

УДК 612.438.06:612.018.2:577.175.32

ББК Е 60:737

Л.Р. ЯЛАЛЕТДИНОВА, В.С. ГОРДОВА, С.А. ЯСТРЕБОВА, В.Е. СЕРГЕЕВА

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ТИМУСА НЕБЕРЕМЕННЫХ МЫШЕЙ
ПРИ ВВЕДЕНИИ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА****Ключевые слова:** тимус, хорионический гонадотропин, лимфоциты.

Данная работа посвящена морфологической и иммуногистохимической характеристике тимуса мышей ($n = 100$) при введении хорионического гонадотропина в течение 1, 2, 3, 4 недель в дозе 2 МЕ/мышь два раза в неделю. Использовали моноклональные антитела к рецепторам CD4, CD8 и белку Ki-67 для оценки пролиферативного пула лимфоцитов. Поступление гормона приводит к изменению формы и увеличению площади мозгового вещества долек, возрастанию количества в дольках тимуса CD4+ и CD8+ клеток. Наряду с этим происходит снижение количества клеток, экспрессирующих белок пролиферации Ki-67.

**L. YALALETDINOVA, V. GORDOVA, S. YASTREBOVA, V. SERGEEVA
MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NONPREGNANT MICE THYMUS AT CHORIONIC GONADOTROPIN INJECTION****Key words:** thymus, chorionic gonadotropin, lymphocytes.

The given work is dedicated to morphological and immunohistochemical characteristics of the thymus of mice ($n = 100$) at chorionic gonadotropin injection during 1, 2, 3, 4 weeks in the dose of 2 IU/mouse twice a week. Monoclonal antibodies to receptors CD4, CD8, protein Ki-67 to evaluate the proliferative pool of lymphocytes were used. Hormone injection leads to changing the form and to an increase in medulla's area in thymic lobules, to an increase of the amount of CD4+ and CD8+ cells in lobules of thymus. Along with this a reduction in the number of cells expressing the protein of proliferation Ki-67 takes place.

Хорионический гонадотропин (ХГ) – гормон, который выделяется во время беременности ворсинчатым хорионом, в зависимости от стадии развития плода концентрация ХГ в крови увеличивается, и это приводит к смещению физиологического равновесия между клеточным и гуморальным иммунными ответами в сторону гуморального [7, 13].

Вместе с тем хорионический гонадотропин назначают в качестве основного препарата при лечении бесплодия, что подразумевает поступление гормона ХГ в организм женщины в течение нескольких месяцев. В связи с этим вполне закономерен актуальный вопрос – выполняет ли гормон свою иммуномодулирующую функцию при поступлении в организм небеременных лабораторных животных в сопоставимой дозировке препарата и длительности введения.

Имеются многочисленные работы, посвященные изучению влияния ХГ на созревание иммунных клеток, модуляцию иммунного ответа. Так, показано действие гормона на натуральные киллеры, моноциты, дендритные клетки, регуляторные лимфоциты [3, 11], однако все эти исследования проведены *in vitro*, выходят за рамки классической морфологии и поэтому не дают представления о процессах, протекающих непосредственно в тимусе, ответственном за выход в кровь Т-лимфоцитов. Несомненно, заслуживает внимания изучение влияния ХГ на тимоциты в присутствии эпителиальных клеток тимуса [11], однако в данной статье речь идет о культуре клеток, а не о морфологии первичного лимфоидного органа при поступлении ХГ. Следовательно, при достаточно полной феноменологической картине эффектов, которые ХГ оказывает на уровне точек его приложения к отдельным иммунокомпетентным клеткам, роль этого гормона на тканевом уровне остается малоизученной.

Цель исследования – изучение морфологической характеристики тимуса лабораторных мышей при введении хорионического гонадотропина.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служил тимус 100 белых лабораторных нелинейных мышей-самок одного возраста массой 25-30 г, содержащихся в условиях лабораторного вивария на стандартном рационе.

Животные были разделены на три группы: I – интактная группа ($n = 20$); II – контрольная ($n = 40$), которым внутримышечно вводили 0,02 мл физраствора на животное два раза в неделю; III – опытная с внутримышечным введением 2 Международных единиц (МЕ)/животное раствора ХГ, два раза в неделю: III А – введение ХГ в течение одной недели ($n = 10$); III Б – введение ХГ в течение двух недель ($n = 10$); III В – введение ХГ в течение трех недель ($n = 10$); III Г – введение ХГ в течение четырех недель ($n = 10$).

Рассчитывали дозировку ХГ в зависимости от массы мышей так, чтобы она была эквивалентна 500 МЕ – дозировке, применяемой в клинической практике.

Введение препаратов проводилось с соблюдением правил асептики и антисептики. Все процедуры по уходу за мышами осуществляли согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267) и в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях».

Экспериментальный материал забирался в одно и то же время суток с 16 до 18 ч, в феврале–марте. Тимус извлекался непосредственно после выведения из эксперимента (путем декапитации) животных, производилась его фиксация в 10%-ном растворе формалина с последующей заливкой в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм были окрашены гематоксилином и эозином (БиоВитрум (Россия)), а также иммуногистохимическими методами.

1. Окраска гематоксилином и эозином применялась для общей гистологической характеристики структур тимуса.

2. Иммуногистохимический метод непрямого ферментного анализа для выявления клеток, экспрессирующих маркеры CD8, CD4и белок Ki-67 [1].

Иммуногистохимические исследования проводили в соответствии со стандартными протоколами на базе патологоанатомического отделения БУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Министерства здравоохранения и социального развития Чувашской Республики. Срезы тимуса толщиной 3 мкм наносили на предметные стекла, обработанные L-polysine, которые высушивали при комнатной температуре в течение суток. Окрашивание проводили ручным и аппаратным способами с использованием иммуногистохимических автоконтейнеров AUTOSTAINER-360 (THERMO, Великобритания) и Leica BOND-MAX (Германия).

Блокада эндогенной пероксидазы осуществлялась охлажденным 3%-ным раствором H_2O_2 на протяжении 10 мин. С целью восстановления клеточной антигенной структуры после фиксации в формалине и заключения в парафин материала в течение 20 мин гистологические срезы выдерживали на водяной бане в 0,01 М цитратном буферном растворе (рН 6,0) при 95°C. Инкубацию с первичными антителами к CD4, CD8, Ki-67 проводили при комнатной температуре в течение часа. Для визуализации продуктов иммунной реакции использовали стрептавидин-биотиновый пероксидазный метод («Dako», LSAB+Kit,HRP, Дания), в качестве красящего соединения применяли раствор диаминобензидина («Dako», Liquid DAB+, Дания), докраска ядер осуществлялась гематоксилином.

В качестве негативного контроля использовали срезы, на которые наносили вторичные антитела без нанесения первичных антител. Индекс Ki-67 вычисляли как соотношение количества специфически окрашенных ядер к количеству всех ядер в 10 полях зрения и выражали в процентах [5].

В работе применялись моноклональные антитела:

1) моноклональные антитела к маркеру CD4, клон 1F6 (NovoCastra, Великобритания);

2) моноклональные антитела к маркеру CD8, клон 4B11 (NovoCastra, Великобритания);

3) моноклональные антитела к маркеру клеточной пролиферации Ki-67, клон ММ-1 (NovoCastra, Великобритания).

4. Компьютерная морфометрия. Цифровые снимки микропрепаратов получены с применением системы архивирования на базе микроскопа Leica DM4000B с использованием цветной фотокамеры Leica DFC 425 и лицензионной программы Leica Application Suite 3.6.0. Фотографии для проведения программных морфометрических измерений были получены при увеличении микроскопа $\times 100$ и $\times 400$.

Морфометрический анализ заключался в измерении площадей коркового и мозгового веществ долек тимуса (увеличение объектива 10 и окуляра 10) с использованием демо-версии программы «Sigma Scan Pro 5.0». О количественном распределении клеток судили по подсчету их в 10 полях зрения при увеличении объектива 40 и окуляра 10.

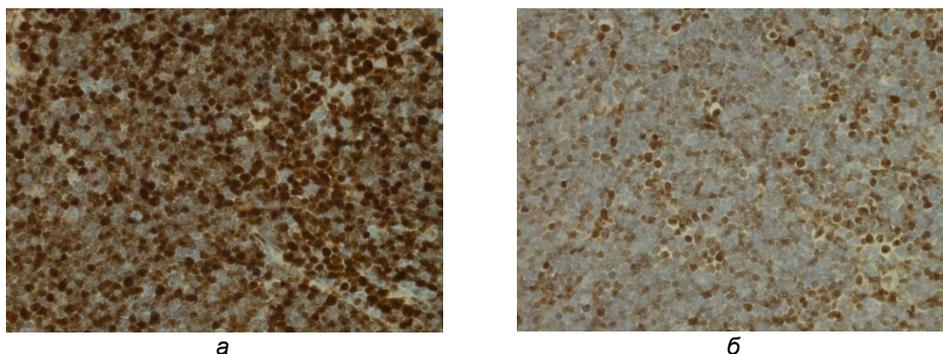
5. Статистическая обработка полученных цифровых данных проводилась с помощью программы Microsoft Office Excel с оценкой статистической значимости различий средних величин с использованием, в зависимости от результатов проверки, вариационных рядов на нормальность распределения, t -критерия Стьюдента или критерия Манна – Уитни. Значимость различий показателей контрольных (введение физраствора) и опытных групп (введение ХГ) между собой и по сравнению с интактной группой: * – различия с контрольной группой статистически значимы, $p < 0,05$; ** – различия с контрольной группой статистически значимы, $p < 0,001$; p_i – различия с интактной группой статистически значимы, $p < 0,05$ и $p < 0,001$. Средние значения (M) приводятся в тексте со стандартной ошибкой среднего значения (m).

Результаты исследования и их обсуждение. Окраска гематоксилин-эозином выявляет дольчатое строение тимуса. Дольки имеют овально-полигональную форму, в них различимы более светлое мозговое вещество, в котором лимфоциты расположены рыхло, и более темное, с плотным расположением лимфоцитов, корковое вещество в сети из эпителиальных клеток (см. рисунок, а). В мозговом веществе некоторых долек обнаруживаются тимусные тельца.

Между дольками тимуса мышей интактной и контрольной (введение физраствора) групп на разных сроках эксперимента визуальных отличий нами не отмечается. Введение мышам физраствора в течение 1, 2, 3, 4 недель не отражается и на морфометрических показателях долек тимуса (см. табл.1).

Морфология тимусной дольки в зависимости от срока введения ХГ претерпевает определенные изменения. Начиная с первой недели наблюдается постепенное изменение формы мозгового вещества долек. После четырех недель введения ХГ мозговое вещество дольки изменяет форму с овально-округлой на неправильную, с пальцевидными выростами. Визуальных отличий по количеству и расположению тимусных телец у мышей, получавших ХГ,

нами не обнаружено. На всех сроках введения ХГ средняя площадь мозгового вещества долек тимуса животных подопытных групп превышает таковую контрольных и интактных мышей (табл. 1).



Тимус мыши. Иммуногистохимическая реакция, выявляющая маркер Ki-67 в корковом веществе долек тимуса. Ув. $\times 400$ Микроскоп Leica DM4000B: а – интактная группа; б – введение ХГ в течение 4 недель

Таблица 1

Морфометрические показатели долек тимуса мышей интактной, контрольных и опытных групп, мкм^2 ($M \pm m$)

Морфо-функциональная зона долек тимуса	Группы экспериментальных мышей								
	интактные	сроки опытов							
		1 неделя		2 недели		3 недели		4 недели	
		ХГ	физ. р-р	ХГ	физ. р-р	ХГ	физ. р-р	ХГ	физ. р-р
Корковое вещество	4099,0 \pm 818,8	4133,0 \pm 318,2	4038,0 \pm 358,1	3827,5 \pm 351,2	4075,6 \pm 508,5	3827,5 \pm 351,2	4075,6 \pm 508,5	3759,0 \pm 516,2	4097,1 \pm 274,1
Мозговое вещество	226,9 \pm 15,0	723,0 \pm 26,6*	222,4 \pm 52,4	866,2 \pm 78,8*	229,4 \pm 48,6	866,2 \pm 78,8*	229,4 \pm 48,6	320,4 \pm 32,9*	220,5 \pm 91,4
Общая площадь дольки	4326,5 \pm 808,6	5917,0 \pm 513,7*	4310,4 \pm 410,5	4693,7 \pm 371,5	4365,0 \pm 557,1	4693,7 \pm 371,5	4365,0 \pm 557,1	4079,4 \pm 505,5*	4327,6 \pm 365,5

Примечание. * – различия с интактной группой статистически значимы, $p < 0,05$.

При этом общая площадь дольки имеет тенденцию к некоторому увеличению, однако различия не являются статистически значимыми.

Таким образом, при введении ХГ наблюдается изменение морфологии долек тимуса за счет абсолютного и относительного увеличения площади в них мозгового вещества.

Иммуногистохимический метод, выявляющий CD4-позитивные клетки, позволяет идентифицировать их в препаратах по неравномерно коричневому окрашиванию цитоплазмы на фоне лимфоцитов долек тимуса, имеющих голубой оттенок. Непрямой иммуногистохимический метод с использованием меченных пероксидазой антител позволяет выявить в клетках тимуса наличие маркера CD8 по окрашиванию цитоплазматической мембраны этих клеток в равномерно коричневый цвет. Лимфоциты, которые не содержат CD8, имеют голубую окраску.

В тимусе интактных мышей CD4⁺ клетки располагаются преимущественно в корковом веществе долек тимуса, а CD8⁺ клетки – и в корковом, и в моз-

говом веществе долек тимуса. На границе коркового и мозгового вещества долек тимуса CD4⁺ клетки единичны. Поступление в организм мышей ХГ приводит к увеличению количества CD4⁺ и CD8⁺ клеток в поле зрения во всех морфо-функциональных зонах тимуса (см. табл. 2).

Таблица 2

Количество CD4⁺ и CD8⁺ клеток (шт.) и экспрессия белка Ki-67 (%) в морфо-функциональных зонах долек тимуса мышей интактных и опытных групп

Морфо-функциональные зоны долек тимуса		Группы животных				
		интактные	сроки введения ХГ			
			1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
Корковое вещество долек	CD4 ⁺	2,2±0,01	5,2±0,03*	5,1±0,05*	5,6±0,5*	5,4±0,3*
	CD8 ⁺	0,6±0,05	2,4±0,4*	3,5±0,5*	5,2±0,6*	8,0±0,4*
	Ki-67	53,0±1,7	70,4±2,5**	40,8±2,0*	33,5±1,8*	27,3±1,9*
Мозговое вещество долек	CD4 ⁺	1,2±0,01	4,6±0,1*	2,8±0,6*	2,8±0,1*	9,6±0,6*
	CD8 ⁺	2,0±0,2	8,8±0,9*	7,9±0,6*	6,0±0,3*	7,6±0,03*
	Ki-67	25,8±0,8	36,2±2,3*	23,4±1,8	19,9±1,3*	16,9±1,9**
Граница между корковым и мозговым веществом долек	CD4 ⁺	0,2±0,01	0,6±0,01	0,7±0,01	1,8±0,01*	3,0±0,2*
	CD8 ⁺	1,4±0,09	0,6±0,05	2,8±0,2	3,6±0,5*	3,4±0,05*

Примечание. * – различия с интактной группой статистически значимы, $p < 0,05$; ** – различия с интактной группой статистически значимы, $p < 0,001$

Анализ таблицы позволяет выявить тенденцию к увеличению количества CD4-позитивных клеток в поле зрения в зависимости от сроков воздействия ХГ. Так, количество CD4-позитивных клеток в корковом веществе долек тимуса опытных мышей в поле зрения возрастает более чем в 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с таковым у интактных животных на первой неделе воздействия и остается неизменным на всем протяжении эксперимента. Примечательно, что в корковом веществе долек тимуса мышей и на границе коркового и мозгового вещества долек количество CD8⁺ клеток в поле зрения увеличивается прямо пропорционально сроку воздействия гормона, а в мозговом веществе количество изучаемых клеток значительно возрастает на сроке 1 неделя, в дальнейшем несколько снижается.

Для оценки клеточной пролиферации нами были использованы антитела к маркеру Ki-67 – ядерному антигену, экспрессируемому в пролиферативной фазе клеточного цикла. Ядра клеток, содержащих Ki-67, окрашиваются в коричневый цвет разной степени интенсивности. В корковом веществе долек тимуса мышей, независимо от экспериментальной группы, содержится большее количество клеток, экспрессирующих белок Ki-67 (см. рис. 1).

Иммуногистохимическая реакция с антителами к маркеру клеточной пролиферации Ki-67 неодинакова для коркового и мозгового вещества долек тимуса интактных и получавших ХГ мышей (см. табл. 2).

Введение ХГ в течение 2, 3, 4 недель приводит к снижению экспрессии белка Ki-67 клетками мозгового и коркового вещества долек тимуса мышей.

При введении ХГ в течение 4 недель нами выявлено изменение формы мозгового вещества долек тимуса, подобную морфологическую картину фиксировали в последней трети беременности крыс [4]. Обнаруженное нами увеличение средней площади мозгового вещества долек тимуса мышей на сроках 1, 2, 3 недели введения ХГ может быть связано с процессом усиления

миграции дифференцированных лимфоцитов из тимуса в кровоток, наблюдаемой при изучении свойств ХГ [9].

Введение ХГ отражается главным образом на количестве CD8⁺ клеток в корковом и мозговом веществе долек тимуса, что свидетельствует о том, что хорионический гонадотропин в вводимых нами дозах способствует увеличению количества зрелых Т-лимфоцитов-киллеров и их предшественников [12]. Нашим исследованием подтверждаются сведения о том, что ХГ является индуктором фенотипического созревания Т-лимфоцитов [3].

Снижение процессов пролиферации лимфоцитов в корковом веществе долек тимуса при введении ХГ через 1, 2, 3, 4 недели, возможно, связано с глюкокортикоидными гормонами или процессами, затрагивающими симпатoadреналовую систему [10].

Известно, что ХГ обладает супрессирующими свойствами в отношении пролиферации лимфоцитов [3], и это согласуется с результатами нашего исследования, в котором снижение числа клеток, экспрессирующих Ki-67 в корковом веществе долек тимуса, пропорционально сроку введения ХГ.

Выводы. Иммуномодулирующее действие ХГ при введении его лабораторным мышам-самкам внутримышечно в дозе 2 МЕ/мышь два раза в неделю в течение 1, 2, 3, 4 недель заключается в изменении морфологии тимуса, увеличении количества в нем CD4⁺ и CD8⁺ клеток в зависимости от сроков внутримышечного введения ХГ. Действие ХГ в течение 1-4 недель на тимус мышей сопровождается уменьшением количества клеток, экспрессирующих маркер пролиферации, и этот эффект более выражен в корковом веществе долек тимуса.

Литература

1. Иммуногистохимические методы: руководство / ed. George L. Kumar, Lars Rudbeck; рус. изд. под ред. Г.А. Франка, П.Г. Малькова; пер. с англ. Н.В. Данилова, Л.В. Москвина, Н.М. Гайфуллин. М.: [Б.и.], 2011. 224 с.
2. Заморина С.А., Горбунова О.Л., Ширшев С.В. Хорионический гонадотропин как регулятор фенотипического созревания интактных и интерлейкин-2-активированных НК- и НКТ-клеток // Вестник Пермского университета. 2010. Вып. 1(1). С. 77–80.
3. Заморина С.А., Ширшев С.В. Хорионический гонадотропин – фактор индукции иммунной толерантности при беременности // Иммунология. 2013. Т. 34, № 2. С. 105–107.
4. Олангин О.И. Гистохимия макрофагов тимуса при усиленном и подавленном иммунном ответе на модели 1, 2 и 3 триместров беременности: автореф. дис ... канд. мед. наук. Чебоксары, 2000. 24 с.
5. Тищенко Д.В., Матвеева О.В., Черненко Ю.В., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б. Клинико-морфологическое исследование хронического дуоденита у детей // Саратовский научно-медицинский журнал. 2012. Т. 8, № 3. С. 799–803.
6. Ширшев С.В., Заморина С.А. Роль хорионического гонадотропина в формировании иммунологической толерантности при беременности // Проблемы эндокринологии. 2011. № 5. С. 52–56.
7. Bansal A.S., Bora S.A., Saso S., Smith J.R. et al. Mechanism of Human Chorionic Gonadotrophin-mediated Immunomodulation in Pregnancy. *Expert Rev Clin Immunol.*, 2012, vol. 8, no. 8, pp. 747–753.
8. Kosar O., Ozaksit G., Taskin M.I. Luteal phase clomiphene citrate for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet.*, 2014, vol. 290, no. 4, pp. 771–775.
9. Fukayama M., Hayash Y., Shiozawa Y., Maeda Y., Koike M. Human chorionic gonadotropin in the thymus. An immunocytochemical study on discordant expression of subunits. *Am. J. Pathol.*, 1990, vol. 136(1), Jan, pp. 123–129.
10. Hirokawa K., Utsuyama M., Kobayashi S. Hypothalamic control of thymic function. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*, 2001, vol. 47, pp. 97–102.
11. Kuklina E.M., Shirshov S.V., Sharova N.I., Iarilin A.A. Effect of chorionic gonadotropin on thymocyte differentiation in the presence of thymus epithelial cells. *Ontogenez*, 2003, vol. 34, no. 1, pp. 36–42.
12. Rehg J.E., Bush D., Ward J.M. The utility of immunohistochemistry for the identification of hematopoietic and lymphoid cells in normal tissues and interpretation of proliferative and inflammatory lesions of mice and rats. *Toxicol Pathol.*, 2012, vol. 40, pp. 345–374. doi: 10.1177/0192623311430695.

13. Schumacher A. Costa S.-D., Zenclussen A.C. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy. *Front. Immunol.*, 2014, no. 5.

References

1. Kumar G.L., Rudbeck L., ed. Immunohistochemical Staining Methods: Education Guide. 5th ed. Carpinteria, 2009, 172 p.
2. Zamorina S.A., Gorbunova O.L., Shirshov S.V. *Khorionicheskii gonadotropin kak regulyator fenotipicheskogo sozrevaniya intaktnykh i interleikin-2-aktivirovannykh NK- i NKT-kletok* [Human chorionic gonadotropin as a regulator of phenotypic maturation of intact and interleukin-2-activated NK-, and NKT-cells]. *Vestnik Permskogo universiteta*, 2010, iss. 1(1), pp. 77–80.
3. Zamorina S.A., Shirshov S.V. *Khorionicheskii gonadotropin – faktor induktsii immunoi tolerantnosti pri beremennosti* [Human chorionic gonadotropin is a factor in the induction of immune tolerance in pregnancy]. *Immunologiya*, 2013, vol. 34, no 2, pp. 105–107.
4. Olangin O.I. *Gistokhimiya makrofagov timusa pri usilenom i podavlenom immunom otvete na modeli 1, 2 i 3 trimestrov beremennosti: avtoref. dis ... kand. med. nauk* [Histochemical features of thymic macrophages during modulation of immune response on the pregnant model. Diss. Abstract]. Cheboksary, 2000, 24 p.
5. Tishchenko D.V., Matveeva O.V., Chernenkov Yu.V., Maslyakova G.N., Bucharskaya A.B. *Kliniko-morfologicheskoe issledovanie khronicheskogo duodenita u detei* [Clinical and morphological characteristics of chronic duodenitis in children]. *Saratovskii nauchno-meditsinskii zhurnal*, 2012, vol. 8, no. 3, pp. 799–803.
6. Shirshov S.V., Zamorina S.A. *Rol' khorionicheskogo gonadotropina v formirovanii immunologicheskoi tolerantnosti pri beremennosti* [The role of chorionic gonadotropin in the formation of immunological tolerance during pregnancy]. *Problemy endokrinologii*. 2011, no. 5, pp. 52–56.
7. Bansal A.S., Bora S.A., Saso S., Smith J.R. at al. Mechanism of Human Chorionic Gonadotrophin-mediated Immunomodulation in Pregnancy. *Expert Rev Clin Immunol.*, 2012, vol. 8, no. 8, pp. 747–753.
8. Kosar O., Ozaksit G., Taskin M.I. Luteal phase clomiphene citrate for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet.*, 2014, vol. 290, no. 4, pp. 771–775.
9. Fukayama M., Hayash Y., Shiozawa Y., Maeda Y., Koike M. Human chorionic gonadotropin in the thymus. An immunocytochemical study on discordant expression of subunits. *Am. J. Pathol.*, 1990, vol. 136(1), Jan, pp. 123–129.
10. Hirokawa K., Utsuyama M., Kobayashi S. Hypothalamic control of thymic function. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*, 2001, vol. 47, pp. 97–102.
11. Kuklina E.M., Shirshov S.V., Sharova N.I., Iarilin A.A. Effect of chorionic gonadotropin on thymocyte differentiation in the presence of thymus epithelial cells. *Ontogenez*, 2003, vol. 34, no. 1, pp. 36–42.
12. Rehg J.E., Bush D., Ward J.M. The utility of immunohistochemistry for the identification of hematopoietic and lymphoid cells in normal tissues and interpretation of proliferative and inflammatory lesions of mice and rats. *Toxicol Pathol.*, 2012, vol. 40, pp. 345–374. doi: 10.1177/0192623311430695.
13. Schumacher A. Costa S.-D., Zenclussen A.C. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy. *Front. Immunol.*, 2014, no. 5.

ЯЛАПЕДИНОВА ЛЕЙСАН РАМИЛОВНА – кандидат медицинских наук, врач акушер-гинеколог, СКК «Солнечный берег», Россия, Чебоксары (barbaris09@bk.ru).

YALALETDINOVA LEJSAN – Candidate of Medical Sciences, Obstetrician-Gynecologist, SCC «SOLNECHNYJ BEREG», Russia Cheboksary.

ГОРДОВА ВАЛЕНТИНА СЕРГЕЕВНА – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (crataegi@rambler.ru).

GORDOVA VALENTINA – Candidate of Medical Sciences, Medical Biology Department with the Microbiology and Virology course, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

ЯСТРЕБОВА СВЕТЛАНА АЛЕКСАНДРОВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (kaf-biology@yandex.ru).

YASTREBOVA SVETLANA – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Medical Biology Department with the Microbiology and Virology course, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

СЕРГЕЕВА ВАЛЕНТИНА ЕФРЕМОВНА – доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (kaf-biology@yandex.ru).

SERGEEVA VALENTINA – Doctor of Biological Science, Professor, Medical Biology Department with the Microbiology and Virology course, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.
