

ПОКАЗАТЕЛИ ПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ КАК ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРОМ TNF α У ДЕТЕЙ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

Петричук С.В.¹, Мирошкина Л.В.¹, Семикина Е.Л.^{1,4},
Топтыгина А.П.^{2,3}, Потапов А.С.¹, Цимбалова Е.Г.¹, Радыгина Т.В.¹

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

³ ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», Москва, Россия

Резюме. В работе проведено исследование популяций лимфоцитов периферической крови у детей с воспалительными заболеваниями кишечника, которым впервые была назначена терапия блокатором TNF α (инфликсимабом), с целью определения прогностической информативности иммунологических показателей в оценке эффективности лечения. Проведено комплексное обследование 70 детей с ВЗК в возрасте от 12 до 18 лет в динамике заболевания на фоне проводимого лечения (49 детей с БК, 21 ребенок с ЯК). Группу сравнения составили 50 практически здоровых детей аналогичного возраста, прошедших комплексное профилактическое обследование. В зависимости от терапевтического ответа к году применения биологической терапии, пациенты были разделены на две группы – со стойким положительным эффектом препарата и с нестабильным эффектом терапии. Определяли содержание основных и малых популяций лимфоцитов периферической крови до первого введения инфликсимаба. Иммунофенотипирование проводили методом многоцветной проточной цитофлуориметрии (FC 500) с использованием маркеров CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56, HLA-DR, CD5, CD161, CD127, CD25, CD294.

Получено: содержание В-лимфоцитов было достоверно снижено у детей с нестабильным эффектом терапии, у детей со стойким положительным эффектом уровень В-лимфоцитов не отличался от группы сравнения. Анализ состава В-лимфоцитов показал дисбаланс в соотношении В1- и В2-клеток с уменьшением содержания В1-клеток у пациентов с ВЗК относительно группы сравнения. При этом у пациентов с нестабильным эффектом выявлено значимое снижение популяции В2-клеток относительно группы сравнения и относительно группы со стойким эффектом. Количество НК-клеток у пациентов с ВЗК было снижено относительно группы сравнения. Оценка содержания субпопуляций Т-лимфоцитов выявила ряд особенностей у пациентов с минимальным терапевтическим эффектом – увеличение уровня активированных Т-хелперов (CD4⁺CD25⁺CD127^{high}) и Th17-лимфоцитов

Адрес для переписки:

Петричук Светлана Валентиновна
ФГАУ «Национальный медицинский
исследовательский центр здоровья детей»
Министерства здравоохранения РФ
119991, Россия, Москва, Ломоносовский пр., 2, стр. 1
Тел.: 8 (499) 134-13-98.
Факс: 8 (499) 134-70-01.
E-mail: cito@list.ru

Address for correspondence:

Petrchuk Svetlana V.
National Medical Research Center of Children's Health
119991, Russian Federation, Moscow,
Lomonosovskiy ave, 2, bldg 1.
Phone: 7 (499) 134-13-98.
Fax: 7 (499) 134-70-01.
E-mail: cito@list.ru

Образец цитирования:

С.В. Петричук, Л.В. Мирошкина, Е.Л. Семикина,
А.П. Топтыгина, А.С. Потапов, Е.Г. Цимбалова,
Т.В. Радыгина «Показатели популяционного состава
лимфоцитов как предикторы эффективности терапии
ингибитором TNF α у детей с воспалительными
заболеваниями кишечника» // Медицинская иммунология,
2018. Т. 20, № 5. С. 721-730.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-721-730

© Петричук С.В. и соавт., 2018

For citation:

S.V. Petrchuk, L.V. Miroshkina, E.L. Semikina, A.P. Topotygina,
A.S. Potapov, E.G. Tsimbalova, T.V. Radygina "Indicators of
the lymphocyte subsets as efficiency predictors of therapy with
inhibitors of TNF α in children with inflammatory bowel disease",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2018, Vol. 20, no. 5, pp. 721-730.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-721-730

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-5-721-730

(CD3⁺CD4⁺CD161⁺) относительно детей со стойким эффектом терапии и группы сравнения. Кроме того, у детей с минимальным эффектом терапии уровень Treg в составе Т-хелперов оказался достоверно выше, чем в группе сравнения. Проведенный ROC-анализ выявил наиболее информативные показатели для групп с минимальным и стойким эффектом терапии и показал хорошее качество разделительной модели для относительного количества Th17-лимфоцитов, активированных Т-хелперов и В-лимфоцитов. Количество Th17-лимфоцитов (% от CD3⁺CD4⁺лимфоцитов) с высокой долей вероятности позволяет прогнозировать эффект терапии блокатором TNF α . Проведенные исследования позволяют рекомендовать включение оценки состояния клеточного иммунитета в мониторинг состояния пациентов с ВЗК.

Ключевые слова: популяции лимфоцитов, популяции CD4⁺ лимфоцитов, ВЗК, дети, инфликсимаб, эффективность терапии

INDICATORS OF THE LYMPHOCYTE SUBSETS AS EFFICIENCY PREDICTORS OF THERAPY WITH INHIBITORS OF TNF α IN CHILDREN WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Petrichuk S.V.^a, Miroshkina L.V.^a, Semikina E.L.^{a, d}, Toptygina A.P.^{b, c}, Potapov A.S.^a, Tsimbalova E.G.^a, Radygina T.V.^a

^a National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

^b G. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^c M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

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

Abstract. We have performed a study of blood lymphocyte subsets in children with inflammatory bowel disease (IBD), who were for the first time treated with TNF α blocker (infliximab). Our aim was to determine prognostic informative value of the immunological parameters in order to assess the treatment efficiency. A comprehensive research included seventy children with IBD from 12 to 18 years old in the course of specific treatment (49 children with CD, 21 children with UC).

The comparison group consisted of fifty healthy children of similar age who were subjected to a similar detailed examination. The patients were divided into two groups, depending on their therapeutic response following 1 year of biological therapy: the first group showed a persistent positive effect of the drug, and the second group exhibited only unstable effects of the treatment. We determined the contents of major and small subpopulations of peripheral blood lymphocytes before the first administration of infliximab. Immunophenotyping was performed by multicolor flow cytometry (FC 500), using the CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56, HLA-DR, CD5, CD161, CD127, CD25, and CD294 markers.

We have revealed that the content of B lymphocytes was significantly reduced in children with unstable effects of therapy. By contrast, the B lymphocyte levels in children with persistent positive therapeutic effect did not differ from the comparison group. Analysis of the composition of the B lymphocyte profile showed an imbalance in the B1-to-B2 cell ratio, with decreased of B1 cell counts in IBD patients against the comparison group. In addition, the patients with unstable therapeutic effect showed a significant decrease in B2 cell numbers compared with a group with persistent effect and comparison group. The numbers of NK cells in IBD patients were found to be reduced against the comparison group. Assessment of T lymphocytes subsets revealed a number of features in the patients with minimal therapeutic effects, i.e., an increased level of activated T helper cells (CD4⁺CD25⁺CD127^{high}) and Th17 lymphocytes (CD3⁺CD4⁺CD161⁺), as compared to children with stable effect of treatment and to the comparison group. Moreover, in children with minimal effects of therapy, the levels of Tregs within T-helper cell subsets were significantly higher than in the comparison group. By means of ROC analysis, we have identified most informative parameters for the groups with minimal *versus* persistent therapeutic effect, and showed a good quality for a discrimination model involving relative amount of Th17 cells, activated T helper cells and B lymphocytes. The number of Th17 lymphocytes (% CD3⁺CD4⁺ lymphocytes) allowed to predict the effect of therapy with a TNF α blocker with high probability. The present study enables us to propose cellular immunity testing, as a promising tool for monitoring clinical state of IBD patients.

Keywords: lymphocytes subsets, CD4⁺ subsets, IBD, children, infliximab, efficiency of therapy

Введение

В последние годы наблюдается значительный рост интереса медицинского сообщества к проблеме воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), к которым, согласно МКБ-10, относят болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК). С одной стороны, это обусловлено непрекращающимся ростом заболеваемости ВЗК в мире со значительным «омоложением» популяции больных и нарастанием частоты инвалидирующих форм патологии. С другой стороны, накопление и систематизация информации об этиологии и патогенезе данных заболеваний позволили разработать инновационные методы диагностики и лечения ВЗК, кардинальным образом изменившие качество жизни пациентов [2, 13, 17, 26].

В настоящее время полагают, что развитие хронического воспаления при ВЗК обусловлено дисрегуляцией нормального иммунного ответа на комменсальную микрофлору кишечника у генетически предрасположенных лиц. Подобное неконтролируемое воспаление ассоциировано с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов (TNF α , IFN γ , IL-17, IL-6, IL-8) и активацией ряда клеточных популяций. Иммуногистохимическое исследование поврежденных участков кишечника при ВЗК выявило массивную инфильтрацию стенки кишки активированными Т-хелперами и Th17-лимфоцитами, обусловленную их интенсивной пролиферацией на фоне снижения восприимчивости к сигналам апоптоза. В то же время у пациентов с ВЗК выявляется компенсаторное увеличение содержания Treg-лимфоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки воспаленного сегмента кишки [23].

В связи с особенностями патогенеза терапия ВЗК направлена на подавление воспалительного процесса. Применение иммунодепрессантов, селективно ингибирующих отдельные звенья патогенеза, в частности связывающих TNF α , позволило совершить прорыв в терапии аутоиммунных заболеваний, в том числе ВЗК. Терапия химерными моноклональными IgG₁ антителами, блокирующими TNF α (инфликсимаб – ИНФ), при ВЗК значительно увеличивает долю пациентов, достигающих стабильной ремиссии в короткие сроки. Однако у 30% пациентов наблюдается первичная неэффективность ИНФ, а к году терапии доля пациентов с потерей ответа достигает 50% [1, 25].

Поиск маркеров эффективности ИНФ позволил выявить ряд факторов, обладающих прогностической значимостью: к ним, например, относятся клинико-anamnestические данные (форма патологии, возраст и т.д.), некоторые лабораторные и фармакокинетические показатели, напри-

мер уровень С-реактивного белка, содержание антинейтрофильных антител, уровень TNF α , остаточная концентрация инфликсимаба, титр антител к препарату [3, 4, 22, 27, 28].

Данные предикторы обладают рядом ограничений – определяются однократно, не позволяют провести оценку прогноза до начала лечения и разрабатывались в основном для взрослых пациентов. Вместе с тем ранний прогноз эффективности ИНФ позволяет провести своевременную коррекцию схемы лечения, тем самым существенно снизить риск экстренных хирургических вмешательств и серьезных осложнений ВЗК, что особенно важно в детском возрасте.

Информативность показателей популяционного состава лимфоцитов была продемонстрирована на примере циркулирующих Treg у взрослых пациентов с БК [11, 18, 24]. Аналогичных работ у детей с ВЗК до настоящего времени не проводилось.

С учетом особенностей патогенеза ВЗК и характера терапии, направленной на регуляцию работы иммунной системы, исследование иммунологических показателей у пациентов детского возраста, которым была назначена терапия блокаторами TNF α , представляется крайне актуальным.

Материалы и методы

Проведено комплексное обследование 70 детей с ВЗК в возрасте от 12 до 17 лет 11 месяцев (40 мальчиков и 30 девочек) в динамике заболевания на фоне проводимого лечения. У 49 детей была диагностирована БК, у 21 ребенка – ЯК. Длительность наблюдений составила от полугода до 5 лет. Диагнозы устанавливались на основании анамнестических, клинико-лабораторных, эндоскопических и гистологических данных. Группу сравнения составили 50 практически здоровых детей (28 мальчиков и 22 девочки) в возрасте от 12 до 16 лет, прошедших комплексное профилактическое обследование.

Все больные, вошедшие в исследование, получали патогенетическую и симптоматическую терапию в соответствии с существующими стандартами лечения.

В зависимости от терапевтического ответа на ИНФ все пациенты, вошедшие в исследование, были поделены на две группы – группа детей со стойким положительным эффектом препарата и пациенты с нестабильным эффектом терапии.

Критериями включения пациента в группу со стойким положительным эффектом биологической терапии (группа 1) были выбраны следующие показатели: клинико-эндоскопическая ремиссия заболевания либо минимальная степень воспалительной активности в течение года при-

менения ИНФ по стандартной схеме введения (5мг/кг, 0-2-6 недель, далее каждые 8 недель).

В группу с недостаточным эффектом биологической терапии (группа 2) были отнесены пациенты с клинико-лабораторными и эндоскопическими признаками активного воспаления через год терапии по стандартной схеме введения, пациенты, достигшие ремиссии при эскалации дозы ИНФ, а также дети, развившие острую аллергическую реакцию на введение препарата.

Сравнение клинического и эндоскопического индексов активности заболевания, а также стандартных лабораторных критериев воспаления до начала терапии не выявило различий между группой 1 и группой 2.

Для выявления значимости показателей клеточного иммунитета в прогнозе эффективности биологической терапии у детей с ВЗК определяли субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови до первого введения ИНФ. В работе исследовали количественные характеристики основных и малых популяций лимфоцитов периферической крови.

Имунофенотипирование проводили методом многоцветной проточной цитофлуориметрии на приборе CYTOMICS FC 500 (BeckmanCoulter, США) с использованием меченных флуорохромами моноклональных антител согласно существующим рекомендациям [6]. В работе использовали моноклональные антитела производства Beckman Coulter (США) и Vector Dickinson (США): CD4-FITC, CD3-FITC, HLA-DR-FITC, CD8-PE, CD19-PE, CD(16+56)-PE, CD294-PE, CD127-PE, CD161-PE, CD3-PerCP, CD45-PerCP, CD45-PC5, CD45-PC7, CD5-PC7, CD25 PE-Cy7. Выделение лимфоидного региона проводили с учетом экспрессии CD45. В работе исследовали количественные характеристики основных и малых популяций лимфоцитов. Оценивали Т-клетки (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD8⁺), активированные Т-лимфоциты (CD3⁺HLA-DR⁺), В-лимфоциты (CD3⁺CD19⁺), В1-лимфоциты (CD3⁺CD19⁺CD5⁺), В2-лимфоциты (CD3⁺CD19⁺CD5⁻), НК-клетки (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), НКТ-клетки (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), а также субпопуляции Т-хелперов: активированные Т-хелперы (Th act, CD4⁺CD25⁺CD127^{high}), регуляторные Т-клетки (Treg, CD4⁺CD25⁺CD127^{low}), Th2-лимфоциты (Th2, CD3⁺CD4⁺CD294⁺), Th17-лимфоциты (Th17, CD3⁺CD4⁺CD161⁺).

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакета Statistica 6.0 (США). Данные в таблицах представлены в виде медианы (верхний – нижний квартиль). Достоверность различий между группами оценивали непараметрическим критерием Манна–Уитни.

Различия при $p < 0,05$ считались достоверными. Анализ диагностической значимости исследуемых иммунологических параметров, а также оценку уровня пороговых значений показателей осуществляли методом характеристических кривых (receiver operator characteristic, ROC-анализ) с использованием программы SPSS 16.0 (США).

Результаты

На первом этапе исследования оценивали содержание основных популяций лимфоцитов периферической крови у детей с ВЗК до начала биологической терапии и у детей группы сравнения.

Получено, что абсолютное количество Т-лимфоцитов, Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов не отличалось в группах сравнения, при этом процент Т-лимфоцитов у пациентов с ВЗК был несколько выше, особенно у детей с нестабильным эффектом терапии (группа 2); изменений соотношения Т-хелперы/Т-цитотоксические лимфоциты не выявлено (табл. 1). Абсолютное число Т-лимфоцитов с фенотипом поздней активации CD3⁺HLA-DR⁺ у детей с ВЗК было выше, чем в группе сравнения.

При анализе содержания В-лимфоцитов выявлено достоверное снижение их уровня (по проценту и абсолютному числу) у детей группы 2 относительно группы сравнения и группы 1, тогда как у детей группы 1 (стойкий положительный эффект) уровень В-лимфоцитов не отличался от группы сравнения. Количество НК-клеток у пациентов группы 1 и группы 2 было снижено относительно группы сравнения (табл. 2). Различий в уровне НКТ-клеток в изучаемых группах не отмечено.

В целом анализ основных популяций лимфоцитов у пациентов с разным эффектом ИНФ показал более низкий относительный и абсолютный уровень В-лимфоцитов у пациентов группы 2 (минимальный эффект терапии) по сравнению с детьми группы 1 (стойкий положительный эффект) (рис. 1).

Анализ субпопуляционного состава В-лимфоцитов показал дисбаланс в соотношении В1- и В2-клеток с уменьшением содержания В1-клеток у пациентов с ВЗК относительно группы сравнения. При этом у пациентов группы 2 выявлено значимое снижение популяции В2-клеток относительно группы сравнения и относительно группы 1.

Оценка содержания малых популяций Т-лимфоцитов выявила ряд особенностей у пациентов с минимальным терапевтическим эффектом (группа 2) – достоверное увеличение уровня активированных Т-хелперов (CD4⁺CD25⁺CD127^{high}) и Th17-лимфоцитов

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ОСНОВНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВЗК ДО НАЧАЛА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ (Ме, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. THE NUMBER OF MAJOR SUBSETS OF LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD IN CHILDRENS WITH IBD BEFORE START OF BIOLOGICAL THERAPY (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Популяции лимфоцитов Subsets of lymphocytes		Содержание клеток Number of cells		
		Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа сравнения Comparison group
CD3 ⁺	%	76,7 (71,2-83,7)*	79,1 (75,6-85,3)*	72,2 (67,1-76,0)
	кл/мм ³ cell/mm ³	1568 (1300-1838)	1468 (1025-2507)	1554 (1284-1850)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	%	47,0 (38,5-51,2)*	48,7 (42,2-52,3)*	40,9 (36,8-46,2)
	кл/мм ³ cell/mm ³	912 (673-1132)	875 (651-1466)	861 (764-1048)
CD3 ⁺ CD8 ⁺	%	25,6 (22,7-33,0)	28,7 (22,3-34,5)*	25,8 (22,0-30,0)
	кл/мм ³ cell/mm ³	572 (415-730)	499 (387-933)	549 (468-712)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺		1,9 (1,4-2,1)	1,6 (1,2-2,3)	1,5 (1,3-2,0)
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	%	6,3 (3,4-14,3)	7,9 (5,8-14,6)*	6,1 (3,6-8,5)
	кл/мм ³ cell/mm ³	159 (66-318)*	180 (116-224)*	128 (73-169)
CD3 ⁺ CD19 ⁺	%	16,7 (7,7-20,2)#	10,1 (7,0-15,4)*	15,0 (12,4-17,0)
	кл/мм ³ cell/mm ³	330 (159-479)#	178 (117-359)*	304 (260-371)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	6,5 (5,5-9,5)*	7,2 (2,7-14,2)*	13,6 (8,6-18,3)
	кл/мм ³ cell/mm ³	145 (98-226)*	137 (41-258)*	253 (185-380)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	2,1 (1,4-4,4)	3,0 (1,8-4,8)	1,9 (1,3-2,9)
	кл/мм ³ cell/mm ³	61 (29-78)	51 (28-108)	43 (29-58)

Примечание. * – p < 0,05 относительно группы сравнения; # – p < 0,05 при сравнении группы 1 и группы 2, тест Манн–Уитни.

Note. *, p < 0.05 the differences against comparison group; #, p < 0.05 the differences group 1 against group 2, Mann-Whitney test.

(CD3⁺CD4⁺CD161⁺) относительно группы 1 и группы сравнения. Снижения уровня Treg в обследованной когорте пациентов с ВЗК не выявлено, более того, у детей группы 2 уровень Treg в составе Т-хелперов оказался достоверно выше, чем в группе сравнения (табл. 3). Изменений в содержании Th2-лимфоцитов у детей с ВЗК относительно группы сравнения не выявлено.

Для выявления наиболее информативных показателей иммунофенотипа лимфоцитов в прогнозировании эффективности биологической терапии был проведен ROC-анализ полученных данных (табл. 4). Хорошее качество разделительной модели (AUC > 0,7) получено для относительного количества субпопуляций Th17-лимфоцитов, активированных Т-хелперов и В-лимфоцитов.

Наиболее значимым иммунологическим показателем, позволяющим с высокой вероятностью прогнозировать эффективность биологической терапии у детей с ВЗК, явилось исходное содержание Th17-лимфоцитов -AUC = 0,857 (0,769-0,945), p < 0,05 (рис. 2).

При этом было получено, что исходное относительное количество Th17-лимфоцитов (% от CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов), превышающее 18,6%, позволяет прогнозировать нестабильный эффект от инфликлимаба в течение первого года терапии (чувствительность – 70%, специфичность 87%, p < 0,05). В группе детей с нестабильным эффектом высокий уровень Th17-лимфоцитов сохранялся в течение всего 1 года терапии и на момент оценки эффекта терапии (8 инфузий препарата) составлял 24,1% (21,0-30,8) против 12,9 % (11,8-20,3) у детей со стойким эффектом (p = 0,00014).

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ В-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ГРУППЫ 1 И ГРУППЫ 2 ДО НАЧАЛА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ДЕТЕЙ ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. THE NUMBER OF B-LYMPHOCYTES SUBSETS OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS OF GROUP 1 AND GROUP 2 BEFORE THE START OF BIOLOGICAL THERAPY AND CHILDREN IN THE COMPARISON GROUP (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Популяции В-лимфоцитов Subsets of lymphocytes		Содержание клеток Number of cells		
		Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа сравнения Comparison group
В1-лимфоциты B1 lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁺)	%	2,0 (1,0-3,5)*	2,0 (0,9-3,0)*	4,6 (3,0-7,1)
	% CD19	13,1 (9,7-19,9)**	18,2 (12,1-23,1)*	34,6 (24,6-47,7)
	кл/мм ³ cell/mm ³	35 (18-92)*	31 (18-85)*	105 (68-152)
В2-лимфоциты B2 lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD5 ⁻)	%	14,7 (7,3-18,1)**	8,2 (5,4-11,7)	9,2 (7,6-10,6)
	% CD19	87,0 (80,1-90,3)*	81,9 (77,0-88,0)*	65,4 (52,3-75,4)
	кл/мм ³ cell/mm ³	229 (152-408)**	160 (96-312)*	201 (150-241)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

Обсуждение

Потребность в совершенствовании методов диагностики и лечения ВЗК обусловлена тяжестью и хроническим течением данных заболеваний, наличием серьезных осложнений и высоким риском инвалидизации больных [31]. У 30% пациентов, страдающих ВЗК, дебют заболевания происходит в возрасте до 18 лет, что неизбежно приводит к нарушению роста и развития орга-

низма, а значит, снижает качество жизни пациента в будущем [7].

Применение блокаторов TNF α , в частности ИНФ, в терапии ВЗК позволяет достичь ремиссии в короткие сроки у 70% пациентов, однако в течение первого года терапии доля пациентов, находящихся в ремиссии, снижается на треть. Потеря ответа на терапию ИНФ развивается в результате выработки антител к препарату и/или вовлечения альтернативных, TNF α -независимых, патогенетических путей [2, 9, 21, 25, 31]. Персонализированный выбор терапии, учитывающий особенности иммунопатогенеза ВЗК у конкретного больного, позволит определить пациентов с повышенным риском потери ответа на терапию, своевременно провести коррекцию схемы введения блокатора TNF α и тем самым увеличит терапевтическую и экономическую эффективность лечения.

Количественный анализ популяций лимфоцитов периферической крови выявил исходное снижение NK-клеток у детей с ВЗК. У всех обследованных пациентов с ВЗК выявлено значительное снижение содержания В1-лимфоцитов до начала терапии относительно группы сравнения. В группе пациентов с нестойким эффектом биологической терапии отмечено также исходное снижение содержания В2-лимфоцитов, что привело к достоверному снижению общего уровня В-клеток.

Описано, что к факторам, снижающим количество периферических В-лимфоцитов и NK-клеток при ВЗК, относят, в первую очередь, прием цитостатиков и кортикостероидов [11]. Pravven K. Yadav и соавт. (2011) выявили азати-

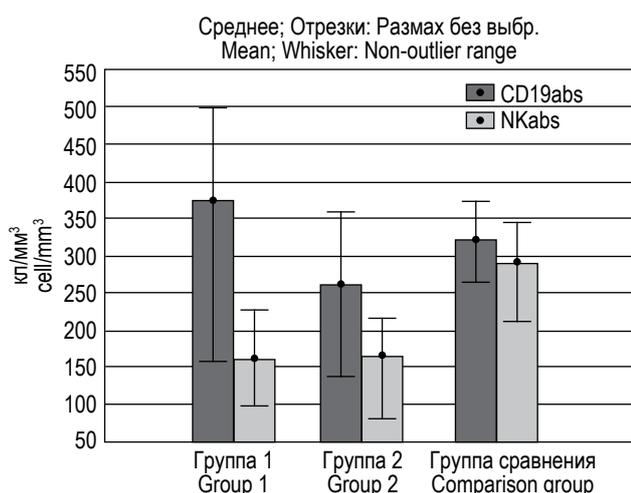


Рисунок 1. Содержание В-лимфоцитов и NK-клеток в периферической крови у пациентов со стойким положительным (группа 1), нестабильным (группа 2) эффектом инфликсимаба и детей группы сравнения

Figure 1. The number of B lymphocytes and NK cells in the peripheral blood in patients with persistent positive (group 1) and unstable (group 2) effect of infliximab and children comparison group

оприн-индуцированный апоптоз NK-клеток собственной пластинки у пациентов с ВЗК [30]. К предполагаемым факторам, приводящим к сокращению численности В-лимфоцитов, относят также локальный синтез индукторов апоптоза [15] и повышенный синтез высокоактивных хемоаттрактантов, привлекающих клетки в очаг воспаления [19].

Анализ популяционного состава Т-лимфоцитов выявил существенное увеличение исходного содержания активированных Т-лимфоцитов, активированных Т-хелперов, Th17-лимфоцитов у всех пациентов с ВЗК, при этом снижения Treg выявлено не было. У детей с нестойким эффектом ИНФ отмечен наиболее высокий уровень Th17-лимфоцитов и активированных Т-хелперов.

Согласно данным литературы, у пациентов с ВЗК наблюдается массивная инфильтрация стенки кишки активированными Т-хелперами, Th17-лимфоцитами и Treg-лимфоцитами [8, 10, 13, 14, 18, 29]. Предполагается, что это обусловлено активной миграцией лимфоцитов в зону воспаления и их интенсивной пролиферацией на фоне снижения восприимчивости к сигналам апоптоза [20]. У взрослых пациентов с ВЗК в пе-

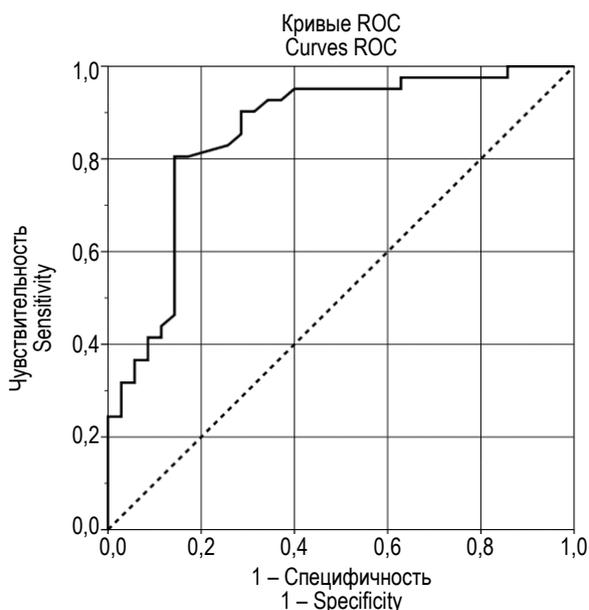


Рисунок 2. ROC-анализ относительного содержания Th17-лимфоцитов (% от CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов) в прогнозе эффективности биологической терапии у детей с ВЗК

Figure 2. ROC analysis of the relative content of Th17 lymphocytes (% of CD3⁺CD4⁺ lymphocytes) in the prognosis of the effectiveness of biological therapy in children with IBD

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ХЕЛПЕРОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВЗК ДО НАЧАЛА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. THE NUMBER OF SUBSETS OF T-HELPER IN PERIPHERAL BLOOD IN CHILDREN WITH IBD BEFORE THE START OF BIOLOGICAL THERAPY (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Популяции лимфоцитов Subsets of lymphocytes		Содержание клеток Number of cells		
		Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа сравнения Comparison group
Th2 (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD294 ⁺)	%	0,5 (0,4-0,7)	0,9 (0,5-1,0)	0,5 (0,3-1,0)
	% CD4	1,1 (0,8-1,7)	1,9 (1,0-2,4)	1,2 (0,7-2,5)
	кл/мм ³ cell/mm ³	10 (6-15)	17 (12-31)	10 (8-19)
Treg (CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ^{low})	%	3,8 (2,5-4,4)	4,1 (2,9-5,5)*	3,1 (2,7-3,6)
	% CD4	7,5 (6,5-9,3)	9,1 (6,5-10,7)*	7,4 (6,7-8,8)
	кл/мм ³ cell/mm ³	67 (53-103)	79 (50-127)	68 (56-79)
Th act (CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ^{high})	%	5,6 (4,3-7,7)*	7,9 (5,3-11,2)*	4,4 (3,7-6,0)
	% CD4	12,4 (10,2-16,9)	17,0 (12,7-22,7)	11,1 (9,2-14,6)
	кл/мм ³ cell/mm ³	120 (76-159)	167 (96-262)*	91 (70 -119)
Th17 (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD161 ⁺)	%	7,9 (6,9-9,9)	11,2 (7,4-15,0)*	7,4 (5,8-8,5)
	% CD4	16,4 (13,3-25,5)	21,5 (18,6-29,3)*	18,3 (14,3-22,5)
	кл/мм ³ cell/mm ³	144 (121-237)	229 (145-286)*	161 (139-184)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 4. РОС-АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВЗК ДО НАЧАЛА ЛЕЧЕНИЯ ДЛЯ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

TABLE 4. ROC ANALYSIS OF QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD FROM CHILDREN WITH IBD BEFORE STARTING TREATMENT FOR PREDICTION OF EFFECTIVENESS OF BIOLOGICAL THERAPY

Популяции лимфоцитов Subsets of lymphocytes	Площадь под ROC-кривой, 95% доверительный интервал Area under the ROC curve 95% confidence interval AUC, p < 0,05
Th17, % CD4 ⁺	0,857 (0,769-0,945)
Th17, %	0,787 (0,623-0,852)
Th act, % CD4 ⁺	0,728 (0,634-0,823)
B, %	0,723 (0,623-0,823)
B1, % CD19 ⁺	0,683 (0,576-0,789)
B2, % CD19 ⁺	0,683 (0,576-0,789)
NK, %	0,668 (0,567-0,769)
Th act, %	0,650 (0,508-0,723)
B, abs	0,650 (0,547-0,753)
Treg, % CD4 ⁺	0,645 (0,541-0,749)
Th, %	0,619 (0,514-0,724)
T act, %	0,616 (0,508-0,723)
Treg, %	0,600 (0,501-0,704)

риод обострения заболевания выявлено повышение количества эффекторных Т-лимфоцитов и активированных Т-клеток на фоне сниженного числа Treg-лимфоцитов [12, 18]. У детей с ВЗК показано увеличение содержания циркулирующих активированных Т-хелперов и Treg-лимфоцитов вне зависимости от стадии заболевания, что, по мнению авторов, отражает особенности воспалительной реакции при ВЗК и является следствием компенсаторной адаптационной реакции иммунной системы, направленной на подавление воспалительного ответа [11, 16, 23].

Проведенная нами оценка значимости показателей клеточного иммунитета, выполненная с использованием ROC-анализа, выявила, что наиболее информативным показателем в прогнозе эффективности биологической терапии является относительное содержание Th17-лимфоцитов (% CD3⁺CD4⁺CD161⁺ от CD3⁺CD4⁺) до начала терапии (AUC-0,857, p < 0,05). Ранее было показано, что эта субпопуляция постепенно увеличивается с возрастом, поэтому рассчитанный нами пороговый критерий для уровня Th17-лимфоцитов в периферической крови является таковым только для детей в возрасте 12-18 лет [5].

Таким образом, оценка состояния клеточного иммунитета у детей с ВЗК выявила ряд значимых отклонений показателей как в основных, так и в минорных популяциях лимфоцитов, что позволяет рекомендовать включение данного исследования в мониторинг состояния пациентов с ВЗК. Количество Th17-лимфоцитов (% от CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов) с высокой долей вероятности позволяет прогнозировать эффект терапии блоком TNFα.

Список литературы / References

1. Белоусова Е.А., Морозова Н.А., Великанов Е.В., Гаганов Л.Е. Инфликсимаб при язвенном колите: обзор исследований и собственные результаты // Фарматека, 2011. № 2. С. 72-77. [Belousova E.A., Morozova N.A., Velikanov E.V., Gaganov L.E. Infliximab in ulcerative colitis: revivе of studies and own results. *Pharmateka* = *Pharmateka*, 2011, no. 2, pp. 72-77. (In Russ.)]
2. Маянская И.В., Маянский А.Н. Неиммунные и иммунные механизмы, участвующие в развитии хронических воспалительных заболеваний кишечника // Вопросы диагностики в педиатрии, 2013. Т. 5, № 4. С. 14-23. [Mayanskaya I.V., Mayansky A.N. Non-immune and immune mechanisms participating in chronic inflammatory bowel diseases. *Voprosy diagnostiki v pediatrii* = *Pediatric Diagnostics*, 2013, Vol. 5, no. 4, pp. 14-23. (In Russ.)]
3. Мирошкина Л.В., Петричук С.В., Цимбалова Е.Г., Потапов А.С., Венедиктова М.М., Топтыгина А.П., Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Семикина Е.Л., Варичкина М.А. Цитокиновый профиль у детей с воспалительными заболеваниями кишечника как предиктор эффективности терапии инфликсимабом // Вопросы диагностики в педиатрии, 2013. Т. 5, № 4. С. 33-38. [Miroshkina L.V., Petrichuk S.V., Tsimbalova E.G., Potapov A.S., Venediktova M.M., Topotygina A.P., Kurbatova O.V., Izmaylova T.D., Semikina E.L., Varichkina M.A. Cytokine profile as predictor of infliximab therapy effectiveness in children with inflammatory bowel diseases. *Voprosy diagnostiki v pediatrii* = *Pediatric Diagnostics*, 2013, Vol. 5, no. 4, pp. 33-38. (In Russ.)]
4. Сагынбаева В.Э., Лазебник Л.Б., Князев О.В., Ефремов Л.И. Антитела к инфликсимабу и к антигенам HLA I-II класса как свидетели иммунного ответа на биологическую терапию воспалительных заболеваний кишечника // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2011. № 12. С. 7-14. [Sagynbaeva V.E., Lazebnik L.B., Knyazev O.V., Efremov L.I. Antibodies to infliximab and antigens HLA I-II class as the witnesses of immune response to the biological treatment of inflammatory bowel disease. *Ekspерimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya* = *Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2011, no. 12, pp. 7-14. (In Russ.)]

5. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Петричук С.В., Закиров Р.Ш., Курбатова О.В., Копыльцова Е.А., Комах Ю.А. Изменение уровня субпопуляций Т-регуляторных клеток и Т-хелперов 17 в периферической крови здоровых людей в зависимости от возраста // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 4. С. 409-420. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Petrichuk S.V., Zakirov R.Sh., Kurbatova O.V., Kopyltsova E.A. Age-dependent changes of T-regulatory and Th17 subset levels in peripheral blood from healthy humans. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 4, pp. 409-420. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-4-409-420.
6. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состав лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» // Российский иммунологический журнал, 2014. № 4 (17). С. 974-992. [Khaydukov S.V., Baydun L.V., Zurochka A.V., Totolyan A.A. The standardised technique: «Study subpopulations of peripheral blood lymphocytes by using flow cytometry». *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, no. 4 (17), pp. 974-992. (In Russ.)]
7. Abraham C., Cho J.H. Inflammatory bowel disease. *N. Engl. J. Med.*, 2009, Vol. 361, pp. 2066-2078.
8. Annunziato F., Cosmi L., Santarlasci V., Maggi L., Liotta F., Mazzinghi B., Parente E., Fili L., Ferri S., Frosali F., Giudici F., Romagnani P., Parronchi P., Tonelli F., Maggi E., Romagnani S. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J. Exp. Med.*, 2007, Vol. 204, no. 8, pp. 1849-1861.
9. Arnott I.D., Mcneill G., Satsangi J. An analysis of factors influencing short-term and sustained response to infliximab treatment for Crohn's disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2003, Vol. 17, no. 12, pp. 1451-1457.
10. Bogaert S., Laukens D., Harald Peeters H., Melis L., Olivevier K., Boon N., Verbruggen G., Vandesompele J., Elewaut D., De Vos M. Differential mucosal expression of Th17-related genes between the inflamed colon and ileum of patients with inflammatory bowel disease. *BMC Immunology*, 2010, Vol. 11, pp. 1-11.
11. Cseh A., Vasarhelyi B., Molnar K., Szalay B., Svec P., Treszl A., Dezsöfi A., Lakatos P.L., Arato A., Tulassay T., Veres G. Immune phenotype in children with therapy naïve remitted and relapsed Crohn's disease. *World J. Gastroenterol.*, 2010, Vol. 16, no. 47, pp. 6001-6009.
12. Chamouard P., Monneaux F., Richert Z., Voegeli A.C., Lavaux T., Gaub M.P., Baumann R., Oudet P., Muller S. Diminution of circulating CD4⁺CD25^{high} T cells in naïve Crohn's disease. *Dig. Dis. Sci.*, 2009, Vol. 54, pp. 2084-2093.
13. Danese S. Immune and nonimmune components orchestrate the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2011, Vol. 300, pp. 716-722.
14. Elgbratt K., Kurlberg G., Hahn-Zohric M., Hörnquist E.H. Rapid migration of thymic emigrants to the colonic mucosa in ulcerative colitis patients. *Clin. Exp. Immunol.*, 2010, Vol. 162, no. 2, pp. 325-336.
15. El-Hodhod M.A., Aly R.H., Youssef S.R., Mohamedet S.I. Enhanced blood lymphocytes apoptosis in children with inflammatory bowel disease. *ISRN Gastroenterology*, Vol. 2013, pp. 415-417.
16. La Scaleia R., Morrone S., Stoppacciaro A., Scarpino S., Antonelli M., Bianchi E., di Nardo G., Oliva S., Viola F., Cucchiara S., Santoni A., Palmieri G., Uccini S. Peripheral and intestinal CD4⁺ T cells with a regulatory phenotype in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2010, Vol. 51, no. 5, pp. 563-572.
17. Lierop P.P., Samsom J.N., Escher J.C., Nieuwenhuis E. Role of the innate immune system in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2009, Vol. 48, no. 2, pp. 142-151.
18. Maul J., Loddenkemper C., Mundt P., Berget E., Giese T., Stallmach A., Zeitz M., Duchmann R. Peripheral and intestinal regulatory CD4⁺ CD25^{high} T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 2005, Vol. 128, pp. 1868-1878.
19. Mishima Y., Ishihara S., Amano Y., Oshima N., Kadota Ch., Otani A. Alterations of peripheral blood CD5⁺ B cells in inflammatory bowel disease. *Scand J. Gastroenterol*, 2009, Vol. 44, no. 2, pp. 172-179.
20. Monteleone G., Fina D., Caruso R., Pallone F. New mediators of immunity and inflammation in inflammatory bowel disease. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2006, Vol. 22, no. 4, pp. 361-364.
21. Ogawa K., Matsumoto T., Esaki M., Torisu T., Iida M. Profiles of circulating cytokines in patients with Crohn's disease under maintenance therapy with infliximab. *J. Crohn's Colitis*, 2012, Vol. 6, no. 5, pp. 529-535.
22. Orlando A., Colombo E., Kohn A., Biancone L., Rizzello F., Viscido A., Sostegni R., Benazzato L., Castiglione F., Papi C., Meucci G., Riegler G., Mocciaro F., Cassinotti A., Cosentino R., Geremia A., Morselli C., Angelucci E., Lavagna A., Rispo A., Bossa F., Scimeca D., Cottone M., Italian Multicentric Study Group on Infliximab. Infliximab in the treatment of Crohn's disease: predictors of response in an Italian multicentric open study. *Dig. Liver Dis.*, 2005, Vol. 37, no. 8, pp. 577-583.
23. Reikvam D.H., Perminow G., Lyckander L.G., Gran J.M., Brandtzaeg P., Vatn M., Carlsen H.S. Increase of regulatory T cells in ileal mucosa of untreated pediatric Crohn's disease patients. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2011, Vol. 46, pp. 550-560.
24. Ricciardelli I., Lindley K.J., Londei M., Quarantino S. Anti tumour necrosis-alpha therapy increases the number of FOXP3 regulatory T cells in children affected by Crohn's disease. *Immunology*, 2008, Vol. 125, no. 2, pp. 178-183.
25. Sanchez-Muñoz F., Dominguez-Lopez A., Yamamoto-Furusho J.K. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.*, 2008, Vol. 14, no. 27, pp. 4280-4288.
26. Souza H., Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2016, Vol. 13, pp. 13-27.

27. Taylor K.D., Plevy S.E., Yang H., Landers C.J., Barry M.J., Rotter J.I. Targan S.R. ANCA pattern and LTA haplotype relationship to clinical responses to anti-TNF antibody treatment in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2001, Vol. 120, no. 6, pp. 1347-1355.
28. Vermeire S., Louis E., Carbonez A., van Assche G., Noman M., Belaiche J., de Vos M., van Gossum A., Pescatore P., Fiasse R., Pelckmans P., Reynaert H., D'Haens G., Rutgeerts P. Demographic and clinical parameters influencing the short-term outcome of anti-tumor necrosis factor (Infliximab) treatment in Crohn's disease. *J. Gastroenterol.*, 2002, Vol. 97, no. 9, pp. 2357-2363.
29. Voiglio E., Salle B., Lemaitre D., Cloix P., Bancel B., Cozon G. Activation of T-lymphocytes in Crohn disease and in ulcerative hemorrhagic rectocolitis. Therapeutic implications. *Pathol. Biol. (Paris)*, 1996, Vol. 44, no. 4, pp. 287-292.
30. Yadav P.K., Chen C., Liu Z. Potential role of NK cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2011, Vol. 2011, 348530, 6 p. doi: 10.1155/2011/348530.
31. Zhang Y-Z., Li Y-Y. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J. Gastroenterol.*, 2014, Vol. 20, no. 1, pp. 91-99.

Авторы:

Петричук С.В. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии лабораторного отдела НИИ педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Мирошкина Л.В. — к.м.н., научный сотрудник лабораторного отдела НИИ педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Семикина Е.Л. — д.м.н., заведующая централизованной клинико-диагностической лабораторией ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры факультетской педиатрии № 1 ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», Москва, Россия

Топтыгина А.П. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Потапов А.С. — д.м.н., профессор, заведующий гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Цимбалова Е.Г. — к.м.н., старший научный сотрудник гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Радыгина Т.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Petrichuk S.V., PhD, MD (Biology), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, Research Institute of Pediatrics, National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Miroshkina L.V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory Department, Research Institute of Pediatrics, National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Semikina E.L., PhD, MD (Medicine), Head, Centralized Diagnostic Laboratory, National Medical Research Center of Children's Health; Professor, Department of Faculty Pediatrics No. 1, Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Toptygina A.P., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cytokines, G. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Potapov A.S., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Gastroenterology with a Group of Hepatology, National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Tsimbalova E.G., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Gastroenterology with a Group of Hepatology, National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Radygina T.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Поступила 13.12.2017

Отправлена на доработку 21.12.2017

Принята к печати 27.12.2017

Received 13.12.2017

Revision received 21.12.2017

Accepted 27.12.2017