

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ IL-28В У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2017 г. Л. В. Ганковская<sup>1</sup>, Л. С. Намазова-Баранова<sup>2</sup>, О. А. Свитич<sup>1</sup>,  
Б. Г. Брагвадзе<sup>1</sup>, А. А. Алексеева<sup>2</sup>, В. А. Ганковский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАУ Национальный научно-практический центр здоровья детей Минздрава России, Москва, Россия

В настоящей работе проведено исследование важного противовирусного цитокина – IL-28В на уровне экспрессии гена и выработки молекулы в слизистой оболочке полости носа у больных бронхиальной астмой (БА) разной степени тяжести. У детей с легкой степенью БА увеличение экспрессии гена соответствовало увеличению выработки IL-28В. В то же время у пациентов со средней и тяжелой БА наблюдалась обратная зависимость, когда значительное увеличение экспрессии гена приводило к снижению синтеза IL-28В. При этом выявлено значительное увеличение содержания провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF $\alpha$  в назальных смывах у больных с тяжелой формой БА. Дисбаланс в локальном уровне цитокинов в слизистой полости носа, сопровождающийся увеличением выработки провоспалительных цитокинов и снижением противовирусного цитокина IL-28В может являться важнейшим этиопатогенетическим звеном как формирования самой БА, так и ее вирус-индуцированных осложнений.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, интерфероны, IFN- $\lambda$ , IL-28В, провоспалительные цитокины, TLR-9, экспрессия генов, слизистая оболочка полости носа

### ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) – одно из наиболее распространенных аллергических заболеваний человека, характеризующееся развитием хронического воспаления нижних дыхательных путей, гиперреактивностью бронхов, гиперсекрецией слизи и отеком слизистой оболочки бронхов. На современном этапе исследования сосредоточены на углубленном изучении патогенеза БА, в частности, на механизмах врожденного иммунитета и поиску новых подходов

в диагностике, профилактике и лечении БА. Тяжелые обострения БА возникают вследствие ОРВИ. Наиболее выражено это проявляется у детей. Около 85% всех обострений у детей провоцируется респираторными вирусами, (респираторно-синцитиальным вирусом, риновирусом, вирусом гриппа) [1].

Система интерферонов (IFNs) представляет первую линию защиты клеток от вирусной инфекции, значительно опережающую синтез специфических антител и других факторов иммунитета [2]. В отличие от антител, IFNs

**Адрес:** 123557, Россия, Москва, Зоологический пер., д. 8, кв. 100, Ганковская Людмила Викторовна. Тел.: 8-926-702-78-30 (моб.). **E-mail:** lvgan@yandex.ru

#### Авторы:

**Ганковская Л. В.**, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Намазова-Баранова Л. С.**, д.м.н., профессор, академик РАН, заместитель директора по науке ФГАУ Национальный научно-практический центр здоровья детей Минздрава России, Москва, Россия;

**Свитич О. А.**, д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор кафедры иммунологии Медико-биологического

факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Брагвадзе Б. Г.**, аспирант кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Алексеева А. А.**, к.м.н., заведующая отделением восстановительного лечения детей с аллергическими болезнями и заболеваниями органов дыхания ФГАУ Национальный научно-практический центр здоровья детей Минздрава России, Москва, Россия;

**Ганковский В. А.**, к.м.н., старший научный сотрудник отдела стационаро-замещающих технологий и семейной реабилитации ФГАУ Национальный научно-практический центр здоровья детей Минздрава России, Москва, Россия;

ингибируют внутриклеточные этапы репродукции вирусов в зараженных клетках и обеспечивают невосприимчивость к вирусам окружающих здоровых клеток.

В настоящее время активно исследуется семейство интерферонов III типа (IFN- $\lambda$ ), включающее IFN- $\lambda$ 1, IFN- $\lambda$ 2, IFN- $\lambda$ 3, которые известны также как IL-29, IL-28A, IL-28B [3].

Представители семейства IFN- $\lambda$  обладают иммуномодулирующим эффектом на факторы врожденного и адаптивного иммунитета: стимулируют Th1-опосредованный ответ, повышают цитотоксичность T- и NK клеток [2]. Рецепторы IFN- $\lambda$ R1 определяются преимущественно на клетках эпителиальных тканей [4]. IFN- $\lambda$  продуцируется при активации вирусной инфекцией специфических паттернраспознающих рецепторов, в частности, TLRs и RIG-рецепторов. [2, 5, 6]. Известна роль TLR3, TLR7, TLR8 в индукции выработки, IFN- $\lambda$  под действием вирусов у больных БА [7].

В последние годы исследуется роль IL-28B как медиатора врожденного иммунитета в патогенезе вирусиндуцированной астмы. Contoli с соавторами выявили дефицит выработки IFN- $\lambda$  при действии риновирусов и ЛПС на клетки респираторного тракта пациентов с тяжелой формой БА [1].

Однако, практически отсутствуют данные об участии IL-28B в механизмах атопической астмы, сопровождающейся частыми ОРВИ.

**Цель:** анализ экспрессии генов IL-28B, TLR9, и также выработки IL-28B, провоспалительных цитокинов у детей с БА разной степени тяжести.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 63 пациента с бронхиальной астмой в возрасте от 3-х до 10-ти лет, находившихся на обследовании в отделении аллергологии ФГАУ «ННПЦЗД» Министерства здравоохранения России. Критерием для включения в исследование явилось наличие у детей установленного диагноза бронхиальная астма, отсутствие на момент исследования вирусной инфекции, острых воспалительных заболеваний. Контрольную группу составили 16 здоровых детей того же возраста.

Исследуемые пациенты были поделены на 3 группы, в зависимости от степени тяжести. 35 пациентов с установленным диагнозом БА легкой степени тяжести вошли в группу I.

Группа II включала 13 детей с БА средней степени тяжести, а группа III – 15 детей с тяжелой формой астмы. Диагноз устанавливался в соответствии с критериями GINA (2016 г.).

Первые клинические проявления БА пришли на возраст до 5 лет, чему предшествовали рецидивирующие обструктивные бронхиты. В настоящее время, несмотря на установленный диагноз атопическая БА у 100% детей со средней и тяжелой степенью отмечаются частые ОРВИ, приводящие к обострению БА.

В качестве исследуемого материала в работе были использованы соскобы слизистой оболочки полости носа, полученные с помощью «цитощётки» тип D и смывы из полости носа [8]. Выбор биологического материала обусловлен рядом причин. В первую очередь был использован малоинвазивный метод диагностики, который пригоден для широкого клинического применения в педиатрической практике. Помимо этого, давно отмечена патогенетическая связь БА и аллергического ринита. Эти заболевания часто сопутствуют друг другу у одних и тех же пациентов. Аллергический ринит – это распространенное недомогание, непосредственно влияющее на развитие астмы, что отражается в концепции ВОЗ «одни дыхательные пути – одно заболевание».

### *Определение IL-28B в назальных смывах*

Для определения концентрации IL-28B в назальных смывах применяли набор для иммуноферментного определения IL-28B человека ELISA Kit for Interleukin 28B (Cloud-Clone Corp., USA) «Сэндвич»-методом строго по протоколу фирмы-производителя.

### *Оценка экспрессии генов TLR9 и IL-28B*

Для оценки экспрессии генов TLR9, IL-28B проводился метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в амплификаторе ДТ-96. Из соскобов со слизистой оболочки выделяли общую РНК методом аффинной сорбции на частицах силикагеля, используя набор для выделения РНК «Ампли ПРАЙМ Рибосорб» (ИнтерЛабСервис, РФ) по инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием «Набора для проведения реакции обратной транскрипции» (Синтол, РФ) для синтеза первой цепи ДНК на матрице РНК интересующего гена (TLR9, IL-28B) для последующего определения числа копий с помощью ПЦР в реальном времени.

Реакцию проводили с применением «Набора реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBRGreenI» и праймеров, синтезированных на фирме «Синтол», РФ. Количество копий кДНК исследуемых генов рассчитывалось относительно  $1 \times 10^6$  копий кДНК гена  $\beta$ -актина. В рисунках представлено абсолютное количество копий кДНК исследуемого гена.

#### Определение провоспалительных цитокинов в назальных смывах

Для определения содержания цитокинов (IL-1-b, IL-6, TNF $\alpha$ ) в назальных смывах проводили мультиплексный иммунофлуоресцентный анализ (Bio-Plex MAGPIX Multiplex Reader, USA), с помощью набора Bio-Plex Pro Assays строго по протоколу фирмы-производителя. Перед исследованием все пробы доводили до комнатной температуры (18-25 °С), аккуратно перемешивали и проводили оценку содержания белка на микроспектрофотометре NanoDrop™ 2000. В качестве материала исследования для проведения иммунофлуоресцентного анализа были использованы смывы со слизистой полости носа пациентов с БА и здоровых детей. Для получения назального смыва в носовую ход вводили по 1 мл теплого стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Промывную жидкость собирали в одну стерильную пробирку. Содержание цитокинов представлено в пикограммах в пересчёте на миллиграмм белка.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6. Данные представлены в виде медианы и 25-75 перцентилей. Достоверные различия между исследуемыми группами рассчитывали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Достоверными считались данные с коэффициентом  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе проведено определение содержания IL-28В в смывах из полости носа у детей с БА. У больных легкой степени тяжести выявлено достоверное увеличение содержания IL-28В в назальных смывах (54,5 (20,8-77,5) пг/мг) в 4,5 раза превышающее показатели группы контроля (11,9 (10,8-12,7) пг/мг). При этом у пациентов БА средней степени тяжести содержание IL-28В составило 15,1

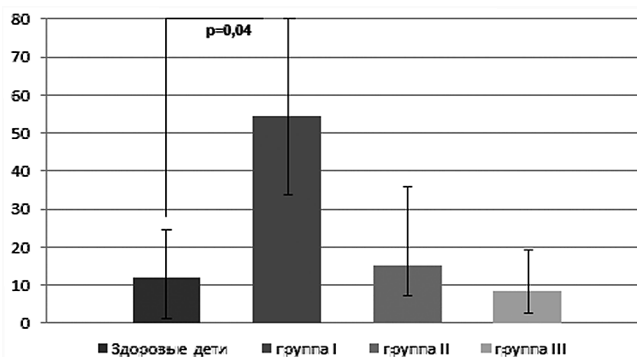


Рис. 1. Содержание IL-28В в смывах со слизистой полости носа у здоровых детей и больных бронхиальной астмой. По оси ординат: содержание IL-28В в пг на мг белка. По оси абсцисс – исследуемые группы

(8,1-20,8) пг/мг, что сопоставимо с показателем у здоровых детей. В группе больных БА тяжелой степени (8,4 (6-10,9) пг/мг) выявлена тенденция к снижению концентрации IL-28В в сравнении с показателями пациентов с легкой и среднетяжелой БА, а также с контролем (рис. 1).

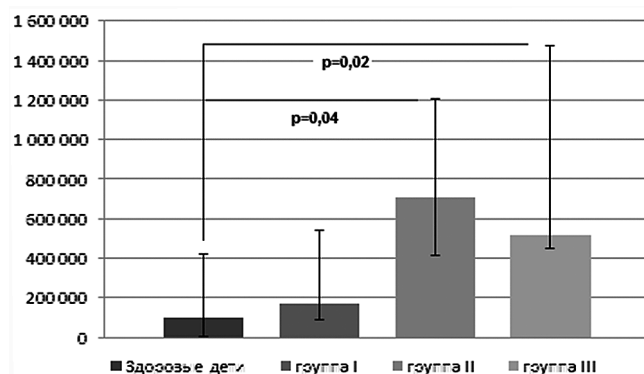


Рис. 2. Экспрессия гена IL-28В в клетках слизистой полости носа у здоровых детей и больных бронхиальной астмой. По оси ординат: количество копии кДНК относительно  $1 \times 10^6$  копий кДНК гена  $\beta$ -актина. По оси абсцисс – исследуемые группы

Параллельно с исследованием IL-28В проводили оценку экспрессии гена IL-28В в соскобах со слизистой оболочки полости носа. У пациентов группы I показатели экспрессии гена IL-28В повышены, но не являются статистически достоверными (рис. 2).

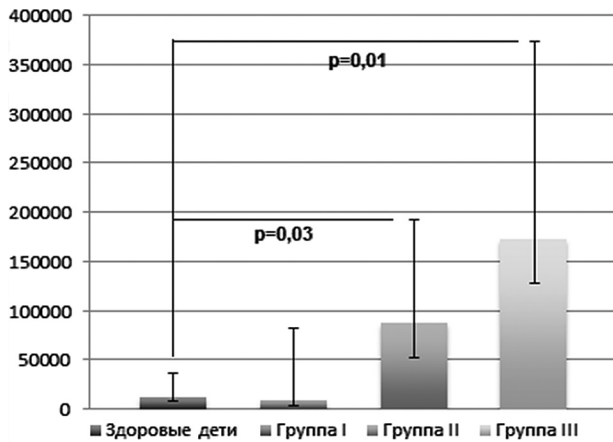
Достоверное увеличение экспрессии гена IL-28В в 7,2 раза ( $p=0,04$ ) выявлено у пациентов группы II (рис. 2)

Подобные результаты были выявлены и при оценке экспрессии гена IL-28В у детей группы III, где обнаружено достоверное повышение

ние экспрессии в 5,3 раза по сравнению с показателем в группе здоровых детей ( $p=0,02$ ).

Был проведен корреляционный анализ, с помощью которого выявлена обратная корреляционная зависимость между экспрессией гена *IL-28B* и продукцией *IL-28B* ( $R = -0,928571$ ,  $p < 0,05$ ) у пациентов с тяжелой степенью БА. У пациентов этой группы увеличивается экспрессия гена *IL-28B*, но при этом продукция этого интерферона снижается.

Согласно литературным данным индукция выработки интерферонов IFN III типа, в том числе и *IL-28B*, опосредованная TLR9-зависимым сигнальным путем [9].



**Рис. 3.** Экспрессия гена TLR9 на слизистой полости носа у здоровых детей и больных бронхиальной астмой. По оси ординат: количество копии кДНК относительно  $1 \times 10^6$  копий кДНК гена  $\beta$ -актина. По оси абсцисс – исследуемые группы.

В связи с чем, проведена оценка уровня экспрессии гена распознающего рецептора TLR9 в соскобах со слизистой полости носа у пациентов с БА и здоровых детей (**рис. 3**). В группе с легкой степенью тяжести БА не выявлено различий относительно контрольной группы. В группе II со среднетяжелой астмой экспрессия гена TLR9 в 7,1 раз превышал уровень экс-

прессии TLR9 в контрольной группе ( $p=0,03$ ). У пациентов с тяжелой БА, входящих в группу III обнаружено повышение экспрессии гена TLR9 в 14 раза по сравнению с показателем в группе здоровых детей ( $p=0,01$ ).

Была подтверждена положительная существенная корреляционная связь между экспрессией гена *IL-28B* и экспрессией гена патоген-распознающего рецептора TLR9 ( $R=0,627526$ ,  $p < 0,05$ ) у пациентов с легкой степенью БА.

Известно, что воздействие лиганда на TLR9 индуцирует не только активацию генов IFNs, но и активацию генов провоспалительных цитокинов [10]. В связи с чем, был проведен анализ спектра провоспалительных цитокинов. Выявлено значительное увеличение содержания провоспалительных цитокинов в смывах из полости носа больных БА в зависимости от степени тяжести. В образцах пациентов с тяжелой астмой содержание исследуемых провоспалительных цитокинов было выше по сравнению с показателями у больных легкой, среднетяжелой БА и группы контроля (**таб. 1**). Так, у пациентов группы III содержание *IL-1 $\beta$* , *IL-6* и *TNF $\alpha$*  в 4,5, 4,7 и в 5,6 раз превышали показатели здоровых детей, соответственно ( $p \leq 0,05$ ). В группах I и II также отмечается тенденция к повышению уровня провоспалительных цитокинов, относительно группы контроля (**таб. 1**).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Респираторный эпителий представляет физиологический и иммунологический барьер на пути проникновения патогенов. Распознавание патогенов с помощью PPRs, секреция про- и противовоспалительных цитокинов, интерферонов и противомикробных пептидов обеспечивают важную роль эпителия слизистых дыхательных путей в защите от вирусной инфекции.

**Табл. 1.** Содержание цитокинов в смывах из полости носа пациентов с БА и здоровых доноров

Группы наблюдения	Исследуемый цитокин		
	<i>IL-1<math>\beta</math></i> (пг/мг)	<i>IL-6</i> (пг/мг)	<i>TNF<math>\alpha</math></i> (пг/мг)
Дети с БА легкой степенью тяжести	8 (4,05-15,9)	3,7 (3,6-6,1)	11 (7,7-27,2)
Дети с БА средней степени тяжести	19 (10,2-21,9)	2,3 (1,2-2,6)	7,8 (14,1-13,9)
Дети с тяжелой формой БА	45 (35,4-54,6) *	6,6 (6,3-7) *	17 (15,6-19,1) *
Здоровые дети	10 (9,7-11,2)	1,4 (1,3-2,5)	3 (2,5-6,8)

\*статистически значимое отличие от группы здоровых доноров ( $p < 0,05$ ).

В настоящей работе проведено исследование важного противовирусного цитокина – IL-28 на уровне экспрессии гена и выработки молекулы в слизистой оболочке полости носа у больных БА разной степени тяжести. Достоверное увеличение IL-28В выявлено у больных БА легкой степени тяжести. При этом содержание провоспалительных цитокинов в назальных смывах не отличалось от показателей здоровых доноров ( $p > 0,05$ ) (таб. 1). В связи с этим, можно предположить, что, не смотря на частые ОРВИ, БА у этих пациентов протекает в более легкой форме.

У больных БА тяжелой степени выявлена тенденция к снижению выработки IL-28В (рис. 1). Эти результаты согласуются с данными Contoli и соавторов, продемонстрировавших снижение выработки IFN- $\lambda$  клетками бронхоальвеолярного лаважа и бронхиального эпителия у больных БА при инфицировании риновирусами [1]. Кроме того, у больных атопической БА выявлено нарушение экспрессии TLR3, TLR7, TLR8, TLR9. В работе Свитич О. А. с соавторами показано значительное увеличение экспрессии генов TLR2 и TLR4 в мононуклеарных клетках больных БА, культивированных с вирусом герпеса I типа [11]. Т.е. вирус герпеса индуцирует гиперэкспрессию распознающих рецепторов и не вызывает при этом выработки интерферонов. Это можно рассматривать как один из механизмов ускользания вируса от иммунного ответа [12].

Представляют интерес полученные нами данные по сравнению уровня продукции и экспрессии гена IL-28В. У детей с легкой степенью БА увеличение экспрессии гена соответствовало увеличению выработки IL-28В. В то же время у пациентов со средней и тяжелой БА наблюдалась обратная зависимость, когда значительное увеличение экспрессии гена не приводит к выраженному изменению синтеза IL-28В. Полученный результат, по-видимому, может быть объяснен нарушением процессов на уровне трансляции IL-28В и действием вирусов на процессы синтеза белков, в частности, на синтез IL-28В в клетке [13].

Согласно данным литературы TLR9 опосредует путь, приводящий к синтезу IL-28В, однако анализ полученных нами данных не выявил положительной корреляционной зависимости между увеличением экспрессии гена TLR9 и продукцией IL-28В у больных БА. Это можно объяснить тем, что активация TLR9 приводит

к выработке не только IL-28В, но и провоспалительных цитокинов и хемокинов. В наших исследованиях показано значительное увеличение содержания провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF $\alpha$  в назальных смывах у больных с тяжелой формой БА.

Можно предположить, что при БА тяжелой степени наблюдается переключение сигнальных каскадов, направленных на выработку провоспалительных цитокинов, участвующих в развитии хронического воспаления в дыхательных путях у детей с атопической астмой, осложненной частыми ОРВИ. При этом выявляется дефект в выработке ключевого фактора местного противовирусного ответа – IL-28В.

Таким образом, выявленный дисбаланс в локальном уровне цитокинов в слизистой полости носа, сопровождающийся увеличением выработки провоспалительных цитокинов и снижением противовирусного цитокина IL-28В может являться важнейшим этиопатогенетическим звеном как формирования самой БА, так и ее вирус-индуцированных осложнений

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Contoli M., Message S. Role of deficient type III interferon- $\lambda$  production in asthma exacerbations. *Nature medicine*. 2006, 9, 1023-1026.
2. Григорян С. С. Интерфероны лямбда (3й тип интерферонов) и вирусные инфекции. Сборник научных статей «Интерферон-2011» 2012, 63-73. [Grigoryan S. S. Interferon- $\lambda$  (Type III Interferon) and virus infection. Collection of scientific articles «Interferon-2011»].
3. Ank N., Iversen M., Bartholdy C. An Important Role for Type III Interferon (IFN- $\lambda$ /IL-28) in TLR-Induced Antiviral Activity. *The Journal of Immunology*. 2008, 180, 2474-2485.
4. Lazear H., Nice T. Interferon- $\lambda$ : Immune Functions at Barrier Surfaces and Beyond. *Immunity Review*. 2015, 43, 15-28.
5. Wark P., Johnston S. Asthmatic bronchial epithelial cells have a different innate immune response of infection with rhinovirus. *The Journal of Experimental Medicine*. 2005, 6, 937-947
6. Noutsiosa G., Florosa J. Childhood asthma: causes, risks, and protective factors; a role of innate immunity. *Swiss Medical Weekly*. 2014, 1-14.
7. Sandra N. Lester, Kui L. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *J Mol Biol*. 2014, 1246-1264.
8. Богомильский М. Р., Свитич О. А., Ганковский В. А., Рахманова И. В. Особенности врожденного иммунитета у здоровых детей и у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций. *Вестник РГМУ* 2015, 4, 24-27. [Bogomilsky M. R., Svitich O. A., Gankovskiy V. A., Rakhmanova I. V. Innate immunity

- features in healthy children and in children with adenoid hypertrophy. *Vestnik RGMU = Bulletin of Russian State Medical University*, 2015, no. 4, pp. 24-27.].
9. Yin Z, Dai J, Deng J, Sheikh F. Type III IFNs are produced by and stimulate human plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol.* 2012, 189(6), 2735-2745.
  10. Berenson C. S., Kruzel R. L., Wrona C. T., Mammen M. J., Sethi S. Impaired innate COPD alveolar macrophage responses and Toll-like receptor-9 polymorphisms. *PLoS One.* 2015, 9, 1-16.
  11. Свитич О. А., Гервазиева В. Б., Кинкулькина А. П. Исследование динамики экспрессии генов TLR2, TLR4 мононуклеарными клетками у пациентов с атопической формой бронхиальной астмы. *Аллергология и иммунология* 2014, 4, 251-252. [O. A. Svitich, V. B. Gervasieva, A. R. Kinkulkina. The investigation of TLR2 and TLR4 gene expression by mononuclear cells of patients with bronchial asthma. *Allergology and Immunology*, 2014, 4, 251-252.]
  12. Gehlhar K., Bilitewski C. Impaired virus-induced interferon- $\alpha$ 2 release in adult asthmatic patients. *Clinical and Experimental Allergy.* 2006, 36, 331-337.
  13. Koch S., Finotto S. Role of interferon- $\lambda$  in allergic asthma. *Journal of innate immunity.* 2015, 224-230.

## EXPRESSION FEATURES OF IL-28B IN CHILDREN WITH ASTHMA

© 2017 г. Л. В. Ганковская<sup>1</sup>, Л. С. Намазова-Баранова<sup>2</sup>, О. А. Свитич<sup>1</sup>,  
В. Г. Брагвадзе<sup>1</sup>, А. А. Алексеева<sup>2</sup>, В. А. Ганковский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup>National Scientific and Practical Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

In the present study, an important antiviral cytokine IL-28B was studied at the level of gene expression and molecule production in the mucosa of the nasal cavity in patients with asthma of varying severity. In children with mild asthma, an increase in gene expression was consistent with an increase in IL-28B production. At the same time, patients with severe asthma had a reverse dependence of a significant increase in gene expression led to a decrease in IL-28B synthesis. There was a significant increase in the content of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF $\alpha$  in nasal lavage in patients with severe asthma. Imbalance in the local level of cytokines in the nasal mucosa, accompanied by an increase in the production of proinflammatory cytokines and a decrease in the antiviral cytokine IL-28B. It may be important pathogenetic link of both the formation of asthma itself and its virus-induced complications.

*Key words:* asthma, interferon, IFN- $\lambda$ , IL-28B, proinflammatory cytokines, TLR-9, gene expression, nasal mucosa

### Authors:

**Gankovskaya L. V.**, ☒ PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology, Medicobiologic Faculty, Pirogov Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation, 123557 Moscow, Zoological pereulok, 8, 100, Tel.: +7(495) 434-90-00 (off.), +7(926)702-78-30 (mob.). **E-mail:** lvgan@yanex.ru

**Namazova-Baranova L.S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Pediatrics No. 1, Russian National N. Pirogov Research Medical University; Deputy-director on Science, National Scientific and Practical Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation;

**Svitich O. A.**, PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Professor, Department of Immunology, Medicobiologic Faculty, Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

**Bragvadze B. G.**, Postgraduate Student, Department of Immunology, Medicobiologic Faculty, Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

**Alekseeva A. A.**, PhD (Medicine), Department of Pediatrics No. 1, Russian National N. Pirogov Research Medical University; Head of the Department of rehabilitation of children with allergic diseases and respiratory diseases, National Scientific and Practical Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation;

**Gankovskii V. A.**, PhD (Medicine), The ENT specialist of the Department of rehabilitation treatment of children with diseases of ENT organs and oral and maxillofacial region, National Scientific and Practical Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation.