

Влияние инвазии *Opistorchis felineus* на иммунный ответ при бронхиальной астме

Огородова Л.М.¹, Фрейдин М.Б.², Сазонов А.Э.¹, Фёдорова О.С.¹, Деев И.А.¹, Кремер Е.Э.¹

Opistorchis felineus invasion influence on immunity in bronchial asthma

Ogorodova L.M., Freidin M.B., Sazonov A.E., Fyodorova O.S., Deyev I.A., Kremer Ye.E.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² НИИ медицинской генетики СО РАМН, г. Томск

© Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Сазонов А.Э. и др.

Проведено экспериментальное исследование, посвященное изучению молекулярных механизмов участия антигена *Opistorchis felineus* в регуляции иммунного ответа при бронхиальной астме (БА) в регионах, гиперэндемичных по гельминтной инвазии. Показано, что *Opistorchis felineus* обладает высокой иммуногенностью, а также является индуктором синтеза супрессорных цитокинов IL-10 и TGF- β .

Ключевые слова: инвазия *Opistorchis felineus*, бронхиальная астма, иммунный ответ, экспрессия генов.

To investigate the molecular mechanisms of human immune response modification by *Opistorchis felineus* antigens in bronchial asthma. The experimental study was performed with cell cultures from patients with bronchial asthma, patients with opisthorchiasis, and patients with BA and opisthorchiasis co-occurred. A proposed down-regulation of immune response by higher level of *IL10* and *TGFB* genes expression in patients with opisthorchiasis was revealed.

Key words: *Opistorchis felineus* invasion, bronchial asthma, immunity, gene expression.

УДК 616.248:616.995.122.21-06-092.19

Введение

Изучению иммунологических механизмов формирования и поддержания аллергического воспаления посвящено значительное количество исследований. В большинстве случаев исследования регуляции воспалительной активности при атопии направлены на изучение взаимоотношения триггеров (аллергенов) и иммунокомпетентных клеток, влияния цитокинов разного профиля на апоптоз эозинофилов, мононуклеаров, воздействия фармакотерапии на ключевые звенья патогенеза при разных аллергических болезнях. Однако генетически детерминированная регуляция иммунологических механизмов при атопическом воспалении может быть изменена под воздействием различных факторов, способных модулировать иммунный ответ. Так, например, изменение регуляции активности аллергического воспаления отмечено при гельминтной

инвазии, что обусловлено взаимоотношением разнополярных иммунологических механизмов при атопии и гельминтозе [5, 8].

Некоторыми исследователями показано, что сопряженность астмы и гельминтной инвазии в популяции ассоциирована не только с низкой распространенностью симптомов бронхиальной астмы (БА), но и значимо меньшей выраженностью клинических проявлений болезни [6, 7, 10]. В подтверждение данного факта проведено значительное количество экспериментальных исследований на животных и *in vitro*, демонстрирующих взаимосвязь гельминтоза и активности воспалительного процесса в дыхательных путях при БА [9, 12, 13, 15]. Существует мнение, что изменение регуляции воспаления при атопии выступает следствием филогенетически сформировавшегося защитного механизма, реализуемого глистами для собственной «маскировки» от иммунной системы хозяина [9].

Некоторые исследования свидетельствуют о модифицирующем воздействии гельминтов на уровень провоспалительных маркеров IL-4, IL-5 и клинические параметры, отражающие активность воспаления дыхательных путей при БА. В работе, опубликованной Л.М. Огородовой и соавт. (2002) (обследовано 150 детей, в возрасте от 6 до 16 лет), показано, что при БА, сочетанной с описторхозной инвазией, пациенты имеют меньшую степень гиперреактивности дыхательных путей, большие значения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) и пиковой скорости выдоха (ПСВ) в сравнении с неинфицированными детьми, страдающими астмой. При этом в случае сопутствующего паразитоза отмечены достоверно низкие значения IL-5 и IL-4 в периферической крови пациентов, меньшее количество эозинофилов назального секрета и индуцированной мокроты в сравнении с детьми без гельминтной инвазии [4].

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют, что гельминты вносят существенный вклад как в распространенность астмы в популяции, так и в особенности клинического течения болезни (модулируют воспалительную активность в дыхательных путях). Учитывая, что Западная Сибирь является гиперэндемичным очагом описторхоза, а пораженность местного населения данным гельминтом на отдельных территориях достигает 97%, изучение роли гельминтных инвазий в механизмах регуляции воспаления при БА является актуальной задачей в гиперэндемичных по распространенности гельминтозов регионах [2, 11, 14, 16, 17].

Цель работы — установить молекулярные механизмы участия антигена *Opisthorchis felineus* в регуляции иммунного ответа при БА для изучения закономерностей формирования популяционного иммунитета в регионах, гиперэндемичных по гельминтной инвазии.

Материал и методы

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). Экспериментальное молекулярно-биологическое исследование *in vitro* выполнено с использованием культур клеток, полученных от больных, страдающих атопической БА (как модели аллергического заболевания с реактивным патогенетическим механизмом — n = 30), опи-

сторхозом (n = 30) и сочетанной (астма и описторхоз) патологией (n = 30). Для формирования групп пациентов были применены следующие критерии включения:

— больные БА: возраст от 7 до 15 лет, диагноз астмы установлен не позднее чем за 12 мес до начала исследования, наличие в течение последних 6 мес, предшествовавших включению, факта обратимости ОФВ₁ на 15% (и 200 мл) и более от исходного значения при условии, что индекс Тиффно более 70% после теста с бронхолитиком, отсутствие на момент начала исследования адекватной степени тяжести базисной противовоспалительной терапии [1, 3]; отсутствие яиц *Opisthorchis felineus* при копроовоскопии и дуоденальном зондировании;

— больные хроническим описторхозом: возраст от 7 до 15 лет, отсутствие аллергических заболеваний на момент включения в исследование и в анамнезе, наличие соответствующего «рыбного» анамнеза, а также яиц *Opisthorchis felineus* при копроовоскопии и дуоденальном зондировании;

— больные, страдающие сочетанной патологией (БА и хронический описторхоз): возраст от 7 до 15 лет, диагноз астмы установлен не позднее чем за 12 мес до начала исследования, наличие в течение последних 6 мес, предшествовавших включению, факта обратимости ОФВ₁ на 15% (и 200 мл) и более от исходного значения при условии, что индекс Тиффно более 70% после теста с бронхолитиком, отсутствие на момент начала исследования адекватной степени тяжести базисной противовоспалительной терапии, наличие соответствующего «рыбного» анамнеза, а также яиц *Opisthorchis felineus* при копроовоскопии и дуоденальном зондировании.

Клинические группы были статистически сопоставимы по возрасту, половой структуре, предполагаемой длительности инвазии *Opisthorchis felineus* (впервые поставленный диагноз описторхоза по данным анамнеза), стажу БА.

Для получения краткосрочных культур клеток периферической крови исследуемых больных проводили реакцию бласттрансформации лимфоцитов (БТЛ). В культуральную суспензию вносили фитогемагглютинин (ФГА) (Difco, Германия) в дозе 0,01 мг/мл или аллерген клеща *Dermatophagoides pteronyssinus* «Биомед» (НПО «Микроген», г. Москва) в дозе 5 000 PNU/мл или лизат зрелых форм *Opisthorchis felineus* (0,01 мг/мл) и инкубировали в при температуре

37 °С в течение 72 ч. После инкубации содержимое флаконов тщательно ресуспендировали и центрифугировали 10 мин при 1 000 об/мин. Затем надосадочную жидкость удаляли, а из осадка готовили мазки, которые окрашивали азур II-эозином в течение 40—50 мин. Результаты теста выражали количеством бластных форм лимфоцитов в процентах.

Из лизатов клеточных культур выделяли мРНК с использованием наборов «Рибозоль-А» и «РЕВЕРТА-L» («ИнтерЛабСервис», г. Москва) согласно рекомендациям производителя. Изучали уровень экспрессии генов *IL4*, *IL5*, *IL10*, трансформирующего ростового фактора бета (*TGF-β*) с использованием технологии полимеразной цепной реакции в реальном времени. Уровень мРНК генов цитокинов оценивали полуколичественно как отношение к уровню мРНК гена глицеральдегидфосфатдегидрогеназы (*ГАФД*).

Для статистических расчетов использовали стандартные алгоритмы биометрии и пакет программ Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., США). Сравнение частот различных признаков в анализируемых группах выполняли при помощи точного теста Фишера. Для сравнения средних уровней количественных показателей использовали тест Краскала—Уоллиса, в том числе его специальную модификацию для парных сравнений, а также тест Уилкоксона для связанных выборок. Разницу значений считали достоверной при $p < 0,05$.

Данные представлены в виде среднего арифметического M и стандартного отклонения SD .

Результаты и обсуждение

В ходе исследования проведен анализ пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови в краткосрочных культурах, стимулированных неспецифическим митогеном ФГА, антигеном *Dermato-*

phagoides pteronyssinus и лизатом зрелых форм описторхисов. Статистические результаты парных сравнений между различными вариантами антигенной стимуляции в исследованных группах представлены в табл. 1.

Согласно полученным данным, в клетках больных атопической БА наблюдали относительно высокий уровень спонтанной бласттрансформации (11,50%) по сравнению с таковым у больных описторхозом (4,75%, $p = 0,044$). Спонтанная БТЛ у больных БА на фоне описторхоза (8,5%) также выше, чем у больных описторхозом, однако различия не достигают степени статистически значимых. При антигенной стимуляции ФГА, а также *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Opisthorchis felineus* различий в уровне БТЛ между исследованными группами больных не установлено. Таким образом, можно предположить, что у больных БА в отличие от пациентов, имеющих инвазию *Opisthorchis felineus*, клетки периферической крови сохраняют повышенную способность к делению, вероятно, за счет остаточной активности синтеза эндогенных факторов пролиферации, например ИЛ-4. У больных БА, протекающей на фоне описторхоза, возможно, эта активность несколько снижена за счет индукции синтеза супрессоров иммунного ответа ИЛ-10 и *TGF-β*.

Известно, что основой патогенеза аллергических заболеваний является экспансия Th2-звена иммунного ответа. Некоторыми исследователями показано, что гельминтная инвазия в отличие от других типов инфекций ассоциирована с инициацией супрессии Th2-зависимых механизмов иммунитета (за счет активации синтеза ИЛ-10 и *TGF-β* и снижения активности мРНК провоспалительных цитокинов) [12]. В этой связи на втором этапе исследования изучена экспрессия генов *IL4*, *IL5* (Th2-профиль), *IL10*, *TGF-β* (Th1-профиль).

Таблица 1

Среднее количество бластных форм лимфоцитов периферической крови в исследованных группах в зависимости от антигенной стимуляции, % ($M \pm SD$)

Группа	Вариант стимуляции			
	Спонтанная БТЛ	ФГА	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	<i>Opisthorchis felineus</i>
БА	11,50 ± 3,54	71,50 ± 2,12	12,50 ± 3,53	27,13 ± 1,59
Описторхоз	4,75 ± 1,71	77,50 ± 7,68	13,25 ± 6,40	28,06 ± 5,85
БА и описторхоз	8,50 ± 2,65	81,00 ± 4,69	20,25 ± 10,24	31,56 ± 2,11
$N (p)$	5,818 (0,055)	3,181 (0,203)	1,429 (0,490)	2,809 (0,245)
p (БА vs. описторхоз)*	0,044	0,537	0,994	0,966
p (БА vs. БА описторхоз)*	0,417	0,250	0,563	0,496
p (описторхоз vs. БА и описторхоз)*	0,167	0,719	0,502	0,518

Примечание. Н (p) — результаты теста Краскала—Уоллиса для сравнения уровня бласттрансформации в различных исследованных группах; * — достигнутый уровень значимости отличий по специальной модификации теста Краскала—Уоллиса для парных сравнений.

Уровень экспрессии анализировали в пяти вариантах: исходном, после спонтанной БТЛ, после стимуляции лимфоцитов в реакции БТЛ антигенами *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Opisthorchis felineus* и ФГА.

Максимальный уровень экспрессии гена *IL4* отмечен в культурах клеток больных БА как исходно, так и при любом варианте стимуляции, за исключением индукции антигеном *Opisthorchis felineus* (табл. 2). Наблюдался высокий исходный уровень экспрессии этого гена у больных БА ((142,15 ± 5,18)%), что статистически значимо выше, чем в культурах клеток больных описторхозом и БА в сочетании с описторхозом ((86,34 ± 6,65) и (91,00 ± 3,46)% соответственно; p = 0,028).

Уровень экспрессии мРНК *IL5* сопоставим во всех группах обследованных при любом варианте индукции БТЛ (табл. 3). При спонтанной бласттрансформации уровень экспрессии гена *IL5* у боль-

ных БА выше, чем у пациентов с сочетанной патологией (p < 0,05).

Уровень экспрессии гена *IL10* у больных описторхозом по сравнению с таковым у пациентов, страдающих БА и сочетанной патологией, значительно выше (табл. 4, p = 0,020; для парных сравнений p < 0,05 во всех случаях). Кроме того, наблюдалась тенденция к увеличению уровня мРНК *IL10* при стимуляции антигеном *Opisthorchis felineus* в группах больных БА или сочетанной патологией по сравнению с таковым при спонтанной БТЛ у больных описторхозом.

Экспрессия мРНК *TGF-β* была минимальной в группе больных БА по сравнению с таковым у пациентов, имеющих сочетанную патологию или описторхоз (табл. 5).

Таблица 2

Уровень мРНК гена *IL4* в культурах лимфоцитов периферической крови в исследуемых группах, % по отношению к экспрессии гена *ГАФД*

Вариант стимуляции	Группа больных			Н (p)*
	БА	Описторхоз	БА и описторхоз	
Исходный уровень	142,15 ± 5,18	86,34 ± 6,65	91,00 ± 3,46	7,243 (0,028)
Спонтанная БТЛ	162,16 ± 6,66	88,25 ± 5,28	81,81 ± 9,55	8,132 (0,016)
ФГА	211,76 ± 15,21	99,82 ± 11,11	95,03 ± 15,73	9,210 (0,009)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	189,09 ± 12,51	85,35 ± 15,46	83,26 ± 17,13	7,892 (0,024)
<i>Opisthorchis felineus</i>	94,34 ± 3,12	88,28 ± 14,4	87,75 ± 16,22	3,505 (0,409)
Н (p)**	8,345 (0,018)	1,242 (0,658)	3,204 (0,361)	—

Примечание. Здесь и в табл. 3—5: * — величина критерия Краскала—Уоллиса и достигнутого уровня значимости для сравнения между разными группами больных; ** — для сравнения между разными вариантами антигенной стимуляции.

Таблица 3

Уровень мРНК гена *IL5* в культурах лимфоцитов периферической крови в исследуемых группах, % по отношению к экспрессии гена *ГАФД*

Вариант стимуляции	Группа больных			Н (p)*
	БА	Описторхоз	БА и описторхоз	
Исходный уровень	42,51 ± 3,81	46,40 ± 2,21	48,37 ± 4,22	0,925 (0,999)
Спонтанная БТЛ	39,25 ± 4,11	36,25 ± 6,28	28,22 ± 6,99	6,164 (0,047)
ФГА	34,54 ± 6,88	39,28 ± 6,02	38,76 ± 8,73	1,000 (0,892)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	46,19 ± 8,15	45,55 ± 8,16	40,24 ± 4,15	2,462 (0,458)
<i>Opisthorchis felineus</i>	44,00 ± 6,15	45,59 ± 4,4	41,41 ± 9,10	2,600 (0,521)
Н (p)**	4,345 (0,322)	1,115 (0,858)	5,158 (0,161)	—

Таблица 4

Уровень мРНК гена *IL10* в культурах лимфоцитов периферической крови в исследуемых группах, % по отношению к экспрессии гена *ГАФД*

Вариант стимуляции	Группа больных			Н (p)*
	БА	Описторхоз	БА и описторхоз	

Исходный уровень	29,22 ± 11,41	43,13 ± 6,12	34,75 ± 3,56	7,434 (0,020)
Спонтанная БТЛ	26,99 ± 8,32	28,29 ± 10,39	31,67 ± 12,83	2,215 (0,624)
ФГА	31,25 ± 6,45	38,32 ± 8,25	39,67 ± 12,57	1,254 (0,885)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	34,21 ± 10,11	32,44 ± 8,89	31,52 ± 6,30	1,643 (0,892)
<i>Opisthorchis felineus</i>	31,28 ± 8,94	41,42 ± 14,52	38,29 ± 10,47	4,321 (0,256)
N (p)**	6,142 (0,086)	6,949 (0,056)	1,044 (0,791)	—

Таблица 5

Уровень мРНК гена *TGF-β* в культурах лимфоцитов периферической крови в исследуемых группах, % по отношению к экспрессии гена *ГАФД*

Вариант стимуляции	Группа больных			N (p)*
	БА	Описторхоз	БА и описторхоз	
Исходный уровень	20,22 ± 3,19	43,13 ± 6,12	42,77 ± 3,12	8,239 (0,019)
Спонтанная БТЛ	28,89 ± 8,32	28,29 ± 10,39	33,19 ± 6,93	4,114 (0,524)
ФГА	36,19 ± 9,28	31,32 ± 8,25	44,57 ± 10,53	3,994 (0,701)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	29,18 ± 9,14	41,65 ± 5,19	43,03 ± 1,60	7,518 (0,032)
<i>Opisthorchis felineus</i>	24,18 ± 3,11	40,24 ± 7,52	41,24 ± 5,56	7,641 (0,029)
N (p)**	4,255 (0,396)	6,642 (0,084)	6,412 (0,093)	—

Данные отличия статистически значимы при анализе исходного уровня экспрессии, а также при БТЛ с использованием стимуляции антигенами клеща домашней пыли и *Opisthorchis felineus*. При стимуляции культур клеток, полученных от больных хроническим описторхозом, антигенами *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Opisthorchis felineus* отмечено статистически значимое увеличение уровня мРНК *TGF-β*.

Учитывая представленные данные, можно предположить, что хроническая инвазия *Opisthorchis felineus* сопряжена с инициацией супрессии Th2-зависимых механизмов иммунного ответа за счет изменения цитокинового профиля (увеличения экспрессии мРНК *IL10*, *TGF-β*) у пациентов, страдающих астмой. Вероятно, супрессия Th2-направленного иммунного ответа при гельминтной инвазии может быть ассоциирована с уменьшением воспалительной активности в дыхательных путях вследствие восстановления механизмов регуляции программированной клеточной гибели эозинофилов и мононуклеаров в связи с уменьшением экспрессии генов *IL4* и *IL5* (мощные антиапоптотические эффекторы) на фоне хронического описторхоза.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о значимом влиянии гельминтной инвазии *Opisthorchis felineus* на механизмы регуляции иммунного ответа при БА. При астме, про-

текающей на фоне хронического описторхоза, наблюдается повышение экспрессии генов *IL10* и *TGF-β*, продукты которых обладают выраженным противовоспалительным эффектом, в сравнении с аналогичными показателями у больных изолированной БА. Кроме того, при сочетанной патологии (астма и инвазия *Opisthorchis felineus*) регистрируется значительное снижение экспрессии генов провоспалительных цитокинов *IL4* и *IL5*.

Полученные данные относительно механизмов участия антигенов *Opisthorchis felineus* в регуляции иммунного ответа могут быть использованы при разработке иммунокорректирующих препаратов на основе клеточных технологий для терапии и профилактики аллергической патологии у населения гиперэндемичных по гельминтной инвазии регионов.

Исследование по теме «Роль антигенов Opisthorchis felineus в механизмах реализации клеточного иммунного ответа в регионах, гиперэндемичных по описторхозной инвазии» поддержано грантом № 09-04-99045 p_офи.

Литература

1. *Бронхиальная астма у детей: диагностика, лечение и профилактика: научно-практическая программа* // Союз педиатров России, Международный фонд охраны здоровья матери и ребенка. М., 2004. 46 с.
2. *Бронштейн А.М., Мальшев Н.А.* Гельминтозы органов пищеварения: кишечные нематодозы, трематодозы печени и ларвальные цестодозы (эхинококкозы) // Рус. мед. журн. 2004. Т. 12, № 4. С. 21—23.
3. *Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхи-*

- альной астмы / под ред. А.Г. Чучалина. М.: Атмосфера, 2002. 160 с.
4. Евдокимова Т.А., Огородова Л.М. Влияние хронической описторхозной инвазии на клиническое течение и иммунный ответ при atopической бронхиальной астме у детей // Педиатрия. 2005. № 6. С. 12—14.
 5. Cooper P.J. Interactions between helminth parasites and allergy // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 2009. V. 9, № 1. P. 29—37.
 6. Deehan M.R., Goodridge H.S., Blair D. et al. Immunomodulatory properties of *Ascaris suum* glycosphingolipids-phosphorylcholine and non-phosphorylcholine-dependent effects // Parasite Immunol. 2002. V. 24, № 9—10. P. 463—469.
 7. Fernando D., Wickramasinghe P., Kapilnanda G. Toxocara seropositivity in Sri Lankan children with asthma // Pediatr. Int. 2009. V. 51, № 2. P. 241—245.
 8. Flohr C., Quinnell R.J., Britton J. Do helminth parasites protect against atopy and allergic disease? // Clin. Exp. Allergy. 2009. V. 39, № 1. P. 20—32.
 9. Hopkin J. Immune and genetic aspects of asthma, allergy and parasitic worm infections: evolutionary links // Parasite Immunol. 2009. V. 31, № 5. P. 267—273.
 10. Huang S.L., Tsai P.F., Yeh Y.F. Negative association of *Enterobius* infestation with asthma and rhinitis in primary school children in Taipei // Clin. Exp. Allergy. 2002. V. 32. P. 1029—1031.
 11. Kaewkes S. Taxonomy and biology of liver flukes // Acta Trop. 2003. V. 88, № 3. P. 177—186.
 12. Leonardi-Bee J., Pritchard D., Britton J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2006. V. 174, № 5. P. 514—523.
 13. Medeiros M. Jr., Figueiredo J.P., Almeida M.C. et al. Schistosoma mansoni infection is associated with a reduced course of asthma // J. Allergy Clin. Immunol. 2003. V. 111. P. 947—951.
 14. Ogorodova L.M., Freidin M.B., Sazonov A.E. et al. A pilot screening of prevalence of atopic states and opisthorchosis and their relationships in people of Tomsk oblast // Parasitology Research. 2007. N5. P. 80—83.
 15. Oliveira R.R., Gollob K.J., Figueiredo J.P. et al. Schistosoma mansoni infection alters co-stimulatory molecule expression and cell activation in asthma // Microbes. Infect. 2009. V. 11, № 2. P. 223—229.
 16. Sripa B. Pathobiology of opisthorchiasis // Acta Trop. 2003. V. 88, № 3. P. 209—220.
 17. Wongratanacheewin S., Sermswan R.W., Sirisinha S. Immunology and molecular biology of *Opisthorchis viverrini* infection // Acta Trop. 2003. V. 88, № 3. P. 195—207.

Поступила в редакцию 05.04.2010 г.

Утверждена к печати 12.05.2010 г.

Сведения об авторах

Л.М. Огородова — д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАМН, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета СибГМУ (г. Томск).

М.Б. Фрейдин — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск).

А.Э. Сазонов — д-р мед. наук, зам. зав. Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (г. Томск).

О.С. Фёдорова — канд. мед. наук, ассистент кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета СибГМУ (г. Томск).

И.А. Деев — канд. мед. наук, ассистент кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета СибГМУ (г. Томск).

Е.Э. Кремер — лаборант-исследователь Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Фёдорова Ольга Сергеевна, тел. 8-906-950-71-32, e-mail: osf77@list.ru