

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 615.272.4.014.24.015.4

Шершакова Н.Н., Андреев С.М., Шабанова Д.Д., Макарова Э.А., Барабошкина Е.Н., Хайтов М.Р.

### ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНОЙ ДИСПЕРСИИ ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub>

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, 115478, г. Москва

Фуллерен C<sub>60</sub> как сильный антиоксидант представляет собой перспективную субстанцию для создания лекарственных препаратов, в том числе в качестве противовоспалительного средства. Существенный недостаток водного раствора (дисперсия наночастиц) фуллерена C<sub>60</sub> (ВРФ), гипотоничность среды и риск его использования для парентерального введения ввиду возможного гемолиза эритроцитов в гипотонической среде. Цель исследования – сравнить гемолитическую активность двух разработанных нами C<sub>60</sub>-препараторов: ВРФ, где средой является деионизованная вода, и водно-солевой дисперсии фуллерена (СВРФ), в которой среда фосфатный буфер. Установлено, что лизитическая активность ВРФ была заметно выше, чем у СВРФ, причем основной вклад в нее давала вода. Сам фуллерен имеет небольшой вклад, хотя степень гемолиза клеток зависела и от концентрации C<sub>60</sub>. Максимальная концентрация C<sub>60</sub> (100 мкг/мл) приводила к 25% лизису, ниже 50 мкг C<sub>60</sub>/мл давала 3–15% лизис. Таким образом, препарат СВРФ при парентеральном введении по эти параметрам более физиологичен по сравнению с ВРФ.

Ключевые слова: фуллерен C<sub>60</sub>; гемолитическая активность; эритроцит; водно-солевая дисперсия фуллерена C<sub>60</sub>.

Для цитирования: Шершакова Н.Н., Андреев С.М., Шабанова Д.Д., Макарова Э.А., Барабошкина Е.Н., Хайтов М.Р. Изучение гемолитической активности водной дисперсии фуллерена C<sub>60</sub>. Иммунология. 2016; 37 (4): 212-215. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-4-212-215

Shershakova N.N., Andreev S.M., Shabanova D.D., Makarova E.A., Baraboshkina E.N., Khaitov M.R.

### STUDY OF AQUEOUS FULLERENE C<sub>60</sub> DISPERSION HEMOLYTIC ACTIVITY

NRC Institute of Immunology FMBA, 115478, Moscow

Fullerene C60 as a powerful antioxidant substance is promising for drug development, including as anti-inflammatory agents. A major shortcoming of aqueous C<sub>60</sub> fullerene solution (nanoparticles dispersion) of (AFS) is a hypotonic environment and hence a risk for its use at parenteral administration because of the possible hemolysis of red blood cells in such medium. The aim of this study was to compare the hemolytic activity of two C<sub>60</sub> preparations developed: AFS solved in deionized water, and SAFS solved in a phosphate buffer. It was found that the AFS lytic activity was markedly higher than that of SAFS, where water the main contribution it gave water. The C<sub>60</sub> itself has a small contribution in the activity, although the degree of cell hemolysis was depended on the C<sub>60</sub> concentration. The maximum concentration of C<sub>60</sub> (100 ug/ml) resulted in 25% lysis, if it was lower than 50 ug/ml the lysis was 3–15%. Thus, the SAFS is a more preferable compared to VRF bearing in mind a parenteral administration.

Ключевые слова: fullerene C<sub>60</sub>; гемолитическая активность; эритроцит; saline-buffered solution of C<sub>60</sub>.

Citation: Shershakova N.N., Andreev S.M., Shabanova D.D., Makarova E.A., Baraboshkina E.N., Kaitov M.R. Study of aqueous fullerene C<sub>60</sub> dispersion hemolytic activity. Immunologiya. 2016; 37 (4): 212-215. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-4-212-215

For correspondence: Shershakova Nadezhda Nikolaevna, E-mail: nn.shershakova@nrcii.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. This work was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, in the framework of the Federal Target Program “Research and development in priority areas of Russian scientific and technological complex for 2014–2020” (№ 14.604.21.0059 agreement dated June 27, 2014 a unique identifier for Applied Scientific Research (project) RFMEFI60414X0059).

Received 03.02.16

Accepted 18.02.16

## Введение

Наноразмерные материалы активно вовлекаются в биологические и медицинские исследования, среди которых чисто углеродные структуры занимают особое место ввиду их интересных характеристик, среди которых высокая липофильность, мощная электронно-акцепторная активность и легкая поляризуемость молекул, что определяет их многие биологические эффекты. Фуллерен C<sub>60</sub>, сферическая 60-атомная

углеродная молекула, открытая в 1985 г., – мощный антиоксидант, способный *in vivo* и *in vitro* эффективно инактивировать свободные радикалы и активные формы кислорода [1]. Это свойство делает фуллерен перспективным терапевтическим средством для лечения аллергии и других воспалительных заболеваний, связанных с окислительным стрессом. Эксперименты на животных показывали, что фуллерен способен снижать аллергические реакции, ослаблять анафилактический шок и дегрануляцию тучных клеток, ведущих к выбросу эффекторов воспаления; он имеет хорошие перспективы как препарат против атопического дерматита и как ранозаживающее средство, а также как контрастирующий агент для

Для корреспонденции: Шершакова Надежда Николаевна,  
E-mail: nn.shershakova@nrcii.ru

MPT [2–4]. Известна и его заметная антиэйджинг-активность – введение  $C_{60}$  в рацион питания животных позволяло существенно продлевать срок их жизни [5]. Все эти ожидаемые применения фуллерена предполагают разнообразные пути его введения в организм: пероральный, инъекционный, наружный, внутрикожный, аэрозольный. Поведение наночастиц в организме еще плохо изучено. Их агрегатное состояние, размер, форма, поверхностная активность, заряд могут оказывать существенное влияние на физиологические функции клеток и вызывать токсические эффекты [6]. При внутривенном введении первой мишенью становятся клетки крови, в том числе и эритроциты. Анализ гемолитической активности – показательный тест в отношении цитотоксичности препарата, если он связан с воздействием на клеточную мембрану.

Биомедицинское применение фуллеренов требует их перевода в водную среду. С этой целью обычно проводят перенос фуллерена из органического раствора (бензол, толуол, тетрагидрофuran) в водную фазу с применением ультразвука с одновременным удалением органического растворителя в результате нагрева [7, 8]. В результате образуется коллоидный раствор от желтого до бордово-коричневого цвета в зависимости от концентрации, содержащий гидратированные агрегаты из молекул  $C_{60}$ , размер которых зависит от особенностей метода и колеблется в нанометровом диапазоне (10–1000 нм). Однако используемые органические растворители – токсичные и биологически несовместимые вещества. Несмотря на ряд манипуляций по их удалению, полностью избавиться от них трудно ввиду специфического взаимодействия с молекулами фуллерена. Кроме того, ультразвуковая обработка обычно приводит к окислению фуллерена.

Ранее мы описали простой и биосовместимый метод получения стабильного водного раствора (дисперсии) фуллерена  $C_{60}$  (ВРФ), основанный на диализе раствора  $C_{60}$  в N-метилпирролидоне, разбавленного водой [9]. В *in vivo* экспериментах на модели атопического дерматита нами отмечено, что ВРФ значительно снижает аллергическое воспаление и в определенной степени восстанавливает функцию кожного барьера [10].

В настоящей работе мы провели исследования указанного ВРФ в отношении его гемолитической активности, которая является важным токсикологическим параметром. Изучили препараты ВРФ, полученные как на основе дистilledированной воды, так и на основе фосфатно-солевого буфера (ФСБ).

## Материал и методы

**Материалы.** Фуллерен  $C_{60}$  (Sigma-Aldrich, 99,9%), N-метилпирролидон (МП) (Sigma-Aldrich, 99%), природные L-аминокислоты (Fluka), ФСБ таблетки (ПанЭко) 0,05 М с pH 7,4, плуроник F-127 (Sigma-Aldrich), L-аланин (Ala) (Fluka). Для диализа применяли трубки SpectraPor, 6–8 кДа (Spectrum Laboratories, Inc.), для фильтрации дисперсий – одноразовые стерильные ацетатные шприцевые фильтры 0,45 мкм (Corning Inc.).

**Водная дисперсия фуллерена (ВРФ).** Фильтрованный раствор 20 мг кристаллического  $C_{60}$  в 25 мл МП смешивали с 50 мл дистilledированной воды, содержащей 40 мг L-Ala. Полученный темно-красный прозрачный раствор перемешивали 1 ч и затем подвергали исчерпывающему диализу против дистilledированной воды. Диализат пропускали через 0,45 мкм фильтр и в результате получали прозрачный светло-коричневый раствор, который хранили при температуре 10°C, защищенным от света. Для расчета концентрации фуллерена в растворе использовали поглощение фуллерена  $C_{60}$  при 340 нм ( $\epsilon^{340}$  46452) [11]. УФ-спектр имеет характерные для водных дисперсий фуллерена пики: 218, 263 и 341 и широкое слабое плечо в области 450 нм.

**Водно-солевая дисперсия фуллерена  $C_{60}$  (СВРФ)** – вариант ВРФ, отличающийся от последней лишь тем, что средой

для наночастиц является ФСБ. Темно-оранжевый раствор, СВРФ, содержит 117 мкг  $C_{60}$ /мл.

**Гемолитическая активность.** Оценку гемолитической активности проводили по следующей схеме. Свежевзятую пробу крови от здорового донора (с гепарином) разбавляли ФСБ, эритроциты осаждали центрифугированием (1500 об/мин), после чего отмывали три раза тем же раствором. Соответствующее количество суспензии эритроцитов смешивали с растворами фуллерена, ВРФ или СВРФ при разной его концентрации (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 мкг/мл). После инкубации в течение 30 мин при 37°C смесь центрифugировали (5 мин., 1500 об/мин) и измеряли оптическую плотность (ОП) супернатанта при 492 нм. Процент лизиса рассчитывали относительно оптической плотности для 100% лизиса эритроцитов, полученной при 30 мин инкубации эритроцитов в дистilledированной воде. Лизис, наблюдавшийся в ФСБ, считали отрицательным контролем. Тогда процент лизиса (К) рассчитывали формуле:

$$K = (E - C):(M - C) \cdot 100,$$

где E – оптическая плотность тестируемого образца, C – оптическая плотность отрицательного контроля (ФСБ), M – оптическая плотность после лизиса в дистilledированной воде.

Обработку результатов при сравнении групп проводили с использованием программы Statistica 8.0 (Stat Soft Inc., США), причем статистическую значимость устанавливали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Значения *p* ≤ 0,05 принимались как статистически значимые.

## Результаты и обсуждение

Наночастицы – новый класс биомедицинских продуктов. Они, как и любые другие потенциальные лекарственные соединения, должны проходить тесты на физиологическую совместимость. Гемолитическая активность – очень важная составляющая доклинических испытаний. Однако принятых протоколов для испытаний фуллереновых наночастиц пока не существует [12]. Информация, касающаяся эффектов продуктов фуллерена на эритроциты, на сегодняшний день очень скучна. В 2004 г. итальянские исследователи изучали эффекты ряда водорастворимых фуллерен-пирролидиновых производных на эритроциты человека и обнаружили, что катионные соединения вызывают 40–50% лизис в концентрации 20–60 мкг/мл в течение 30 мин, в то время как анионные про-

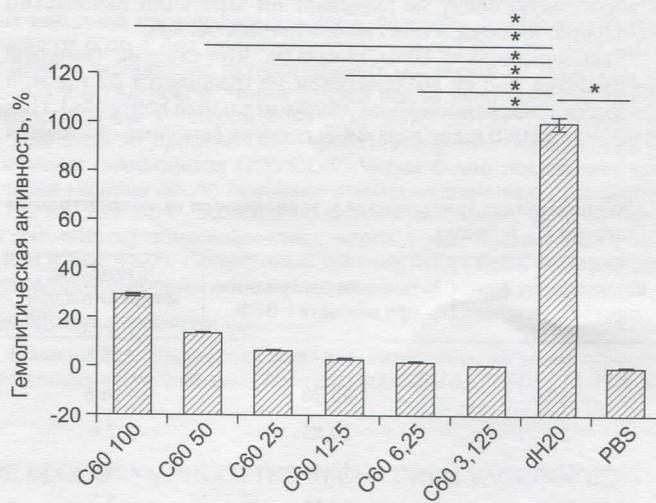


Рис. 1. Изменение степени гемолиза эритроцитов ( $M \pm m$ ) в зависимости от концентрации водной дисперсии.

\* – достоверное отличие, *p* < 0,05.

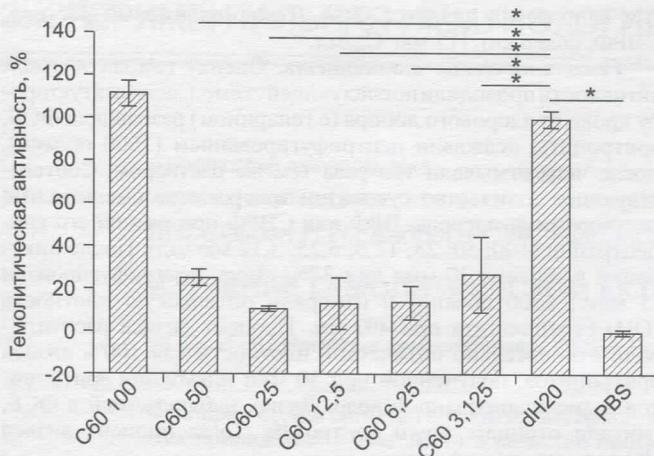


Рис. 2. Изменение степени гемолиза эритроцитов ( $M \pm m$ ) в зависимости от концентрации СВРФ.

\* – достоверное отличие,  $p < 0,05$ .

Степень гемолиза эритроцитов в зависимости от концентрации фуллерена C<sub>60</sub> и среды.

изводные (карбоксилаты) не вызывают гемолиз даже в концентрации 80 мкг/мл [13]. В другой работе отмечено, что водный раствор немодифицированного фуллерена (~5 мкг/мл) в гипотонической среде вызывал заметный гемолиз уже через 20 с, тогда как в физиологической среде (0,5–20 мкг C<sub>60</sub>/мл) он отсутствовал [14].

ВРФ, использованная в данной работе, представляет собой бессолевую водную дисперсию наночастиц, сформированную из молекул C<sub>60</sub> в форме комплекса с МП (1:1), окруженных прочной оболочкой из молекул воды (C<sub>60</sub>/H<sub>2</sub>O = 1:5±10) [8]. СВРФ имеет сходную с ВРФ структуру, но отличается тем, что средой для фуллереновых наночастиц оказывается ФСБ, содержащий в низкой концентрации нетоксичный амфи菲尔ный полимер плuronik F-127. Такой раствор является изотоническим по отношению к физиологической среде и пригоден для парентерального ведения.

Предварительно мы установили, что внесение ВРФ в сывороточную среду не вызывает ни агрегации наночастиц фуллерена, ни осаждения сывороточных белков.

Эксперименты с ВРФ показали, что степень гемолиза эритроцитов под ее воздействием не отличается от таковой для дистиллированной воды (положительный контроль). При разведении ВРФ в два раза ФСБ степень гемолиза снижается

#### Степень гемолиза эритроцитов в зависимости от концентрации фуллерена C<sub>60</sub> и среды

Концентрация фуллерена C <sub>60</sub> , мкг/мл	% гемолиза эритроцитов при контакте с ВРФ	% гемолиза эритроцитов при контакте с ВСДФ
100	111,35	25,8
50	25,30	14,6
25	10,85	7,6
12,5	13,46	4,4
6,25	14,16	2,3
3,12	27,21	0,5
dH <sub>2</sub> O	100	100
PBS	0	0

и остается примерно на таком же уровне и при последующих разведениях (рис. 1).

Это означает, что степень гемолиза зависит от концентрации соли, а не от концентрации фуллерена.

Водно-солевая дисперсия СВРФ разработана нами именно с целью совместимости с физиологической средой. Использование ФСБ как среды для фуллерена позволяет оценить его истинную гемолитическую активность, нивелируя фактор дистиллированной воды. Оценка активности СВРФ при использовании различных концентраций фуллерена (двоичное разведение от 100 до 3,12 мкг/мл) позволило установить, что повышение концентрации фуллерена согласовано повышает уровень лизиса эритроцитов, достигая максимума ~26% при максимальной концентрации фуллерена 100 мкг/мл (рис. 2).

В таблице представлены данные по степени гемолиза в зависимости от концентрации фуллерена C<sub>60</sub> и среды.

Таким образом, установлено, что основной вклад в гемолитическую активность препарата СВРФ дает сама вода. В то же время на примере препарата СВРФ мы установили вклад самого фуллерена C<sub>60</sub>, а именно его наночастиц в лизис эритроцитов. При максимальной концентрации (100 мкг/мл) он составляет примерно четверть от степени гемолиза клеток в воде. Гемолиз при концентрации C<sub>60</sub> от 50 мкг/мл и менее незначительный. Данный результат говорит о том, что препарат СВРФ более физиологичен по сравнению с ВРФ в отношении парентерального введения. Однако, учитывая высокую буферную емкость крови, внутривенное введение даже препарата ВРФ (небольших объемов) не должно оказывать существенного влияния на эритроциты. И это подтверждено нами в экспериментах по анализу острой токсичности ВРФ.

#### Заключение

Мы изучили гемолитическую активность наночастиц фуллерена C<sub>60</sub> в бессолевой и солевой средах в зависимости от их концентрации. Установлено, что в лизирующую активность препарата ВРФ основной вклад вносит сама вода. Солевой раствор фуллерена не вызывает заметного гемолиза в диапазоне до 100 мкг/мл. Он может быть использован для изучения эффектов фуллерена как в системах *in vitro*, так и *in vivo*. Взаимодействие наночастиц с клетками, очевидно, в первую очередь определяется структурой их поверхности. Как установлено нами ранее, наночастицы в ВРФ имеют размер 80–100 нм, они содержат гидрофильный компонент МП и, по всей видимости, окружены прочной связанный «шубой» из молекул воды, которая не удаляется даже при интенсивном высушивании ВРФ [9]. Можно предположить, что наличие такой оболочки должно в известной степени затруднять непосредственное и быстрое воздействие фуллерена на мембрану клетки, тем самым ослабляя его цитотоксический эффект, отмеченный ранее для C<sub>60</sub> в форме водного раствора [14].

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, в рамках ФЦП «Исследования и разработка по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение № 14.604.21.0059 от 27 июня 2014, уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI60414X0059).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Башкатова Е.Н., Андреев С.М., Шершакова Н.Н., Бабахин А.А., Шиловский И.П., Хайтов М.Р. Изучение модулирующей активности производных фуллерена C<sub>60</sub> на реакцию гиперчувствительности замедленного типа. *Физиология и патология иммунной системы*. 2012; (2): 17–27.
- Андреев С.М., Пургина Д.Д., Башкатова Е.Н., Гаршев А.В., Маэрле А.В., Хайтов М.Р. Эффективный способ получения водных нанодисперсий фуллерена C<sub>60</sub>. *Российские нанотехнологии*. 2014; (7–8): 11–7.

## REFERENCES

- Krustic P.J., Wasserman E., Keizer P.N. et al. Radical reactions of C60. *Science*. 1991; 254: 1183–5.
- Magoulas G.E., Garnelis T., Athanassopoulos C.M et al. Synthesis and antioxidant/anti-inflammatory activity of novel fullerene-polyamine conjugates. *Tetrahedron*. 2012; 68 (35): 7041–9.
- Yudoh K., Karasawa R., Masuko K., Kato T. Water-soluble fullerene (C60) inhibits the development of arthritis in the rat model of arthritis. *Int. J. Nanomed.* 2009; 4: 217–25.
- Bashkatova E.N., Andreev S.M., Shershakova N.N., Babakhin A.A., Shilovskiy I.P., Khaitov M.R. Study of modulating activity of C60 fullerene derivatives on hypersensitivity reaction. *Fiziologiya i patologiya imunnoy sistemy*. 2012; (2): 17–7. (in Russian)
- Baati T., Bourasset F., Gharbi N., Njin L., Abderrabba M., Kerkeni A. et al. The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of [60] fullerene. *Biomaterials*. 2012; 33: 4936–46.
- Johnston H.J., Hutchison G.R., Frans M., Christensen F.M., Aschberger K., Stone V. The biological mechanisms and physicochemical characteristics responsible for driving fullerene toxicity. *Toxicol. Sci.* 2010; 114: 162–82.
- Deguchi Sh., Mukai S.-A. Top-down preparation of dispersions of C60 nanoparticles in organic solvents. *Chem. Lett.* 2006; 35 (4): 396–7.
- Andrievsky G.V., Kosevich M.V., Vovk O.M., Shelkovsky V.S., Vashchenko L.A. On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes. *J. Chem. Soc.* 1995; (12): 1281–2.
- Andreev S., Purgina D., Bashkatova E., Garshev A., Maerle A., Andreev I. et al. Study of fullerene aqueous dispersion prepared by novel dialysis method. Simple way to fullerene aqueous solution. *Fullerenes, Nanotubes Carbon Nanostruct.* 2015; 23 (9): 792–800.
- Sershakova N., Baraboshkina E., Andreev S., Purgina D., Struchkova I., Kamysnikov O. et al. Anti-inflammatory effect of fullerene C<sub>60</sub> in a mice model of atopic dermatitis. *J. Nanobiotechnol.* 2016; (14): 8. doi: 10.1186/s12951-016-0159-z.
- Andreev S.M., Purgina D.D., Bashkatova E.N., Garshev A.V., Maerle A.V., Khaitov M.R. An effective way to obtain water nanodispersions C60. *Rossiyskiye nanotekhnologii*. 2014; (7–8): 11–7. (in Russian)
- Dobrovolskaya M.A., Clogston J.D., Neun Barry W., Hall J.B., Patri A.K., McNeil S.E. Method for analysis of nanoparticle hemolytic properties *in vitro*. *Nano Lett.* 2008; (8): 2180–7.
- Bosi S., Feruglio L., Da Ros T., Spalluto G., Gregoretti B., Terdovslavich M. et al. Hemolytic effects of water-soluble fullerene derivatives. *J. Med. Chem.* 2004; 47: 6711–5.
- Shpakova N.M., Nipot O.S., Ishchenko I.O., Prilutska S.V., Bohutska K.I., Cherepanov V.V. et al. Effect of C60 fullerene on viscoelastic properties of human erythrocytes membrane. *Fiziol. Zh.* 2014; 60 (5): 82–8.

Поступила 03.02.16

Принята в печать 18.02.16

## КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 615.371.015.46-053.2

Топтыгина А.П.<sup>1</sup>, Семикина Е.Л.<sup>2</sup>, Аleshkin В.А.<sup>1</sup>

### ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ НА ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ДЕТЕЙ, ПРИВИТЫХ И РЕВАКЦИНИРОВАННЫХ «ПРИОРИКСОМ»

<sup>1</sup>Лаборатория цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва; <sup>2</sup>централизованная клинико-диагностическая лаборатория, ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

У 25 детей в возрасте от 1 года до 2 лет, привитых вакциной против вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита «Приорикс» (группа 1), и 24 детей в возрасте от 6 до 7 лет, ревакцинированных той же вакциной (группа 2), методом проточной цитофлюорометрии оценивали экспрессию активационных маркеров на лимфоцитах периферической крови до введения вакцины и через 1 и 6 нед после. Через 7 дней после вакцинации в группе 1 отмечали значимое увеличение количества активированных хеллеров (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>hi</sup>) и лимфоцитов с фенотипом поздней активации CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>. При этом экспрессия CD38 и CD122 значительно повышалась на субпопуляции CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> и снижалась на цитотоксических лимфоцитах CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>. Через 6 нед показатели возвращались к исходному уровню. В группе 2 также через неделю после прививки отмечали значимое повышение CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>hi</sup> и снижение экспрессии CD122 на CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, возвращающиеся к исходному уровню через 6 нед. Активация клеток врожденного иммунитета (NK-клеток) обнаруживалась через 1 нед после вакцинации независимо от типа иммунного ответа (первичный или вторичный). Полученные данные могут быть полезны для мониторинга иммунного ответа на вакцину у иммунокомпрометированных пациентов.

Ключевые слова: вакцинация; маркеры активации; корь; краснуха; паротит.

Для цитирования: Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Аleshkin В.А. Экспрессия маркеров активации на лимфоцитах периферической крови детей, привитых и ревакцинированных «Приориксом». Иммунология. 2016; 37 (4): 215–218.  
DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-4-215-218

Toptygina A.P.<sup>1</sup>, Semikina E.L.<sup>2</sup>, Aleshkin V.A.<sup>1</sup>

### MARKERS OF ACTIVATION EXPRESSION ON THE BLOOD LYMPHOCYTES IN CHILDREN VACCINATED WITH PRIORIX

<sup>1</sup>G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Scientific Center of Children's Health, Moscow, Russia

Для корреспонденции: Топтыгина Анна Павловна, д-р мед. наук, E-mail: toptyginaanna@rambler.ru