

Е.Э. Кремер, Л.М. Огородова, Н.А. Кириллова, К.В. Хворилова, Т.В. Перевозчикова, Е.А. Файт

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

## Имунофенотипическая характеристика дендритных клеток при бронхиальной астме в условиях воздействия экстрактом *Opisthorchis felineus in vitro*

Дана сравнительная характеристика иммуногенных свойств экстракта *Opisthorchis felineus* при бронхиальной астме различной степени тяжести с использованием антигенпрезентирующих дендритных клеток *in vitro*. Получены новые данные о влиянии *Opisthorchis felineus* на экспрессию поверхностных маркеров дендритных клеток (CD209, HLA-DR, CD83, CD86). Выявлена более выраженная экспрессия молекул CD209, CD86 и HLA-DR на поверхности дендритных клеток при легкой и тяжелой астме по сравнению с показателями здоровых лиц. В условиях стимуляции дендритных клеток экстрактом *Opisthorchis felineus in vitro* установлено ослабление экспрессии CD86 как при легкой, так и при тяжелой астме. Молекула CD86 может быть регуляторным фактором в ко-стимуляции дендритных клеток, что позволяет рассматривать ее в качестве возможной фармакологической мишени для терапии аллергических болезней.

**Ключевые слова:** дендритные клетки, *Opisthorchis felineus*, бронхиальная астма, иммунный ответ.

66

### Введение

Дендритные клетки (ДК) являются наиболее эффективными антигенпрезентирующими клетками, способными к индукции наивных Т лимфоцитов. Среди ДК выделяют отдельные подмножества клеток, характеризующиеся стратегическим расположением в тканях и экспрессией определенных типов рецепторов и молекул ко-стимуляции при взаимодействии с различными стимулами [1]. Помимо молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС), в ответ на антигенное воздействие ДК экспрессируют на своей поверхности ряд ко-стимуляторных и адгезивных молекул. Различная интенсивность экспрессии поверхностных фенотипических молекул ДК определяет их последующее влияние на поляризацию иммунного ответа в сторону Th<sub>1</sub> либо Th<sub>2</sub> [2]. Наиболее «влиятельными» в этом отношении маркерами из известных ко-стимуляторных молекул ДК оказались члены семейства В7 – CD80/CD86, причем молекула

CD86 является более важной в индукции Th<sub>2</sub>-ответа, чем CD80. В экспериментах на моделях мышей показано, что блокада CD86 (но не CD80) приводит к снижению уровня эозинофилии и бронхиальной гиперреактивности [3]. В условиях инфекционной нагрузки происходит соответствующее изменение фенотипа и функционирования ДК, что приводит к последующей модификации иммунного ответа. Так, Young-II Jeong и соавт. (2011) установили, что гельминтный антиген *Clonorchis sinensis* ослабляет аллергическое воспаление посредством модулирования функций ДК и индукции регуляторных Т клеток. На модели астмы у мышей авторы продемонстрировали ослабление экспрессии ко-стимуляторных молекул CD80, CD86 и CD40 после нагрузки ДК гельминтным антигеном *Clonorchis sinensis in vitro*, что приводило к изменению способности ДК взаимодействовать с наивными Т лимфоцитами [4].

Изучение молекулярных характеристик ДК после взаимодействия с антигеном *Opisthorchis felineus* (далее *O.f.*)

E.E. Kremer, L.M. Ogorodova, N.A. Kirillova, K.V. Chvorilova, T.V. Perevozchikova, E.A. Fajt

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

## Immunophenotypic Characteristic of Dendritic Cells in Bronchial Asthma in Conditions of Extract *Opisthorchis Felineus in vitro*

This work shows comparative characteristics of immunogenic properties of the extract of *Opisthorchis felineus* in different severity of asthma using antigen presenting dendritic cells *in vitro*. New data on the effect of *Opisthorchis felineus* on the expression of surface markers of dendritic cells (CD209, HLA-DR, CD83, CD86) were received. Pronounced expression of CD209, CD86 and HLA-DR on the surface of dendritic cells in mild and severe asthma compared with healthy individuals was shown. In the stimulation of dendritic cells with extract *Opisthorchis felineus in vitro* weakening of CD86 expression in mild and in severe asthma was found. CD86 molecule may be a regulatory factor in the co-stimulation of dendritic cells which allows us to consider it as a potential pharmacological target for the treatment of allergic diseases.

**Key words:** dendritic cells, *Opisthorchis felineus*, bronchial asthma, immune response.

является важным и актуальным, поскольку регион Западной Сибири (Обь-Иртышский бассейн) — это очаг гиперэндемичный по описторхозной инвазии. Ранее проведенные в СибГМУ исследования показали, что *O.f.* обладает выраженными антигенными свойствами и способен модифицировать иммунный ответ у больных аллергическими заболеваниями [5]. Установлена отрицательная корреляция между наличием антител к *O.f.* в сыворотке крови и специфической сенсibilизацией по данным кожного аллергологического тестирования, что подтверждает участие иммунологических механизмов как базисных в формировании структуры патологии в мировых очагах инфекций [6].

Цель исследования: установить закономерности изменений иммунофенотипа дендритных клеток в иммунном ответе при бронхиальной астме в условиях стимуляции экстрактом *Opisthorchis felineus in vitro*, что позволит оценить особенности модифицирующего влияния данного гельминта на эффекторные функции антигенпрезентирующих дендритных клеток и последующее формирование аллергического воспаления.

### Пациенты и методы

#### Участники исследования

Исследование выполнено на базе Научно-образовательного центра «Иммуногенетика и иммуноэпидемиология аллергических заболеваний в мировых очагах инфекций» ГБОУ ВПО «СибГМУ» МЗ РФ (Томск). Клиническое обследование пациентов проводили на кафедре госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГБОУ ВПО «СибГМУ» МЗ РФ. В исследовании приняли участие взрослые пациенты с тяжелой ( $n=24$ ) и легкой ( $n=19$ ) формой бронхиальной астмы (БА). Группу контроля составили 17 практически здоровых добровольцев. Включение больных БА проводили при условии соответствия международным стандартным критериям GINA [7], наличия сенсibilизации к пищевым, бытовым и пылевым аллергенам по данным скарификационного аллергологического тестирования, выявления отрицательных результатов исследования на описторхоз.

#### Методы исследования

Периферическую венозную кровь пациентов и здоровых волонтеров собирали из локтевой вены утром натощак в стерильную вакуумную пробирку с гепарином («Green Vac-Tube» с Li-гепарином, 16×100 мм; Green Cross, Корея) в объеме 40 мл. Из гепаринизированной крови выделяли мононуклеарные клетки в градиенте плотности фикола ( $\rho = 1,077$  г/см<sup>3</sup>; ПанЭко, Россия). В двойном градиенте плотности перколла ( $\rho = 1,131$  г/см<sup>3</sup>;  $\rho H = 8,5-9,5$ , Sigma, США) получали моноциты периферической крови. Собранные моноциты использовали для культивирования ДК по описанному протоколу [8]. Исследование экспрессии поверхностных кластеров детерминации ДК осуществляли при помощи соответствующих моноклональных антител на проточном цитометре «FacsCalibur» (Becton Dickinson, США). На поверхности ДК определяли интенсивность экспрессии CD209 (PerCP; BD Biosciences, США), костимулирующей молекулы CD86/B7-2 (FITC; BD Pharmingen™, США), а также молекулы антигенного представления *HLA-DR* (FITC; BD Biosciences, США) и маркера терминальной дифференцировки CD83 (PE; BD Pharmingen™, США). Оценку жизнеспособности

клеток проводили с использованием красителя 7-AAD (BD Biosciences, США).

#### Статистическая обработка данных

Для статистических расчетов использовали пакет программ «SPSS for Windows 15.0». Количественные данные в тексте и таблицах представляли в виде медианы (интерквартильных интервалов) — Me ( $Q_1-Q_3$ ). Сравнение количественных показателей, не подчиняющихся нормальному закону распределения, осуществляли при помощи непараметрического критерия Манна–Уитни. Межгрупповые различия данных в 3 независимых группах оценивали с помощью критерия Крускала–Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Иммуногенные свойства экстракта *O.f.* и его влияние на аллергическое воспаление оценены *in vitro* при совместном культивировании с ДК, полученных от пациентов с легкой и тяжелой БА, а также здоровых лиц. В работе проанализированы межгрупповые статистически значимые различия по всем изучаемым параметрам, а также внутригрупповые различия по содержанию CD-маркеров на поверхности ДК, стимулированных и не стимулированных паразитарным экстрактом *O.f. in vitro*. Согласно схеме эксперимента, ДК выращивали *in vitro* в присутствии липополисахарида *Escherichia coli* (ЛПС) в дозе 1 мкг/мл с целью индукции созревания клеток. Процесс созревания способствует выработке цитокинов ДК и позволяет им в дальнейшем праймировать наивные Т клетки в Т хелперы при отсутствии какой-либо поляризирующей активности. Стимуляцию ДК проводили *in vitro* посредством паразитарного экстракта *O.f.* (40 мкг/мл) в присутствии ЛПС (1 мкг/мл). Добавление в культуральную среду *O.f.* способствует развитию поляризирующей активности ДК за счет модифицирующего антигенного влияния на фенотип ДК.

Молекулу CD209 из семейства С-типа лектиновых рецепторов относят к специфичным мембран-ассоциированным молекулам адгезии ДК. Функционирование CD209 связано со взаимодействием и интернализацией различных антигенов для последующего процессинга и представления наивным Т клеткам [9]. В проведенном нами исследовании культивирование моноцитов периферической крови при добавлении интерлейкина (IL) 4 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) *in vitro* приводило к генерации ДК, экспрессирующих на поверхности молекулу CD209. В отсутствие стимуляции экстрактом *O.f. in vitro* при легкой и тяжелой БА установлена более выраженная экспрессия CD209+ по сравнению с показателями здоровых лиц (см. табл. 1–3).

При аллергическом воспалении важную роль играют активированные Т лимфоциты, секретирующие цитокины Th<sub>2</sub>-направленности. Активация Т клеток зависит от представления антигенов профессиональными антиген-презентирующими клетками в комплексе с молекулами МНС (*HLA-DR*). В ходе проведенных экспериментов выявлено, что как при легкой, так и при тяжелой астме в отсутствие стимуляции экстрактом *O.f. in vitro* содержание *HLA-DR*+CD209+ клеток оказалось выше значений, полученных в контроле. При добавлении паразитарного экстракта *O.f.* в культуральную среду экспрессия молекул *HLA-DR* на ДК при легкой и тяжелой астме оставалась выше контрольных значений. Внутригрупповой анализ

**Таблица 1.** Экспрессия фенотипических маркеров дендритных клеток в группе легкой бронхиальной астмы ( $n = 19$ ) при различных вариантах стимуляции; Ме ( $Q_1-Q_3$ ), %

Варианты стимуляции	CD209+	CD83+	CD86+	HLA-DR+CD209+	CD86+CD209+
ДК	24,76	22,15	37,30	93,99	21,63
ЛПС	(22,74–38,79)	(14,13–24,53)	(30,97–44,06)	(78,52–95,54)	(21,44–26,62)
ДК	28,08	5,56	23,18	72,84	17,19
ЛПС <i>O.f.</i>	(25,01–37,20)	(2,52–9,37)*	(15,02–36,66)*	(51,76–94,66)	(12,57–31,04)

Примечание (здесь и в табл. 2, 3). ДК — дендритные клетки; ЛПС — липополисахарид *E. coli*; *O.f.* — *Opisthorchis felinus*; \* — статистически значимые различия внутри группы при разных вариантах стимуляции ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 2.** Экспрессия фенотипических маркеров дендритных клеток в группе тяжелой бронхиальной астмы ( $n = 24$ ) при различных вариантах стимуляции; Ме ( $Q_1-Q_3$ ), %

Варианты стимуляции	CD209+	CD83+	CD86+	HLA-DR+CD209+	CD86+CD209+
ДК	27,34	14,34	37,91	77,57	32,48
ЛПС	(19,84–31,99)	(10,58–15,02)	(32,13–52,89)	(75,64–83,24)	(19,06–39,43)
ДК	30,28	14,22	33,25	86,84	28,18
ЛПС <i>O.f.</i>	(21,07–39,70)*	(13,10–21,20)	(30,51–41,74)	(83,39–87,05)	(18,32–37,18)

**Таблица 3.** Экспрессия фенотипических маркеров дендритных клеток в контроле ( $n = 17$ ) при различных вариантах стимуляции; Ме ( $Q_1-Q_3$ ), %

Варианты стимуляции	CD209+	CD83+	CD86+	HLA-DR+CD209+	CD86+CD209+
ДК	20,02	17,17	22,53	64,24	19,66
ЛПС	(16,76–35,45)	(12,10–19,25)	(17,22–27,05)	(40,49–79,48)	(16,49–31,85)
ДК	26,90	17,37	26,56	69,01	11,87
ЛПС <i>O.f.</i>	(19,37–39,06)	(11,65–20,79)	(17,98–34,70)	(51,02–75,47)	(11,10–19,63)*

68

продемонстрировал максимальное увеличение содержания маркеров *HLA-DR+CD209+* на поверхности ДК больных тяжелой БА после добавления в культуральную среду экстракта *O.f.* по сравнению со значениями в этой группе в не стимуляции (см. табл. 1–3).

С целью дополнительного иммунофенотипического контроля процесса генерации и функциональной зрелости ДК в условиях нагрузки экстрактом *O.f. in vitro* в настоящей работе проанализирована динамика экспрессии поверхностного антигена CD83 на ДК при БА различной тяжести и у здоровых людей (см. табл. 1–3). Созревание ДК является важнейшим моментом для индукции иммунного ответа. Трансмембранная молекула CD83 — наиболее характерный поверхностный антиген зрелых ДК. В литературе встречаются данные об отсутствии различий в содержании CD83+ ДК при аллергическом воспалении по сравнению с показателями контроля [10]. Однако в ходе выполнения нашей работы установлено, что в отсутствии стимуляции ДК экстрактом *O.f. in vitro* наибольшая интенсивность экспрессии молекулы CD83 наблюдалась на ДК, полученных от больных легкой формой БА. По мнению некоторых авторов, экспрессия CD83 положительно коррелирует с уровнями CD86 и *HLA-DR* на поверхности ДК [11], с чем, возможно, и связана обнаруженная нами высокая степень экспрессии CD83 на ДК при легкой астме. В условиях стимуляции ДК экстрактом *O.f. in vitro* имело место существенное снижение интенсивности экспрессии CD83 при легкой БА и отсутствие выраженных изменений при тяжелой БА.

В рамках настоящего исследования определена экспрессия молекул CD86 на поверхности ДК пациентов с легкой и тяжелой БА и в контроле. Кроме того, осуществлена сравнительная оценка указанных маркеров ДК в группах после добавления в культуральную среду экстракта *O.f.* Результаты демонстрируют, что содержание CD86+ клеток при легкой и тяжелой БА в отсутствии сти-

муляции экстрактом *O.f. in vitro* оказалось статистически значимо выше контрольных значений (см. табл. 1–3).

### Обсуждение

В индукции и дифференцировке наивных Т лимфоцитов важны многие факторы, такие как тип и доза поступающих антигенов, генетический фон организма-хозяина, путь антигенного воздействия. Критическое значение в определении направленности иммунного ответа имеет функционирование самих ДК [12]. В настоящее время остаются неустановленными молекулярные маркеры, посредством которых ДК способны регулировать направленность иммунного ответа при воспалении в условиях антигенной нагрузки. В связи с этим в работе выполнен сравнительный анализ фенотипических характеристик ДК при БА различной степени тяжести после стимуляции паразитарным экстрактом *O.f. in vitro*.

При анализе влияния паразитарного экстракта *O.f. in vitro* на экспрессию CD209+ ДК обнаружена тенденция к увеличению содержания CD209+ клеток и при легкой, и при тяжелой БА. Из данных литературы известно, что высокие значения продукции интерферона (IFN)  $\gamma$  и трансформирующего фактора роста (TGF)  $\beta$  негативно ассоциированы с экспрессией молекулы CD209 на ДК [9]. При уменьшении количества этих цитокинов в клеточных культурах ожидается повышение относительного содержания CD209+, что и было показано в настоящем исследовании. В условиях стимуляции экстрактом *O.f. in vitro* при легкой и тяжелой астме происходило повышение уровня экспрессии молекулы CD209 на поверхности ДК, вероятно, связанное с низкой секрецией IFN  $\gamma$  и TGF  $\beta$  в культурах ДК, полученных от этих пациентов. Результаты о содержании *HLA-DR+CD209+* клеток согласуются с данными литературы о том, что в условиях гельминтной стимуляции имеет место повышение экс-

прессии интенсивности *HLA-DR*+ на поверхности ДК. Так, Oliveira и соавт. в своей работе показали, что инфекция, вызванная *Schistosoma mansoni*, приводит к повышению относительного содержания молекул *HLA-DR*+ на ДК при астме [13].

Наши данные об изменении уровня экспрессии CD86 на поверхности ДК частично согласуются с результатами, полученными в работе Xue-Qin Chen и соавт. (2006). Вероятно, костимулирующий сигнал, опосредованный молекулой CD86 на поверхности ДК, ответственен за последующую дифференцировку наивных Т лимфоцитов в Th<sub>2</sub> клетки, продуцирующие IL 4 в высоких концентрациях. В поддержку данного предположения существует несколько аргументов. Во-первых, с увеличением степени тяжести БА происходит повышение экспрессии CD86 на поверхности ДК. Возможно, в дальнейшем это приводит к индукции выработки IL 4 при БА, причем чем тяжелее картина воспаления, тем более высокий уровень IL 4 обнаруживают в клеточных супернатантах, что частично продемонстрировано в исследовании Xue-Qin Chen [10]. Во-вторых, в нашей работе установлена положительная корреляция между экспрессией CD86 на поверхности ДК и продукцией IL 4 в супернатантах клеточных культур. Кроме того, при тяжелой астме зарегистрирована отрицательная корреляция между пиковой скоростью выдоха (%) и экспрессией CD86+CD209+ на ДК. Чем тяжелее воспаление, тем ниже значения пиковой скорости выдоха при астме и, следовательно, выше экспрессия костимуляторной молекулы CD86, которая ответственна за поддержание аллергического воспаления. В условиях стимуляции ДК паразитарным экстрактом *O.f. in vitro* при легкой и тяжелой астме установлено существенное ослабление экспрессии молекулы CD86, причем в случае легкой БА оно оказалось статистически значимо ниже показателей, полученных в этой группе при культивировании ДК без добавления экстракта *O.f.* (см. табл 1–3). Можно предположить, что за счет снижения интенсивности экспрессии поверхностных костимуляторных молекул CD80/CD86 при воспалении гельминтные антигены вызывают ос-

лабление возможности ДК контактировать с наивными Т клетками. Недостаточно эффективное взаимодействие ДК с Т лимфоцитами, ослабление либо полное отсутствие второго костимулирующего сигнала служат факторами, которые могут приводить к снижению интенсивности аллергического воспаления при наличии инфекционной стимуляции.

### Заключение

Анализ иммунофенотипических особенностей зрелых ДК, установленных по экспрессии маркеров CD209, CD83, CD86, *HLA-DR in vitro*, показал более высокое содержание *HLA-DR*+CD209+ и CD83+ клеток при легкой бронхиальной астме и максимальную экспрессию CD86+ на ДК при тяжелой астме по сравнению с показателями у здоровых лиц. Изменения экспрессии иммунофенотипических маркеров ДК в условиях стимуляции экстрактом *O.f. in vitro* проявляются снижением числа CD86+-клеток при легкой и тяжелой БА. Совместное культивирование ДК с экстрактом *O.f. in vitro* приводит к усилению экспрессии CD209+ на ДК во всех обследованных группах, повышению содержания *HLA-DR*+CD209+ клеток при тяжелой астме и снижению числа CD83+ клеток при легкой БА по сравнению с исходными показателями в этих группах вне стимуляции экстрактом. Таким образом, на основании установленных высоких значений экспрессии костимулирующей молекулы CD86 на ДК при астме можно заключить, что CD86 при аллергическом воспалении является провоспалительным биологическим маркером и способствует поддержанию Th<sub>2</sub>-направленности иммунного ответа за счет индукции выработки IL 4. Ослабление интенсивности экспрессии CD86 при стимуляции экстрактом *O.f. in vitro* подтверждает возможность регуляции аллергического воспаления за счет изменения костимуляции ДК. Это позволяет рассматривать молекулу CD86 в качестве возможной фармакологической мишени для контроля воспалительного процесса.

### REFERENCES

- Dudziak D., Kamphorst A. O., Heidkamp G. F., Buchholz V.R., Trumfheller C., Yamazaki S., Cheong C., Liu K., Lee H.W., Park C.G., Steinman R.M., Nussenzweig M.C. Differential antigen processing by dendritic cell subsets *in vivo*. *Science*. 2007; 315: 107–111.
- Agrawal D.K., Shao Z. Pathogenesis of allergic airway inflammation. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2010; 10: 39–48.
- Mathur M., Herrmann K., Qin Y., Gulmen F., Li X., Krimins R., Weinstock J., Elliott D., Bluestone J.A., Padrid P. CD28 interactions with either CD80 or CD86 are sufficient to induce allergic airway inflammation in mice. *Am. J. Resp. Cell. Mol. Biol.* 1999; 21: 498–509.
- Jeong Y. I., Kim S. H., Ju J. W., Cho S.H., Lee W.J., Park J.W., Park Y.M., Lee S.E. Clonorchis sinensis-derived total protein attenuates airway inflammation in murine asthma model by inducing regulatory T cells and modulating dendritic cell functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 407: 793–800.
- Eliseeva O.V., Kremer E.E., Ogorodova L.M., Fedorova O.S., Deev I.A. Cellular immune response in children suffering from bronchial asthma in combination with chronic opisthorchosis invasion. *Diagnosics in pediatrics - Voprosy diagnostiki v pediatrii*. 2011; 2: 15–19.
- Evdokimova, T.A., Ogorodova L.M. The influence of chronic opisthorchosis invasion on the clinical course and immune response in children with atopic bronchial asthma. *Pediatrics - Pediatriya*. 2005; 6: 12–14.
- Global Initiative for Asthma (GINA): *Global strategy for Asthma management and prevention* [Electronic resource]. Update 2009. Mode of access: <http://www.ginasthma.com/Guidelineitem.asp?i1=2&i2=1&iintId=60>.
- Ryzhov S.V., Yur'eva K.S., Goremykin K.V., Korotkaya E.V., Saltykova I.V., Yakovleva Yu.A., Kulikov E.S., Fedorova O.S., Kremer E.E., Fattakhov N.S., Sazonov A.E. Adenosine-dependent regulation of the expression of paracrine factors in the monocytes of venous blood human. *Byulleten' sibirskoi meditsiny - Bulletin of Siberian medicine*. 2011; 3: 54–62.
- Relloso M., Puig-Kroger A., Pello O.M., Rodriguez-Fernandez J.L., de la Rosa G., Longo N., Navarro J., Munoz-Fernandez M.A., Sanchez-Mateos P., Corbi A.L. DC-SIGN (CD209) expression is IL 4 dependent and is negatively regulated by IFN, TGF beta, and anti-inflammatory agents. *J. Immunol.* 2002; 168: 2634–2643.
- Chen X. Q., Yang J., Hu S.P., Nie H.X., Mao G.Y., Chen H.B. Increased expression of CD86 and reduced production of IL 12 and IL 10 by monocyte-derived dendritic cells from allergic asthmatics and their effects on Th1- and Th2-type cytokine balance. *Respiration*. 2006; 73: 34–40.
- Balanescu A., Radu E., Nat R., Regalia T., Bojinca V., Predescu V., Predeteanu D. Co-stimulatory and adhesion molecules of dendritic cells in rheumatoid arthritis. *J. Cell. Mol. Med.* 2002; 6: 415–425.

12. Jacobs B., Wuttke M., Papewalis C. Dendritic cells subtypes and in vitro generation of dendritic cells. *Horm. Metabol. Res.* 2008; 40: 99–107.
13. Oliveira R.R., Gollob K.J., Figueiredo J.P. Schistosoma mansoni infection alters co-stimulatory molecule expression and cell activation in asthma. *Microbes Infect.* 2009; 11: 223–229.

#### CONTACT INFORMATION

**Kremer Elena Eduardovna**, PhD, Research Worker, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University

**Address:** 634050, Tomsk, Moscovsky Trakt, 2/18; **tel.:** (3822) 52-83-97; **e-mail:** elenakremer@yandex.ru

**Ogorodova Lyudmila Mikhailovna**, RAMS cor. member, Professor, Head of Department of Pediatric Faculty with a Course of Children Diseases of the Medical faculty, Siberian State Medical University

**Address:** 634050, Tomsk, Moscovsky Trakt, 2; **tel.:** (3822) 53-10-22; **e-mail:** lm-ogorodova@mail.ru

**Kirillova Natal'ya Aleksandrovna**, PhD, Assistant, The Department of Hospital Therapy with Course of Physical Rehabilitations and Sports Medicine, Siberian State Medical University

**Address:** 634063, Tomsk, street Chernykh, 96; **tel.:** (3822) 64-44-81; **e-mail:** kirillova.natalya@gmail.com

**Khvorilova Kseniya Vladimirovna**, Junior Research Worker, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University

**Address:** 634050, Tomsk, Moscovsky Trakt, 2/18; **tel.:** (3822) 52-83-97; **e-mail:** kseniahvorilova@gmail.com

**Perevozchikova Tat'yana Vladimirovna**, PhD, Research Worker, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University.

**Address:** 634050, Tomsk, Moscovsky Trakt, 2/18; **tel.:** (3822) 52-83-97; **e-mail:** perevozchikova.tv@gmail.com

**Fait Elena Aleksandrovna**, Junior Research Worker, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University

**Address:** 634050, Tomsk, Moscovsky Trakt, 2/18; **tel.:** (3822) 52-83-97; **e-mail:** fallen@mail.ru