

И.М. ДАНИЛОВА, С.И. ПАВЛОВА, В.Б. ХОБРАКОВА

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ В МОДЕЛИ ЦИКЛОФOSФАМИД-ИНДУЦИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ИММУНОСУПРЕССИИ

Ключевые слова: глицирризиновая кислота, иммуносупрессия, токсичность, циклофосфамид, фармакология, онкология, цитостатики, противоопухолевые лекарственные препараты.

Тритерпеноид глицирризиновая кислота, входящий в состав экстракта корня солодки, обладает широким спектром биологических эффектов. Ранее было выявлено, что экстракт за счет глицирризиновой кислоты повышает выживаемость животных на фоне циклофосфамид-индуцированного токсикоза. Поскольку цитостатики вызывают большой спектр побочных эффектов, в том числе выраженное угнетение иммунной системы, представляет интерес дальнейшее исследование влияния глицирризиновой кислоты на иммунитет.

Цель исследования – оценка влияния глицирризиновой кислоты на иммунный ответ *in vitro* и на экспериментальных животных на фоне введения циклофосфамида.

Материалы и методы. Исследование осуществлялось *in vitro* на культуре спленоцитов мышей, а также на моделях циклофосфамид-индуцированной токсичности и иммуносупрессии при использовании циклофосфамида в дозе 450 мг/кг и 250 мг/кг. Оценивалась выживаемость животных, морфологическая картина спленоцитов, содержание кислой фосфатазы, состояние клеточного, гуморального иммунитета и фагоцитарная активность.

Результаты исследования. Глицирризиновая кислота не ингибировала пролиферацию митоген активированных лимфоцитов. Установлено, что введение глицирризиновой кислоты улучшает морфологическую картину селезенки за счет увеличения размеров лимфоидных фолликулов и уменьшения очагов некроза на фоне циклофосфамид-индуцированного токсикоза, снижает количество кислой фосфатазы. На фоне циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии введение глицирризиновой кислоты увеличивает индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа, повышает количество антителообразующих клеток по сравнению с контролем, улучшает фагоцитарную активность.

Выводы. Глицирризиновая кислота улучшает показатели иммунного ответа как *in vitro*, так и при моделировании иммуносупрессии, вызванной циклофосфамидом, у лабораторных животных. Глицирризиновая кислота улучшает морфологическую картину селезенки, а также усиливает клеточный, гуморальный иммунитет, фагоцитарный ответ на фоне введения циклофосфамида.

Введение. Глицирризиновая кислота (ГК) – тритерпеновый гликозид корня солодки амфифильной структуры, гидрофильная часть которого представляет собой остаток глюконовой кислоты, гидрофобная – остаток глицирретовой кислоты. ГК обладает широким спектром биологических эффектов: антимикробным [15, 20], противовоспалительным [22], антиоксидантным [19], гепатопротекторным [14], кроме того, сообщается о перспективах использования ГК в качестве компонента систем доставки лекарств [23]. Особого внимания заслуживают противоопухолевые [16, 25], иммуномодулирующие свойства [22], а также возможность использования ГК для снижения токсичности противоопухолевых цитотоксических химиотерапевтических средств [18, 28].

Одним из широко применяемых противоопухолевых химиопрепаратов является алкилирующий цитостатик циклофосфамид (ЦФ), который также используют в качестве иммуносупрессанта в лечении аутоиммунных заболеваний и в трансплантологии [12]. К сожалению, из-за неизбирательности действия ЦФ может вызвать нежелательные реакции со стороны кроветворения, сердечно-сосудистой, выделительной систем, печени [8], что лимитирует применение данного цитостатика у некоторых групп пациентов.

ГК как основной компонент (до 25%) экстракта корня солодки (ЭКС) может обуславливать некоторые свойства экстракта. Например, как ЭКС, так и ГК повышают выживаемость экспериментальных мышей на фоне введения токсических доз ЦФ [4]. Вкупе с описанными в научной литературе антиоксидантными эффектами в других экспериментальных моделях, а также иммуномодулирующими свойствами [18, 22, 28] ГК можно рассматривать как потенциальное средство для сопроводительной терапии в онкологии. При этом актуальным является не только исследование по прямому снижению токсичности цитостатиков, но и изучение механизмов и эффектов ГК при иммуносупрессии, вызванной противоопухолевыми химиотерапевтическими средствами, а также воздействие ГК на иммунную систему в целом.

Цель исследования – оценка иммуномодулирующих свойств ГК *in vitro* и в моделях ЦФ-индуцированной токсичности и иммуносупрессии.

Материалы и методы исследования. ГК (Sigma) в модели культуры клеток *in vitro* использовали в диапазоне концентраций 0,2–200 мкг/мл. В моделях *in vivo* в качестве источника ГК использовали глицирризинат натрия (Глицирам, Россия), который экспериментальным животным вводили перорально, через желудочный зонд в объеме 0,1 мл, для растворения препарата использовалась очищенная вода. ЦФ (Циклофосфан, Россия) вводился внутривенно, в качестве растворителя применялась вода для инъекций. Приготовление препаратов осуществлялось *ex tempore* в стерильных условиях ламинарного бокса.

Оценка пролиферации активированных лимфоцитов производилась в МТТ-тесте. МТТ-тест основан на ферментном восстановлении митохондриальными дегидрогеназами неокрашенной водорастворимой соли 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) с образованием нерастворимых голубых кристаллов формазана [5]. Для этого спленоциты белых беспородных мышей выделялись из селезенки методом щадящей гомогенизации в среде для культивирования клеток RPMI1640. Удаление эритроцитарной фракции производили с помощью осмотического лизиса раствором Бройля (0,84% раствор NH_4Cl , 10 мМ Хепес-буфера, несколько кристаллов фенолового красного). Клетки культивировали в среде RPMI1640 с добавлением 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки и антибактериальных препаратов (100 ЕД/мл пенициллина и 100 ЕД/мл стрептомицина), используя 96-луночные круглодонные планшеты для культур клеток (Corning Costar), в концентрации 10^6 клеток на лунку (5×10^6 на 1 мл, 200 мкл на лунку). Для активации лимфоцитов использовали оптимальные концентрации митогенов: 10 мкг/мл липополисахарида (ЛПС, ПанЭко, Россия) для В-лимфоцитов и 15 мкг/мл конканавалина А (КонА, ПанЭко, Россия) для Т-лимфоцитов. Клетки культивировали 24 ч в присутствии митогенов, затем вносили ГК в конечной концентрации 0,2–200 мкг/мл и инкубировали в течение 48 ч. За 4 ч до окончания инкубации вносили 20 мкл 0,5%-ного раствора МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид) (ПанЭко, Россия) в каждую лунку. После замены среды в лунках на 100 мкл диметилсульфоксида, который растворяет образовавшийся в результате реакции формазан, измеряли

оптическую плотность при длине волны 492 нм на планшетном спектрофотометре (Immunochem 2100, США).

Исследования в моделях *in vivo* проводились на белых беспородных крысах-самцах массой 160–176 г, мышах-самцах линии F1 (СВА×С57В1/6) массой 18–20 г, содержащихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде и пище. Подопытным животным вводилась ГК в дозе 20 мг/кг 1 раз в сутки, ЦФ – в дозе 250–450 мг/кг в зависимости от модели исследования (токсичность или иммуносупрессия) однократно внутрибрюшинно. Контрольные группы получали соответствующие объемы растворителя.

Моделирование острого токсикоза осуществлялось путем однократного введения белым беспородным крысам ЦФ в дозе 450 мг/кг внутрибрюшинно [7]. Животные были разделены на четыре группы:

- 1) группа отрицательного контроля – животные, получавшие в течение 7 дней очищенную воду;
- 2) контрольная группа – группа «ЦФ» – животные, получившие однократное внутрибрюшинное введение летальной дозы ЦФ;
- 3) опытная группа № 1 – группа «ГК+ЦФ» – животные, получавшие в течение 7 дней ГК, а затем однократное внутрибрюшинное введение летальной дозы ЦФ;
- 4) опытная группа № 2 – группа «ГК» – животные, получавшие ГК в течение 7 дней.

В ходе эксперимента оценивалась средняя продолжительность жизни животных в разных группах. В первые сутки через 6–12 ч после введения летальной дозы ЦФ животных выводили из эксперимента и забирали селезенку для общегистологических и люминесцентно-гистохимических методов исследования.

Для общегистологических исследований селезенку после фиксации и обезвоживания заливали в парафин. На микротоме готовили срезы толщиной 5–7 мкм и окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятой методике. Исследование окрашенных препаратов селезенки производилось с помощью светового микроскопа «Микмед-5» при увеличении $\times 10$ и $\times 40$.

Люминесцентно-гистохимическое исследование включало в себя определение активности кислой фосфатазы по методу Burstone (1962) [10]. Для этого из замороженной селезенки готовились криостатные срезы толщиной 10 мкм. Далее определяли активность кислой фосфатазы при помощи реакции одновременного азосочетания с нафтол AS-VI фосфатом и прочным синим ВВ. Полученные препараты исследовались на микроскопе «Микмед-2» с дополнительной насадкой ФМЭЛ-1 с ФЭУ-79 и выходным напряжением 1200 В. Использовался светофильтр с длиной волны 620 нм. Регистрацию светопропускания осуществляли цифровым вольтметром Щ4300. Результат светопропускания выражали в единицах оптической плотности (ED).

Иммуносупрессию моделировали на мышах линии F1 (СВА×С57В1/6) путем однократного внутрибрюшинного введения токсичной нелетальной дозы ЦФ в дозе 250 мг/кг. Животные были разделены на четыре группы:

- 1) группа отрицательного контроля – животные, получавшие в течение 14 дней очищенную воду;
- 2) контрольная группа – группа «ЦФ+H₂O» – животные, получавшие однократное внутрибрюшинное введение ЦФ и далее очищенную воду в течение 14 дней;
- 3) опытная группа № 1 – группа «ЦФ+ГК» – животные, получавшие однократное внутрибрюшинное введение ЦФ и далее ГК в течение 14 дней;
- 4) опытная группа № 2 – группа «ГК» – животные, получавшие в течение 14 дней ГК.

В данной модели оценивали состояние клеточного и гуморального иммунитета, фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов. Исследования проводились на 16-й день эксперимента.

Для оценки клеточного иммунитета (реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)) [5] производили иммунизацию мышей линии F1 (СВА×С57В1/6) внутрибрюшинным введением 0,1%-ной взвеси эритроцитов барана (антиген) в физиологическом растворе. Разрешающую инъекцию антигена (50 мкл 50%-ной взвеси эритроцитов барана) вводили на 4-е сутки под подошвенный апоневроз задней лапки («исследуемая лапа»). В контралатеральную лапку вводили 50 мкл стерильного физиологического раствора («контрольная лапа»). Оценка реакции ГЗТ проводилась через 24 ч путем сравнения масс исследуемой и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ (ИР ГЗТ) рассчитывался по формуле:

$$\text{ИР ГЗТ} = \left(\frac{M_{\text{оп}} - M_{\text{к}}}{M_{\text{к}}} \right) \cdot 100\%,$$

где $M_{\text{оп}}$ – масса исследуемой лапы; $M_{\text{к}}$ – масса контрольной лапы.

Гуморальный иммунитет оценивали путем подсчета количества антителообразующих клеток (АОК) по методу локального гемолиза по A.J. Cunningham [11]. Метод основан на способности антиэритроцитарных антител, которые секретируются АОК иммунизированных животных, лизировать эритроциты барана в присутствии комплемента. При этом в месте расположения АОК, если они находятся в монослое эритроцитов, формируются зоны локального гемолиза (бляшки). В ходе исследования производили внутрибрюшинную иммунизацию мышей линии F1 (СВА×С57В1/6) взвесью эритроцитов барана в дозе 2×10^8 клеток на мыш. На 5-е сутки после иммунизации готовили смесь из равных объемов суспензии лимфоидных клеток (гомогенизированная селезенка в 5 мл раствора Хенкса), эритроцитов барана (10%) и комплемента (1:5). В камеры из двух предметных стекол, соединенных между собой по краям парафином, вводили смесь и помещали камеры в термостат при температуре 37°C на 1 час. Далее подсчитывали количество зон гемолиза с помощью лупы по всей камере. Для определения абсолютного количества АОК на селезенку использовали формулу:

$$\text{Число АОК на селезенку} = \frac{n \cdot a \cdot b \cdot c}{V},$$

где n – число зон гемолиза; a – объем лимфоидных клеток в смеси «лимфоциты – эритроциты барана – комплемент»; b – объем суспензии; c – степень разведения лимфоцитов; V – объем камеры.

Для оценки фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов [5] мышам линии F1 (СВА×С57В1/6) вводилась 0,5% суспензия коллоидной туши в объеме 2 мл внутрибрюшинно. Далее производились промывание брюшной полости изотоническим раствором и получение клеток перитонеального экссудата. Клетки отмывали повторным центрифугированием в изотоническом растворе, лизировали осадок клеток перитонеального экссудата дистиллированной водой. Измеряли оптическую плотность лизата клеток перитонеального экссудата при длине волны 620 нм на спектрофотометре «СЕСИЛ-2011», результат (фагоцитарный индекс) выражали в единицах оптической плотности (ED).

Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась с помощью пакета анализа данных программного обеспечения «Microsoft Excel». Все данные подчинялись нормальному распределению. Подсчитывали среднюю арифметическую (M) и среднюю ошибку средней арифметической (m). Для сравнения групп использовали t -критерий Стьюдента, различия принимались как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Влияние глицирризиновой кислоты на пролиферацию активированных лимфоцитов *in vitro*. ГК в концентрации 0,2–200 мкг/мл не подавляла пролиферацию ЛПС-активированных лимфоцитов, при этом прослеживалась стимуляция пролиферации Кона-активированных спленоцитов в дозе 20–200 мкг/мл на 12% и 35% соответственно (рис. 1).

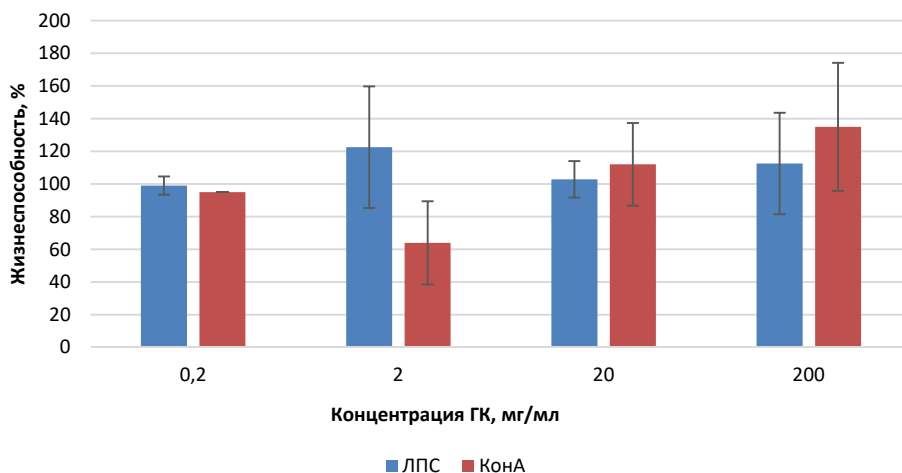


Рис. 1. Влияние глицирризиновой кислоты на ЛПС и Кона-активированные спленоциты мышей

Глицирризиновая кислота в модели острой токсичности, вызванной циклофосфамидом. При наблюдении за животными не наблюдалось летальных исходов в группах отрицательного контроля и «ГК». В модели ЦФ-индуцированного токсикоза наблюдалась 100% летальность экспериментальных крыс в группах «ЦФ», «ГК+ЦФ», получивших однократное внутрибрюшинное введение ЦФ в дозе 450 мг/кг. Средняя продолжительность жизни животных в группе «ЦФ» составила $2,2 \pm 0,6$ сут, в группе «ГК+ЦФ» – $2,0 \pm 0,3$ сут.

Общегистологическое исследование селезенки. Морфологическое исследование селезенки крыс группы отрицательного контроля показало типичную гистологическую картину с четким разделением на красную и белую пульпу (рис. 2, а). Белая пульпа состояла из лимфоидных фолликулов, содержащих Т и В зоны. Герминативные центры фолликул умеренно выражены, маргинальная зона средней толщины и нечеткая.

В группе «ЦФ» гистологическая картина была по типу «опустошения органа»: нечеткое деление на красную и белую пульпу (рис. 2, б). Красная пульпа была представлена ретикулярной стромой. Фолликулы выявлялись с трудом, были очень мелкие, отсутствовало деление на Т и В зоны. В центральных и периферических отделах фолликул наблюдались зоны некроза с глыбками ядерного хроматина. Предварительное введение ГК (группа «ГК+ЦФ») (рис. 2, в) улучшало гистологическую картину за счет отсутствия некротических очагов, остальные морфологические особенности были аналогичны таковым в группе «ЦФ». При этом в группе «ГК» (рис. 2, г) также наблюдались особенности в виде очень крупных фолликул с разделением на Т и В зоны, крупных герминативных центров,

расширенной мантийной зоны по сравнению с таковыми в группе отрицательного контроля.

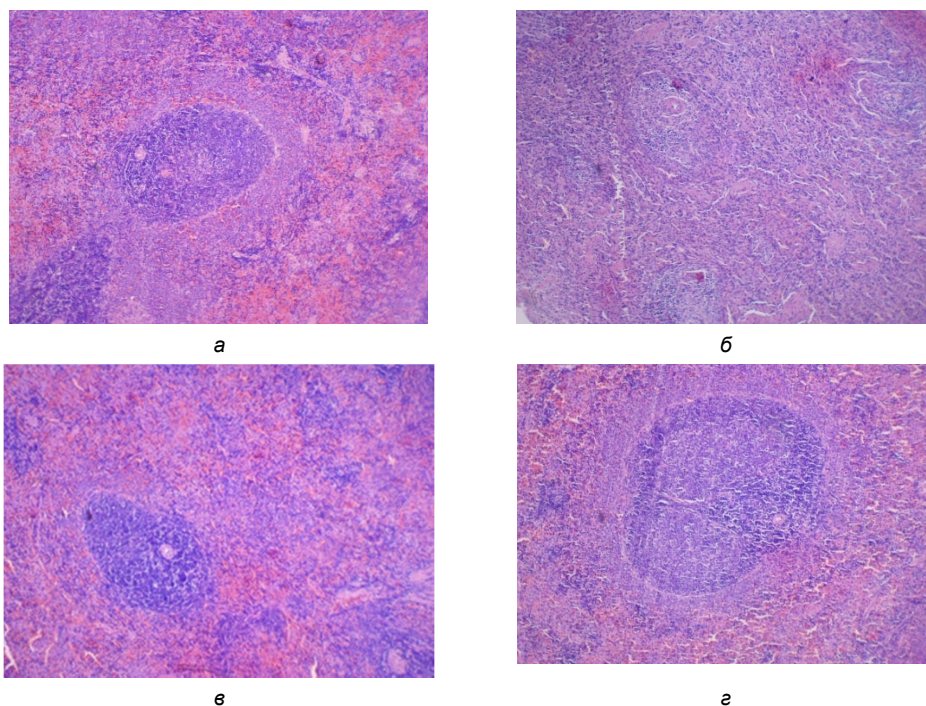


Рис. 2. Морфологическое строение селезенки белых беспородных крыс в модели острой токсичности, вызванной циклофосфамидом, окраска гематоксилин-эозином, ув. $\times 40$: а – группа отрицательного контроля; б – контрольная группа («ЦФ»); в – опытная группа № 1 («ГК+ЦФ»); г – опытная группа № 2 («ГК»).

Люминесцентно-гистохимическое исследование селезенки. Определение кислой фосфатазы (КФ) селезенки крыс (рис. 3) показало интенсивное распределение фермента в группе отрицательного контроля в красной пульпе и слабую активность – в единичных клетках центров фолликулов, маргинальной зоне. В группе «ЦФ» наблюдалось пылевидное распределение КФ в центрах фолликулов и в единичных клетках, нечеткие контуры фолликулов. В группе «ГК+ЦФ» прослеживалась промежуточная картина между показателями группы отрицательного контроля и группы «ЦФ». В группе «ГК» наблюдались четкие контуры фолликулов, более четкая маргинальная зона (полоса береговых клеток) по сравнению с аналогичными показателями в группе отрицательного контроля.

Активность КФ (табл. 1) селезенки экспериментальных крыс достоверно не отличалась в группах отрицательного контроля и «ГК». Наблюдалось повышение активности фермента у группы «ЦФ» как в периферических, так и в центральных отделах фолликула на 36% и 15% соответственно по сравнению с аналогичными показателями в группе отрицательного контроля. У группы «ГК+ЦФ» активность КФ не изменялась относительно таковой в группе отрицательного контроля в центральной части фолликула и повышалась на 23,5% в периферическом отделе.

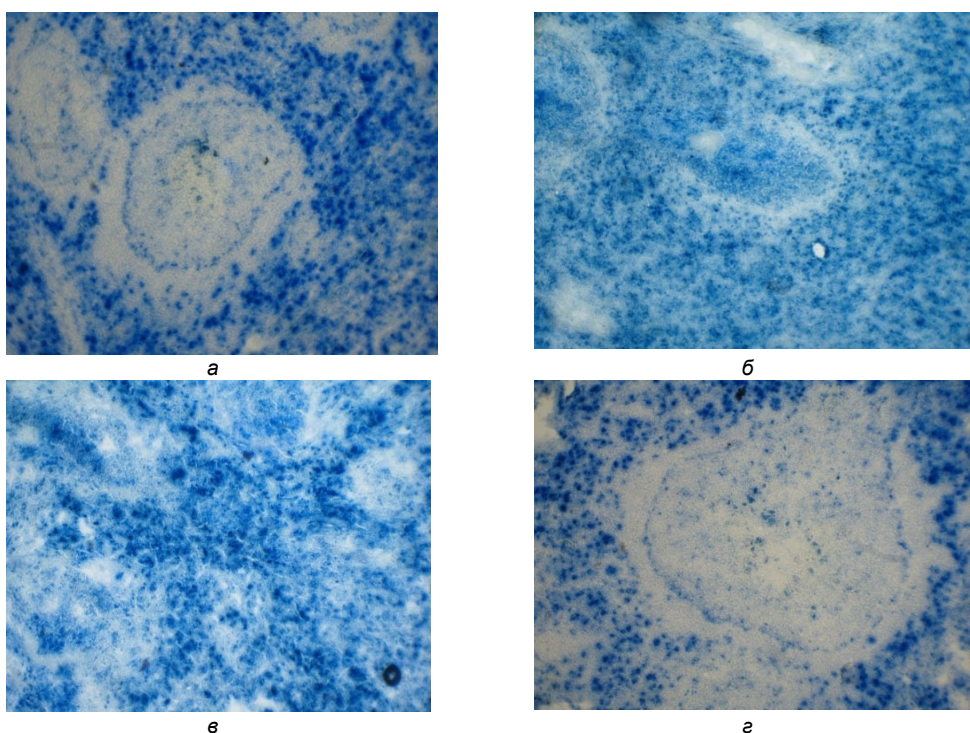


Рис. 3. Определение активности кислой фосфатазы селезенки белых беспородных крыс в модели острой токсичности, вызванной циклофосфамидом, по методу Burstone:
 а – группа отрицательного контроля; б – контрольная группа («ЦФ»); в – опытная группа № 1 («ГК+ЦФ»); г – опытная группа № 2 («ГК»).

Таблица 1

Влияние глицирризиновой кислоты на активность кислой фосфатазы селезенки крыс в модели острой токсичности, вызванной циклофосфамидом

Экспериментальные группы	Активность кислой фосфатазы селезенки, ED	
	в периферической части фолликула	в центральной части фолликула
Отрицательного контроля, $n = 10$	20,8±3,2	45,2±5,8
«ЦФ», $n = 10$	28,3±5,3*	52,1±7,3*
«ГК+ЦФ», $n = 10$	25,7±4,9*	46,1±6,4*
«ГК», $n = 10$	22,5±4,1*	42,6±6,0*

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с данными в группе отрицательного контроля.

Глицирризиновая кислота в модели циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии. Оценка ГЗТ. При измерении массы опытной и контрольной лапок мышей и дальнейшем подсчете ИР ГЗТ наблюдалось усиление индекса на фоне применения ГК в условиях иммуносупрессии, вызванной ЦФ (табл. 2). ЦФ-индуцированная иммуносупрессия приводила к снижению ИР ГЗТ на 32% по сравнению с аналогичным показателем в группе отрицательного контроля. При этом введение ГК у мышей группы «ЦФ+ГК» приводило к повышению ИР ГЗТ на 70% (в 1,7 раза) по сравнению с аналогом в группе «ЦФ+H₂O». В группе «ГК» не наблюдалось значимого увеличения ИР ГЗТ по сравнению с данными в группе отрицательного контроля.

Таблица 2

**Влияние глицирризиновой кислоты
на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа
в модели иммуносупрессии, вызванной циклофосфамидом**

Экспериментальные группы	ИР ГЗТ, %
Отрицательного контроля, $n = 10$	36,40±2,27
«ЦФ+Н ₂ О», $n = 10$	24,70±1,78*
«ЦФ+ГК», $n = 10$	42,04±3,02**
«ГК», $n = 10$	43,60±2,86

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с данными в группе отрицательного контроля; ** – по сравнению с данными в группе «ЦФ+Н₂О».

Глицирризиновая кислота и антителообразование. ГК повышает число АОК при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии (табл. 3). У группы «ЦФ+Н₂О» при введении циклофосфамида происходило снижение абсолютного числа АОК на 37% и числа АОК на 10⁶ спленоцитов на 31% по сравнению с показателями группы отрицательного контроля. В группе «ЦФ+ГК» повысилось абсолютное число АОК на 38% и число АОК на 10⁶ спленоцитов на 58% по сравнению с аналогичными показателями группы «ЦФ+Н₂О». В группе «ГК» не отмечали существенного увеличения абсолютного и относительного числа АОК по сравнению с данными в группе отрицательного контроля.

Таблица 3

**Влияние глицирризиновой кислоты на антителообразование
в модели иммуносупрессии, вызванной циклофосфамидом**

Экспериментальные группы	Количество антителообразующих клеток	
	на селезенку	на 10 ⁶ спленоцитов
Отрицательного контроля, $n = 10$	45 938±2873	219±16,3
«ЦФ+Н ₂ О», $n = 10$	28 941±1954*	151±10,2*
«ЦФ+ГК», $n = 10$	39 846±2169**	238±18,7**
«ГК», $n = 10$	57 423±3825	257±15,6

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с данными в группе отрицательного контроля; ** – по сравнению с данными в группе «ЦФ+Н₂О».

Глицирризиновая кислота и фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов. В модели иммуносупрессии, вызванной ЦФ, при измерении оптической плотности лизата клеток перитонеального экссудата наблюдалось снижение фагоцитарного индекса на 41% по сравнению с таковым в группе отрицательного контроля (табл. 4). При этом введение ГК у группы «ЦФ+ГК» приводило к увеличению фагоцитарного индекса в 1,6 раза (на 62%) по сравнению с таковым в группе «ЦФ+Н₂О». Оптическая плотность лизата клеток у группы «ГК» значительно не изменялась по сравнению с аналогом в группе животных, получавших очищенную воду.

Таблица 4

Влияние глицирризиновой кислоты на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов в модели иммуносупрессии, вызванной циклофосфамидом

Экспериментальные группы	Фагоцитарный индекс, ED
Отрицательного контроля, $n = 10$	0,37±0,02
«ЦФ+Н ₂ О», $n = 10$	0,22±0,02*
«ЦФ+ГК», $n = 10$	0,35±0,02**
«ГК», $n = 10$	0,41±0,02

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с данными в группе отрицательного контроля; ** – по сравнению с данными в группе «ЦФ+Н₂О».

Обсуждение. Использование противоопухолевых химиотерапевтических средств сопряжено с различными рисками нежелательных реакций. Проблема вторичной иммуносупрессии при терапии цитостатиками особенно актуальна при длительном лечении и/или использовании больших доз. В данной публикации исследуются возможности коррекции ЦФ-индуцированной иммуносупрессии тритерпеновым гликозидом корня солодки ГК, содержание которого может достигать 25% [1]. Фармакопейные препараты корней солодки содержат не только ГК, но и ряд других биологически активных веществ. Так, например, продемонстрировано, что ЭКС повышает выживаемость экспериментальных мышей подобно ГК [4], но обладает прямыми антипролиферативными свойствами за счет входящих в его состав флавоноидов [2, 3, 6]. При этом сведений о влиянии ГК на иммунный ответ недостаточно. Поэтому представляет интерес дальнейшее исследование эффектов ГК, в частности иммуномодулирующих свойств данного гликозида.

В настоящем исследовании первоначально оценивали прямое влияние ГК на пролиферацию митоген-активированных лимфоцитов в модели *in vitro*. К спленоцитам добавляли митогены: Т-лимфоциты активировали КонА, В-лимфоциты – ЛПС. ГК добавляли через 24 ч к уже активированным лимфоцитам. ГК значимо не ингибировала пролиферацию лимфоцитов, активированных ЛПС, наоборот, прослеживалась некоторая тенденция к стимуляции КонА-активированных лимфоцитов на 12% и 35% в концентрациях 20 и 200 мкг/мл соответственно.

На следующем этапе исследовали эффекты ГК на моделях ЦФ-индуцированной иммуносупрессии у экспериментальных животных (мышях и крысах) с использованием летальных (450 мг/кг) и нелетальных (250 мг/кг) доз цитостатика.

В модели с использованием ЦФ в дозе 450 мг/кг исследовали морфологию селезенки, которая изменялась даже при введении ГК без ЦФ. При сравнении показателей экспериментальных и интактных мышей на фоне введения ГК без ЦФ отмечались крупные фолликулы и герминативные центры, ЦФ-индуцированная токсичность характеризовалась картиной с мелкими фолликулами с плохо дифференцирующимися Т и В зонами (рис. 2). Кроме того, введение ЦФ вызывало появление очагов некроза и замену красной пульпы ретикулярной стромой, при этом у мышей, получавших ГК в течение 7 дней до введения ЦФ, очаги некроза не были явными. В научной литературе описано, что и другие модели токсикоза вызывают подобные изменения фолликулярного аппарата селезенки. Например, на фоне введения гербицида атразина А.М. Morgan et al. [21] отмечают сильное истощение лимфоидных фолликулов в белой пульпе селезенки, а ГК приводила к значительно меньшему истощению фолликулов, что коррелировало с уменьшением апоптоза спленоцитов. Следует отметить, что в этом исследовании ГК вводили внутривенно, тогда как в нашем опыте экспериментальные животные получали ГК перорально.

В научной литературе есть сведения об эффективности ГК в моделях токсичности, индуцированной не только гербицидом атразином, но и цитостатиками: паклитакселом [18], блеомицином [28] как при внутривенном введении ГК [18, 21], так и при пероральном [5, 28]. На наш взгляд, при различных путях введения механизмы антитоксического эффекта могут различаться. Так, при пероральном введении ГК метаболизируется как в печени, так и в кишечном тракте с участием микрофлоры, образуя 18-β-глицирретовую кислоту (ГТ) и 18-β-глицирретин-3-О-β-D-глюкуронид, а при внутривенном введении препарата метаболизм

происходит в меньшей степени [17, 26]. Метаболиты могут обладать отличающимися от самой ГК эффектами: например, ГТ в больших концентрациях может обладать проапоптогенным эффектом в отношении лимфоцитов за счет ингибирования фермента 11- β -гидроксистероиддегидрогеназы и повышения концентрации эндогенного кортикостерона [13].

В условиях стресса при различных токсических воздействиях в селезенке повышается уровень фермента КФ, который локализуется преимущественно в макрофагальных лизосомах [27]. В нашем исследовании ЦФ-индуцированный токсикоз сопровождался повышением уровня КФ по сравнению с таковыми значениями в интактной селезенке (см. табл. 1). Введение ГК экспериментальным животным снижало уровень КФ, что, по-видимому, объясняется снижением количества очагов некроза.

Экспериментальные животные, которым вводили 250 мг/кг ЦФ, характеризовались подавлением иммунитета: уменьшалась выраженность реакции ГЗТ, снижалось количество АОК как в абсолютных числах, так и на 10^6 спленоцитов, падала фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов. ГК корректировала подавление как клеточного, так и гуморального иммунитета. У животных, получавших курс перорального введения ГК после ЦФ, ИР ГЗТ увеличился на 70%, при этом наблюдалась небольшая тенденция к усилению отека лапки экспериментальных мышей, что может быть связано с минералокортикоидной активностью ГТ [9]. Кроме того, ГК способствовала повышению количества АОК на 38% (абсолютные числа) и 58% (число на 10^6 спленоцитов), фагоцитарного индекса – на 62%. В научной литературе описаны некоторые механизмы иммуностимулирующего действия ГК. В частности, ГК влияла на дендритные клетки, способствуя дифференцировке Т-лимфоцитов-хелперов 1-го типа Th1 [22], стимулировала интерферон- γ *in vitro* мононуклеарными клетками периферической крови [24].

При введении ГК интактным животным не наблюдалось значимого изменения показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета, а также функциональной активности макрофагов. ГК проявляет иммуномодулирующее действие только в условиях иммунодефицита и не оказывает существенного влияния на иммунитет интактных животных.

Таким образом, ГК обладает иммуномодулирующими свойствами на фоне различных режимов введения токсических доз ЦФ. Это позволяет рассматривать ГК в качестве перспективного средства для дальнейшего углубленного изучения для использования в качестве сопроводительной терапии в онкологии.

Выводы. 1. ГК не ингибирует пролиферацию митоген активированных лимфоцитов *in vitro*. При введении ГК в течение 7 дней лабораторным мышам в селезенке наблюдается увеличение размеров лимфоидных фолликулов по сравнению с таковыми в интактной группе.

2. Предварительное введение ГК мышам, подвергающимся ЦФ-индуцированному токсикозу, уменьшает количество очагов некроза и КФ в селезенке.

3. Введение ГК лабораторным животным, подвергшимся ЦФ-индуцированной иммуносупрессии, улучшает показатели клеточного, гуморального иммунитета и фагоцитарный ответ.

Литература

1. Муравьев И.А., Пономарев В.Д. Современное состояние исследований глицирризиновой и глицирретовой кислот и их производных // Вопросы изучения и использования солодки в СССР: сб. науч. тр. М.: Наука, 1966. С. 118–122.

2. Павлова С.И., Андреева Н.А., Хобракова В.Б. Цитотоксичность изоликвиригенина по отношению к клеткам опухолевого и неопухолевого происхождения // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2019. № 1(23). С. 53–62.
3. Павлова С.И. Иммуносупрессивные и противоопухолевые фармакодинамические эффекты флавоноидов корней солодки: дис. ... д-ра мед. наук. М., 2012. 236 с.
4. Павлова С.И. Использование экстракта корня солодки для повышения эффективности терапии злокачественных новообразований (экспериментальное исследование): дис. ... канд. мед. наук. Старая Купавна, 2005. 106 с.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
6. Флавоноиды корня солодки подавляют индуцированную *in vitro* и *in vivo* пролиферацию лимфоцитов / Павлова С.И., Гладков И.В., Кягова А.А. и др. // Российский иммунологический журнал. 2007. Т. 1, № 3-4(10). С. 279–282.
7. Шефер Т.В., Ивницкий Ю.Ю., Рейнюк В.Л. Влияние сока подорожника на проявления и исход острой интоксикации циклофосфаном у крыс // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2015. № 3(55). С. 61–63.
8. Ahlmann M., Hempel G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, vol. 78(4), pp. 661–671. DOI: 10.1007/s00280-016-3152-1.
9. Armanini D., Scali M., Zennaro M.C. et al. The pathogenesis of pseudohyperaldosteronism from carbenoxolone. *J. Endocrinol. Invest.*, 1989, vol. 12(5), pp. 337–341. DOI: 10.1007/BF03350002.
10. Burstone M.S. New histochemical techniques for the demonstration of tissue oxidase (cytochrome oxidase). *J Histochem Cytochem*, 1959, vol. 7(2), pp. 112–122. DOI: 10.1177/7.2.112.
11. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibody-forming cells. *Nature*, 1965, vol. 207(5001), pp. 1106–1107. DOI: 10.1038/2071106a0.
12. Emadi A., Jones R.J., Brodsky R.A. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nat Rev Clin Oncol*, 2009, vol. 6(11), pp. 638–647. DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.
13. Horigome H., Homma M., Hirano T. et al. Glycyrrhetic acid induced apoptosis in murine splenocytes. *Biol Pharm Bull*, 2001, vol. 24(1), pp. 54–58. DOI: 10.1248/bpb.24.54.
14. Jian-yuan Li, Hong-yan Cao, Ping Liu et al. Glycyrrhizic acid in the treatment of liver diseases: literature review. *BioMed Research International*, 2014, ID 872139. DOI: 10.1155/2014/872139.
15. Jiawei Z., Tao M., Yuanyuan W. et al. A Review of the Antiviral Activities of Glycyrrhizic Acid, Glycyrrhetic Acid and Glycyrrhetic Acid Monoglucuronide. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, vol. 16(5), 641. DOI: 10.3390/ph16050641.
16. Juin S.K., Ghosh S., Majumdar S. Glycyrrhizic acid facilitates anti-tumor immunity by attenuating Tregs and MDSCs: An immunotherapeutic approach. *Int Immunopharmacol*, 2020, vol. 88, ID 106932. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106932.
17. Kim D.H., Hong S.W., Kim B.T. et al. Biotransformation of glycyrrhizin by human intestinal bacteria and its relation to biological activities. *Arch Pharm Res*, 2000, vol. 23(2), pp. 172–177. DOI: 10.1007/BF02975509.
18. Klein I., Isensee J., Wiesen M.H.J. et al. Glycyrrhizic Acid Prevents Paclitaxel-Induced Neuropathy via Inhibition of OATP-Mediated Neuronal Uptake. *Cells*, 2023, vol. 12(9), 1249. DOI: 10.3390/cells12091249.
19. Lee Jia Ming, Adeline Chia Yoke Yin Therapeutic effects of glycyrrhizic acid. *Nat Prod Commun*, 2013, vol. 8(3), pp. 415–418.
20. Mohammed E.A.H., Peng Y., Wang Z. et al. Synthesis, Antiviral, and Antibacterial Activity of the Glycyrrhizic Acid and Glycyrrhetic Acid Derivatives. *Russ J Bioorg Chem*, 2022, vol. 48(5), pp. 906–918. DOI: 10.1134/S1068162022050132.
21. Morgan A.M., Ibrahim M.A., Hussien A.M. Glycyrrhizic acid modulates the atrazine-induced apoptosis in rabbit spleen. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019, vol. 26(34), pp. 34924–34930. DOI: 10.1007/s11356-019-06604-x.
22. Seidu A.R. Exploring the Pivotal Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Potentials of Glycyrrhizic and Glycyrrhetic Acids. *Mediators of Inflammation*, 2021, ID 6699560. DOI: 10.1155/2021/6699560.
23. Selyutina O.Yu., Polyakov N.E. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier – From physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug. *Int J Pharm*, 2019, vol. 559, pp. 271–279. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.047.
24. Seokwon Shin, Hyeong Won Kim, Mi-Kyeong Ko et al. Inactivated vaccine with glycyrrhizic acid adjuvant elicits potent innate and adaptive immune responses against foot-and-mouth disease. *Front Microbiol*, 2023, vol. 14, ID 1289065. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1289065.

25. Si-Qi He, Meng Gao, Yun-Feng Fu et al. Glycyrrhizic acid inhibits leukemia cell growth and migration via blocking AKT/mTOR/STAT3 signaling. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, vol. 8(5), pp. 5175–5181.

26. Takeda S., Ono H., Wakui Y. et al. Determination of glycyrrhetic acid in human serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Chromatogr*, 1990, vol. 530(2), pp. 447–451. DOI: 10.1016/s0378-4347(00)82348-8.

27. Yang He, Erlong Wang, Kaiyu Wang et al. Morphology of the Spleen in *Oreochromis niloticus*: Splenic Subregions and the Blood-Spleen Barrier. *Animals (Basel)*, 2021, vol. 11(10), 2934. DOI: 10.3390/ani11102934.

28. Zhen-Hua Zhu, Xing Li, Lin-Feng He et al. Glycyrrhizic acid, as an inhibitor of HMGB1, alleviates bleomycin-induced pulmonary toxicity in mice through the MAPK and Smad3 pathways. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2021, vol. 43(4), pp. 461–470. DOI: 10.1080/08923973.2021.1939371.

ДАНИЛОВА ИРИНА МИРОСЛАВОВНА – старший преподаватель кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (medicine345@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7836-8081>).

ПАВЛОВА СВЕТЛАНА ИВАНОВНА – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (flavonoid@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9976-7866>).

ХОБРАКОВА ВАЛЕНТИНА БИМБАЕВНА – доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией экспериментальной фармакологии, Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН, Россия, Улан-Удэ (val0808@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4689-5706>).

Irina M. DANILOVA, Svetlana I. PAVLOVA, Valentina B. KHOBRAKOVA

IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF GLYCYRRHIZINIC ACID IN A MODEL OF CYCLOPHOSPHAMIDE-INDUCED TOXICITY AND IMMUNOSUPPRESSION

Key words: glycyrrhizinic acid, immunosuppression, toxicity, cyclophosphamide, pharmacology, oncology, cytostatics, antitumor drugs.

Triterpenoid glycyrrhizic acid, which is part of licorice root extract, has a wide range of biological effects. It was previously revealed that due to glycyrrhizic acid the extract increases the survival rate of animals against the background of cyclophosphamide-induced toxicosis. Since cytostatics cause a wide range of side effects, including pronounced suppression of the immune system, further investigation of glycyrrhizic acid's effect on immunity is of interest. The purpose of the study was to evaluate the effect of glycyrrhizic acid on the immune response in vitro and in experimental animals against the background of cyclophosphamide administration.

Materials and methods. The study was carried out in vitro on mice splenocyte culture, as well as on models of cyclophosphamide-induced toxicity and immunosuppression using cyclophosphamide at the dose of 450 mg/kg and 250 mg/kg. The survival rate of animals, the morphological presentation of splenocytes, the content of acid phosphatase, the state of cellular and humoral immunity and phagocytic activity were evaluated.

Research results. Glycyrrhizic acid did not inhibit proliferation of mitogen-activated lymphocytes. Administration of glycyrrhizic acid was found to improve the morphological presentation of the spleen by virtue of increasing the size of lymphoid follicles and reducing foci of necrosis against the background of cyclophosphamide-induced toxicosis and to reduce the amount of acid phosphatase. Against the background of cyclophosphamide-induced immunosuppression, administration of glycyrrhizic acid increases the index of delayed hypersensitivity reaction, increases the number of antibody-forming cells compared with the control, improves the phagocytic activity.

Conclusions. Glycyrrhizic acid improves the indices of the immune response both in vitro and in modeling cyclophosphamide-induced immunosuppression in laboratory animals. Glycyrrhizic acid improves the morphological presentation of the spleen, as well as enhances cellular, humoral immunity, the phagocytic response against the background of cyclophosphamide administration.

References

1. Murav'ev I.A., Ponomarev V.D. *Sovremennoe sostoyanie issledovaniy gliksirrinovoi i gliksirretovoi kislot i ikh proizvodnykh* [Current state of researches on glycyrrhizic and glycyrrhetic acids and their derivatives]. In: *Voprosy izucheniya i ispol'zovaniya solodki v SSSR: sbornik nauchnykh trudov* [Issues of studying and using licorice in the USSR: Collected paper]. Moscow, Nauka Publ., 1966, pp. 118–122.
2. Pavlova S.I., Andreeva N.A., Khobrakova V.B. *Tsitotoksichnost' izolikvirritigenina po otnosheniyu k kletkam opukholevogo i neopukholevogo proiskhozhdeniya* [Isoliquiritigenin cytotoxicity against to tumor and non-tumor cells]. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv*, 2019, no. 1(23), pp. 53–62.
3. Pavlova S.I. *Immunosuppressivnye i protivopukholevye farmakodinamicheskie efekty flavonoidov kornei solodki: dis. ... d-ra med. nauk.* [Immunosuppressive and antitumor pharmacodynamic effects of licorice root flavonoids. Doct. Diss.]. Moscow, 2012, 236 p.
4. Pavlova S.I. *Ispol'zovanie ekstrakta kornya solodki dlya povysheniya effektivnosti terapii zlokachestvennykh novoobrazovaniy (eksperimental'noe issledovanie: dis. ... cand. med. nauk.* [Improvement the effectiveness of cancer therapy by use of licorice root extract (experimental study). Cand. Diss.]. Staraya Kupavna, 2005, 106 p.
5. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one]. Moscow, Grif i K Publ., 2012, 944 p.
6. Pavlova S.I., Gladkov I.V., Kyagova A.A. et al. *Flavonoidy kornya solodki podavlyayut indutsirovannuyu in vitro i in vivo proliferatsiyu limfotsitov* [Licorice root flavonoids inhibit in vitro and in vivo induced proliferation of lymphocyte]. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal*, 2007, no. 3-4(10), pp. 279–282.
7. Shefer T.V., Ivnitskii Yu.Yu., Reinyuk V.L. *Vliyaniye soka podorozhnika na proyavleniya i iskhod ostroi intoksikatsii tsiklofosfanom u kryis* [The influence of the plantain juice on the manifestations and outcome of acute cyclophosphamide intoxication in rats]. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie*, 2015, vol. 3(55), pp. 61–63.
8. Ahlmann M., Hempel G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, vol. 78(4), pp. 661–671. DOI: 10.1007/s00280-016-3152-1.
9. Armani D., Scali M., Zennaro M.C. et al. The pathogenesis of pseudohyperaldosteronism from carbenoxolone. *J Endocrinol. Invest.*, 1989, vol. 12(5), pp. 337–341. DOI: 10.1007/BF03350002.
10. Burstone M.S. New histochemical techniques for the demonstration of tissue oxidase (cytochrome oxidase). *J Histochem Cytochem*, 1959, vol. 7(2), pp. 112–122. DOI: 10.1177/7.2.112.
11. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibody-forming cells. *Nature*, 1965, vol. 207(5001), pp. 1106–1107. DOI: 10.1038/2071106a0.
12. Emadi A., Jones R.J., Brodsky R.A. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nat Rev Clin Oncol*, 2009, vol. 6(11), pp. 638–647. DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.
13. Horigome H., Homma M., Hirano T. et al. Glycyrrhetic acid induced apoptosis in murine splenocytes. *Biol Pharm Bull*, 2001, vol. 24(1), pp. 54–58. DOI: 10.1248/bpb.24.54.
14. Jian-yuan Li, Hong-yan Cao, Ping Liu et al. Glycyrrhizic acid in the treatment of liver diseases: literature review. *BioMed Research International*, 2014, ID 872139. DOI: 10.1155/2014/872139.
15. Jiawei Z., Tao M., Yuanyuan W. et al. A Review of the Antiviral Activities of Glycyrrhizic Acid, Glycyrrhetic Acid and Glycyrrhetic Acid Monoglucuronide. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, vol. 16(5), 641. DOI: 10.3390/ph16050641.
16. Juin S.K., Ghosh S., Majumdar S. Glycyrrhizic acid facilitates anti-tumor immunity by attenuating Tregs and MDSCs: An immunotherapeutic approach. *Int Immunopharmacol*, 2020, vol. 88, ID 106932. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106932.
17. Kim D.H., Hong S.W., Kim B.T. et al. Biotransformation of glycyrrhizin by human intestinal bacteria and its relation to biological activities. *Arch Pharm Res*, 2000, vol. 23(2), pp. 172–177. DOI: 10.1007/BF02975509.
18. Klein I., Isensee J., Wiesen M.H.J. et al. Glycyrrhizic Acid Prevents Paclitaxel-Induced Neuropathy via Inhibition of OATP-Mediated Neuronal Uptake. *Cells*, 2023, vol. 12(9), 1249. DOI: 10.3390/cells12091249.
19. Lee Jia Ming, Adeline Chia Yoke Yin. Therapeutic effects of glycyrrhizic acid. *Nat Prod Commun*, 2013, vol. 8(3), pp. 415–418.
20. Mohammed E.A.H., Peng Y., Wang Z. et al. Synthesis, Antiviral, and Antibacterial Activity of the Glycyrrhizic Acid and Glycyrrhetic Acid Derivatives. *Russ J Bioorg Chem*, 2022, vol. 48(5), pp. 906–918. DOI: 10.1134/S1068162022050132.
21. Morgan A.M., Ibrahim M.A., Hussien A.M. Glycyrrhizic acid modulates the atrazine-induced apoptosis in rabbit spleen. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019, vol. 26(34), pp. 34924–34930. DOI: 10.1007/s11356-019-06604-x.
22. Seidu A.R. Exploring the Pivotal Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Potentials of Glycyrrhizic and Glycyrrhetic Acids. *Mediators of Inflammation*, 2021, ID 6699560. DOI: 10.1155/2021/6699560.

23. Selyutina O.Yu., Polyakov N.E. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier – From physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug. *Int J Pharm*, 2019, vol. 559, pp. 271–279. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.047.
24. Seokwon Shin, Hyeong Won Kim, Mi-Kyeong Ko et al. Inactivated vaccine with glycyrrhizic acid adjuvant elicits potent innate and adaptive immune responses against foot-and-mouth disease. *Front Microbiol*, 2023, vol. 14, ID 1289065. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1289065.
25. Si-Qi He, Meng Gao, Yun-Feng Fu et al. Glycyrrhizic acid inhibits leukemia cell growth and migration via blocking AKT/mTOR/STAT3 signaling. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, vol. 8(5), pp. 5175–5181.
26. Takeda S., Ono H., Wakui Y. et al. Determination of glycyrrhetic acid in human serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Chromatogr*, 1990, vol. 530(2), pp. 447–451. DOI: 10.1016/s0378-4347(00)82348-8.
27. Yang He, Erlong Wang, Kaiyu Wang et al. Morphology of the Spleen in *Oreochromis niloticus*: Splenic Subregions and the Blood-Spleen Barrier. *Animals (Basel)*, 2021, vol. 11(10), 2934. DOI: 10.3390/ani11102934.
28. Zhen-Hua Zhu, Xing Li, Lin-Feng He et al. Glycyrrhizic acid, as an inhibitor of HMGB1, alleviates bleomycin-induced pulmonary toxicity in mice through the MAPK and Smad3 pathways. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2021, vol. 43(4), pp. 461-470. DOI: 10.1080/08923973.2021.1939371.

IRINA M. DANILOVA – Senior Lecturer, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (medicine345@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7836-8081>).

SVETLANA I. PAVLOVA – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (flavonoid@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9976-7866>).

VALENTINA B. KHOBRAKOVA – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Ulan-Ude (val0808@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4689-5706>).

Формат цитирования: Данилова И.М., Павлова С.И., Хобракова В.Б. Иммуномодулирующие свойства глицирризиновой кислоты в модели циклофосфамид-индуцированной токсичности и иммуносупрессии [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica*. – 2024. – № 2. – С. 50–63. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2024/2/7>. DOI: 10.47026/2413-4864-2024-2-50-63.