгина В.Ю.,  
Сатаева Т.П.,  
Макалиш Т.П.,  
Кальфа М.А.,  
Кубышкин А.В.,  
Рыбалко С.Ю.,  
Кирсанова М.А.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный  
университет имени В.И. Вернадского»  
(295000, г. Симферополь, б-р Ленина, 5-7,  
Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Сатаева Татьяна Павловна,  
e-mail: tanzcool@mail.ru

#### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Известно, что вирусные инфекции вызывают дисбаланс системы интерферонов, угнетение клеточных и фагоцитарных реакций организма. Одним из возможных решений проблемы лечения гриппа может явиться применение отечественных иммуномодуляторов растительного происхождения, поскольку вирусы гриппа оказывают супрессивное действие на клеточный иммунитет и систему интерферонов.

**Цель исследования.** Оценить влияние перорального введения сапонина таурозида Sx1, полученного из листьев крымского плюща, на гистологические изменения селезёнки мышей, заражённых вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1).

**Материал и методы.** Использовали 78 самцов мышей линии BALB/c весом 16–18 г, разделённых на группы: контрольная, здоровые животные (K; n = 12); контрольная, здоровые животные, получавшие сапонин (KS; n = 22); животные, заражённые вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1) (V; n = 22); животные, заражённые вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1) и получавшие сапонин таурозид Sx1 дважды в день в течение 3 дней после заражения (SV; n = 22). Гистологические исследования селезёнки проводили на 4-й (подгруппы V, SV, KS) и 14-й день (2V, 2SV, 2KS).

**Результаты.** В ткани селезёнки подгруппы KS отмечалась выраженная гиперплазия белой пульпы в виде расширения лимфоидных узелков. На 4-й день в подгруппе KS наблюдалось статистически значимое увеличение общей площади лимфоидных узелков по сравнению с подгруппой K в 3,9 раза. В подгруппе V отмечалось резкое уменьшение площади белой пульпы. В подгруппе 2V зоны лимфоидных узелков были практически неразличимы. На фоне коррекции в подгруппах SV и 2SV повреждающее воздействие вируса было выражено значительно меньше: площадь лимфоидных узелков увеличивалась в 2,7 раза в подгруппе 2SV по сравнению с 2V.

**Заключение.** Инфицирование вирусом гриппа H1N1 приводит к компенсаторной активации иммунного ответа, однако на 14-е сутки наблюдается выраженное истощение белой пульпы селезёнки. Введение сапонина таурозида Sx1 положительно влияет на функциональную активность селезёнки за счёт прироста площади белой пульпы.

**Ключевые слова:** тритерпеновый сапонин, вирус гриппа, селезёнка, иммуномодуляция

Статья получена: 27.04.2022  
Статья принята: 19.01.2023  
Статья опубликована: 02.03.2023

**Для цитирования:** Малыгина В.Ю., Сатаева Т.П., Макалиш Т.П., Кальфа М.А., Кубышкин А.В., Рыбалко С.Ю., Кирсанова М.А. Патологические изменения селезёнки у мышей, заражённых гриппом, на фоне применения сапонина таурозида Sx1. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 228-238. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.23

## PATHOLOGICAL CHANGES OF THE SPLEEN IN MICE INFECTED WITH INFLUENZA AGAINST THE BACKGROUND OF THE USE OF SAPONIN TAUROSIDE Sx1

Malygina V.Yu.,  
Sataieva T.P.,  
Makalish T.P.,  
Kalfa M.A.,  
Kubyshkin A.V.,  
Rybalko S.Yu.,  
Kirsanova M.A.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University  
(Lenina blvd 5-7, Simferopol 295000,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
Tatiana P. Sataieva,  
e-mail: tanzcool@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** It is well known that viral infections are able to cause an imbalance of the interferon system and inhibition of cellular and phagocytic reactions of the body. One of the possible solutions of the flu treatment problem may be the application of immunomodulators of native plant origin since the influenza virus possesses a suppressive effect on cellular immunity and the interferon system.

**The aim.** To evaluate the effect of saponin tauroside Sx1 obtained from Crimean ivy leaves on histological changes in the spleen of mice infected with influenza A/WSN/1/33(H1N1) virus.

**Material and methods.** We used 78 male BALB/c mice weighing 16–18 g which were divided into the groups: control (K; n = 12); healthy animals treated with saponin (KS; n = 22); animals infected with influenza virus A/WSN/1/33(H1N1) (V; n = 22); infected animals treated with saponin tauroside Sx1 twice a day for 3 days (SV; n = 22). Histological studies of the spleen were performed on the 4th (subgroups V, SV, KS) and 14th day (2V, 2SV, 2KS).

**Results.** The spleen tissue of the KS subgroup demonstrated hyperplasia of the white pulp in the form of lymphoid nodules expansion. On the 4th day in the KS subgroup a statistically significant increase in the total area of the lymphoid nodules by 3.9 times compared to the K subgroup was observed. In subgroup V, there was a sharp decrease in the area of white pulp and in 2V the lymphoid nodules zones were practically indistinguishable. Applied correction in the SV and 2SV subgroups significantly ceased the damaging effect of the virus: the lymphoid nodules area increased by 2.7 times in the 2SV subgroup compared to 2V.

**Conclusion.** Infection with the H1N1 influenza virus leads to compensatory activation of the immune response, however, on the 14th day, a pronounced depletion of the splenic white pulp occurred. The introduction of saponin tauroside Sx1 enhanced the functional activity of the spleen due to an increase of the white pulp area.

**Key words:** triterpenoid saponin, influenza virus, spleen, immunomodulation

Received: 27.04.2022  
Accepted: 19.01.2023  
Published: 02.03.2023

**For citation:** Malygina V.Yu., Sataieva T.P., Makalish T.P., Kalfa M.A., Kubyshkin A.V., Rybalko S.Yu., Kirsanova M.A. Pathological changes of the spleen in mice infected with influenza against the background of the use of saponin tauroside Sx1. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 228–238. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.23

## ВВЕДЕНИЕ

Грипп, как и другие острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), несомненно, занимает лидирующее место в структуре респираторных инфекционных заболеваний. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно во всём мире от сезонного гриппа умирает до 646 000 пациентов [1].

В период пандемии новой коронавирусной инфекции опасность гриппа нельзя недооценивать. Грипп по-прежнему остаётся одной из важных проблем здравоохранения и представляет серьёзную угрозу для взрослых и детей всех стран [2]. Согласно оценке экспертов, ежегодная заболеваемость гриппом может охватывать 5–20 % взрослого населения и 20–30 % детского, а в случае возникновения пандемий доля заболевших гриппозной инфекцией способна увеличиваться до 50 % [2]. Известно также, что высокий риск осложнений при гриппе характерен для детей первых лет жизни, взрослых в возрасте 65 лет и старше, беременных, а также лиц с хроническими заболеваниями, что обусловлено иммуносупрессивным эффектом вируса гриппа, который усугубляет тяжесть течения имеющейся хронической соматической нозологии [2]. Ежегодно вирус гриппа мутирует, приобретая устойчивость ко многим противовирусным препаратам, что также приводит к тяжёлым осложнениям и летальным исходам. Показано, что при наличии хронических сердечно-сосудистых или лёгочных заболеваний, а также у лиц, страдающих ожирением, беременных женщин и курильщиков табака, риск летального исхода при гриппе повышается в десятки раз [3–5].

Этиотропные противогриппозные препараты являются основой противовирусной химиотерапии, однако их количество весьма ограничено. Согласно клиническим рекомендациям Министерства здравоохранения России «Грипп у взрослых», в качестве противовирусных препаратов, обладающих прямым противовирусным действием, выделяют четыре препарата: осельтамивир, занамивир, риамиловир и умифеновир [6]. Принимая во внимание широко распространённую резистентность современных штаммов к препаратам адамантанового ряда и высокую вероятность её формирования к ингибиторам нейраминидазы, а также выраженные побочные эффекты от часто применяемых противовирусных препаратов, весьма актуален поиск эффективных и безопасных иммуностимулирующих и противовирусных средств для профилактики и лечения гриппа. Такие препараты не должны существенно зависеть от вирусной изменчивости и обладать универсальными противовирусными свойствами. После купирования острых явлений и вiremии у больных тяжёлыми формами гриппа рекомендуется применение иммуномодуляторов, в том числе растительного происхождения, для стимуляции процессов активации иммунитета и сероконверсии [7, 8].

Сапонины составляют обширную группу растительных гликозидов, которые подавляют развитие грибов, бактерий, вирусов и простейших, стимулируют гуморальный и клеточный иммунитет, а также способны усиливать иммунный ответ при вакцинации [9–11]. При ис-

следовании свойств сапонинов, выделенных из крымского плюща *Hedera taurica* (Hibberd) Carrière, было доказано, что таурозиды H<sub>2</sub>, -St-K и -I могут усиливать у мышей синтез антител, а таурозид Sx1 способен подавлять рост грибов рода *Candida* и усиливать резистентность мышей к грибковой инфекции [12, 13]. Доказано, что пероральное введение 200 мкг таурозидов Sx1 мышам, инфицированным вирусом гриппа, вызывает 1,5-кратное увеличение их выживаемости по сравнению с выживаемостью заражённых мышей в контроле [14]. При этом тканевые, клеточные и молекулярные механизмы развития иммунного ответа, индуцированного сапонином, а также их влияние на органы иммуногенеза остаются практически не изученными.

Селезёнка – это высокоорганизованный и самый крупный полифункциональный периферический орган иммунной системы, в котором интенсивность иммунных и фильтрационных процессов тесно коррелирует с архитектурой его белой и красной пульпы, а также количественным соотношением площадей, занимаемых функционально различными отделами с их клеточным составом. При этом селезёнка проявляет высокую степень реактивности с цитологической перестройкой её иммунокомпетентных структур под влиянием различных эндо- и экзогенных факторов, в том числе на фоне инфекции. Известно, что отсутствие селезёнки вызывает повышенную восприимчивость к системным бактериальным инфекциям, при этом роль селезёнки в противовирусном иммунитете изучена менее хорошо [15].

Данные других исследователей указывают на то, что селезёнка крыс способна реагировать на введение иммуномодуляторов выраженными морфологическими изменениями, что, как правило, сопровождается гиперплазией В-зависимых зон [16]. Таким образом, выбор селезёнки в качестве экспериментальной модели для оценки эффективности иммуномодулирующего воздействия обоснован тем, что она принимает участие практически во всех иммунных и гемопозитических процессах, являясь центром антигензависимой пролиферации и дифференцировки компонентов как клеточного, так и гуморального иммунного ответа, его активации, а также продукции и секреции специфических иммуноглобулинов.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние перорального введения сапонинов таурозидов Sx1, полученного из листьев крымского плюща, на гистологические изменения селезёнки мышей, заражённых вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1) на разных сроках гриппозной инфекции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали вирус гриппа (ВГ) A/WSN/1/33(H1N1), адаптированный к мышам. Исходный штамм ВГ был получен из коллекции НИИ вирусологии

логии им. Д.И. Ивановского РАМН (Москва). Адаптация ВГ к мышам и получение летального штамма были проведены при многократном пассировании вируса через лёгкие животных [17]. Исходную вирусосодержащую жидкость вводили мышам интраназально под лёгким эфирным наркозом. Через 3 суток у животных извлекали лёгкие и в стерильных условиях получали гомогенат лёгочной ткани, после центрифугирования надосадочную жидкость интраназально вводили мышам. Процедуру повторяли трижды, последний гомогенат лёгких вводили 10-дневным куриным эмбрионам с целью накопления вируса. После шести серий аналогичных пассажей на мышах и куриных эмбрионах полученная аллантоисная жидкость содержала летальный для мышей вирус гриппа. Содержание вируса в материале тестировали в реакции гемагглютинации с куриными эритроцитами [17]. В результате адаптации вируса к репродукции лёгких мышей была получена летальная гриппозная модель, которая в дальнейшем была использована в наших исследованиях. В РТГА с куриными эритроцитами была определена динамика накопления титров антигемагглютининовых антител в сыворотках заражённых животных на 4-й, 7-й, 14-й и 18-й день после заражения. Также была изучена динамика накопления вируса гриппа в лёгких мышей на 2–6-е дни после заражения. Было установлено, что на 4-й день после заражения ВГ титр антигемагглютининовых антител составлял  $80 \pm 15,1$ . Инфекционный титр вируса в лёгких мышей на этом же сроке инфекции составлял  $2,2 \times 10^3$ . К 14-му дню эксперимента титр антител возрос практически в 4 раза и составлял  $213,3 \pm 53,3$ . Средняя продолжительность жизни мышей при проведении экспериментов составляла от  $9,9 \pm 1,3$  до  $11,5 \pm 2,1$  дня в зависимости от веса и возраста животных [14].

В эксперименте использовали 78 самцов мышей линии BALB/c без внешних патологических признаков, весом 16–18 г и возрастом 4–6 недель. Их разделили на следующие группы и подгруппы:

1. Здоровые животные, являющиеся контрольной группой: подгруппа К, получавшая перорально 50 мкл физраствора на протяжении 3 дней, выведенная из эксперимента на 4-й день ( $n = 6$ ), и подгруппа 2К, получавшая перорально физраствор по той же схеме, выведенная из эксперимента на 14-й день ( $n = 6$ ).

2. Здоровые животные, получавшие перорально сапонин на протяжении 3 дней с концентрацией 5 мг/мл (доза 200 мкг/мышь/день): подгруппа КS, выведенная из эксперимента на 4-й день ( $n = 11$ ), и подгруппа 2KS, получавшая сапонин по той же схеме, выведенная из эксперимента на 14-й день ( $n = 11$ ).

3. Животные, зараженные интраназально вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1) без проводимой коррекции: подгруппа V, выведенная из эксперимента на 4-й день ( $n = 11$ ), и подгруппа 2V, выведенная из эксперимента на 14-й день ( $n = 11$ ).

4. Животные, зараженные интраназально вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1) и получавшие перорально сапонин с концентрацией 5 мг/мл (доза 200 мкг/

мышь/день): подгруппа SV, выведенная из эксперимента на 4-й день ( $n = 11$ ), и подгруппа 2SV, получавшая сапонин по аналогичной схеме и выведенная из эксперимента на 14-й день эксперимента ( $n = 11$ ).

#### Дизайн исследования

Самцов мышей весом 16–18 г заражали интраназально вирусом гриппа A/WSN/1/33(H1N1) под лёгким эфирным наркозом, вводя 50 мкл аллантоисной жидкости, содержащей 5 LD<sub>50</sub> вируса. В опытах использовали аликвоты одного пула аллантоисной жидкости, которую замораживали и хранили при  $-20^\circ\text{C}$ . Клиническими симптомами, подтверждающими развитие вирусной инфекции, являлись прогрессирующая потеря веса и развитие дыхательной недостаточности (учащение дыхания свыше 200 дыхательных движений в минуту с вовлечением вспомогательной мускулатуры, цианоз хвоста, ушей и конечностей). На 4-й и 14-й день после инфицирования животных выводили из эксперимента путём декапитации под эфирной анестезией, затем извлекали селезёнку для дальнейшего исследования.

Использовали терапевтическую схему введения сапонина, которая ранее показала свою эффективность на животных при экспериментальной гриппозной инфекции и противогриппозной вакцинации [13, 14]. В эксперименте применяли тритерпеновый гликозид с формулой 3-O-a-L рамнопиранозил (1→2)-a-L арабинопиранозид хедерагенина, сокращённо – сапонин таурозид Sx1, выделенный на кафедре физической и аналитической химии Таврического национального университета им. В.И. Вернадского из крымского плюща *H. taurica* профессором В.И. Гришковцом [18, 19].

#### Гистологические методы исследования

Ткань селезёнки фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине с последующей обработкой в спиртах возрастающей концентрации, заключением в парафин и приготовлением срезов толщиной 4 мкм согласно общепринятым гистологическим методикам [20]. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином для проведения качественной оценки морфологических преобразований с последующей морфометрической оценкой посредством обведения контуров сканов продольных и анатомически цельных гистологических срезов селезёнки, полученных на сканере Leica, световым пером в программе для морфометрического и структурного анализа изображений Aperio Image Scope (Leica Biosystems, США). На срезах определяли общую площадь ( $S$ , мм<sup>2</sup>) и процентное соотношение (относительную площадь) красной и белой пульпы, а также площади лимфоидных узелков (ЛУ). Измерения производили при увеличении 200.

Все гистологические исследования осуществляли в Центре коллективного пользования «Молекулярная биология» на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, программа «Приоритет-2030» № 075-15-2021-1323.



### Этическая экспертиза

Исследование одобрено Комитетом по этике ФГА-ОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (протокол № 10 от 23.11.2021). Животных содержали в виварии на стандартном рационе при свободном доступе к пище и воде при естественном световом режиме, уход за ними осуществляли в соответствии с нормами и правилами обращения с лабораторными животными согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МинВУЗа № 724 от 13.11.1984).

При проведении исследования были соблюдены принципы Хельсинкской декларации, принятой Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.). Животных выводили из эксперимента в соответствии с «Международных рекомендациях (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» Международного совета медицинских научных обществ (CIOMS) (1985 г.) и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава России № 267 от 19.06.03).

### Статистический анализ данных

Данные гистоморфометрических исследований обрабатывали статистически с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Рассчитывались среднее арифметическое значение ( $M$ ), стандартная ошибка среднего значения ( $m$ ) и стандартное отклонение ( $\sigma$ ) площадей красной и белой пульпы, а также лимфоидных узелков.

При статистической обработке данных проведена проверка вариационных рядов на нормальность распределения согласно критерию Шапиро – Уилка между контрольной и экспериментальными группами лабораторных животных. Для оценки различий качественных признаков использовался доверительный интервал по  $t$ -критерию Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при значениях  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Большая часть паренхимы селезёнки мышей контрольной группы была представлена красной пульпой, состоящей из венозных синусов и сети ретикулярных тяжей, в петлях которых находятся форменные элементы крови. Белая пульпа определялась как лимфоидные узелки и периартериальные лимфоидные влагиалища с выраженной зональностью. В периартериальных лимфоидных влагиалищах визуализировались малые и средние лимфоциты, плазмоциты, ретикулярные клетки и макрофаги. В центральной части, расположенной непосредственно около артериальной стенки, доминирующей популяцией клеток являлись специфические макрофаги.

В лимфатических узелках определялись следующие зоны: периартериальная, мантийная, маргинальная и герминативный центр. Эксцентрично расположенная периартериальная зона была представлена пулом зре-

лых лимфоцитов, которые окружают центральную артериолу. Рядом с периартериальной зоной визуализировался герминативный центр, в котором находились лимфообласты. Вышеописанные зоны были окружены мантийной зоной, представленной, в основном, макрофагами и в меньшем количестве – эритроцитами, и малыми лимфоцитами, и тканевыми базофилами. Маргинальная зона отделялась от мантийного краевого синуса, локализовалась по периферии лимфатического узелка и состояла из средних лимфоцитов и макрофагов (рис. 1а).

При анализе гистологического строения ткани селезёнки наибольшие межгрупповые отличия определялись в подгруппах K и KS. В ткани селезёнки мышей подгруппы KS отмечалась выраженная гиперплазия белой пульпы в виде расширения лимфоидных узелков с увеличением герминативного центра. ЛУ изредка сливались друг с другом и имели хорошо различимые зоны (рис. 1б).

Воздействие вируса гриппа приводило к значительным изменениям в подгруппах V и 2V. В селезёнке у мышей из подгруппы V отмечалось усиление мегакариоцитарной реакции, «размытие» зон и стирание границ узелков, а также уменьшения площади, занимаемой белой пульпой. Видимое «разрастание» ЛУ нередко было обусловлено слиянием ближайших узелков, что приводило к уменьшению их общего количества (рис. 1в). В подгруппе 2V гистологические зоны ЛУ были практически неразличимы, нередко наблюдалось полное исчезновение герминативных центров, что могло косвенно указывать на угнетение процессов лимфоцитарной пролиферации (рис. 1г). В расширенных синусоидах нередко выявлялся гемостаз, скопления нейтрофилов, а также гиперплазия клеток макрофагального ряда.

На фоне терапии препаратом в подгруппах SV и 2SV негативное воздействие вируса на селезёнку мышей было выражено значительно меньше. Необходимо отметить следующие гистологические изменения в этих подгруппах: несмотря на значительное количество мегакариоцитов, в ткани селезёнки выявлялось достаточное количество лимфоидных узелков, как со светлыми герминативными центрами, так и без них. Визуализировались периартериальные лимфоидные влагиалища, в части из которых оставалась сохранна зональность (рис. 1д, е).

По данным морфометрического анализа на 4-й день после введения сапонина, а также на фоне вирусной инфекции во всех опытных подгруппах наблюдается статистически значимое увеличение средней площади лимфоидного узелка по сравнению с контролем (табл. 1). Установлено выраженное статистически значимое увеличение средней площади ЛУ в 3,4 раза у здоровых животных, получавших сапонин (KS), по сравнению с контрольной подгруппой (K). В подгруппах мышей V и SV, зараженных вирусом гриппа, прирост средней площади ЛУ составил 2,3 и 2,1 раза соответственно.

На 14-й день эксперимента статистически значимая разница в средней площади ЛУ между двумя подгруппами 2K и 2KS сохранялась, причём введение сапонина увеличивало площадь ЛУ более чем в 2 раза. В это же время, в подгруппе 2V наблюдалось статистически значимое

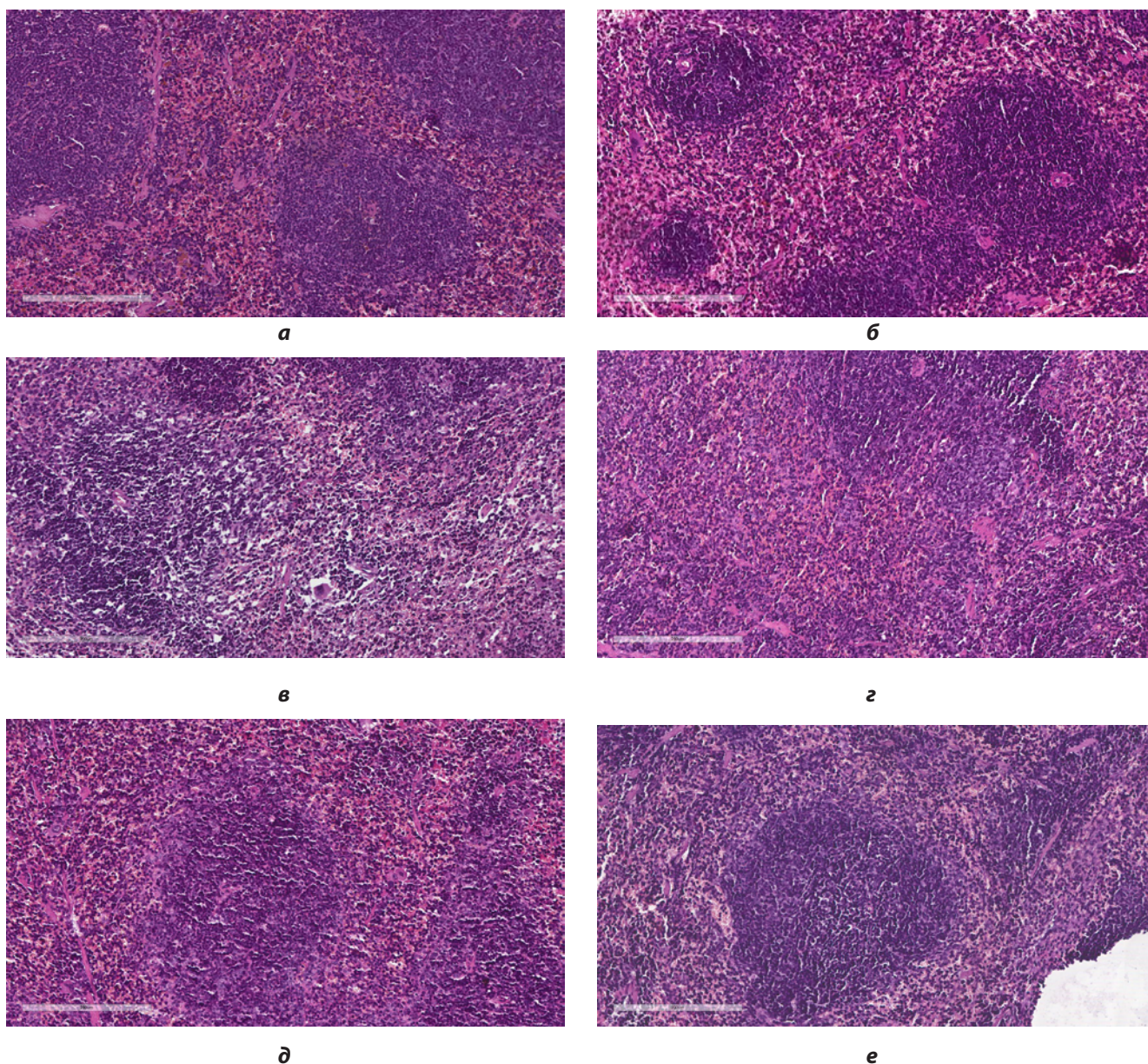


снижение площади ЛУ более чем в 2,5 раза по сравнению с подгруппой 2KS. При этом пероральное введение сапонина на 14-й день статистически значимо увеличивает площадь ЛУ в 2,7 раза в подгруппе инфицированных животных 2SV по сравнению с подгруппой 2V, не получавшей сапонин.

Показатели общей площади ЛУ также закономерно претерпевали существенные изменения. На 4-й день в подгруппе мышей, перорально получавших сапонин (KS), наблюдалось статистически значимое увеличение общей площади лимфоидных узлов по сравнению с контрольной подгруппой (К), которое составило 3,9 раза (табл. 2). К 14-мудню наблюдения эта разница показателей

между подгруппами 2KS и 2K составила 2,9 раза. Фактический прирост общей площади ЛУ в подгруппах KS и 2KS на фоне введения сапонина составил 8,4 и 4,0 % от общей площади селезёнки соответственно за счёт небольшого сокращения площади красной пульпы.

В эти же сроки наблюдения, несмотря на компенсаторное увеличение общей площади ЛУ, в подгруппе V отмечается уменьшение процента относительной площади ЛУ на 7,4 % по сравнению с контрольной подгруппой. На 4-й день эксперимента происходит статистически значимое увеличение площади красной пульпы в подгруппе V по сравнению с контролем в 3,6 раза, что соответствует приросту относительной площади на 7,4 %.



**РИС. 1.**  
Гистологические изменения селезёнки мышей BALB/c: **а** – контрольная группа; **б** – подгруппа KS; **в** – подгруппа V; **г** – подгруппа 2V; **д** – подгруппа SV; **е** – подгруппа 2SV. Окрашивание гематоксилином-эозином, ув. × 200

**FIG. 1.**  
Histological changes in the spleen of BALB/c mice: **a** – control group; **b** – subgroup KS; **v** – subgroup V; **г** – subgroup 2V; **д** – subgroup SV; **e** – subgroup 2SV. Hematoxylin-eosin stain, magnification ×200

**ТАБЛИЦА 1**  
**АБСОЛЮТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ РАЗМЕРОВ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ СЕЛЕЗЁНКИ МЫШЕЙ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ГРИППА И ПОЛУЧАВШИХ САПОНИН НА РАЗНЫХ СРОКАХ ЭКСПЕРИМЕНТА**

Средняя площадь (мм <sup>2</sup> ) лимфоидного узелка на 4-й день эксперимента			
K* (n = 6)	KS (n = 11)	V (n = 11)	SV (n = 11)
0,08 ± 0,01	0,3 ± 0,03	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01
	$p_k < 0,01$	$p_k < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$p_k < 0,01$ $p_1 < 0,01$
Средняя площадь S лимфоидного узелка на 14-й день эксперимента			
2K* (n = 6)	2KS (n = 11)	2V (n = 11)	2SV (n = 11)
0,08 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,03 ± 0,002	0,08 ± 0,004
	$p_k < 0,01$ $p_3 < 0,01$	$p_k < 0,01$ $p_2 < 0,01$	$p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$

**Примечание.**  $p_k$  – статистическая значимость различия текущей группы и контроля;  $p_1$  – статистическая значимость различия текущей группы и KS;  $p_2$  – статистическая значимость различия текущей группы и 2KS;  $p_3$  – статистическая значимость различия текущей группы и 2V; \* – контрольная подгруппа для 4-го и 14-го дня эксперимента.

**TABLE 1**  
**ABSOLUTE VALUES OF THE SIZE OF LYMPHOID NODULES OF THE SPLEEN OF MICE INFECTED WITH THE INFLUENZA VIRUS AND TREATED WITH SAPONIN AT THE DIFFERENT STAGES OF EXPERIMENT**

**ТАБЛИЦА 2**  
**ОТНОСИТЕЛЬНЫЕ И АБСОЛЮТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ РАЗМЕРОВ ОТДЕЛОВ БЕЛОЙ И КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЁНКИ МЫШЕЙ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ГРИППА И ПОЛУЧАВШИХ САПОНИН НА РАЗНЫХ СРОКАХ ИНФЕКЦИИ**

Группы	K* (n = 8)	KS (n = 11)	V (n = 11)	SV (n = 11)
4-й день наблюдения после инфицирования вирусом гриппа				
Общая площадь лимфоидных узелков, мм <sup>2</sup>	1,7 ± 0,01	6,6 ± 0,01 $p_k \leq 0,001$	4,4 ± 0,2 $p_k \leq 0,001$	3,9 ± 0,2 $p_k \leq 0,001$
Относительная площадь ЛУ, % S лимфоидных узелков от общей S селезёнки	31,3	39,7	23,9	30,2
Общая площадь красной пульпы, мм <sup>2</sup>	3,7 ± 0,2	9,9 ± 0,6 $p_k \leq 0,001$	13,5 ± 0,8 $p_k \leq 0,001$	8,8 ± 0,3 $p_k \leq 0,001$ $p_1 \leq 0,001$
Площадь относительная красной пульпы, % S красной пульпы от общей S селезёнки	68,7	60,3	76,1	68,7
Общая площадь селезёнки, мм <sup>2</sup>	5,4 ± 0,2	16,7 ± 0,4	18,2 ± 0,4	12,8 ± 0,5
14-й день наблюдения после инфицирования вирусом гриппа				
	2K* (n = 8)	2KS (n = 11)	2V (n = 11)	2SV (n = 11)
Площадь общая лимфоидных узелков, мм <sup>2</sup>	1,7 ± 0,01	4,9 ± 0,3 $p_k \leq 0,001$	0,7 ± 0,03 $p_k \leq 0,001$ $p_1 \leq 0,001$	1,4 ± 0,02 $p_2 \leq 0,01$ $p_3 \leq 0,001$
Относительная площадь ЛУ, %	31,3	35,3	9,8	18,6
Площадь красной пульпы, мм <sup>2</sup>	3,7 ± 0,2	8,9 ± 0,5 $p_k < 0,001$	6,9 ± 0,2 $p_k < 0,001$ $p_1 < 0,001$	6,2 ± 0,06 $p_k < 0,001$ $p_2 < 0,01$ $p_3 \leq 0,05$
Относительная площадь красной пульпы, %	68,7	64,7	90,1	81,4
Общая площадь селезёнки, мм <sup>2</sup>	5,4 ± 0,2	13,8 ± 0,4	7,6 ± 0,02	7,6 ± 0,08

**Примечание.**  $p_k$  – статистическая значимость различия подгруппы и контроля;  $p_1$  – статистическая значимость различия с подгруппой V;  $p_2$  – статистическая значимость различия по сравнению с подгруппой SV;  $p_3$  – статистическая значимость различия по сравнению с подгруппой 2V; \* – контрольная подгруппа для 4-го и 14-го дня эксперимента.



Введение корректора в подгруппе SV приводило к статистически не значимому сокращению общей площади белой пульпы на 8,8 % по сравнению с подгруппой V на фоне статистически значимого уменьшения площади красной пульпы на 53,8 % в эти сроки эксперимента.

В подгруппе 2V наблюдалось статистически значимое сокращение суммарной площади ЛУ на 16,4 % по сравнению с контролем, что происходило на фоне значительного прироста площади красной пульпы на 21,4 %. С 4-го по 14-й день течения гриппозной инфекции суммарная площадь ЛУ сократилась в 5,8 раза – с 23,9 до 9,8 % соответственно.

На 14-й день после начала эксперимента была выявлена статистически значимая разница в общей площади лимфоидных узелков между подгруппами инфицированных мышей, получавших сапонин (2SV) и не получавших данное вещество (2V). Введение корректора на фоне вирусной инфекции способствовало статистически значимому увеличению суммарной площади ЛУ практически в 2 раза, а относительной – на 8,8 % по сравнению с подгруппой 2V.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время инфекционные и, в частности, вирусные болезни оказывают существенное влияние на структуру заболеваемости и смертности. Кроме того, заболеваемость гриппом, а также другими ОРЗ является причиной до 50 % всех случаев временной нетрудоспособности. Ведущей причиной высокой патогенности вируса гриппа является влияние его белков-суперантигенов гемагглютинаина и неструктурных белков NS1 и NS2 на органы центральной и периферической иммунной системы [21].

О сниженном и неполноценном иммунном статусе инфицированных мышей в данном эксперименте свидетельствует прогрессирующее выраженное истощение лимфоидной ткани в самом крупном органе периферической части иммунной системы – селезёнке.

Иммунологическая активность селезёнки отражается, в первую очередь, в количестве и размерах ЛУ. Известно, что в периартериальной зоне ЛУ сконцентрированы преимущественно Т-лимфоциты, формирующие клеточную ветвь иммунитета, в то время как в маргинальной зоне ЛУ локализуются преимущественно В-лимфоциты [22, 23].

Воздействие вируса гриппа на мышей приводило к опустошению ЛУ и, следовательно, к уменьшению относительной площади белой пульпы селезёнки. При этом общая площадь органа возрастала главным образом за счёт гиперемии и отёка красной пульпы, элементы которой могли компенсаторно фагоцитировать повреждённые эритроциты. На 4-е сутки после инфицирования отмечалось уменьшение герминативной зоны фолликулов с последующим прогрессирующим истощением лимфоидной ткани. К 14-м суткам инфекционного процесса герминативные центры в ЛУ, их границы, а также их Т-зависимые периартериальные зоны у боль-

шинства мышей практически не визуализировались. Это свидетельствовало о подавлении как гуморальной, так и клеточной ветвей иммунитета.

Истощение лимфоидной ткани в селезёнке инфицированных мышей обеих экспериментальных групп дополнительно могло быть обусловлено апоптозом лимфоцитов и уменьшением скорости пролиферации лимфоцитов в ответ на воздействие вируса гриппа, но масштабы программируемой клеточной гибели, очевидно, были меньшими в группе с терапевтическим введением таурозида Sx1 во все сроки наблюдения. Морфометрически выявленное уменьшение размеров мантийной и маргинальной зон лимфоидных узелков и расширение их герминативных центров в подгруппах SV и 2SV указывают на компенсаторное увеличение количества менее дифференцированных клеток на фоне уменьшения количества более зрелых лимфоцитов и уменьшения гиперемии красной пульпы [23, 24].

Сапонины – вещества, которые давно применяются в практической медицине благодаря наличию широкого спектра биологической активности. Некоторые представители сапонинов способны усиливать секрецию бронхиальных желёз, возбуждая кашлевой центр, и поэтому широко применяются как отхаркивающие средства. Экстракты из листьев плюща являются основными компонентами препаратов «Геделикс», «Бронхипрет», «Проспан» (Германия), «Гербион» (Словения) и часто применяются для симптоматического лечения острых респираторных заболеваний и для облегчения симптомов хронических бронхитов. Однако иммуномодулирующий эффект сапонинов практически не изучен, поскольку многие из них обладают гемолитической активностью [25–27].

Увеличение площади ЛУ за счёт разрастания маргинальной зоны на фоне введения таурозида Sx1 указывает на вероятную активацию гуморальной ветви иммунитета даже при отсутствии инфекционного агента. Известно, что антигенсвязывающие и антителосинтезирующие клетки наиболее сконцентрированы в маргинальной зоне ЛУ. Кроме того, значительное количество ЛУ демонстрировало просветлённые центры, где происходила пролиферация В-лимфоцитов. При этом мы не выявили признаков токсического влияния данного сапонины. Увеличение относительной площади ЛУ также могло быть обусловлено активной миграцией лимфоцитов из центральных органов иммуногенеза за счёт пролонгированного воздействия сапонины, что могло способствовать активации синтеза антител, выявленного в наших предыдущих исследованиях. Ранее было доказано, что пероральное введение данного сапонины усиливало иммунопотенцирующее действие субъединичной гриппозной вакцины, вводимой внутримышечно. У вакцинированных мышей, получавших после каждой иммунизации сапонин в дозе 200 мкг в сутки, через 1–3 недели наблюдалось 2–10-кратное усиление выработки вирус-специфических антител против Н1, Н3 и гемагглютинаина вируса гриппа типа В [13].

Из этого факта можно заключить, что пероральное введение сапонины таурозида Sx1 позитивно влияет



на морфофункциональные преобразования селезёнки (гиперплазия белой пульпы селезёнки, появление новых ЛУ, умеренное кровенаполнение красной пульпы), что может быть расценено как довольно выраженный иммуностимулирующий эффект.

Учитывая полученные ранее данные о способности вирусов гриппа вызывать иммуносупрессию, истощая лимфоидную ткань, можно предположить, что применение фитоиммуностимуляторов в сочетании с противовирусными препаратами может способствовать более лёгкому течению вирусной инфекции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время весьма актуальны разработка и изучение новых эффективных отечественных средств для неспецифической профилактики гриппа, не оказывающих непосредственного воздействия на вирус, что исключало бы возможность формирования резистентности.

В эксперименте выявлено, что инфицирование вирусом гриппа H1N1 приводит к компенсаторной активации периферической иммунной системы животного за счёт увеличения площади белой пульпы, а также полнокровию красной, за счёт чего увеличивается общий размер органа. На 14-е сутки после заражения наблюдается выраженное истощение белой пульпы, что отражено уменьшением общих размеров лимфатических узлов и потерей их зональности, что отражало исчезновение в них центров размножения Т- и В-лимфоцитов.

Из полученных данных следует, что введение сапонина таурозида Sx1 положительно влияет на функциональную активность селезёнки. Это выражается в увеличении доли белой пульпы селезёнки за счёт увеличения размеров лимфоидных узлов и их герминативных центров. Вышеописанные эффекты таурозида Sx1 указывают на перспективность дальнейшего изучения и применения ряда сапонинов в качестве иммуномодулирующих средств.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

- ВОЗ. Каждый год от респираторных заболеваний, связанных с сезонным гриппом, умирает до 650 тысяч человек. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/14-12-2017-up-to-650-000-people-die-of-respiratory-diseases-linked-to-seasonal-flu-each-year> [дата доступа: 12.02.2022].
- Костинов М.П., Чучалин А.Г., Намазова-Баранова Л.С., Лобзин Ю.В., Брико Н.И., Свитич О.А., и др. *Приоритетная вакцинация респираторных инфекций в период пандемии SARS-CoV-2 и после её завершения: пособие для врачей*. М.: Группа МДВ; 2020.
- Simonsen L, Spreeuwenberg P, Lustig R, Taylor RJ, Fleming DM, Kroneman M, et al. Global mortality estimates for the 2009 Influenza Pandemic from the GLaMOR project: A modeling

study. *PLoS Med.* 2013; 10(11): e1001558. doi: 10.1371/journal.pmed.1001558

4. Paules C, Subbarao K. Influenza. *Lancet.* 2017; 390(10095): 697-708. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30129-0

5. Chen YQ, Wohlbold TJ, Zheng NY, Huang M, Huang Y, Neu KE, et al. Influenza infection in humans induces broadly cross-reactive and protective neuraminidase-reactive antibodies. *Cell.* 2018; 173(2): 417e10-429.e10. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.030

6. Министерство здравоохранения Российской Федерации. *Клинические рекомендации «Грипп у взрослых»*. URL: <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-gripp-u-vzroslykh-utv-minzdravom-rossii/> [дата доступа: 09.09.2022].

7. Li L, Li Y, Zhang L, Hou T. Theoretical studies on the susceptibility of oseltamivir against variants of 2009 A/H1N1 influenza neuraminidase. *J Chem Inf Model.* 2012; 52(10): 2715-2729. doi: 10.1021/ci300375k

8. Li TC, Chan MC, Lee N. Clinical implications of antiviral resistance in influenza. *Viruses.* 2015; 7(9): 4929-4944. doi: 10.3390/v7092850

9. Güçlü-Ustündağ O, Mazza G. Saponins: Properties, applications and processing. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2007; 47(3): 231-258. doi: 10.1080/10408390600698197

10. Zhao YJ, Li C. Biosynthesis of plant triterpenoid saponins in microbial cell factories. *J Agric Food Chem.* 2018; 66(46): 12155-12165. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04657

11. Moses T, Papadopoulou KK, Osbourn A. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2014; 49(6): 439-462. doi: 10.3109/10409238.2014.953628

12. Криворутченко Ю.Л., Кирсанова М.А., Андроновская И.Б. Антифунгальное действие тритерпенового сапонина таурозида Sx1 из *Hedera taurica* Carr. в отношении клинических изолятов *Candida* spp. *Проблемы медицинской микологии.* 2015; 17(3): 42-45.

13. Малыгина В.Ю., Андроновская И.Б., Криворутченко Ю.Л., Гришкова В.И. Сравнение влияния перорального введения сапонина таурозида Sx1 на выработку антител при иммунизации различными противогриппозными вакцинами. *Учёные записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия.* 2018; 4(70): 125-133.

14. Малыгина В.Ю., Андроновская И.Б., Криворутченко Ю.Л., Гришкова В.И. Зависимость протективного действия таурозида Sx1 от доз, способа и схем введения сапонина при экспериментальном гриппе у мышей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2012; 2(1-2): 98-102.

15. Liatsos GD. The immunity features and defects against primary cytomegalovirus infection post-splenectomy indicate an immunocompromised status: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98(43): e17698. doi: 10.1097/MD.00000000000017698

16. Бобрышева И.В. Морфологическая реактивность селезёнки крыс различных возрастных периодов при иммуностимуляции. *Журнал клинических и экспериментальных медицинских исследований.* 2013; 1(3): 315-321.

17. Кирсанова М.А., Малыгина В.Ю. Различия в протекании экспериментальных кандидозной, гриппозной и смешанной кандидозно-гриппозной инфекции у мышей. *Труды Крымского государственного медицинского университета имени С.И. Георгиевского.* 2004; 140(3): 92-96.

18. Grishkovets VI, Tolkacheva NV, Shashkov AS, Chirva VYa. Triterpene glycosides of *Hedera taurica* X. Structures of compounds F4, I, and J from the leaves of Crimean ivy. *Chem Nat Compd*. 1992; 28: 593-596. doi: 10.1007/BF00630436
19. Гришковец В.И., Чирва В.Я., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды аралиевых: структуры выделенных тритерпеновых гликозидов. *Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада*. 2007; 128: 90-102.
20. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. *Основы гистологии с гистологической техникой*. М.: Медицина, 1982.
21. Kreijtz JH, Fouchier RA, Rimmelzwaan GF. Immune responses to influenza virus infection. *Virus Res*. 2011; 162(1-2): 19-30. doi: 10.1016/j.virusres.2011.09.022
22. Cesta MF. Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicol Pathol*. 2006; 34(5): 455-465. doi: 10.1080/01926230600867743
23. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol*. 2005; 5(8): 606-616. doi: 10.1038/nri1669
24. Lewis SM, Williams A, Eisenbarth SC. Structure and function of the immune system in the spleen. *Sci Immunol*. 2019; 4(33): eaau6085. doi: 10.1126/sciimmunol.aau6085
25. Khan MF, Akram M, Akhter N, Mukhtiar M, Zahid R, Khan FS, et al. The evaluation of efficacy and safety of Cough (EMA) granules used for upper respiratory disorders. *Pak J Pharm Sci*. 2018; 31(6) (Supplementary): 2617-2622.
26. Гришковец В.И., Довгий И.И., Яковинин Л.А. Гемолитическая активность тритерпеновых гликозидов семейства Аралиевых. *Учёные записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. 2010; 23(62).4: 268-275.
27. Яковинин Л.А., Ратников В.Д., Бажан П.И., Гришковец В.И. Тритерпеновые сапонины лекарственных препаратов Бронхипрет сироп и Гербион сироп плюща. *Учёные записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. 2020; 6(72)(1): 299-307.
6. Ministry of Health of Russian Federation. *Flu in adults: Clinical recommendations*. URL: <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-gripp-u-vzroslykh-utv-minzdravom-rossii/> [date of access: 09.09.22]. (In Russ.).
7. Li L, Li Y, Zhang L, Hou T. Theoretical studies on the susceptibility of oseltamivir against variants of 2009 A/H1N1 influenza neuraminidase. *J Chem Inf Model*. 2012; 52(10): 2715-2729. doi: 10.1021/ci300375k
8. Li TC, Chan MC, Lee N. Clinical implications of antiviral resistance in influenza. *Viruses*. 2015; 7(9): 4929-4944. doi: 10.3390/v7092850
9. Güçlü-Ustündağ O, Mazza G. Saponins: Properties, applications and processing. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2007; 47(3): 231-258. doi: 10.1080/10408390600698197
10. Zhao YJ, Li C. Biosynthesis of plant triterpenoid saponins in microbial cell factories. *J Agric Food Chem*. 2018; 66(46): 12155-12165. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04657
11. Moses T, Papadopoulou KK, Osbourn A. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2014; 49(6): 439-462. doi: 10.3109/10409238.2014.953628
12. Krivorutchenko YuL, Kirsanova MA, Andronovskaya IB. Antifungal action of triterpenoid saponin Sx1 from *Hedera taurica* Carr. against clinical isolates of *Candida* spp. *Problems in medical mycology*. 2015; 17(3): 42-45. (In Russ.).
13. Maligina VY, Andronovskaya IB, Krivorutchenko YuL, Grishkovets VI. Comparison of the effect of oral administration of saponin tauroside Sx1 on the production of antibodies during immunization with various influenza vaccines. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. 2018; 4(70). 125-133. (In Russ.).
14. Maligina VY, Andronovskaya IB, Krivorutchenko YuL, Grishkovets VI. Dependence of tauroside Sx1 protective activity on the doses, ways and schemes of the saponin administration in experimental influenza virus infection of mice. *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012; 2(1-2): 98-102. (In Russ.).
15. Liatsos GD. The immunity features and defects against primary cytomegalovirus infection post-splenectomy indicate an immunocompromised status: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98(43): e17698. doi: 10.1097/MD.00000000000017698
16. Bobrysheva IV. Morphological reactivity of the spleen of rats of different age periods during immunostimulation. *Journal of Clinical and Experimental Medical Research*. 2013; 1(3): 315-321. (In Russ.).
17. Kirsanova MA, Maligina VY. Differences in the course of experimental candida, influenza and mixed candida-influenza infection in mice. *Trudy Krymskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni S.I. Georgievskogo*. 2004; 140(3): 92-96. (In Russ.).
18. Grishkovets VI, Tolkacheva NV, Shashkov AS, Chirva VYa. Triterpene glycosides of *Hedera taurica* X. Structures of compounds F4, I, and J from the leaves of Crimean ivy. *Chem Nat Compd*. 1992; 28: 593-596. doi: 10.1007/BF00630436
19. Grishkovets VI, Chirva VYa, Kachala VV, Shashkov AS. Triterpene glycosides of araliaceae: Structures of isolated triterpene glycosides. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*. 2007; 128: 90-102. (In Russ.).
20. Volkova OV, Eletsy YuK. *Fundamentals of histology with histological technique*. Moscow: Medicine, 1982. (In Russ.).

## REFERENCES

1. WHO. *Every year, up to 650,000 people die from respiratory diseases associated with seasonal flu*. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/14-12-2017-up-to-650-000-people-die-of-respiratory-diseases-linked-to-seasonal-flu-each-year> [date of access: 12.02.2022]. (In Russ.).
2. Kostinov MP, Chuchalin AG, Namazova-Baranova LS, Lobzin YuV, Briko NI, Svitich OA, et al. *Priority vaccination from respiratory infections during SARS-CoV-2 pandemics and after its ending. Manual for doctors*. Moscow: Gruppa MDV; 2020. (In Russ.).
3. Simonsen L, Spreeuwenberg P, Lustig R, Taylor RJ, Fleming DM, Kroneman M, et al. Global mortality estimates for the 2009 Influenza Pandemic from the GLaMOR project: A modeling study. *PLoS Med*. 2013; 10(11): e1001558. doi: 10.1371/journal.pmed.1001558
4. Paules C, Subbarao K. Influenza. *Lancet*. 2017; 390(10095): 697-708. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30129-0
5. Chen YQ, Wohlbold TJ, Zheng NY, Huang M, Huang Y, Neu KE, et al. Influenza infection in humans induces broadly cross-reactive and protective neuraminidase-reactive antibodies. *Cell*. 2018; 173(2): 417e10-429.e10. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.030

21. Kreijtz JH, Fouchier RA, Rimmelzwaan GF. Immune responses to influenza virus infection. *Virus Res.* 2011; 162(1-2): 19-30. doi: 10.1016/j.virusres.2011.09.022
22. Cesta MF. Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicol Pathol.* 2006; 34(5): 455-465. doi: 10.1080/01926230600867743
23. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5(8): 606-616. doi: 10.1038/nri1669
24. Lewis SM, Williams A, Eisenbarth SC. Structure and function of the immune system in the spleen. *Sci Immunol.* 2019; 4(33): eaau6085. doi: 10.1126/sciimmunol.aau6085
25. Khan MF, Akram M, Akhter N, Mukhtiar M, Zahid R, Khan FS, et al. The evaluation of efficacy and safety of Cough (EMA) granules used for upper respiratory disorders. *Pak J Pharm Sci.* 2018; 31(6) (Supplementary): 2617-2622.
26. Grishkovets VI, Dovgiy II, Yakovishin LA. Hemolytic activity of triterpene glycosides of the Araliaceae family. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry.* 2010; 23(62).4: 268-275. (In Russ.).
27. Yakovishin LA, Ratnikov VD, Bazhan PI, Grishkovets VI. Triterpene saponins of drugs Bronchipret syrup and Herbion hedera syrup. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry.* 2020; 6(72).1: 299-307. (In Russ.).

#### Сведения об авторах

**Малыгина Вероника Юрьевна** – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: vera.maligina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7681-6773>

**Сатаева Татьяна Павловна** – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: tanzcool@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6451-7285>

**Макалиш Татьяна Павловна** – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центра коллективного пользования «Молекулярная биология» Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: gemini\_m@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

**Кальфа Маргарита Алексеевна** – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центра коллективного пользования «Молекулярная биология» Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: rita.kalfa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7179-3402>

**Кубышкин Анатолий Владимирович** – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: kubyshkin\_av@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

**Рыбалко Сергей Юрьевич** – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: rybalkosy@cfuv.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3809-4992>

**Кирсанова Марина Александровна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: m.a\_kirsanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5559-0050>

#### Information about the authors

**Veronika Yu. Maligina** – Teaching Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: vera.maligina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7681-6773>

**Tatiana P. Sataeva** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: tanzcool@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6451-7285>

**Tatyana P. Makalish** – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Center for Collective Use "Molecular Biology", Central Research Laboratory, S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: gemini\_m@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

**Margarita A. Kalfa** – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Center for Collective Use "Molecular Biology", Central Research Laboratory, S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: rita.kalfa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7179-3402>

**Anatoly V. Kubyshkin** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of General and Clinical Pathophysiology, S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: kubyshkin\_av@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

**Sergey Yu. Rybalko** – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: rybalkosy@cfuv.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3809-4992>

**Marina A. Kirsanova** – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: m.a\_kirsanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5559-0050>

#### Вклад авторов

Малыгина В.Ю. – концепция и дизайн исследования; сбор и обработка материала; написание текста.

Сатаева Т.П. – концепция и дизайн исследования; сбор и обработка материала.

Макалиш Т.П. – сбор и обработка материала.

Кальфа М.А. – сбор и обработка материала.

Кубышкин А.В. – сбор и обработка материала.

Рыбалко С.Ю. – сбор и обработка материала.

Кирсанова М.А. – сбор и обработка материала; редактирование статьи.