

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.130.54>

ДИНАМИКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ В УСЛОВИЯХ СТИМУЛЯЦИИ НАСТОЙКОЙ ЭХИНАЦЕИ

Научная статья

Матвеева Е.В.^{1,*}, Саранчина Ю.В.²

¹ORCID : 0000-0003-0767-0501;

²ORCID : 0000-0002-2697-7317;

^{1,2} Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, Абакан, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (calista00[at]mail.ru)

Аннотация

Изучение особенностей функционирования нейтрофилов в период подъема вирусных инфекций имеет важное значение в понимании механизмов защиты всей иммунной системы. В ходе исследования была произведена оценка фагоцитарной активности нейтрофилов у 10 студентов 1 курса специальности Лечебное дело. Было выявлено, что спонтанная фагоцитарная активность нейтрофилов у большинства обследуемых была снижена. Вероятно, это обусловлено напряжением адаптационных механизмов, за счет изменений условий среды и повышения умственной нагрузки. Однако стимуляция активности нейтрофилов раствором настойки эхинацеи в условиях *in vitro* вызывала повышение показателей фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса. Тем самым в нашем исследовании удалось подтвердить иммуностимулирующее действие эхинацеи на систему нейтрофилов *in vitro*.

Ключевые слова: нейтрофилы, фагоцитарная активность, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, студенты.

THE DYNAMICS OF PHAGOCYTOTIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN STIMULATION WITH ECHINACEA TINCTURE

Research article

Matveeva E.V.^{1,*}, Saranchina Y.²

¹ORCID : 0000-0003-0767-0501;

²ORCID : 0000-0002-2697-7317;

^{1,2} N.F. Katanov Khakass State University, Abakan, Russian Federation

* Corresponding author (calista00[at]mail.ru)

Abstract

The study of neutrophil function during the rise of viral infections is important in understanding the defence mechanisms of the entire immune system. The research evaluated the phagocytic activity of neutrophils in 10 students of the first year of medical speciality. It was found that spontaneous phagocytic activity of neutrophils was reduced in the majority of subjects. This is probably due to the tension of adaptive mechanisms, due to changes in environmental conditions and increased mental load. However, stimulation of neutrophil activity by Echinacea tincture solution under *in vitro* conditions caused an increase in phagocytic number and phagocytic index. The immunostimulatory effect of Echinacea on the neutrophil system *in vitro* was thus confirmed in our study.

Keywords: neutrophils, phagocytic activity, phagocytic number, phagocytic index, students.

Введение

Одной из важных систем человеческого организма является иммунная система, представленная в двух подсистемах: врожденного и приобретенного иммунитета [1, С. 34]. Главным свойством врожденной системы иммунитета являются быстрое обнаружение и устранение патогенов, а ключевыми клетками для этого являются нейтрофилы. Нейтрофилы – это не только преобладающее звено белых клеток крови, но и важное звено врожденного иммунитета. Они играют важную роль в реализации защиты организма от вторжения бактериальных, грибковых и вирусных патогенов [3, С. 378]. Противостояние патогенному влиянию последних особенно важно в периоды сезонного роста заболеваемости ОРВИ и гриппа [2].

Методы и принципы исследования

Цель исследования. Оценка динамики фагоцитарной активности нейтрофилов при действии настойки эхинацеи на примере юношеского возраста.

Материалы и методы: В исследовании приняли участие 10 условно здоровых студентов 1 курса специальности Лечебное дело (5 девушек, 5 юношей), возраст участников от 18 до 20 лет (медиана возраста составила 19 лет). Критерии отбора в группы исследования: согласие на участие, отсутствие на момент исследования острых воспалительных заболеваний, аллергических заболеваний, обострения хронических заболеваний, прием противовоспалительных и противоаллергических препаратов, отсутствие заболеваний крови (анемии, системы гемостаза). При наличии хотя бы одного заболевания испытуемые исключались из исследования. Исследование проводилось в конце 2 семестра обучения.

Материалом для исследования выступали образцы венозной крови в объеме 3 мл. Отбор крови в пробирки с ЭДТА осуществлялся медицинским персоналом по общепринятой методике. «ГОСТ Р 59778-2021. Национальный стандарт

Российской Федерации. Процедуры взятия проб венозной и капиллярной крови для лабораторных исследований» (утв. и введен в действие Приказом Росстандарта от 21.10.2021 N 1212-ст). Все испытуемые подписали информированное согласие на проведение исследования.

Полученные образцы в объеме 90 мкл помещали в микропробирки с разделением на две группы: в первую производили добавление суспензии латекса (спонтанный фагоцитоз), во вторую (стимулированный фагоцитоз) – помимо суспензии латекса добавляли 3,6 мкл раствора настойки эхинацеи (3 капли в 100 мл физиологического раствора в соответствии с суточной дозой). Все образцы инкубировали при температуре 37°C в течение 30 минут, затем центрифугировали, ресуспендировали и из осадка готовили по 2 мазка. Мазки фиксировали и окрашивали по методу Романовского-Гимзе. Далее путем световой микроскопии при использовании иммерсионного масла подсчитывали по 100 нейтрофилов в каждом мазке, с учетом количества фагоцитировавших клеток и количества поглощенных ими частиц [16, С. 7-9], [17, С. 4-5].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Office Excel и Statistica 8.0. Результаты представлены в виде медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Для сравнения независимых групп использовали критерии Манна-Уитни, зависимых – Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Основные результаты

При сравнении значений спонтанной фагоцитарной активности нейтрофилов в виде показателей фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса с референсными значениями, было выявлено, что, несмотря на отсутствие клинических проявлений, у всех студентов независимо от половой принадлежности был выявлен функциональный иммунодефицит (рисунок 1 и рисунок 2).

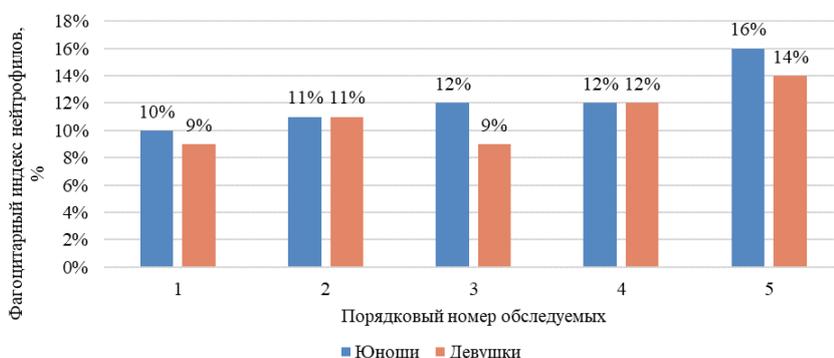


Рисунок 1 - Распределение обследуемых студентов в зависимости от показателей фагоцитарного индекса нейтрофилов
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.130.54.1>

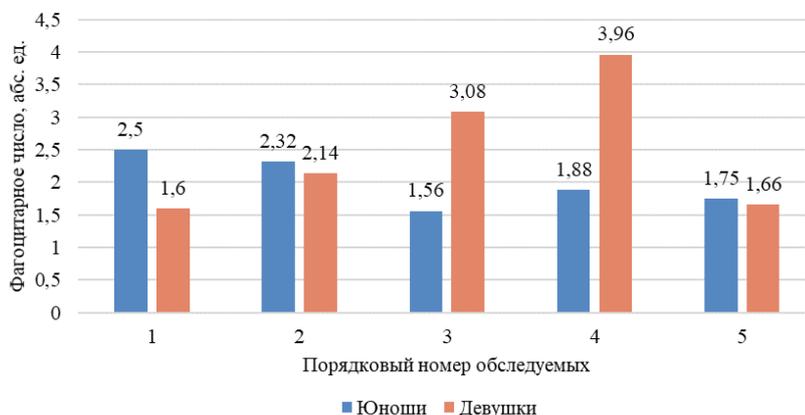


Рисунок 2 - Распределение обследуемых студентов в зависимости от показателей фагоцитарного числа
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.130.54.2>

Данное заключение было сформировано на основе снижения показателей как фагоцитарного индекса [11,50 (10,00; 12,00) % при норме 62,00 – 68,00 %], так и фагоцитарного числа [2,01 (1,66; 2,50) абс. ед. при норме 3,00-5,00 абс. ед.] нейтрофилов у группы обследуемых студентов (таблица 1).

Таблица 1 - Среднегрупповые показатели фагоцитарной активности нейтрофилов у студентов

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.130.54.3>

| Показатели | Значения показателей | Уровень статистической значимости, р |
|--|-------------------------|--------------------------------------|
| Фагоцитарный индекс спонтанный, % | 11,50 (10,00; 12,00) | 0,0051 |
| Фагоцитарный индекс стимулированный эхинацеей, % | 18,00 (17,00; 19,00) | |
| Фагоцитарное число спонтанное, абс. ед. | 2,01 (1,66; 2,50) | 0,1394 |
| Фагоцитарное число стимулированное эхинацеей, абс.ед | 2,83 (2,47; 3,18) | |

Улучшение фагоцитарной активности среди обследуемых наблюдалось после стимуляции нейтрофилов *in vitro* настоек эхинацеи. В этом случае наблюдалось статистически значимое увеличение фагоцитарного индекса в 1,6 раза и составило [18,00 (17,00; 19,00)% (p=0,0051)] (таблица 1). Также наблюдался рост показателей фагоцитарного числа [2,83 (2,47; 3,18) абс. ед.] (таблица 1), однако такое увеличение не являлось статистически значимым (p≥0,05).

Показатели фагоцитарного индекса в группе юношей не имели статистически значимых различий по сравнению с группой девушек (таблица 2).

Таблица 2 - Среднегрупповые показатели фагоцитарного индекса нейтрофилов по полу

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.130.54.4>

| Показатели | пол | | Уровень статистической значимости, р |
|--|-------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| | м | ж | |
| Фагоцитарный индекс спонтанный, % | 12,00 (11,00; 12,00) | 11,00 (9,00; 12,00) | 0,4206 |
| Фагоцитарный индекс стимулированный эхинацеей, % | 18,00 (18,00; 18,00) | 19,00 (17,00; 20,00) | 0,547 |
| Уровень статистической значимости, р | 0,6203 | 0,1360 | - |

После стимуляции нейтрофилов в условиях *in vitro* с помощью настойки эхинацеи значение фагоцитарного индекса среди образцов крови юношей выросли до 18,00 (18,00; 18,00)% и 19,00 (17,00; 20,00) % в образцах крови девушек (таблица 2). Значения спонтанного фагоцитарного числа нейтрофилов также не имело статистически значимых различий по полу (таблица 3).

Таблица 3 - Среднегрупповые показатели фагоцитарного числа нейтрофилов по полу

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.130.54.5>

| Показатели | пол | | Уровень статистической значимости, р |
|--|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | м | ж | |
| Фагоцитарное число спонтанное, абс. ед. | 2,14 (1,66; 3,08) | 1,88 (1,75; 2,32) | 0,6905 |
| Фагоцитарное число стимулированное эхинацеей, абс.ед | 2,86 (2,69; 2,89) | 2,79 (2,47; 3,18) | 0,8413 |
| Уровень статистической значимости, р | 0,4629 | 0,2006 | - |

В условиях стимуляции нейтрофилов настойкой эхинацеи также наблюдалось повышение в обеих группах значения фагоцитарного числа, однако эти изменения не имели статической значимости.

При сравнении спонтанной и индуцированной эхинацеей фагоцитарной активности нейтрофилов по половому признаку статистически значимых различий в показателях не было выявлено ($p \geq 0,05$).

Обсуждение

Переход обучающихся в высшие учебные заведения сопряжен с напряжением адаптационных механизмов, связанных со значительными изменениями среды вокруг, а также повышением умственной нагрузки и возможной нехваткой сна [4, С. 14]. На первом курсе обучающиеся испытывают значительный стресс. Возможно, его длительное поддержание на фоне формирующейся тревожности [5, С. 1035], [6, С. 11]. В исследовании Ines Heinen и соавторов, проведенном путем анкетирования, также подтверждается, что уровень воспринимаемого стресса у студентов-медиков держится на высоком уровне, при этом буферным действием обладают личные и физиологические ресурсы организма [7, С. 104].

При длительно действующем стрессе происходит истощение организма. Частая и длительная активация надпочечников приводит к значительной кумуляции эффекта действия адреналина, кортизола и глюкокортикоидов (ГК) на организм, в том числе и на систему крови. Глюкокортикоиды представляют собой стероидные гормоны, регулирующие обратную связь в иммунном ответе, основной их эффект – иммуносупрессия за счет снижения активации и дифференцировка лейкоцитов через собственные рецепторы и сигнальные пути транскрипционного ядерного фактора. Также после непосредственного влияния ГК на нейтрофилы происходит снижение синтеза супероксида, молекул адгезии, конечным результатом является косвенное снижение фагоцитоза в организме [9, С. 56]. Таким образом, это подтверждает, что снижение полученных в ходе нашего исследования результатов может быть вызвано продолжительным действием стрессовых факторов на организм испытуемых.

В исследовании Joksic G. и соавторов после двухнедельного приема таблеток эхинацеи анализы показали, что частота хромосомных aberrации и микроядер была значительно снижена у девяти из 10 участников. Такие результаты могут быть обусловлены стимуляцией апоптоза облученных клеток и усилением моноцитарно-макрофагальной системы, что является эффектом радиоактивного восстановления [8, С. 170]. В исследовании Abdelazeem Ali Khalaf и соавторов применение экстракта эхинацеи также повлияло на иммунологические показатели. В группе, получавшей экстракт эхинацеи, наблюдалось увеличение титра антител и фагоцитарного индекса [10, С. 239]. Наше исследование также подтверждает иммуностимулирующее действие эхинацеи на систему нейтрофилов, наблюдалось увеличение ФИ до 18,8% по сравнению с контрольной группой (11,6%), а также наблюдался рост фагоцитарного числа выросшее до 2,94 абс.ед с изначально полученного 2,24 абс.ед. Данные показатели также свидетельствуют о повышении активации нейтрофилов после приема препаратов эхинацеи. Препараты эхинацеи нашли широкое применение на рынке биологически активных добавок. Но стоит отметить, что препараты эхинацеи имеют чрезмерную химическую изменчивость [10, С. 234], [11, С. 248].

При сравнении ФИ и ФЧ по половому признаку более высокие значения наблюдались в группе юношей, такие отличия не являются статистически значимыми, однако роль в различии значений показателей активности нейтрофилов может быть обусловлена половыми различиями, а именно гормональным фоном обследуемых. Так, в исследовании Janet Markman и ее коллег было подтверждено влияние тестостерона на активность иммунных клеток, в том числе нейтрофилов, а именно на их созревание и функциональные особенности [12, С. 13]. Относительно эстрадиола и прогестерона можно отметить следующее: в дозах, характерных для беременных, данные гормоны способны стимулировать спонтанную активность эластазы нейтрофилов, а также усиливать их ферментативную активность пероксидаз, однако стероиды параллельно снижают фагоцитарную активность, что также подтверждает наши результаты [13, С. 43].

Таким образом, на основе полученных результатов мы разработали следующие рекомендации (рисунок 3).



Рисунок 3 - Распределение студентов с учетом фагоцитарной активности нейтрофилов
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.130.54.6>

В условиях приобретенного иммунодефицитного состояния (на примере стресса) ответ иммунной системы на патогенные микроорганизмы может быть не всегда эффективным, поэтому можно порекомендовать следующие методы профилактики: стимуляция иммунных сил организма лекарственными препаратами, в том числе содержащими эхинацею, в период подъема заболеваемости ОРВИ; и принятие мер по естественному восстановлению организма. В последнюю группу входит нормализация режима питания с учетом качества пищи, правильное планирование режима работы (учебы) и отдыха, наличие достаточной физической активности в течение дня, а также занятие хобби для снижения уровня стресса. Дополнительно для стимуляции иммунного ответа можно также использовать препараты витамина С, который используется в защите нейтрофилов от действия окислительного поражения, увеличивая срок их службы, и как донор электронов для работы металлсодержащих ферментов клеток [14, С. 2-3], [15, С. 25].

Заключение

Результаты исследования показали, что спонтанная фагоцитарная активность нейтрофилов у большинства обследуемых была снижена. Вероятно, это обусловлено напряжением адаптационных механизмов, за счет изменений условий среды и повышения умственной нагрузки. При стимуляции активности нейтрофилов настойкой эхинацеи в условиях *in vitro* было выявлено повышение показателей фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса. Однако половых различий в фагоцитарной активности нейтрофилов в условиях стимуляции эхинацеей *in vitro* и без нее не установлено.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Bonilla F.A. Adaptive immunity. / F.A. Bonilla, H.C. Oettgen // The Journal of Allergy and Clinical Immunology. — 2010. — 125. — p. 33-40. — DOI: 10.1016/j.jaci.2009.09.017
2. Еженедельный национальный бюллетень по гриппу и ОРВИ за 38 неделю 2021 года. (20.09.21 - 26.09.21) // НИИ гриппа имени А. А. Смородинцева. — 2021. — URL: https://www.influenza.spb.ru/system/epidemic_situation/laboratory_diagnostics/ (дата обращения: 20.09.2021).
3. Rosales C. Neutrophils at the Crossroads of Innate and Adaptive Immunity. / C. Rosales // Journal of Leukocyte Biology. — 2020. — 108. — p. 377-369. — DOI: 10.1002/JLB.4MIR0220-574RR
4. Milojevich H.M. Sleep and Mental Health in Undergraduate Students with Generally Healthy Sleep Habits. / H.M. Milojevich, A.F. Lukowski // PLoS One. — 2016. — 11. — p. 14. — DOI: 10.1371/journal.pone.0156372

5. Zakeri M. General Anxiety, Academic Distress, and Family Distress Among Doctor of Pharmacy Students. / M. Zakeri, A. De La Cruz, D. Wallace et al. // American journal of pharmaceutical education. — 2021. — 85. — p. 1031-1036. — DOI: 10.5688/ajpe8522
6. Arias-de la Torre J. Psychological Distress, Family Support and Employment Status in First-Year University Students in Spain. / J. Arias-de la Torre, T. Fernández-Villa, A.J. Molina et al. // International journal of environmental research and public health. — 2019. — 16. — p. 11. — DOI: 10.3390/ijerph16071209
7. Heinen I. Perceived Stress in First Year Medical Students – Associations with Personal Resources and Emotional Distress. / I. Heinen, M. Bullinger, R.D. Kocalevent // BMC Medical Education. — 2017. — 17. — p. 94-108. — DOI: 10.1186/s12909-016-0841-8
8. Joksic G. Biological Effects of Echinacea Purpurea on Human Blood Cells. / G. Joksic, S. Petrovic, I. Joksic et al. // Archives of Industrial Hygiene and Toxicology. — 2009. — 60. — p. 165-172. — DOI: 10.1080/13880209.2016.1265989.
9. Сучков А.В. Влияние глюкокортикоидов на состав периферической крови крыс линии Wistar. / А.В. Сучков, Ю.А. Бредихина, В.Е. Дуброва // Амурский медицинский журнал. — 2019. — 28. — с. 53-58.
10. Khalaf A. Protective Effect of Echinacea purpurea (Immulant) against Cisplatin-induced Immunotoxicity in Rats. / A. Khalaf, S. Hussein, A. Tohamy et al. // DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2019. — 27. — p. 233-241. — DOI: 10.1007/s40199-019-00265-4
11. Block K.I. Immune System Effects of Echinacea, Ginseng, and Astragalus: A Review. / K.I. Block, M.N. Mead // Integrative Cancer Therapies. — 2003. — 2. — p. 247-267. — DOI: 10.1177/1534735403256419
12. Markman J.L. Loss of Testosterone Impairs Anti-tumor Neutrophil Function. / J.L. Markman, R.A. Porritt, D. Wakita et al. // Nat Commun. — 2020. — 11. — DOI: 10.1038/s41467-020-15397-4
13. Кузник Б.И. Взаимосвязи между форменными элементами крови, половыми гормонами и системой ПОЛ у женщин с эссенциальной гипертонией. / Б.И. Кузник, Ю.Н. Смоляков, С.О. Давыдов и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2019. — 63. — с. 39-47.
14. De la Fuente M. Vitamin C and Vitamin C Plus E Improve the Immune Function in the Elderly. / M. De la Fuente, C. Sanchez, C. Vallejo et al. // Experimental Gerontology. — 2020. — 142. — p. 1-10. — DOI: 10.1016/j.exger.2020.111118
15. Carr A.C. Vitamin C and Immune Function. / A.C. Carr, S. Maggini // Nutrients. — 2017. — 9. — p. 25. — DOI: 10.3390/nu9111211
16. Нестерова И. В. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии. Методические рекомендации для иммунологов-аллергологов, врачей и биологов клинической лабораторной диагностики / И. В. Нестерова, Г. А. Чудилова, С. В. Ковалёва и др. — Краснодар, 2017. — 51 с.
17. Романовская Т.Р. Лабораторный практикум по иммунологии для студентов 3-го курса факультета экологической медицины МГЭУ им. А. Д. Сахарова / Т.Р. Романовская, Н.В. Пивень, Я.И. Мельникова и др. — Минск: МГЭУ им. А. Д. Сахарова, 2006. — 58 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Bonilla F.A. Adaptive immunity. / F.A. Bonilla, H.C. Oettgen // The Journal of Allergy and Clinical Immunology. — 2010. — 125. — p. 33-40. — DOI: 10.1016/j.jaci.2009.09.017
2. Ezhenedel'nyj nacional'nyj byulleten' po grippu i ORVI za 38 nedelyu 2021 goda [Weekly National Flu and SARS Bulletin for 38 weeks 2021]. (09/20/21 - 09/26/21) // NII grippa imeni A. A. Smorodinceva [A.A. Smorodintsev Research Institute of Comfort]. — 2021. — URL: https://www.influenza.spb.ru/system/epidemic_situation/laboratory_diagnostics/ (accessed: 20.09.2021). [in Russian]
3. Rosales C. Neutrophils at the Crossroads of Innate and Adaptive Immunity. / C. Rosales // Journal of Leukocyte Biology. — 2020. — 108. — p. 377-369. — DOI: 10.1002/JLB.4MIR0220-574RR
4. Milojevich H.M. Sleep and Mental Health in Undergraduate Students with Generally Healthy Sleep Habits. / H.M. Milojevich, A.F. Lukowski // PLoS One. — 2016. — 11. — p. 14. — DOI: 10.1371/journal.pone.0156372
5. Zakeri M. General Anxiety, Academic Distress, and Family Distress Among Doctor of Pharmacy Students. / M. Zakeri, A. De La Cruz, D. Wallace et al. // American journal of pharmaceutical education. — 2021. — 85. — p. 1031-1036. — DOI: 10.5688/ajpe8522
6. Arias-de la Torre J. Psychological Distress, Family Support and Employment Status in First-Year University Students in Spain. / J. Arias-de la Torre, T. Fernández-Villa, A.J. Molina et al. // International journal of environmental research and public health. — 2019. — 16. — p. 11. — DOI: 10.3390/ijerph16071209
7. Heinen I. Perceived Stress in First Year Medical Students – Associations with Personal Resources and Emotional Distress. / I. Heinen, M. Bullinger, R.D. Kocalevent // BMC Medical Education. — 2017. — 17. — p. 94-108. — DOI: 10.1186/s12909-016-0841-8
8. Joksic G. Biological Effects of Echinacea Purpurea on Human Blood Cells. / G. Joksic, S. Petrovic, I. Joksic et al. // Archives of Industrial Hygiene and Toxicology. — 2009. — 60. — p. 165-172. — DOI: 10.1080/13880209.2016.1265989.
9. Suchkov A.V. Vliyanie glyukokortikoidov na sostav perifericheskoy krovi kry's linii Wistar [Influence of Glucocorticoids on the Composition of Peripheral Blood of Wistar Rats]. / A.V. Suchkov, Yu.A. Bredixina, V.E. Dubrova // Amurskij medicinskij zhurnal [Amur Medical Journal]. — 2019. — 28. — p. 53-58. [in Russian]
10. Khalaf A. Protective Effect of Echinacea purpurea (Immulant) against Cisplatin-induced Immunotoxicity in Rats. / A. Khalaf, S. Hussein, A. Tohamy et al. // DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2019. — 27. — p. 233-241. — DOI: 10.1007/s40199-019-00265-4
11. Block K.I. Immune System Effects of Echinacea, Ginseng, and Astragalus: A Review. / K.I. Block, M.N. Mead // Integrative Cancer Therapies. — 2003. — 2. — p. 247-267. — DOI: 10.1177/1534735403256419

12. Markman J.L. Loss of Testosterone Impairs Anti-tumor Neutrophil Function. / J.L. Markman, R.A. Porritt, D. Wakita et al. // *Nat Commun.* — 2020. — 11. — DOI: 10.1038/s41467-020-15397-4
13. Kuznik B.I. Vzaimosvyazi mezhdru formenny'mi e'lementami krovi, polovy'mi gormonami i sistemoj POL u zhenshhin s e'ssencial'noj gipertoniej [Relationships between Blood Cells, Sex Hormones and LPO System in Women with Essential Hypertension]. / B.I. Kuznik, Yu.N. Smolyakov, S.O. Davy'dov et al. // *Patologicheskaya fiziologiya i e'ksperimental'naya terapiya* [Pathological Physiology and Experimental Therapy]. — 2019. — 63. — p. 39-47. [in Russian]
14. De la Fuente M. Vitamin C and Vitamin C Plus E Improve the Immune Function in the Elderly. / M. De la Fuente, C. Sanchez, C. Vallejo et al. // *Experimental Gerontology.* — 2020. — 142. — p. 1-10. — DOI: 10.1016/j.exger.2020.111118
15. Carr A.C. Vitamin C and Immune Function. / A.C. Carr, S. Maggini // *Nutrients.* — 2017. — 9. — p. 25. — DOI: 10.3390/nu9111211
16. Nesterova I. V. Metody kompleksnoj ocenki funkcional'noj aktivnosti nejtrofil'nyh granulocitov v norme i patologii. Metodicheskie rekomendacii dlya immunologov-allergologov, vrachej i biologov klinicheskoy laboratornoj diagnostiki [Methods for a Comprehensive Assessment of the Functional Activity of Neutrophilic Granulocytes in Normal and Pathological Conditions. Guidelines for immunologists-allergists, doctors and biologists of clinical laboratory diagnostics] / I. V. Nesterova, G. A. Chudilova, S. V. Kovaleva et al. — Krasnodar, 2017. — 51 p. [in Russian]
17. Romanovskaya T.R. Laboratornyj praktikum po immunologii dlya studentov 3-go kursa fakul'teta ekologicheskoy mediciny MGEU im. A. D. Saharova [Laboratory Workshop on Immunology for 3rd Year Students of the Faculty of Ecological Medicine, Moscow State Economic University named after. A. D. Sakharov] / T.R. Romanovskaya, N.V. Piven, Ya.I. Melnikova et al. — Minsk: A.D. Sakharov MGEU, 2006. — 58 p. [in Russian]