

УДК 612.017.1:615.217.22:612.018

ВЛИЯНИЕ АГОНИСТА БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ГЕКСОПРЕНАЛИНА СУЛЬФАТА НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ ЛИМФОЦИТОВ И ПРОДУКЦИЮ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ПРИСУТСТВИИ ТИРОКСИНА И ДЕКСАМЕТАЗОНА ФОСФАТА IN VITRO

Шилов Д.Ю., Годовалов А.П., Шилов Ю.И., Юркова Е.В.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, e-mail: shilov-dj@mail.ru

Выявлены угнетение пролиферативного ответа лимфоцитов и отмена стимулирующего действия тироксина на продукцию IgG в культурах мононуклеарных клеток периферической крови практически здоровых людей с митогеном лаконоса при совместном воздействии гексопреналина сульфата и тироксина. Установлено, что синергизм в иммуносупрессивном действии дексаметазона фосфата и гексопреналина сульфата *in vitro* наиболее выражен при развитии пролиферативного ответа лимфоцитов на фитогемагглютинин, в то время как пролиферация лимфоцитов и продукция иммуноглобулинов в культурах с митогеном лаконоса относительно резистентны к иммуносупрессивному действию этих соединений.

Ключевые слова: бета-адренорецепторы, глюкокортикоиды, тироксин, лимфоциты, иммуноглобулины

EFFECT OF BETA-ADRENOCEPTOR AGONIST HEXOPRENALINE SULPHATE ON THE PROLIFERATIVE LYMPHOCYTE RESPONSE AND IMMUNOGLOBULIN PRODUCTION IN THE PRESENCE OF THYROXINE AND DEXAMETHASONE PHOSPHATE IN VITRO

Shilov D.Ju., Godovalov A.P., Shilov Ju.I., Yurkova E.V.

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, e-mail: shilov-dj@mail.ru

The decrease in lymphocyte proliferative response and the abolition of stimulating action of thyroxine on the IgG production in cultures of human peripheral blood mononuclear cells with pokeweed mitogen under combined action hexoprenaline sulfate and thyroxine were revealed. It was established that the synergy in immunosuppressive action of dexamethasone phosphate and hexoprenaline sulfate *in vitro* was most pronounced in the development of phytohemagglutinin-induced lymphocyte proliferative response, whereas lymphocyte proliferation and production of immunoglobulins in cultures with pokeweed mitogen were relatively resistant to immunosuppressive action of these compounds.

Keywords: beta-adrenoceptors, glucocorticoid hormones, thyroxine, lymphocytes, immunoglobulins

Адренергические соединения, тиреоидные гормоны и глюкокортикоиды играют важную роль в нейроэндокринной регуляции функций иммунной системы в норме и патологии [4, 8]. Известно, что тиреоидные гормоны и глюкокортикоиды повышают экспрессию бета-адренорецепторов и/или внутриклеточную трансдукцию с них сигнала в клетках-мишенях различных органов [5, 9]. Функциональные последствия реализации такого взаимодействия на уровне иммунной системы изучены недостаточно.

Цель работы – исследование влияния агониста бета-адренорецепторов гексопреналина сульфата на пролиферативный ответ лимфоцитов и продукцию иммуноглобулинов в присутствии тироксина и дексаметазона фосфата в системе *in vitro*.

Материал и методы исследования

Объектом исследования служили лейкоциты периферической венозной крови, полученной от 17 практически здоровых мужчин-добровольцев (средний возраст – 24 года).

Использовали следующие соединения: агонист бета-адренорецепторов гексопреналина сульфат

(«гинипрал®», Nyscomed, Австрия), действующий более избирательно на бета₂-адренорецепторы, в концентрации 10^{-6} М; растворимую форму L-тироксина – пентагидрат натриевой соли L-тироксина (Sigma, США, T0397) в концентрациях 10^{-8} , 10^{-9} и 10^{-10} М; селективный агонист стероидных адреналовых рецепторов II типа дексаметазона фосфат (KRKA, Словения) в концентрации 10^{-7} М. Исследованные концентрации соединений сопоставимы для агониста бета-адренорецепторов с уровнем катехоламинов в органах лимфомиелоидного комплекса [10], тироксина – с уровнем свободного тироксина в крови при тиреотоксикозе разной степени выраженности [7], а дексаметазона фосфата – с уровнем глюкокортикоидов при стрессе [6]. Все исследуемые соединения вносили в культуры одновременно с митогеном.

Поликлональный тимусзависимый пролиферативный ответ В-лимфоцитов оценивали в культурах с митогеном лаконоса (PWM, Sigma, США, L8777) в оптимальной концентрации 2,5 мкг/мл или без него в среде 199 с добавлением 2 мМ L-глутамин, 10 мМ HEPES, 100 мкг/мл гентамицина сульфата и 10% аутоплазмы ($2 \cdot 10^5$ мононуклеарных клеток на лунку круглодонного 96-луночного планшета, общий объем культуры 0,2 мл). Через 48 или 96 ч культивирования во влажной атмосфере с 5% CO₂ при 37 °С вносили по 1 мкКи (37 кБк) метил-³H-тимидина (ОАО «Изотоп», С.-Петербург). Через 24 ч (соответственно че-

рез 72 или 120 ч от начала культивирования) клетки осаждали на мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм. Уровень радиоактивности в кислотонерастворимой фракции оценивали на жидкостном сцинтиляционном счетчике «Guardian» WinSpectral DSA 1414-03 («Wallac», Финляндия) в подразделении радиоизотопных исследований лаборатории биохимии развития микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН.

Для оценки поликлональной тимусзависимой продукции иммуноглобулинов культивирование мононуклеарных клеток с PWM осуществляли в аналогичных условиях в течение 288 ч, но в культуральную среду вместо аутоплазмы вносили 10% сыворотки крови плодов коровы (SUS-BIOL, Биолот, Россия). Определение концентрации иммуноглобулинов в супернатантах культур проводили методом твердофазного иммуоферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем согласно инструкции производителя («IgM общий-ИФА-БЕСТ», Вектор-Бест, Новосибирск, А-8664; «IgG общий – ИФА – БЕСТ», Вектор-Бест, Новосибирск, А-8662). Контрольные исследования с сывороткой крови плодов коровы и указанными тест-системами показали полное отсутствие перекрестных реакций, IgM и IgG не выявлялись даже при использовании цельной сыворотки. При выборочном исследовании супернатантов 288-часовых культур без PWM выявлялись лишь следовые количества этих белков на грани чувствительности тест-систем, поэтому спонтанную продукцию иммуноглобулинов и влияние на нее соединений в дальнейшем не исследовали. Состояние всех культур дополнительно контролировали морфологически на препаратах, окрашенных по Романовскому.

Изменение пролиферативного ответа лимфоцитов на Т-клеточный митоген в присутствии дексаметазона фосфата и гексопреналина сульфата оценивали в 72-часовых культурах с фитогемагглютинином-П (ФГА, Sigma, США, L9132) в концентрациях 2,5, 5,0, 10,0, 20,0 и 40,0 мкг/мл. Условия культивирования лейкоцитов аналогичны вышеописанным для 72-часовых культур с PWM.

Статистический анализ результатов проводили с учетом log-нормального распределения показателей пролиферации лимфоцитов и концентрации иммуноглобулинов в культурах. Для оценки статистической значимости различий связанных попарно данных использовали непараметрический ранговый критерий Вилкоксона и *t*-критерий Стьюдента для парных данных. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При совместном воздействии тироксина в концентрации 10^{-10} М с агонистом бета-адренорецепторов гексопреналином сульфатом выявляется статистически значимое в сравнении с контролем снижение пролиферации лимфоцитов в 120-часовых культурах с PWM (табл. 1). В культурах с одновременным внесением бета-адренергического агониста и тироксина в концентрации 10^{-9} М уровень пролиферации в 72-часовых культурах с PWM снижается в сравнении с культурами с добавлением только тироксина или гексопреналина сульфата, а в 120-ча-

совых – по отношению к культурам только с бета-адреномиметиком. При концентрации тироксина 10^{-8} М изменения отсутствуют. При внесении в культуры тироксина без агониста бета-адренорецепторов отмечается только снижение спонтанной пролиферации лимфоцитов в 120-часовых культурах без митогена при концентрации гормона 10^{-9} М, а одного бета-адренергического агониста – отсутствие изменений.

Тироксин в концентрациях 10^{-8} и 10^{-9} М повышает в сравнении с контролем продукцию IgG в 288-часовых культурах мононуклеарных клеток с PWM, не влияя на уровень IgM (табл. 2). Внесение совместно с тироксином агониста бета-адренорецепторов отменяет этот эффект, концентрация IgG в этих культурах не отличается от контроля.

Ранее в условиях *in vivo* показано, что гексопреналина сульфат отменяет стимуляцию антителообразования и реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) при развитии иммунного ответа на тимусзависимый антиген в условиях экспериментального тиреотоксикоза, вызванного 14-дневным введением крысам тироксина в суточной дозе 0,04 мг/кг [1]. Эти, а также полученные в настоящей работе, данные об угнетении пролиферативного ответа лимфоцитов в культурах с PWM и отмене стимулирующего действия тироксина на продукцию IgG при совместном воздействии бета-адренергического агониста и тироксина, указывают на участие индуцируемого тироксином повышения чувствительности клеток к бета-адренергической регуляции в изменениях функций иммунной системы при тиреотоксикозе. Как было показано ранее, при более тяжелой форме экспериментального тиреотоксикоза у крыс, вызванного введением тироксина в суточной дозе 4 мг/кг, супрессия антителообразования и реакции ГЗТ отменяется при фармакологической блокаде бета-адренорецепторов соталолом гидрохлоридом [2], что указывает на участие в ее формировании эндогенных катехоламинов в условиях повышения чувствительности клеток к бета-адренергической стимуляции.

Дексаметазона фосфат не влияет в сравнении с контролем на продукцию иммуноглобулинов и пролиферацию лимфоцитов в культурах с PWM при внесении в них как отдельно, так и совместно с агонистом бета-адренорецепторов (табл. 3 и 4). Выявляется только снижение уровня IgG в культурах с совместным внесением глюкокортикоида и бета-адренергического агониста в сравнении с культурами только с дексаметазоном.

Таблица 1

Влияние гексопреналина сульфата и тироксина на пролиферативный ответ лимфоцитов в культурах с PWM

Концентрация тироксина	Культуры	Срок культивирования			
		72 ч		120 ч	
		без митогена	PWM, 2,5 мкг/мл	без митогена	PWM, 2,5 мкг/мл
10 ⁻⁸ М	с агонистом	3,1687 ± 0,2407 (1474,6)	4,1413 ± 0,1282 (13844,2)	2,9695 ± 0,4534 (932,3)	3,7279 ± 0,4903 (5344,3)
	без агониста	3,1560 ± 0,2080 (1432,3)	4,2145 ± 0,1287 (16385,3)	2,9035 ± 0,4373 (800,8)	3,6050 ± 0,4702 (4027,1)
10 ⁻⁹ М	с агонистом	3,0588 ± 0,2160 (1145,0)	3,9513 ± 0,1306 (8938,9) ^{cd}	2,7389 ± 0,4073 (548,2)	3,7510 ± 0,4524 (5635,9) ^e
	без агониста	3,0532 ± 0,1939 (1130,4)	4,2541 ± 0,1180 (17951,5)	2,7420 ± 0,3936 (552,1) [#]	3,8123 ± 0,4682 (6491,6)
10 ⁻¹⁰ М	с агонистом	3,2075 ± 0,1658 (1612,5)	3,9566 ± 0,3571 (9049,6)	3,2319 ± 0,3349 (1705,8)	3,9734 ± 0,3793 (9405,8) [#]
	без агониста	3,2281 ± 0,1485 (1690,9)	4,2135 ± 0,1093 (16347,7)	3,2574 ± 0,3727 (1808,6)	4,1097 ± 0,4101 (12872,9)
Без тироксина	с агонистом	3,3438 ± 0,1934 (2206,9)	4,2404 ± 0,1086 (17395,1)	3,3391 ± 0,3348 (2183,4)	4,2377 ± 0,3145 (17286,0)
	без агониста (контроль)	2,9994 ± 0,2095 (998,5)	4,1774 ± 0,0897 (15044,7)	3,5220 ± 0,1374 (3326,7)	4,5304 ± 0,0668 (33913,3)

Примечание. Число обследованных людей в контроле и опытных выборках равно 7. Приведены значения $M \pm m$ для показателей \log_{10} имп/мин, а в скобках – средние геометрические имп/мин (антилогарифм из $M \log_{10}$ имп./мин). Здесь и в табл. 2-4: * – $p < 0,05$ по парному t -критерию Стьюдента по отношению к контролю; ^a – то же по отношению к агонисту; ^b – то же по отношению к тироксину или дексаметазону; [#] – $p < 0,05$ по парному критерию Вилкоксона по отношению к контролю; ^c – то же по отношению к агонисту; ^d – то же по отношению к тироксину или дексаметазону.

Таблица 2

Влияние гексопреналина сульфата и тироксина на продукцию иммуноглобулинов в 288-часовых культурах с PWM

Концентрация тироксина	Культуры	Концентрация иммуноглобулинов	
		IgM	IgG
10 ⁻⁸ М	с агонистом	2,7161 ± 0,1906 (520,1)	2,7412 ± 0,2509 (551,1)
	без агониста	2,7244 ± 0,1936 (530,1)	3,0306 ± 0,1722 (1072,9) [#]
10 ⁻⁹ М	с агонистом	2,5406 ± 0,1922 (347,2)	2,8527 ± 0,1433 (712,4)
	без агониста	2,5979 ± 0,2370 (396,2)	3,0076 ± 0,1761 (1017,5) [#]
10 ⁻¹⁰ М	с агонистом	2,7704 ± 0,1733 (589,4)	2,8944 ± 0,2291 (784,1)
	без агониста	2,6246 ± 0,1771 (421,3)	2,8721 ± 0,1971 (744,9)
Без тироксина	с агонистом	2,4325 ± 0,2119 (270,7)	2,6704 ± 0,2967 (468,2)
	без агониста (контроль)	2,6834 ± 0,1688 (482,4)	2,6382 ± 0,3000 (434,7)

Примечание. Число обследованных людей в контроле и опытных выборках равно 6. Приведены значения $M \pm m$ для показателей \log_{10} концентрации, а в скобках – средние геометрические концентрации иммуноглобулинов в нг/мл. Остальные обозначения те же, что и в табл. 1.

Таблица 3

Влияние гексопреналина сульфата и дексаметазона фосфата на пролиферативный ответ лимфоцитов в культурах с PWM

Препарат, концентрация	Культуры	Срок культивирования			
		72 ч		120 ч	
		без митогена	PWM, 2,5 мкг/мл	без митогена	PWM, 2,5 мкг/мл
Дексаметазона	С агонистом	2,9806 ± 0,2070 (956,2)	3,9445 ± 0,2358 (8800,5)	3,3812 ± 0,1212 (2405,3)	4,3334 ± 0,2390 (21549,5)
Фосфат, 10 ⁻⁷ М	Без агониста	2,9633 ± 0,2182 (919,0)	3,9017 ± 0,2259 (7974,2)	3,2127 ± 0,1788 (1632,0)	4,3593 ± 0,1972 (22869,9)
Без глюкокортикои дов	С агонистом	3,2571 ± 0,1886 (1807,6)	3,9983 ± 0,2598 (9960,3)	3,3139 ± 0,2910 (2060,0)	4,1996 ± 0,2750 (15833,0)
	Без агониста (контроль)	3,0330 ± 0,1674 (1109,5)	4,0713 ± 0,1433 (11783,2)	3,4259 ± 0,1710 (2666,5)	4,3344 ± 0,2257 (21598,7)

Примечание. Число обследованных людей в контроле и опытных выборках равно 8. Приведены значения $M \pm t$ для показателей \log_{10} имп/мин, а в скобках – средние геометрические имп/мин. Остальные обозначения те же, что и в табл. 1.

Таблица 4

Влияние гексопреналина сульфата и дексаметазона фосфата на продукцию иммуноглобулинов в 288-часовых культурах с PWM

Препарат, концентрация	Культуры	Концентрация иммуноглобулинов	
		IgM	IgG
Дексаметазона	с агонистом	2,6693 ± 0,1046 (467,0)	2,5805 ± 0,1926 (380,7) ^b
фосфат, 10 ⁻⁷ М	без агониста	2,6769 ± 0,1313 (475,3)	2,8239 ± 0,2022 (666,6)
Без глюко-	с агонистом	2,4325 ± 0,2119 (270,7)	2,9226 ± 0,1913 (836,8)
кортикоидов	без агониста (контроль)	2,6087 ± 0,1417 (406,2)	2,7350 ± 0,2037 (543,2)

Примечание. Число обследованных людей в контроле и опытных выборках равно 7. Приведены значения $M \pm t$ для показателей \log_{10} концентрации, а в скобках – средние геометрические концентрации иммуноглобулинов в нг/мл. Остальные обозначения те же, что и в табл. 1.

В отличие от культур с PWM пролиферативный ответ лимфоцитов в культурах с ФГА в присутствии дексаметазона фосфата статистически значимо угнетается при оптимальной концентрации митогена (10 мкг/мл), но не отличается от контроля в диапазоне суб- и гипероптимальных концентраций ФГА (табл. 5). При совместном внесении глюкокортикоида и бета-адренергического агониста супрессия пролиферации лимфоцитов регистрируется и в диапазоне суб- и гипероптимальных концентраций Т-клеточного митогена, при этом уровень пролиферативного ответа в культурах с 5 мкг/мл ФГА статистически значимо ниже в сравнении не только с контролем, но и с культурами с внесением одного дексаметазона. Изменения пролиферативного ответа в культурах с добавлением только гексопреналина сульфата отсутствуют. Результаты этого раздела работы свидетельствуют о том, что синергизм в иммуносупрессивном

действии агонистов глюкокортикоидных рецепторов и бета-адренорецепторов наиболее выражен при развитии *in vitro* поликлонального Т-клеточного ответа, в то время как пролиферативный ответ В-лимфоцитов и продукция иммуноглобулинов в культурах при поликлональной тимусзависимой активации PWM относительно резистентны к иммуносупрессивному действию этих соединений. Ранее показано, что в условиях острого стресса (24-часовая иммобилизация в сочетании с дозированной кровопотерей) у крыс развивается выраженная супрессия реакции ГЗТ при отсутствии изменения антителообразования в регионарном лимфатическом узле [3]. В связи с тем, что угнетение реакции ГЗТ отменяется при фармакологической блокаде периферических бета-адренорецепторов, можно считать, что в развитии стрессорной иммуносупрессии участвуют эндогенные катехоламины в условиях повышения чувствительности

клеток иммунной системы к бета-адренергической стимуляции. С другой стороны, полученные в настоящей работе на модельной системе *in vitro* результаты подтверждают наличие синергизма иммуносупрессив-

ного действия комбинаций синтетических глюкокортикоидов и агонистов бета-адренорецепторов, что используется в терапии ряда заболеваний, в частности – бронхиальной астмы [5].

Таблица 5

Влияние гексопреналина сульфата и дексаметазона фосфата на пролиферативный ответ лимфоцитов в культурах с ФГА

Препарат, концентрация	Культуры	Без митогена	ФГА, мкг/мл				
			2,5	5,0	10,0	20,0	40,0
Дексаметазона фосфат, 10–7 М	С агонистом	3,3985 ± 0,0942 (2503,0) _c	3,6318 ± 0,0636 (4283,4)	3,7422 ± 0,1036 (5523,1) ^{*acd}	3,9651 ± 0,1254 (9227,1) ^{*bc}	3,9546 ± 0,1400 (9006,8) ^{*bc}	4,0021 ± 0,0934 (10049,3) ^{*bc}
	Без агониста	3,4767 ± 0,1252 (2996,8)	3,6701 ± 0,0788 (4678,5)	3,9764 ± 0,0762 (9470,6) ^b	4,0396 ± 0,1000 (10955,4) ^{*b}	4,1439 ± 0,1092 (13929,6)	4,0624 ± 0,1407 (11545,7)
Без глюкокортикоидов	С агонистом	3,6403 ± 0,0745 (4368,4)	3,8318 ± 0,0793 (6789,1)	4,0294 ± 0,1200 (10701,6)	4,1689 ± 0,1031 (14753,4)	4,1852 ± 0,1137 (15319,2)	4,2952 ± 0,1058 (19733,4)
	Без агониста (контроль)	3,5028 ± 0,0725 (3183,1)	3,7715 ± 0,0966 (5909,2)	4,0141 ± 0,1199 (10330,5)	4,3109 ± 0,0881 (20458,4)	4,2045 ± 0,1066 (16014,2)	4,2003 ± 0,0916 (15860,0)

Примечание. Число обследованных людей в контроле и опытных выборках равно 9. Приведены значения $M \pm m$ для показателей \log_{10} имп./мин, а в скобках – средние геометрические имп./мин. Остальные обозначения те же, что и в табл. 1.

Заключение

Таким образом, выявлены угнетение пролиферативного ответа лимфоцитов и отмена стимулирующего действия тироксина на продукцию IgG в культурах мононуклеарных клеток периферической крови практически здоровых людей с митогеном лаконоса при совместном воздействии гексопреналина сульфата и тироксина. Установлено, что синергизм в иммуносупрессивном действии дексаметазона фосфата и гексопреналина сульфата *in vitro* наиболее выражен при развитии пролиферативного ответа лимфоцитов на фитогемагглютинин, в то время как пролиферация лимфоцитов и продукция иммуноглобулинов в культурах с митогеном лаконоса относительно резистентны к иммуносупрессивному действию этих соединений.

Исследования поддержаны грантами РФФИ 10-04-96092-р-Урал-а и 11-04-96047-р-Урал-а, Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Список литературы

1. Годовалов А.П., Шилев Ю.И. Влияние агониста бета-адренорецепторов гексопреналина сульфата на иммунный ответ в условиях экспериментального гипертиреоза // Вестн. Уральской медицинской академической науки. – 2006. – № 3-1(14). – С. 40–42.
2. Годовалов А.П., Шилев Ю.И. Влияние адренергических соединений на иммунный ответ при экспериментальном тиреотоксикозе // Вестн. Уральской медицинской академической науки. – 2009. – № 2/1 (24). – С. 90–91.
3. Шилев Д.Ю., Шилев Ю.И., Черешнев В.А. Влияние соталола гидрохлорида на иммунный ответ при остром

стрессе // Вестн. Уральской медицинской академической науки. – 2009. – № 2/1 (24). – С. 63–64.

4. Besedovsky H.O., del Rey A. Physiology of psychoneuroimmunology: A personal view // Brain, Behavior, and Immunity. – 2007. – Vol. 21. – P. 34–44.

5. Black J.L., Oliver B.G., Roth M. Molecular mechanisms of combination therapy with inhaled corticosteroids and long-acting beta-agonists // Chest. – 2009. – Vol. 136(4). – P. 1095–1100.

6. Djordjevic J., Djordjevic A., Adzic M. et al. Chronic stress differentially affects antioxidant enzymes and modifies the acute stress response in liver of Wistar rats // Physiol. Res. – 2010. – Vol. 59(5). – P. 729–736.

7. Kato K., Murakami H., Isozaki O. et al. Serum concentrations of BNP and ANP in patients with thyrotoxicosis // Endocr. J. – 2009. – Vol. 56(1). – P. 17–27.

8. Klecha A.J., Genaro A.M., Gorelik G. et al. Integrative study of hypothalamus-pituitary-thyroid-immune system interaction: thyroid hormone-mediated modulation of lymphocyte activity through the protein kinase C signaling pathway // J. Endocrinol. – 2006. – Vol. 189(1). – P. 45–55.

9. Pappas M., Mourouzis K., Karageorgiou H. et al. Thyroid hormone modulates the responsiveness of rat aorta to alpha2-adrenergic stimulation: an effect due to increased activation of beta2-adrenergic signaling // Int. Angiol. – 2009. – Vol. 28(6). – P. 474–478.

10. Rogausch H., Bock T., Voigt K.H., Besedovsky H. The sympathetic control of blood supply is different in the spleen and lymph nodes // Neuroimmunomodulation. – 2004. – Vol. 11 (1). – P. 58–64.

Рецензенты:

Косарева П.В., д.м.н., зав. морфологическим отделом ЦНИЛ ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава», г. Пермь;

Кузнецов В.Ф., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава», г. Пермь.