

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА *

В.А. Черешнев, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН;
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН*

С.А. Заморина, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

В.П. Тимганова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

М.С. Бочкова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

П.В. Храмцов, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

К.Ю. Шардина, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

М.Б. Раев, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

Альфа-фетопроtein (АФП), синтезируемый эмбриональными тканями, проникает в кровоток матери, выполняя как транспортную, так и иммуномодулирующую функции. Целью работы являлась оценка влияния АФП на дифференцировку регуляторных (Treg и Th17) и эффекторных (TEM, TEMRA) субпопуляций в системе *in vitro*. Для достижения поставленной цели изолированные культуры Т-хелперов инкубировали с физиологическими концентрациями нативного препарата АФП (10, 50, 100 МЕ/мл).

В используемой нами экспериментальной модели не выявлено очевидных эффектов АФП на дифференцировку Treg/Th17. Однако установлено, что АФП препятствовал конверсии наивных Т-хелперов в TEM и TEMRA, одновременно снижая суммарную продукцию цитокинов ИЛ-4 и ИФН- γ этими клетками.

Следующей задачей является изучение роли АФП в регуляции дифференцировки и функций миелоидных супрессорных клеток (MDSC). Понимание этих процессов позволит расширить наши представления о роли АФП в формировании иммунной толерантности во время беременности, а также сформулировать новую концепцию его действия в качестве фармакологического препарата.

Ключевые слова: альфа-фетопроtein, Т-регуляторные лимфоциты (Treg), интерлейкин-17-продуцирующие лимфоциты (Th17), Т-клетки иммунной памяти, миелоидные супрессорные клетки (MDSC), беременность.

Физиологически протекающая беременность сопровождается изменениями, направленными на формирование иммунной толерантности (терпимости) к плоду, который наполовину генетически чужероден для организма матери. В 2008 г. методами протеомики продемонстрировано,

что только несколько молекул регулируют иммунную толерантность матери, среди них – альфа-фетопроtein (АФП) [24].

К настоящему времени полностью расшифрована первичная структура АФП человека и его 3D-структура [18]. АФП представляет собой одноцепочечный гли-

* Статья подготовлена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-44-590971 и № 19-415-590001.

копротеин (3–5% углеводов) с молекулярной массой 68–75 kDa, который синтезируется в период раннего развития эмбриона в желточном мешке, а затем в печени и желудочно-кишечном тракте плода. АФП принимает активное участие в полноценном развитии плода, прежде всего за счет своей транспортной функции. Максимальное содержание АФП в крови и амниотической жидкости плода отмечается на 13-й неделе, а в крови матери оно постепенно увеличивается с 10-й недели беременности и достигает максимума на 30–32-й неделях [7]. После рождения уровень АФП резко снижается и может быть идентифицирован вне беременности только в низких количествах [23].

Концентрация АФП является биохимическим маркером хромосомных аномалий и дефектов нервной трубки плода, а повышение его концентрации в крови матери ассоциировано с риском осложнений, включая преэклампсию и преждевременные роды. АФП является также опухолевым маркером, который с высокой степенью специфичности обнаруживается у больных с первичным раком печени и тератокарциномой [23].

Невзирая на то, что АФП обладает иммуносупрессивными эффектами [6], его роль в формировании иммунной толерантности в период беременности клеток остается малоисследованной, особенно на уровне современных субпопуляций клеток [20]. В частности, известно, что АФП, полученный из пуповинной крови человека, не влияет на функциональную активность НК-клеток напрямую, однако подавляет их цитолитическую активность опосредованно через дендритные клетки [26]. В 2016 году стало известно, что рекомбинантный АФП в эмбриональных концентрациях способен индуцировать апоптоз регуляторных В-лимфоцитов, не влияя на активность данных клеток в соответствующих материнской сыворотке концентрациях [10]. Помимо этого, показано, что АФП, полученный из опухолевых клеток, в сравнении с АФП пуповинной крови, снижал пролиферацию Т-лим-

фоцитов, опосредованную дендритными клетками в модели *in vitro* [19].

Учитывая иммуносупрессивные эффекты этого белка, в разное время создавались и создаются фармакологические препараты, содержащие эмбриональный или рекомбинантный АФП (Альфетин, Профеталь, ММ-093, АСТ 101) предназначенные, прежде всего, для терапии аутоиммунных заболеваний или онкологических, при условии конъюгации АФП с токсином. Невзирая на то, что эффективность применения АФП при ряде заболеваний показана, не существует четкой концепции, объясняющей механизм его иммуномодулирующего действия [6]. В то же время, с момента регистрации АФП как лекарственного средства (2002 г.), были идентифицированы новые субпопуляции Т-лимфоцитов (Т-регуляторных (Treg) и интерлейкин-17-продуцирующих лимфоцитов (Th17)), однако роль АФП в регуляции процессов дифференцировки этих клеток ранее была не известна.

Очевидно, что направленная модуляция Th17 имеет огромный терапевтический потенциал, так как эти клетки активно участвуют в развитии аутоиммунных и воспалительных заболеваний. Помимо этого, в настоящее время ведется активный поиск способов воздействия на Treg с целью их использования в иммунотерапии. Treg контролируют иммунный ответ, предупреждая развитие аутоиммунных и аллергических реакций и поддерживая трансплацентарную толерантность [22]. Более того, не обнаружено данных о роли АФП в регуляции Т-клеток иммунологической памяти, формирующихся в процессе аллоиммунизации фетоплацентарными антигенами. Поэтому в рамках проекта было исследовано также влияние нативного АФП на конверсию наивных Т-хелперов в Т-клетки центральной памяти (ТСМ) и эффекторные субпопуляции претерминально дифференцированных (ТЕМ) и терминально дифференцированных (ТЕМРА) Т-клеток памяти.

Таким образом, целью работы являлась оценка влияния АФП на дифференцировку

регуляторных (Treg и Th17) и эффекторных (TEM, TEMRA) субпопуляций в системе *in vitro*. Для достижения поставленной цели изолированные культуры Т-хелперов инкубировали с физиологическими концентрациями нативного препарата АФП (10, 50, 100 МЕ/мл), после чего оценивали фенотипические и функциональные характеристики указанных субпопуляций.

Так, нами показано, что АФП в значительной мере способен регулировать дифференцировку Treg, ограничивающих иммунный ответ на фетоплацентарные антигены [5]. Основным транскрипционным фактором Treg является FOXP3 (forkhead box P3), а функциональная активность этих клеток ассоциирована с поверхностной экспрессией CTLA4 (цитотоксический антиген 4 Т-лимфоцитов). Помимо этого, транскрипционный фактор HELIOS также относится к маркерам активированных Treg [9].

При изучении влияния АФП на дифференцировку Treg мы обнаружили, что АФП в концентрациях 50 и 100 МЕ/мл достоверно угнетал количество не пролиферирующих Treg ($CD4^+FOXP3^+$ и $CD4^+FOXP3^+HELIOS^+$). В то же время АФП не влиял на экспрессию CTLA4 на этих клетках. В опытах по исследованию возможного влияния АФП на экспрессию маркеров Treg пролиферирующими Т-хелперами мы не зарегистрировали достоверного действия АФП. Однако наблюдалась тенденция к усилению экспрессии FOXP3 в культурах с АФП при использовании его концентрации, равной 10 мкг/мл. По-видимому, выявленные различия в реализации эффектов АФП в зависимости от пролиферативного статуса лимфоцитов $CD4^+$ определяются разной экспрессией и аффинностью рецепторов для АФП на активированных клетках.

В отношении Th17 было установлено, что АФП не оказывал достоверного влияния на уровень этих клеток в культуре ($CD4^+ROR-\gamma t^+$) и не влиял на пролиферацию этих клеток, оцениваемую по экспрессии Ki-67. При оценке цитокинового профиля установлено, что АФП не влиял на

уровни IL-4, IL-5, IL-7, IL-8, IL-10, IL-17, IFN- γ и TNF- α , но в концентрациях 50 и 100 МЕ/мл повышал продукцию IL-2 активированными Т-хелперами. В то же время, АФП подавлял синтез G-CSF и GM-CSF (10 МЕ/мл), но стимулировал продукцию хемокинов CCL4/MIP-1 β (100 МЕ/мл) и CCL2/MCP-1 (10 и 50 МЕ/мл). Таким образом, в основном, не выявлено эффектов АФП в регуляции пролиферации и дифференцировки Th17, тем не менее, продемонстрированы новые аспекты действия АФП в отношении регуляции цитокинового профиля активированных Т-хелперов [3].

При изучении роли АФП в регуляции Т-клеток иммунной памяти было показано, что белок препятствовал конверсии наивных Т-хелперов в эффекторные субпопуляции Т-клеток памяти (TEM: $CD45RA^-CD45RO^+CD62L^-$) и TEMRA: $CD45RA^+CD45RO^-CD62L^-$), одновременно снижая суммарную продукцию ИЛ-4 и ИФН- γ исследуемыми клетками [2]. Известно, что TEM поляризованы в отношении продукции цитокинов и других функциональных молекул, а на стадии TEMRA лимфоциты устойчивы к апоптозу и также обладают мощным потенциалом к продукции цитокинов при повторном контакте с антигеном [21]. Очевидно, что снижение процентного содержания этих субпопуляций под влиянием АФП оказывает в ситуации *in vivo* фетопротективный эффект.

В целом, реализация представленного проекта позволила раскрыть ранее неизвестные эффекты АФП и получить приоритетные данные о механизме его действия на уровне регуляторных субпопуляций (рис.). В используемой нами экспериментальной модели не выявлено очевидных эффектов АФП на дифференцировку Treg/Th17 на уровне клеток, полученных от здоровых доноров. Однако установлено, что АФП подавлял эффекторные субпопуляции Т-клеток иммунной памяти (TEM, TEMRA).

Таким образом, мы впервые показали, что АФП не обладает способностью регулировать созревание и функциональную активность заявленных субпопуляций кле-

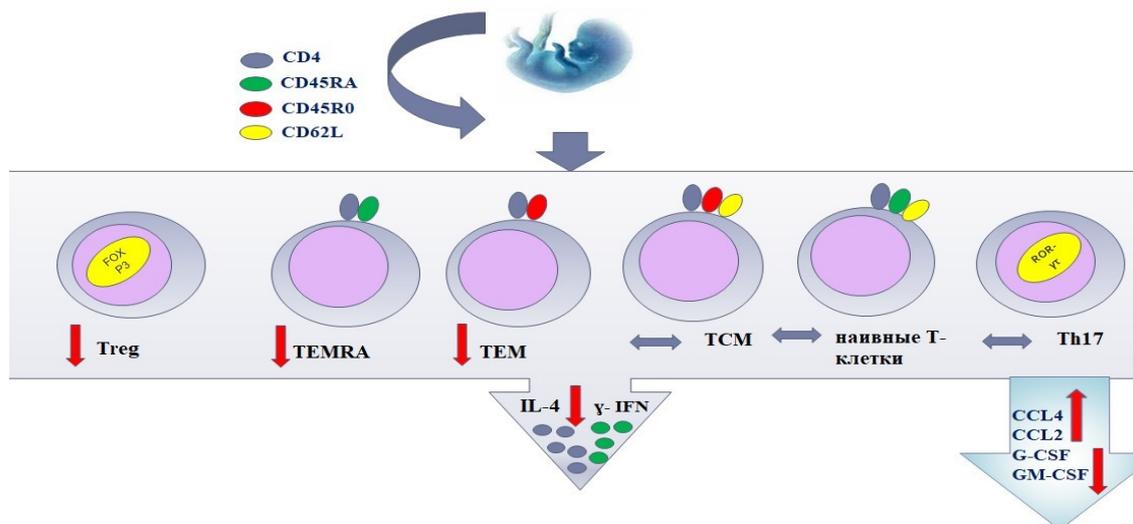


Рис. Итоговая схема полученных эффектов АФП на уровне регуляторных и эффекторных субпопуляций Т-хелперов

Примечание: Treg – Т-регуляторные лимфоциты; Th17 – ИЛ-17 продуцирующие лимфоциты; TCM – Т-клетки центральной памяти; TEM, TEMRA – эффекторные субпопуляции Т-клеток иммунной памяти.

ток, но является одним из факторов, не позволяющих сформироваться и реализоваться иммунному ответу на фетоплацентарные антигены. В целом, полученные данные раскрывают новую роль АФП в формировании иммунной толерантности в период беременности, а также позволяют рассматривать его как потенциальный препарат для подавления клеток иммунной памяти, что может быть необходимо при аутоиммунных заболеваниях, а также при трансплантации клеток, тканей и органов.

В последние годы существенно расширены представления о рецепторном аппарате для АФП. Так, на поверхности клеток выявлены разные типы рецепторов для АФП, отличающиеся аффинностью, связывающей емкостью и, по-видимому, имеющие разное функциональное значение. Известны несколько фракций рецептора с молекулярной массой в пределах 62–65 kDa [15]. При помощи программного обеспечения Serometrix, специализирующегося на выявлении «стыковочных» участков между протеинами, определены предполагаемые рецепторы для С-концевого участка АФП. Предполагается, что С-концевой домен АФП связывается со scavenger-рецепторами (SR) CD36,

CD163, Stabilin, SSC5D, SRB1, SREC и scavenger-ассоциированными рецепторами (SAR) [15]. SR в основном обнаружены на клетках моноцитарно-макрофагального и лимфоцитарного происхождения и в меньшей степени, на эпителиальных и эндотелиальных клетках. Важно, что именно активированные Т-лимфоциты и моноциты периферической крови человека связывают и интернализируют АФП, в то время как интактные клетки не обладают такой способностью [23]. В то же время эмбриональные и опухолевые клетки экспрессируют т.н. «истинный» рецептор для АФП – AFPR («non-scavenger» tumor cell receptor), который позволяет АФП снабжать клетки опухоли питательными веществами и способствовать их пролиферации, по аналогии с эмбриональными тканями [17]. Важным достижением 2017 года стало открытие рецептора для АФП (AFPR) на миелоидных супрессорных клетках (MDSC), поскольку ранее считалось, что AFPR экспрессируется только на эмбриональных и опухолевых клетках [8]. Именно эта субпопуляция клеток станет нашим дальнейшим объектом исследования в контексте изучения иммуномодулирующих эффектов АФП.

В последние 10 лет наблюдается устойчивый рост интереса к MDSC [PUBMED: 2008 (65 статей); 2018 (>500 статей)]. MDSC представляют собой гетерогенную популяцию незрелых миелоидных клеток, которые в норме дифференцируются в макрофаги, гранулоциты и дендритные клетки. Однако при патологических состояниях эти клетки приобретают супрессорный фенотип, подавляя иммунный ответ [12]. MDSC способствуют канцерогенезу, формируя благоприятное для опухолевого роста микроокружение [25]. В то же время, в период нормальной беременности уровень этих клеток также повышается, поскольку возникает необходимость контролировать иммунный ответ на фетоплацентарные антигены [11, 13]. Основные механизмы иммуносупрессорной активности MDSC связаны с экспрессией ряда поверхностных маркеров (CD73, ADAM17, PD-L1), внутриклеточной экспрессией аргиназы 1, iNO-синтазы, индоламин-2,3-диоксигеназы и продукцией ряда цитокинов (IL-10, TGF- β 1) [1, 4].

Относительно недавно стало очевидно, что беременность также сопровождается повышением уровня MDSC. В 2014 г. Kostlin с коллегами продемонстрировали, что экспансия гранулоцитарных MDSC (G-MDSC) наблюдается в пуповинной крови здоровых новорожденных и периферической крови беременных женщин [14]. Учитывая истинную супрессорную функцию этих клеток, было высказано предположение, что эта популяция клеток может способствовать успешной беременности, формируя иммунную толерантность к фетоплацентарным антигенам. Так, Ostrand-Rosenberg с коллегами (2017) показали, что MDSC не только накапливаются в кровообращении и матке мышей после спаривания, но и подавляют активацию и функции Т-клеток у беременных мышей.

При намеренном снижении пула клеток с фенотипом и функцией MDSC наблюдалась дефектная имплантация или резорбция эмбриона, тогда как индукция MDSC восстанавливала успешную беременность и снижала активацию Т-клеток. Предполагается, что MDSC могут быть объединяющим механизмом, способствующим формированию иммунной толерантности, и их индукция может способствовать успешной беременности у женщин, склонным к рекуррентным абортam или неспособности вынашивания плода [11].

Известно также, что G-MDSC накапливаются в плаценте при здоровой беременности, но уменьшаются у пациенток со спонтанными абортam. Плацентарные G-MDSC эффективно подавляют Т-клеточный ответ, одновременно поляризуя CD4⁺-лимфоциты в фенотип Th2 [13]. Авторы предполагают, что G-MDSC играют важную роль в индуцировании и поддержании толерантности к антигенам плода и предлагают рассматривать их как перспективную мишень терапевтического манипулирования при осложнениях беременности.

Учитывая наличие рецептора, очевидно, что АФП реализует свои функции через «управление» MDSC, которые являются истинными супрессорами иммунитета с точки зрения эволюционной биологии. Именно поэтому дальнейшей целью является изучение роли АФП в регуляции дифференцировки и функциональной активности MDSC.

Таким образом, полученные данные расширяют наши представления о формировании иммунной толерантности и роли АФП в этом процессе и могут быть использованы в качестве разработки научно обоснованных технологий коррекции дисбаланса иммунитета, особенно для аутоиммунных заболеваний в виде уже существующего препарата АФП.

Библиографический список

1. Атретханы К.-С.Н., Друцкая М.С. Миелоидные супрессорные клетки и провоспалительные цитокины как мишени терапии рака // Биохимия. – 2016. – Т. 81. – № 11. – С. 1520–1529.
2. Влияние альфа-фетопротейна на конверсию наивных Т-хелперов в эффекторные субпопуляции Т-клеток памяти / Заморина С.А. [и др.] // Доклады академии наук. – 2018. – Т. 482. – №. 4. – С. 1–4.

3. Роль альфа-фетопротеина в регуляции цитокинового профиля активированных Т-хелперов и их конверсии в фенотип Th17 / *Заморина С.А.* [и др.] // Доклады академии наук. – 2019. – Т. 65. – № 4. – С. 347–355.
4. *Пономарев А.В.* Миелоидные супрессорные клетки: общая характеристика // Иммунология. – 2016. – Т. 37. № 1. – С. 47–50.
5. Роль альфа-фетопротеина в дифференцировке регуляторных Т-лимфоцитов / *Черешнев В.А.* [и др.] // Доклады академии наук. – 2017. – Т. 477. – № 4. – С. 248–251.
6. *Черешнев В.А., Родионов С.Ю., Черкасов В.А., Малютина Н.Н., Орлов О.А.* Альфа-фетопротеин. – Екатеринбург: изд-во УрО РАН, 2004. – С. 40–50.
7. *Шмагель К.В.* Иммунитет беременной женщины. – М.: Мед. кн; Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2003. – 226 с.
8. Daunorubicin conjugated with alpha-fetoprotein selectively eliminates myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and inhibits experimental tumor growth / *Belyaev N.N.* [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2018. – Vol. 61. – № 1. – P. 101–111.
9. *Elkord E., Samid A.M., Chaudhary B.* Helios, and not FoxP3, is the marker of activated Tregs expressing GARP/LAP // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 24. – P. 20026–20036.
10. Maternal and Fetal Mechanisms of B Cell Regulation during Pregnancy: Human Chorionic Gonadotropin Stimulates B Cells to Produce IL-10 While Alpha-Fetoprotein Drives Them into Apoptosis / *Fettke F.* [et al.] // *Front Immunol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 1–13.
11. Frontline Science: Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) facilitate maternal-fetal tolerance in mice / *Ostrand-Rosenberg S.* [et al.] // *Leukoc Biol.* – 2017. – Vol. 101. – № 5. – P. 1091–1101.
12. *Gabrilovich D.I.* Myeloid-derived suppressor cells // *Cancer Immunol. Res.* – 2017. – Vol. 5. – № 1. – P. 3–8.
13. Granulocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells Accumulate in Human Placenta and Polarize toward a Th2 Phenotype / *Kostlin N.* [et al.] // *Journal of Immunology.* – 2016. – Vol. 196. – P. 1132–1145.
14. Granulocytic myeloid derived suppressor cells expand in human pregnancy and modulate T-cell responses / *Kostlin N.* [et al.] // *Eur. Immunol.* – 2014. – Vol. 44. – P. 2582–2591.
15. *Mizejewski G.J.* The alpha-fetoprotein third domain receptor binding fragment: in search of scavenger and associated receptor targets // *J. Drug Target.* – 2015. – Vol. 23. – № 6. – P. 538–551.
16. *Mizejewski G.J.* Review of the adenocarcinoma cell surface receptor for human alpha-fetoprotein; proposed identification of a widespread mucin as the tumor cell receptor // *Tumour Biol.* – 2013. – Vol.34. – № 3. – P. 1317–1336.
17. *Mizejewski G.J.* Review of the putative cell-surface receptors for alpha-fetoprotein: identification of a candidate receptor protein family // *Tumor Biol.* – 2011. – Vol. 32. – P. 241–258.
18. *Patel P., Panda P.K., Patil S., Panchal H.* Mutation Based Structural Modelling and Dynamics Study of Alpha Fetoprotein: An Insight to Inhibitory Mechanism in Breast Cancer // *Proteomics Bioinform.* – 2008. – Vol. 11. – № 1. – P. 17–25.
19. *Pardee A.D., Shi J., Butterfield L.H.* Tumor-derived α -fetoprotein impairs the differentiation and T cell stimulatory activity of human dendritic cells // *Immunology.* – 2014. – Vol. 193. – № 11. – P. 5723–5732.
20. *Schumacher A., Costa S.D., Zenclussen A.C.* Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 1–13.
21. *Sallusto F., Geginat J., Lanzavecchia A.* Central Memory and Effector Memory T Cell Subsets: Function, Generation, and Maintenance // *Annu. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 22. P. 745–763.
22. *Saito S., Nakashima A., Shima T., Ito M.* Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2010. – Vol.601. – № 63. – P. 601–610.
23. *Terentiev A.A., Moldogazieva N.T.* Alpha-fetoprotein: a renaissance // *Tumour Biol.* – 2013. – Vol. 34. – № 4. – P. 2075–2091.
24. The effect of trophoblasts on T-lymphocytes: possible regulatory effector molecules—a proteomic analysis / *Dong M.* [et al.] // *Cell Physiol. Biochem.* – 2008. – Vol. 21. – № 5–6. – P. 463–472.
25. The nature of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment / *Kumar V.* [et al.] // *Trends Immunol.* – 2016. – Vol. 37. – P. 208–220.
26. α -Fetoprotein impairs activation of natural killer cells by inhibiting the function of dendritic cells / *Yamamoto M.* [et al.] // *Clin Exp. Immunol.* – 2011. – Vol. 165. – № 2. P. 211–219.

IMMUNOMODULATING EFFECTS OF ALPHA-FETOPROTEIN

V.A. Chereshnev^{1,2}, S.A. Zamorina¹, V.P. Timganova¹, M.S. Bochkova¹, P.V. Khrantsov¹,
K.Yu. Shardina¹, M.B. Rayev¹

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS

² Institute of Immunology and Physiology of the UB RAS

Alpha-fetoprotein (AFP), synthesized by embryonic tissues, enters the bloodstream of a mother performing both transport and immunomodulating functions. The aim of the work is to assess the effect of AFP on the differentiation of regulatory (Treg and Th17) and effector (TEM, TEMRA) subpopulations in vitro. For this, isolated cultures of T-helper cells were incubated with physiological concentrations of the native AFP preparation (10, 50, 100 IU/ml).

In our experimental model, no apparent effects of AFP on Treg/Th17 differentiation were revealed. However, it was found out that AFP impeded the conversion of naive helper T cells into TEM and TEMRA, while simultaneously reducing the total production of IL-4 and IFN- γ cytokines by these cells.

The next task is to study the role of AFP in the regulation of differentiation and functions of myeloid suppressor cells (MDSC). Understanding these processes will expand our vision of the role of AFP in the formation of fetomaternal tolerance, as well as to formulate a new concept of its action as a pharmacological drug.

Keywords: alpha-fetoprotein, regulatory T-cells (Treg), interleukin-17-producing T-cells (Th17), immune memory T-cells, myeloid derived suppressor cells (MDSC), pregnancy.

Сведения об авторах

Черешнев Валерий Александрович, академик РАН, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (ИЭГМ УрО РАН), 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13; профессор кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета, Пермский государственный национальный исследовательский университет (ПГНИУ), 614990, Пермь, ул. Букирева, 15; e-mail: Chereshnev@pigm.uran.ru

Заморина Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета (ПГНИУ); ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, ИЭГМ УрО РАН; e-mail: mantissa7@mail.ru

Тимганова Валерия Павловна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, ИЭГМ УрО РАН; e-mail: timganovavp@gmail.com

Бочкова Мария Станиславовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, ИЭГМ УрО РАН; e-mail: krasnych-m@mail.ru

Храмцов Павел Викторович, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, ИЭГМ УрО РАН; ассистент кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета, ПГНИУ; e-mail: khrantsov Pavel@yandex.ru

Шардина Ксения Юрьевна, инженер, ИЭГМ УрО РАН; e-mail: Shardinak@gmail.com

Раев Михаил Борисович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, ИЭГМ УрО РАН; профессор кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ПГНИУ; e-mail: mraev@iegm.ru

Материал поступил в редакцию 23.10.2019 г.