

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ КВЕРЦЕТИНА ДИГИДРАТА В МОДЕЛИ ОВА-ИНДУЦИРОВАННОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИИ У МЫШЕЙ

Кенкишвили А.О.¹, Албегова Д.З.¹, Лаптев О.С.^{1,2}, Павлова С.И.^{2,3},
Албегова Ж.К.⁴, Козлов И.Г.^{1,2}

¹ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГБУ «Федеральный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Д. Рогачева», Москва, Россия

³ ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Владикавказ, Россия

Резюме. В моделях *in vivo* исследовали влияние кверцетина дигидрата (КД) на течение респираторной аллергии у мышей. Для провокации аллергии вводили сывороточный овальбумин на разных сроках. После введения КД на стадии ОВА-сенситизации изменялся баланс Т-хелперных цитокинов (снижался IL-2 и повышался уровень IFN γ), снижался сывороточный уровень аллерген-специфических IgG1, IgE и повышался IgG2a. На стадии провокации респираторной аллергии, за счет внутривенного введения КД, уменьшалась воспалительная инфильтрация легочной ткани и изменялся состав бронхоальвеолярной лаважной жидкости, снижался уровень IgG1 и IgE на фоне повышения IgG2a.

Ключевые слова: флавоноиды, респираторная аллергия, иммуносупрессия

STUDY OF QUERCETIN DIHYDRATE EFFECTS IN A MODEL OF OVA-INDUCED RESPIRATORY ALLERGY IN MICE

Kenkishvili A.O.^a, Albegova D.Z.^a, Laptev O.S.^{a,b}, Pavlova S.I.^{b,c},
Albegova G.K.^d, Kozlov I.G.^{a,b}

^a Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

^b Federal D. Rogachev Research and Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

^c Chuvash State I.N. Ulianov University, Cheboksary, Russian Federation

^d North Ossetia State Medical Academy, Ministry of HealthCare, Vladikavkaz, Russian Federation

Abstract. We have investigated *in vivo* effects of quercetin dihydrate (QD) upon course of respiratory allergy produced in experimental murine model. To provoke allergy, serum ovalbumin (OVA) was injected at different

Адрес для переписки:

Лаптев Олег Сергеевич
ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ
117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1.
Тел.: 8 (495) 434-44-92.
E-mail: xynon@mail.ru

Address for correspondence:

Laptev Oleg S.
Russian National N.I. Pirogov Research Medical University
117997, Russian Federation, Moscow, Ostrovityanova str., 1.
Phone: 7 (495) 434-44-92.
E-mail: xynon@mail.ru

Образец цитирования:

А.О. Кенкишвили, Д.З. Албегова, О.С. Лаптев,
С.И. Павлова, Ж.К. Албегова, И.Г. Козлов «Исследование
эффектов кверцетина дигидрата в модели ОВА-
индуцированной респираторной аллергии у мышей» //
Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 629–634.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-629-634
© Кенкишвили А.О. и соавт., 2017

For citation:

A.O. Kenkishvili, D.Z. Albegova, O.S. Laptev,
S.I. Pavlova, G.K. Albegova, I.G. Kozlov “Study of quercetin
dihydrate effects in a model of OVA-induced respiratory allergy
in mice”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 629–634.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-629-634
DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-629-634

terms. Following administration of QD at the stage of OVA sensitization, the balance of T-helper cytokines was changed (IL-2 was decreased along with increased IFN γ) accompanied by decreased allergen-specific IgG1, IgE and increased IgG2a in blood serum. At the stage of boosting the respiratory allergy, intravenous administration of QD caused reduction of inflammatory lung infiltration, and composition of bronchoalveolar lavage fluid was altered, i.e., IgG1 and IgE showed a decrease, along with higher IgG2a levels.

Keywords: flavonoids, respiratory allergy, immunosuppression

Введение

Исследования, проведенные в последние десятилетия, выявили ключевое значение различных иммунологических нарушений в механизмах развития или запуска ряда патологических состояний. На базе расшифровки «молекулярного портрета» болезней и синдромов, сформировалась идеология прицельной (таргетной) фармакотерапии, способной селективно корригировать ключевые звенья патогенеза того или иного заболевания. Так, во второй половине XX в. принципиальные изменения произошли в подходах к иммуносупрессивной терапии в связи с выявлением молекулярных маркеров заболеваний, характеризующихся иммуноагрессией. Разработка высокоселективных и менее токсичных иммуносупрессивных средств является одним из перспективных направлений этой области.

В медицинской практике средства растительного происхождения всегда занимали важное место. Флавоноиды относятся к полифенольным соединениям, обнаруживаемым практически во всех высших растениях. Эти вещества обладают широким диапазоном активностей: в системе угнетают разнообразные ферменты животных и человека, а *in vivo* проявляют противовоспалительные, иммуностропные, антиканцерогенные и другие эффекты [1, 2]. Изучение механизмов действия флавоноидов на молекулярном уровне показывает, что некоторые их классы способны эффективно ингибировать фосфорилирование, а, как следствие, и активацию, ключевых молекул сигнальных путей в клетках. Исходя из этих фактов, есть предположение о том, что такие соединения могут обладать иммуномодулирующими свойствами.

Было доказано, что полифенольные соединения возможно использовать при бронхиальной астме, так как флавоноиды потенцируют изопроterenол-индуцированную релаксацию гладкой мускулатуры в дыхательных путях [3].

Материалы и методы

В нашем исследовании мы рассмотрели влияние кверцетина дигидрата (КД) на течение респираторной аллергии у мышей. Кверцетин дигидрат — порошок желтого цвета, полностью растворяется в 96% этаноле, при разбавлении дистиллированной водой получается раствор желтого цвета без примесей и хлопьев. Молекулярная масса КД — 302 г/моль.

В экспериментах *in vivo* исследуемые агенты вводили внутривенно или внутрибрюшинно в дозе 10^{-5} моль/кг в изотоническом растворе натрия хлорида с 5% содержанием этанола. Мышам контрольной группы вводили соответствующие объемы растворителя.

В исследовании были использованы мыши линий Balb/c (самки весом 18-20 г, возраст 8-10 недель), полученные из питомника РАМН (Крюково, Московская область). Животные содержались на стандартном пищевом рационе вивария при свободном доступе к воде и пище. Экспериментальные группы животных формировали рандомизированно по 8 мышей в каждой. В исследование были включены следующие группы:

1. Отрицательный контроль (K^{-}) — интактные мыши.
2. Положительный контроль (K^{+}) — группы мышей, которые получали объемы растворителя, соответствующие исследуемым агентам.
3. (КД1) — группа мышей, которым внутривенно вводили кверцетин дигидрата (КД) в дозе 10^{-5} моль/кг через 4 и 24 ч после каждой сенсibilизации.
4. (КД2) — группа мышей, которым внутривенно вводили КД в дозе 10^{-5} моль/кг за 1 ч до каждой провокации.

Продукцию цитокинов оценивали на стадии сенсibilизации иммунокомпетентными клетками, а на эффекторной стадии клеточный состав бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛ) и уровни сывороточных овальбумин (ОВА)-специфических иммуноглобулинов в подопытных (КД1, 2) и контрольных группах.

С целью моделирования аллергии мышей-самок линии Balb/c 3-кратно сенсибилизировали внутрибрюшинным введением адсорбированного на корпускулярном носителе (алюминиевые квасцы, в качестве адъюванта) куриного ОВА (10,0 мкг/мышь, 200 мкл) на 0, 14 и 21 дни эксперимента. Затем вводили интрафарингеально 1% раствор ОВА в стерильном фосфатно-солевом буфере (ФСБ) трехкратно на 29, 31 и 39 дни для провокации респираторной аллергии.

Мышей из исследуемых групп выводили из опыта через 26 ч после 2-кратной сенсибилизации ОВА часть и эксплантировали селезенки. В 96-луночные планшеты засеивали выделенные спленоциты, стимулировали добавлением КонА и инкубировали при 37 °С, 100% влажности и 5% CO₂. Через 24 и 48 ч после инкубации исследовали уровни цитокинов в супернатантах. При помощи цитофлуориметрического метода определяли концентрации IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, IFN γ , TNF α , GM-CSF.

Для подтверждения возможности влияния КД на патогенез аллергии в сыворотке крови мышей было необходимо определить уровни аллерген-специфических иммуноглобулинов: IgE, IgG1 и IgG2a классов. Для этого через 48 ч после введения последней разрешающей дозы ОВА у мышей под эфирным наркозом забирали кровь пункцией нижней поллой вены. Полученную кровь оставляли при комнатной температуре до образования плотного сгустка и центрифугированием отделяли сыворотку, которую хранили при -70 °С до анализа. Определение содержания овальбумин (ОВА)-специфических иммуноглобулинов (IgG1, IgG2a и IgE) в сыворотке крови мышей проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). С этой целью 96-луночный иммунологический микропланшет для ИФА покрывали раствором овальбумина в концентрации 5 мкг/мл в ФСБ, оставляя на ночь при 4 °С. После чего для блокировки участков неспецифической сорбции раствор овальбумина заменяли на ФСБ, содержащий 10% эмбриональной телячьей сыворотки и инкубировали в течение часа при 4 °С. После проведения реакции лунки четырехкратно отмывали ФСБ, содержащим 0,25% Твин-20. Затем добавляли исследуемую мышиную сыворотку в разведении, начиная с 1:250, и после инкубации (12 ч) повторно четырехкратно отмывали раствором Твина-20 в ФСБ. Иммунизированные иммуноглобулины класса IgG определяли при помощи козьих антител против мышинных IgG1 и IgG2a,

конъюгированных с пероксидазой хрена, инкубируя в течение 1,5 часа при комнатной температуре. При определении ОВА-специфических IgE последовательно добавляли биотинилированные козы антитела против мышинных IgE и конъюгат пероксидазы хрена со стрептавидином. На последнем этапе в лунки микропланшета вносили по 100 мкл субстратного раствора, содержащего тетраметилбензидин и перекись водорода. Ферментативную реакцию проводили в течение 10-15 мин, останавливая добавлением в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора. Результат выражали в процентах.

Одновременно с забором крови для получения сыворотки через 48 ч после последней ОВА-провокации у мышей проводили БАЛ, которая после использовалась для дифференциального подсчета клеток. Для дифференциального подсчета готовили цитологические препараты, которые окрашивали и под иммерсионным объективом подсчитывали в нескольких полях зрения эозинофилы, нейтрофилы, макрофаги/моноциты и лимфоциты. В одном препарате анализировали общее количество клеток (не менее 200-300), рассчитывая процентное соотношение каждой популяции.

Статистическую обработку результатов проводили путем расчета средней арифметической и средней ошибки средней арифметической. Для оценки достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента, разницу считали достоверной при $p < 0,05$.

На стадии сенсибилизации оценивали цитокиновый профиль спленоцитов под влиянием КД при индукции иммунного ответа. Для этого через 26 ч после двукратной сенсибилизации ОВА часть мышей из группы КД1 и соответствующей им группы положительного контроля (K⁺) выводили из опыта и эксплантировали селезенки с последующим добавлением КонА. Через 24 и 48 ч после инкубации исследовали уровни цитокинов в супернатантах. Концентрации IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, IFN γ , TNF α , GM-CSF определяли цитофлуориметрическим методом. Пиковые концентрации цитокинов определяли к 48 ч инкубации спленоцитов.

Результаты

Как показало исследование, в супернатантах, полученных при инкубации КонА-стимулированных спленоцитов мышей из группы K⁺, определялись IL-2, IL-4, IL-6, IFN γ и TNF α .

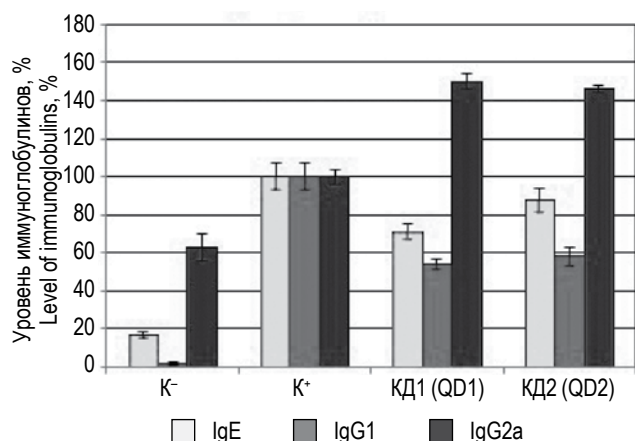


Рисунок 1. Уровни (в процентах) сывороточных аллерген-специфических иммуноглобулинов через 48 ч после последней провокации мышей с ОВА-индуцированной респираторной аллергией
Примечание. К⁻ – интактные мыши. К⁺ – положительный контроль. КД1 – введение кверцетина дигидрата через 4 и 24 ч после сенсibilизации. КД2 – введение кверцетина дигидрата за 1 ч до провокации. Достоверные изменения по отношению к положительному контролю ($p < 0,05$).

Figure 1. Levels of serum allergen-specific immunoglobulins 48 hours after the last challenge of mice with OVA-induced respiratory allergy (per cent)

Note. K⁻, intact mice; K⁺, positive control. QD1, administration of quercetin dihydrate at 4 and 24 h after sensitization. QD2, introduction of quercetin dihydrate for 1 h before challenge. Significant changes with respect to positive control ($p < 0.05$).

Внутривенное введение КД в дозе 10^{-5} моль/кг через 4 и 24 ч после сенсibilизации приводило к статистически значимым изменениям средних значений для IL-2, IL-6 и IFN γ . Средний уровень IFN γ в группе КД был значительно выше по сравнению с контрольной группой ($1025,4 \pm 3,5$ пг/мл vs $120,5 \pm 3,5$ пг/мл), был также выше контрольных значений уровень IL-6 ($96,5 \pm 4,5$ пг/мл vs $95,3 \pm 3,7$ пг/мл). Напротив, продукция IL-2 на фоне введения в группе КД ($72,6 \pm 2,5$ пг/мл) была ниже, чем в группе К⁺ ($125,6 \pm 4,5$ пг/мл). IL-17 не определялся в группах К⁺ и КД. Значимых различий для IL-4 и IFN α не наблюдалось в исследуемых группах.

На эффекторной стадии, как говорилось ранее, определяли аллерген-специфические иммуноглобулины. Результаты определения представлены на рисунке 1. В группе положительного контроля (К⁺) средний уровень ОВА-специфического IgG1 был значительно выше в сравне-

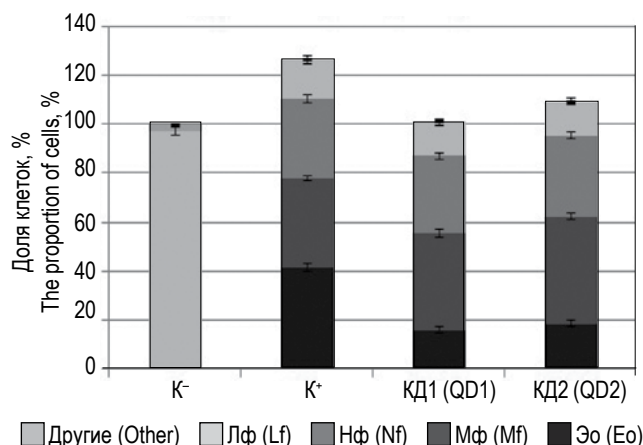


Рисунок 2. Долевое распределение эозинофилов (Эо), макрофагов (Мф), нейтрофилов (Нф) и лимфоцитов (Лф) в бронхоальвеолярной лаважной жидкости, полученной через 48 ч после последней провокации мышей с ОВА-индуцированной респираторной аллергией

Примечание. К⁻ – интактные мыши. К⁺ – положительный контроль. КД1 – введение кверцетина дигидрата через 4 и 24 ч после сенсibilизации. КД2 – введение кверцетина дигидрата за 1 ч до провокации.

Figure 2. Shared distribution of eosinophils (Eo), macrophages (Mf), neutrophils (Nf), and lymphocytes (Lf) in bronchoalveolar lavage fluid obtained 48 hours after the last challenge of mice with OVA-induced respiratory allergy

Note. K⁻, intact mice; K⁺, positive control. QD1, administration of quercetin dihydrate at 4 and 24 h after sensitization; QD2, infusion of quercetin dihydrate for 1 h before the challenge.

нии с группой интактных мышей ($100,0 \pm 7,0\%$ vs $1,9 \pm 1,0\%$, $p < 0,05$).

Уровень ОВА-специфического IgG1 как после сенсibilизации, так и до провокации (КД1 и КД2) составлял $54,0 \pm 3,0\%$ и $58,0 \pm 5,0\%$ соответственно, что было достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в группе К⁺. Среднее значение IgG2a в группах КД соответствовало показателю оптической плотности КД1 – $150,0 \pm 4,0\%$, КД2 – $146,0 \pm 2,0\%$.

На фоне терапии КД значение IgE также изменялось. После сенсibilизации в группе КД1 снижался уровень IgE: $71,0 \pm 4,0\%$ ($p < 0,05$), в группе КД2 замечалась выраженная, но статистически недостоверная тенденция к снижению этого показателя по сравнению с контрольным уровнем $87,5 \pm 6,0\%$.

Клеточный состав БАЛ определяли на эффекторной стадии. В сравнении с группой отрицательного контроля (К⁻) абсолютное количество клеток БАЛ было значимо больше в группе по-

ложительного контроля K^+ : среднее значение ($\times 10^6$ клеток/мышь) достигало $1,57 \pm 0,13$, тогда как для интактных мышей этот показатель был $0,39 \pm 0,05$. Общая «клеточность» БАЛ в группе КД1 была сравнима с таковой для K^+ и составила $1,53 \pm 0,11 \times 10^6$ клеток/мышь, тогда как в группе КД2 величина этого показателя была достоверно ниже ($0,79 \pm 0,14$, $p < 0,05$).

Клеточный состав БАЛ интактных мышей был преимущественно представлен лимфоидными клетками с полным отсутствием эозинофильных гранулоцитов. На рисунке 2 представлено доле-вое распределение клеток (эозинофилов, нейтрофилов, макрофагов/моноцитов и лимфоцитов) в БАЛ контрольных и опытных групп. Как мы можем заметить, процентное содержание клеток в БАЛ различалось в группах K^+ и КД1 (введение препарата после сенсibilизации): доля эозинофилов в этих группах составила $41,7 \pm 1,43\%$ и $16,1 \pm 1,45\%$ соответственно. В группе КД2 (введение препарата до провокации) наблюдалось статистически достоверное снижение количества эозинофилов, процентная доля которых равнялась $18,7 \pm 1,4\%$ ($p < 0,05$), что происходило за счет нарастания доли моноцитов/макрофагов и других клеток.

Заключение

Подводя итоги, исследования эффектов КД в модели ОВА-индуцированной респираторной аллергии у мышей, мы можем заключить следующее:

— Внутривенное введение КД на стадии ОВА-сенсibilизации изменяет баланс Т-хелперных цитокинов (проявляет тенденцию к снижению продукции спленоцитами IL-2 и повышает уровень IFN γ), снижает сывороточные уровни ал-

лерген-специфических IgG1, IgE и повышает IgG2a.

— Внутривенное введение КД на стадии провокации аллергии ОВА способствует уменьшению воспалительной инфильтрации легочной ткани и изменяет состав БАЛ (по сравнению с K^+ менее выраженное снижение эозинофилии за счет нарастания макрофагов и других клеток), а также понижает уровень сывороточного аллерген-специфического IgG1 и вызывает тенденцию к снижению IgE на фоне повышения IgG2a.

Множество научных исследований рассматривают нарушение баланса Th1/Th2 хелперных популяций как предпосылки развития аллергических заболеваний [4]. Так, кверцетин способен снижать цитокины и подавлять IL-4, снижать образование антител IgE. Кверцетин является основным ингредиентом многих потенциальных противоаллергических препаратов и пищевых добавок, он более компетентный в отношении ингибирования IL-8 и IL-6, чем кромогликат (противоаллергическое лекарство) [5].

В ходе эксперимента по изучению влияния введения КД на БАЛ было установлено, что исследуемый агент уменьшает воспалительную инфильтрацию легочной ткани и изменяет состав БАЛ.

Подводя итоги, можно сделать вывод, что при введении КД изменяется спектр цитокинов (уменьшается содержание IL-2 и увеличивается IFN). Это может говорить о возможности исследуемого агента переключать Th2-иммунный ответ на формирование антагонистичных популяций Th1-/Th17-лимфоцитов.

Список литературы / References

1. Bosch R., Philips N., Suárez-Pérez J.A., Juarranz A., Devmurari A., Chalensouk-Khaosaat J., González S. Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals. *Antioxidants (Basel)*, 2015, Vol. 4, no. 2, pp. 248-268.
2. Camps-Bossacoma M., Abril-Gil M., Saldaña-Ruiz S., Franch À. Cocoa diet prevents antibody synthesis and modifies lymph node composition and functionality in a rat oral sensitization model. *Nutrients*, 2016, Vol. 8, no. 4, p. 242.
3. Elizabeth A., Charles W., Emala Sr. Quercetin acutely relaxes airway smooth muscle and potentiates β -agonist-induced relaxation via dual phosphodiesterase inhibition of PLC β and PDE4. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2013, Vol. 305, no. 5, L396-403.

4. Kapsenberg M.L., Jansen H.M., Bos J.D., Wierenga E.A. Role of type 1 and type 2 T helper cells in allergic diseases. *Curr. Opin. Immunol.*, 1992, Vol. 4, no. 6, pp. 788-793.
5. Mlcek J., Jurikova T., Skrovankova S., Sochor J. Quercetin and its anti-allergic immune response. *Molecules*, 2016, Vol. 21, no. 5, pii: E623. doi: 10.3390/molecules21050623.

Авторы:

Кенкишвили А.О. — аспирант кафедры фармакологии ПФ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Албегова Д.З. — к.м.н., доцент кафедры фармакологии ПФ ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Лаптев О.С. — аспирант лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии ФГБУ «Федеральный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева»; ассистент кафедры фармации ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Павлова С.И. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и биохимии ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», Чебоксары; к.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии ФГБУ «Федеральный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева», Москва, Россия

Албегова Ж.К. — д.м.н., профессор, Кафедра фармакологии, ФГБОУ ВО Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России, Владикавказ, Россия

Козлов И.Г. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ; заведующий лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии ФГБУ «Федеральный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева», Москва, Россия

Authors:

Kenkishvili A.O., Postgraduate Student, Department of Pharmacology, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Albegova D.Z., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pharmacology, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Laptev O.S., Postgraduate Student, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Federal D. Rogachev Research and Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology; Assistant Professor, Department of Pharmacy, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Pavlova S.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, Chuvash State I.N. Ulianov University, Cheboksary; PhD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Federal D. Rogachev Research and Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Moscow, Russian Federation

Albegova G.K., PhD, MD, Professor (Medicine), Department of Pharmacology, North Ossetia State Medical Academy, Ministry of HealthCare, Vladikavkaz, Russian Federation

Kozlov I.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pharmacology, Russian National N.I. Pirogov Research Medical University; Chief, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Federal D. Rogachev Research and Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Moscow, Russian Federation

Поступила 15.09.2016
Отправлена на доработку 19.09.2016
Принята к печати 27.12.2016

Received 15.09.2016
Revision received 19.09.2016
Accepted 27.12.2016