

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК И Т-ХЕЛПЕРОВ 17 В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

Топтыгина А.П.^{1,4}, Семикина Е.Л.^{2,5}, Петричук С.В.², Закиров Р.Ш.², Курбатова О.В.², Копыльцова Е.А.², Комах Ю.А.³

¹ ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

³ ФГАУ «Межотраслевой научно-технический комплекс „Микрохирургия глаза“ им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

⁴ ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, Россия

Резюме. Возрастная динамика формирования Th17 и Treg у здоровых людей недостаточно изучена. Целью настоящего исследования было изучить количественные характеристики субпопуляций Th17 и Treg у здоровых людей в зависимости от возраста.

Было обследовано 352 человека (168 лиц женского пола и 184 — мужского), в возрасте от 1 месяца до 85 лет, в том числе младше 1 года — 79, в возрасте 1-2 года 11 мес. — 34, 3-4 года 11 мес. — 24, 5-6 лет 11 мес. — 28, 7-8 лет 11 мес. — 25, 9-11 лет 11 мес. — 36, 12-14 лет 11 мес. — 39, 15-18 лет — 26, 20-35 лет — 25, 36-49 лет — 11, 50-70 лет — 16 и в возрасте более 70 лет — 9 человек. У детей в возрасте до 2 лет исследование проводилось из капиллярной крови, в более старшем возрасте — из венозной. Определение субпопуляций лимфоцитов крови проводили методом проточной цитофлуориметрии с четырехцветным окрашиванием в реакции прямой иммунофлуоресценции. Окрашивание проводили в цельной крови с последующим лизированием эритроцитов. Для определения субпопуляций лимфоцитов использовали следующие поверхностные маркеры: CD3, CD4, CD8, CD25, CD127, CD161, CD45R0.

Показано, что процент Treg в гейте CD3⁺CD4⁺ практически не зависит от возраста обследуемых лиц и аппроксимируется линейной функцией. В абсолютном выражении уровень Treg в детском возрасте прогрессивно снижается и после 10 лет выходит на плато и аппроксимируется логарифмической кривой. При исследовании возрастной динамики уровня Th17 обнаружен устойчивый рост этой субпопуляции как в процентном, так и в абсолютном выражении. Процент этих клеток от гейта CD3⁺CD4⁺ и абсолютное количество аппроксимируется квадратными уравнениями. Возраст 10-12 лет является, по-видимому, критическим в процессе формирования иммунной системы, к этому возрасту завершаются основные процессы развития различных звеньев иммунитета и дальше происхо-

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.
Тел.: 8 (495) 452-18-01.
Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Address for correspondence:

Toptygina Anna P.
G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology
125212, Russian Federation, Moscow,
Admiral Makarov str., 10.
Phone: 7 (495) 452-18-01.
Fax: 7 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Образец цитирования:

А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина, С.В. Петричук, Р.Ш. Закиров, О.В. Курбатова, Е.А. Копыльцова, Ю.А. Комах «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. doi: 10.15789/1563-0625-2017-4-409-420

© Топтыгина А.П. и соавт., 2017

For citation:

A.P. Toptygina, E.L. Semikina, S.V. Petrichuk, R.Sh. Zakirov, O.V. Kurbatova, E.A. Kopyltsova, Yu.A. Komakh "Age-dependent changes of T-regulatory and Th17 subset levels in peripheral blood from healthy humans", *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2017, Vol. 19, no. 4, pp. 409-420. doi: 10.15789/1563-0625-2017-4-409-420

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-4-409-420

дит их созревание. В старшем возрасте (70 лет и более) выявлено снижение как процента в составе Т-хелперов, так и абсолютного уровня Treg и Th17-лимфоцитов. Предложенные значения процентного и абсолютного количества клеток субпопуляций Treg и Th17 в периферической крови здоровых людей могут быть использованы в качестве возрастных норм для этих субпопуляций.

Ключевые слова: Treg, Th17, возрастные нормы, субпопуляции лимфоцитов, субпопуляции CD4⁺ лимфоцитов

AGE-DEPENDENT CHANGES OF T-REGULATORY AND Th17 SUBSET LEVELS IN PERIPHERAL BLOOD FROM HEALTHY HUMANS

Toptygina A.P.^{a,b}, Semikina E.L.^{b,e}, Petrichuk S.V.^b, Zakirov R.Sh.^b, Kurbatova O.V.^b, Kopyltsova E.A.^b, Komakh Yu.A.^c

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

^b Federal Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

^c The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow, Russian Federation

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

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

Abstract. Age-dependent development of Th17 and Treg lymphocyte subsets in healthy humans is studied insufficiently. The present study aimed to investigate quantitative characteristics of Th17 and Treg subsets in peripheral blood of healthy subjects for various age groups.

352 healthy humans (168 female and 184 male), one month to 85 years old, were subject to examination, including 79 infants in their first year of life; 34 children at aged 1 year to 2 years 11 months; 24, at 3 to 4 years 11 months; 28, at the age of 5 to 6 years 11 months; 25 children aged 7-8 years 11 month; 36 children aged 9 to 11 years 11 months; 39 adolescents aged 12 to 14 years 11 months; 26 adolescents aged 15 to 18 years; 25 young adults aged 20 to 35 years; 11 adults at 36 to 49 years old; 16 adults aged 59-70 years, and 9 elderly people over 70 years old. The study was performed with capillary blood in children under 2 years, and venous blood taken in elder persons. The basic and 'minor' subsets of peripheral blood lymphocytes were evaluated by flow cytometry using four-color staining of whole blood and following erythrocyte lysis. We used the following surface markers: CD3, CD4, CD8, CD25, CD127, CD161, CD45R0 for lymphocyte subsets detection.

It has been shown that Treg percentage (a ratio of CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/neg} in the CD3⁺CD4⁺ gate) did not depend on age of the people under study, and can be approximated by a linear function. The absolute number of Tregs in childhood is progressively decreased and, after 10 years old, it reaches plateau values. This age-dependent relationship may be approximated by a logarithmic function. Evaluation of Th17 subset levels demonstrated a strong relative and absolute age-dependent growth of this cell subpopulation. Percentage and absolute numbers of Th17 lymphocyte (share of CD4⁺CD161⁺CD45R0⁺ in the CD3⁺CD4⁺gate), can be approximated by a square function. The age of 10-12 years seems to be critical to the immune system formation. We suppose the process of the immune system development to be completed at this age, and maturation of the immune cell populations is then observed. A decrease in both relative and absolute numbers of Treg and Th17 lymphocyte subsets was found in elderly persons (> 70 years old). Our data on peripheral blood Tregs and Th17 subsets, with respect to their percentage and absolute numbers in healthy humans, may be used as age-related reference values.

Keywords: Treg, Th17, CD4⁺ lymphocytes, lymphocytes subsets, normal ranges

Введение

Предложенная в 1986 Mosman and Coffman [21] парадигма Th1/Th2 оказала серьезное воздействие на направления исследований в иммунологии последней четверти XX века, однако оказалась лишь частным случаем: субпопуляций

CD4⁺ лимфоцитов оказалось существенно больше. К настоящему моменту идентифицированы следующие субпопуляции Т-хелперов (Th): Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, фолликулярные Т-хелперы (Tfh) и регуляторные Т-клетки (Treg). Роль и взаимодействие Th1- и Th2-лимфоцитов в иммунном ответе достаточно подробно изучены, тогда

как другая альтернативная пара: Th17/Treg все еще остается под пристальным вниманием ученых. Субпопуляция Th17-лимфоцитов регулирует противобактериальный и противогрибковый иммунный ответ и активирует нейтрофилы, однако, может поддерживать аутоиммунные заболевания [17]. Главным транскрипционным фактором для субпопуляции Th17 человека является RORC2, а основными цитокинами признаны провоспалительные интерлейкины (IL): IL-17A, IL-21 и IL-22 [24]. Одной из важных поверхностных молекул, характерных для Th17, является CD161, а также хемокиновый рецептор CCR6 [11].

Еще до открытия T-регуляторных (Treg) клеток накапливались данные о существовании регуляторной субпопуляции, действие которой связано с рецептором к IL-2. При изучении механизмов действия алкилирующих метаболитов циклофосамида, которые в супернизких дозах блокируют рецептор для IL-2, отмечено парадоксальное повышение пролиферативной активности лимфоцитов в ответ на митоген (ФГА): пролиферативная активность обработанных алкилирующим препаратом лимфоцитов превышала уровень пролиферации необработанных клеток [3, 23]. После открытия Sakaguchi и Руденским FoxP3⁺T-регуляторных клеток [14, 25], выживание которых было обусловлено высокой экспрессией рецептора к IL-2, стало понятно, что такой эффект мог быть достигнут, только если блокировка алкилирующими метаболитами циклофосамида рецептора к IL-2 инактивировала эти регуляторные клетки, изначально присутствовавшие в популяции лимфоцитов периферической крови и контролировавшие высоту пролиферативного ответа на ФГА.

Принято выделять натуральные и индуцированные T-регуляторные лимфоциты и те и другие экспрессируют FoxP3 [8, 14]. Натуральные (центральные) Treg (nTreg), образуются в тимусе и обеспечивают контроль за аутоагрессивными процессами. Индуцированные (периферические) Treg (iTreg) образуются из наивных CD4⁺ лимфоцитов и отвечают за поддержание толерантности к антигенам пищи, симбионтов, аллогенного плода при беременности, они же ограничивают иммунный ответ после элиминации возбудителя. Первоначально мембранным фенотипом Treg считали экспрессию CD4⁺CD25^(hi). Однако вскоре было показано, что эта субпопуляция неоднородна. В ней можно выделить активированные хелперы (CD4⁺CD25⁺CD127^{hi}) и Treg с низкой экспрессией CD127 (α-цепь рецептора для IL-7) [26].

В процессе постнатального развития происходят длительные процессы формирования многих звеньев иммунной системы, в том числе системы клеточного иммунитета. Если nTreg образуются в тимусе еще до рождения ребенка, то iTreg формируются под воздействием антигенов пищи и микроорганизмов. В формировании субпопуляции Th17 поступающие извне антигены играют основную роль. Этот процесс продолжается в течение всей жизни. Дополнительные изменения вносят различные заболевания. Возрастная динамика формирования Th17 и Treg у здоровых людей недостаточно изучена. **Целью настоящего исследования** было изучить количественные характеристики субпопуляций Th17 и Treg у здоровых людей в зависимости от возраста.

Материалы и методы

Было обследовано 352 человека (168 лиц женского пола и 184 – мужского), в возрасте от 1 месяца до 85 лет, в том числе младше 1 года – 79, в возрасте 1-2 года 11 мес. – 34, 3-4 года 11 мес. – 24, 5-6 лет 11мес. – 28, 7-8 лет 11 мес. – 25, 9-11 лет 11мес. – 36, 12-14 лет 11 мес. – 39, 15-18 лет – 26, 20-35 лет – 25, 36-49 лет – 11, 50-70 лет – 16 и в возрасте более 70 лет – 9 человек. Исследование выполнено при проведении профилактических осмотров и ежегодной диспансеризации, по результатам которых подтверждено отсутствие острых и хронических иммуноопосредованных заболеваний у всех обследованных. Полученные в результате лабораторного обследования показатели общего анализа крови, процентный и абсолютный состав основных субпопуляций лимфоцитов крови и показатели гуморального иммунитета находились в пределах возрастных норм, что позволило охарактеризовать когорту обследованных как «здоровые люди».

У детей в возрасте до 2 лет исследование проводилось из капиллярной крови, в более старшем возрасте – из венозной, взятие крови утром натощак из локтевой вены 2 мл в пробирку с ЭДТА.

Иммунофенотипирование лимфоцитов крови проводили методом проточной цитофлюорометрии с четырехцветным окрашиванием в реакции прямой иммунофлюоресценции. Окрашивание проводили в цельной крови с последующим лизированием эритроцитов [6]. Использовали технологию и реактивы BD Biosciences (США) – проточный цитометр FASCalibur, BDFacsCantoII, программу сбора и обработки информации CellQuest, FACSDiva. Выделение лимфоидного региона проводилось по показателям прямого и бокового светорассеяния с учетом экспрес-

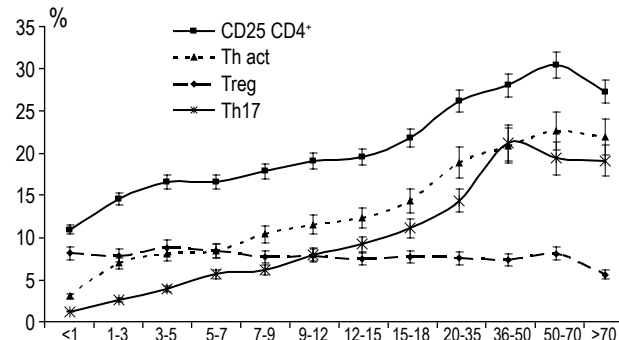
сии CD45 (графики CD45/SSC и FSC/SSC). Для определения субпопуляций лимфоцитов использовали следующие поверхностные маркеры: CD3, CD4, CD8, CD25, CD127, CD161, CD45R0. Анализ данных иммунофлуоресценции включал комплекс показателей. Оценивался общий уровень Т-клеток CD3⁺, Т-хелперов CD3⁺CD4⁺ и Т-цитотоксических CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов (процент в составе лимфоцитов и абсолютное число); а также распределение субпопуляций с различным иммунофенотипом среди CD3⁺CD4⁺ – клеток: общий уровень лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD25⁺ с разделением на субпопуляции активированных Т-хелперов CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127⁺ и Т-регуляторных клеток CD3⁺CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/neg}; и уровень Th17-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD161⁺CD45R0⁺, для этих популяций оценивался их процент в составе всех Т-хелперов (в гейте CD3⁺CD4⁺), а также абсолютные числа.

Полученные результаты обработали методами вариационной статистики (программные пакеты Statistica и Microsoft Excel). Для каждого показателя была подтверждена статистическая гипотеза о нормальности распределения данных по критерию о равенстве дисперсий. Вычисляли среднюю арифметическую и ее стандартную ошибку (M±SE), различия между группами оценивали с помощью параметрического t-критерия. Уровень p < 0,05 считали значимым. Для выявления корреляций между различными признаками использовали критерий Пирсона.

Результаты

Средние значения содержания основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови людей разного возраста представлены в таблице 1. Абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови максимально у детей первого года жизни и постепенно снижается, выходя на плато после 10 лет. При этом коэффициент корреляции Пирсона для всех возрастов $r = -0,46$, то есть корреляция слабая, тогда как для детей до 10 лет $r = -0,70$, то есть сильная отрицательная корреляция с возрастом. Аналогичные зависимости были выявлены для абсолютных значений таких крупных субпопуляций лимфоцитов, как Т-лимфоциты (CD3⁺) для всех возрастов $r = -0,38$, а для детей до 10 лет $r = -0,67$; Т-хелперы (CD4⁺) для всех возрастов $r = -0,38$, а для детей до 10 лет $r = -0,69$; и, в меньшей степени, для цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺) для всех возрастов $r = -0,35$, а для детей до 10 лет $r = -0,44$. Процентное соотношение основных

А (А)



Б (Б)

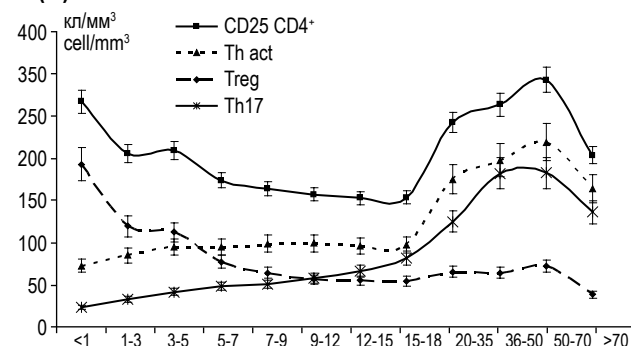


Рисунок 1. Возрастная динамика малых субпопуляций CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов в периферической крови здоровых людей (M±SE)

Примечание. А – процент в гейте CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов; Б – абсолютные показатели в мм³. По оси абсцисс – возраст в годах.

Figure 1. Age dependent dynamics of CD3⁺CD4⁺ lymphocyte subsets in peripheral blood of healthy humans (M±SE)

Note. (A) percent in gate of CD3⁺CD4⁺ lymphocytes. (B) absolute number (mm³). Abscissa – number of years.

субпопуляций лимфоцитов в меньшей степени зависело от возраста, и значимых корреляций выявлено не было.

Существенно более интересные соотношения были выявлены при анализе возрастной динамики малых субпопуляций CD4⁺ лимфоцитов (см. табл. 2). Первоначально за субпопуляцию Treg принимали CD4⁺CD25⁺ лимфоциты. Уровень этой субпопуляции в процентах от гейта CD3⁺CD4⁺ продемонстрировал сильную положительную корреляцию с возрастом ($r = 0,69$), однако в абсолютном количестве такая зависимость терялась. На рисунке 1Б видно, что зависимость этого показателя от возраста имеет сложный профиль. Позднее было показано, что субпопуляция CD4⁺CD25⁺ включает в себя по меньшей мере 2 субпопуляции: активированные Т-хелперы (Th_{act}) с фенотипом CD4⁺CD25⁺CD127^{hi} и Treg

с фенотипом CD4⁺CD25⁺CD127^{neg/lo}. Раздельный анализ этих субпопуляций выявил интересные закономерности (см. рис. 1). Так, субпопуляция Th_{act} и в процентном ($r = 0,74$) и в абсолютном ($r = 0,64$) выражении продемонстрировала сильную положительную корреляцию с возрастом. При этом субпопуляция Treg в процентном выражении от гейта CD3⁺CD4⁺ составляла 7-8% независимо от возраста. Значимое снижение до 5,42% было выявлено лишь в группе сильно пожилых лиц, средний возраст 79,4 года ($p < 0,05$). Абсолютное количество Treg постепенно снижалось, выходя на плато в возрасте около 10 лет на уровне 65-75 кл/мм³. В старшей возрастной группе также было обнаружено значимое снижение абсолютного количества Treg до уровня 45,4 кл/мм³ ($p < 0,05$). Выявлена отрицательная корреляция с возрастом $r = -0,38$, а для детей до 10 лет $r = -0,62$. При этом абсолютное количество Treg продемонстрировало тесную положительную корреляцию с абсолютным количеством лимфоцитов и абсолютным количеством CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов в крови в зависимости от возраста ($r = 0,87$ и $r = 0,89$ соответственно).

Анализ уровня Th17 свидетельствует о сильной положительной связи между возрастом и уровнем лимфоцитов этой субпопуляции в крови – как в абсолютном, так и в процентном выражении, коэффициент корреляции Пирсона составил 0,74 и 0,82 соответственно. При этом на графиках хорошо заметен параллелизм между изменениями уровней субпопуляций Th_{act} и Th17, как в процентном выражении, так и в абсолютных показателях, проявляющийся в сильной положительной корреляции ($r = 0,76$ и $r = 0,64$ соответственно).

К настоящему времени известно, что Th17-лимфоциты также неоднородны: субпопуляции CD4⁺CD161⁺ присутствуют как CD45R0⁺, так и CD45RA⁺ лимфоциты. При этом первый вариант фенотипа рассматривается как зрелые Th17-клетки, а второй – как лимфоциты, способные дифференцироваться в Th17. Оказалось, что уровень этих субпопуляций линейно зависит от возраста исследуемого человека (рис. 2). Процент CD45R0 в составе CD4⁺CD161⁺ менялся от 24,7% у детей до года до 93,3% у пожилых людей старше 70 лет. Следовательно, у людей разного возраста количество зрелых Th17 в субпопуляции CD4⁺CD161⁺ различается, поэтому не следует исключать маркер CD45R0 при анализе субпопуляции Th17, ибо это может привести к существенным искажениям, особенно в разных возрастных группах.

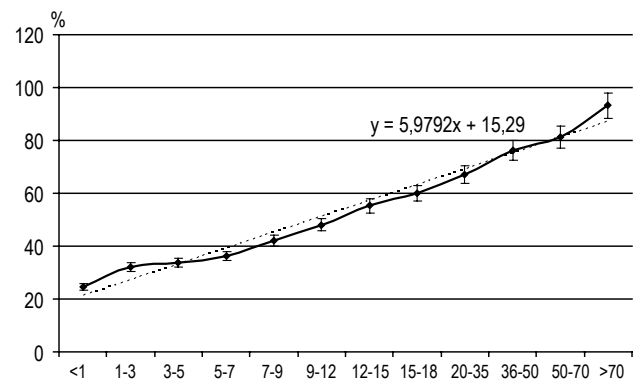


Рисунок 2. Процент лимфоцитов периферической крови здоровых людей, экспрессирующих молекулу CD45R0 в гейте CD4⁺CD161⁺ (M±SE)

Примечание. По оси абсцисс – возраст в годах. Пунктирной линией обозначен график аппроксимации, представлена формула графика аппроксимации.

Figure 2. Percentage of peripheral blood lymphocytes expressing CD45R0 in gate CD4⁺CD161⁺ (M±SE)

Note. Abscissa – number of years. Approximation line is shown by dotted curve.

Обсуждение

Целью нашей работы было изучение динамики количественных характеристик субпопуляций Th17 и Treg у здоровых людей в зависимости от возраста. В результате проведенной работы нам удалось показать, что процент Treg в гейте CD3⁺CD4⁺ практически не зависит от возраста обследуемых лиц и значимо снижается лишь в очень пожилом возрасте. В абсолютном выражении уровень Treg в детском возрасте прогрессивно снижается и после 10 лет выходит на плато и также снижается в старшей возрастной группе (средний возраст 79,4 года). Зависимость абсолютного количества Treg в мм³ крови аппроксимируется логарифмической кривой (рис. 3). Величина достоверности аппроксимации R² составила 0,85, что говорит о хорошей степени соответствия модели. Снижение общего количества лимфоцитов в периферической крови здоровых лиц в зависимости от возраста, а так же их субпопуляций CD3⁺ и CD3⁺CD4⁺ также подчиняется логарифмической зависимости (R² = 0,93; 0,88 и 0,81 соответственно). Относительный уровень Treg лучше всего аппроксимируется линейной функцией (см. рис. 3). Наши результаты хорошо согласуются с результатами контрольных групп здоровых доноров, представленных в работах разных авторов, исследовавших Treg в крови людей разных возрастов [1,16]. В то же время старшая возрастная группа вызвала не-

ТАБЛИЦА 1. СОСТАВ ОСНОВНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ (ПРОЦЕНТ В ЛИМФОИДНОМ ГЕЙТЕ И АБСОЛЮТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ)

TABLE 1. MAJOR SUBSETS OF T-LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD OF HEALTHY HUMANS (PERCENTAGE AND ABSOLUTE NUMBERS IN "LYMPHOID" GATE)

Возраст Age	Лимфоциты Lymphocytes (abs)	CD3 %	CD3 abs	CD4 %	CD4 abs	CD8 %	CD8 abs	CD4/CD8
до 1 г. under 1 year	5838,22±176,12	67,65±0,85	4225,52±150,35	49,22±0,89	2893,62±113,69	17,21±0,43	1055,32±38,56	3,23±0,09
1-2 г. 11 мес. 1-2 years 11 months	4327,96±227,68	65,78±1,13	2854,64±169,71	40,38±1,05	1766,92±118,55	20,77±0,71	900,18±61,77	1,98±0,07
3-4 г. 11 мес. 3-4 years 11 months	3901,24±257,14	68,91±1,63	2712,36±180,03	38,94±1,75	1528,19±130,88	24,55±1,18	952,30±63,28	1,66±0,12
5-6 л. 11 мес. 5-6 years 11 months	2920,15±170,85	67,43±1,28	1918,52±107,13	38,18±0,98	1090,54±53,76	23,41±0,78	674,08±47,35	1,67±0,07
7-8 л. 11 мес. 7-8 years 11 months	2594,99±157,65	69,63±1,25	1793,36±106,86	37,71±1,33	956,90±48,51	24,88±1,18	660,46±62,05	1,57±0,09
9-11 л. 11 мес. 9-11 years 11 months	2444,88±93,07	68,92±1,27	1696,79±79,37	36,58±0,91	894,08±38,94	26,47±1,02	658,37±42,35	1,45±0,07
12-14 л. 11 мес. 12-14 years 11 months	2233,54±80,11	70,57±1,06	1565,73±60,55	39,01±1,11	866,06±35,73	27,31±0,81	613,71±30,25	1,48±0,06
15-18 л. 15-18 years	1963,03±82,28	69,64±1,11	1363,73±59,22	42,18±1,05	832,72±45,53	23,45±0,68	454,24±21,98	1,84±0,08
20-35 л. 20-35 years	2291,39±90,94	72,86±1,35	1723,89±77,16	42,31±1,44	982,26±60,72	26,08±1,12	614,37±32,57	1,71±0,09
36-50 л. 36-50 years	2119,16±160,16	76,70±1,45	1627,96±127,73	47,20±1,22	1001,66±85,52	29,09±1,66	612,07±52,41	1,69±0,13
50-70 л. 50-70 years	2269,86±151,37	72,98±1,93	1671,84±136,40	49,14±1,57	1126,18±101,28	23,65±1,93	537,70±51,49	2,34±0,23
более 70 л. over 70 years	2103,03±208,01	70,16±3,27	1452,48±127,73	40,04±2,33	846,15±82,31	24,47±3,38	482,64±43,38	1,85±0,23

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ (В ГЕЙТЕ CD3⁺CD4⁺)
TABLE 2. DISTRIBUTION OF T-LYMPHOCYTE SUBSETS (DETECTED IN CD3⁺CD4⁺ GATE)

Возраст Age	CD25 ⁺ CD4 ⁺ %**	CD25 ⁺ CD4 ⁺ abs	Th act %	Th act abs	Treg %	Treg abs	Th17 %	Th17 abs
до 1 г. under 1 year	10,74±0,26	305,81±10,32	2,81±0,25	84,53±5,23	7,93±0,17	221,28±8,27	1,01±0,08	28,21±1,83
1-2 г. 11 мес. 1-2 years 11 months	14,39±0,75	236,18±22,85	6,73±0,53	98,53±8,68	7,66±0,47	137,64±12,52	2,43±0,22	39,34±3,11
3-4 г. 11 мес. 3-4 years 11 months	16,46±0,93	240,02±18,61	7,84±0,61	110,25±10,62	8,62±0,75	129,78±12,69	3,66±0,35	49,17±4,32
5-6 л. 11 мес. 5-6 years 11 months	16,43±0,51	199,71±11,34	8,19±0,48	109,95±6,12	8,24±0,40	89,76±7,77	5,46±0,44	57,21±4,83
7-8 л. 11 мес. 7-8 years 11 months	17,73±0,83	188,64±8,43	10,21±0,56	114,05±4,73	7,52±0,41	74,59±5,20	5,94±0,51	59,62±5,30
9-11 л. 11 мес. 9-11 years 11 months	18,97±0,94	180,66±7,52	11,35±0,68	114,72±4,66	7,63±0,32	65,94±3,49	7,76±0,65	67,28±6,18
12-14 л. 11 мес. 12-14 years 11 months	19,43±0,81	175,94±11,55	12,16±0,62	111,26±7,51	7,26±0,31	64,69±4,24	9,02±0,89	77,11±6,71
15-18 л. 15-18 years	21,64±1,02	176,31±13,44	14,13±1,01	112,67±10,01	7,51±0,38	63,64±4,74	10,89±1,10	95,01±7,67
20-35 л. 20-35 years	26,08±1,45	277,76±21,15	18,75±1,28	201,32±17,61	7,33±0,56	76,44±7,20	14,22±1,22	144,04±8,92
36-50 л. 36-50 years	27,92±2,87	301,83±49,86	20,74±2,47	227,07±41,04	7,18±0,67	74,76±7,18	21,05±1,80	209,08±18,04
50-70 л. 50-70 years	30,39±1,76	335,47±29,45	22,51±1,61	251,33±24,17	7,87±0,71	84,13±7,65	19,24±1,23	209,71±18,54
более 70 л. over 70 years	27,20±2,32	233,73±21,42	21,78±1,13	188,30±18,79	5,42±0,57	45,43±4,09	18,98±1,88	156,82±15,38

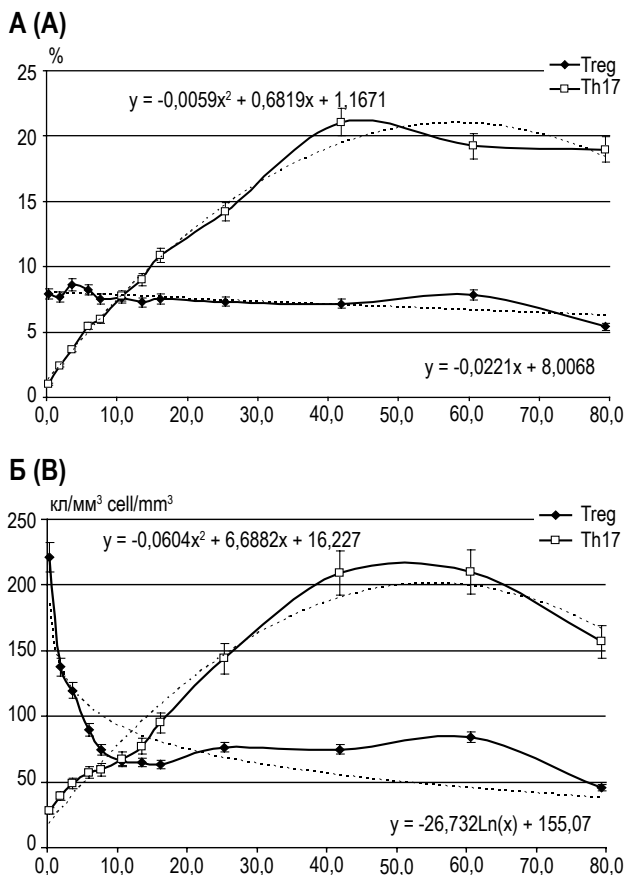


Рисунок 3. Аппроксимация графиков возрастной динамики субпопуляций Treg и Th17 периферической крови здоровых людей (M±SE)

Примечание. А – процент в гейте CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов. Б – абсолютные показатели в мм³. По оси абсцисс – возраст в годах. Пунктирной линией обозначены графики аппроксимации, представлены формулы графиков аппроксимации.

Figure 3. Approximation of age dependent dynamics of Treg and Th17 subsets in peripheral blood of healthy humans (M±SE)
 Note. (A) percentage in gate of CD3⁺CD4⁺ lymphocytes. (B) absolute number (mm³). Abscissa – number of years. Approximation line is shown by dotted curve.

которые затруднения при интерпретации результатов. Существует мнение, что по мере старения организма происходит увеличение количества Treg [15, 18, 28]. Однако обращает на себя внимание тот факт, что Treg в этих работах измеряли как CD4⁺CD25⁺ лимфоциты, не учитывая экспрессию CD127. В настоящее время хорошо известно, что в субпопуляции CD4⁺CD25⁺ присутствуют как Treg (CD4⁺CD25⁺CD127^{neg/lo}), так и активированные хелперы (CD4⁺CD25⁺CD127^{hi}). Для людей сильно пожилого возраста типично наличие хронических воспалительных, в том числе и аутоиммунных заболеваний [9], что, скорее, могло бы свидетельствовать о недостатке Treg.

По-видимому, в анализируемых работах под видом Treg учитывали сумму Th_{act} и Treg. Как нами было показано, количество Th_{act} прогрессивно нарастает с возрастом, а Treg немного снижается, поэтому сумма могла давать более высокие значения, чем у лиц молодого возраста. Использование маркера CD127 позволяет разделить эти субпопуляции и исключить суммирование результатов. Более того, субпопуляция Treg также неоднородна, в ней выделяют образующиеся в тимусе nTreg и индуцируемые на периферии iTreg. Их функции перекрываются лишь в части торможения аутоиммунного ответа. По-видимому, с возрастом меняется соотношение этих двух субпопуляций, хотя бы уже потому, что активность тимуса весьма высока в первые 10-12 лет жизни и постепенно снижается к старческому возрасту. Логично было бы предположить, что сразу после рождения субпопуляция Treg представлена в основном тимическими Treg, а в старости, напротив – iTreg. Тем не менее на мышах было показано, что у старых животных, напротив, отмечается повышение nTreg и снижение уровня iTreg [10]. К сожалению, мнение о том, что мыши являются хорошей моделью для изучения возрастных изменений в иммунной системе, не подтвердилось. Так, в частности, было показано, что даже у очень старых мышей тимус работает весьма эффективно и поддержание пула Т-лимфоцитов даже у таких животных осуществляется за счет мигрантов из тимуса, тогда как у человека в сильно пожилом возрасте поддержание пула Т-клеток происходит, в основном, за счет гомеостатической пролиферации [12], поэтому невозможно переносить данные, полученные на мышах, на человека. В литературе есть сведения о том, что сразу после рождения субпопуляция Treg представлена натуральными Treg, а дальше начинают появляться и индуцированные на периферии Treg, однако такие исследования отрывочные и ограничены в сроках наблюдения 3-мя годами, что слишком мало для понимания процессов протяженностью в человеческую жизнь [16].

При исследовании возрастной динамики уровня Th17 обнаружен устойчивый рост этой субпопуляции как в процентном, так и в абсолютном выражении. И это несмотря на то, что общее количество лимфоцитов в периферической крови здоровых лиц в зависимости от возраста, а также их субпопуляций CD3⁺ и CD3⁺CD4⁺ постепенно снижается, а в процентном выражении практически не меняется. Исследование зависимости уровня Th17 от возраста выявило, что и процент этих клеток от гейта CD3⁺CD4⁺,

и абсолютное количество аппроксимируется квадратными уравнениями (рис. 3). Величина достоверности аппроксимации R^2 составила 0,98 и 0,96 соответственно, что говорит об очень высокой степени соответствия модели. Обнаружен параллелизм между увеличением с возрастом уровня Th17 и активированных хелперов (Th_{act}). Нам не удалось найти исследования, прослеживающего изменения уровня Th17 от рождения и до очень пожилого возраста, однако наши данные хорошо коррелируют с уровнем Th17 в контрольных группах в многочисленных исследованиях субпопуляции Th17 при различных заболеваниях у людей разного возраста [13, 19, 20, 27]. У здоровых детей грудного и младшего возраста Th17 определяются на уровне 1-3% [13, 19], а у пожилых людей их количество прогрессивно нарастает с возрастом [27]. Однако сопоставление данных литературы осложняется тем, что в разных работах применяли разные способы детекции Th17-лимфоцитов. Кроме CD161-маркера, использовали также хемокиновый рецептор CCR6 или внутриклеточное окрашивание на IL-17A, при этом полученные данные могут существенно различаться.

Многие авторы для анализа баланса иммунной системы предлагают использовать отношение Treg/Th17 [13, 19, 20, 27]. Мы провели соответствующие расчеты. Зависимость отношения Treg/Th17 хорошо аппроксимируется степенной функцией (см. рис. 4), достоверность аппроксимации $R^2 = 0,98$, что свидетельствует об очень высокой степени соответствия модели. Большинство авторов отмечает увеличение уровня Th17 при изучаемой ими патологии, или, по крайней мере, уменьшение отношения Treg/Th17 [2, 13, 19, 20, 27]. Мы также исследовали детей с заболеваниями различной этиологии, в основе которых лежит воспаление, и всякий раз обнаруживали повышение уровня Th17 (неопубликованные данные). Иными словами, уровень Th17 у больных людей соответствовал более «взрослому» нормативам. В англоязычной литературе такое явление именуют термином Premature Aging – преждевременное старение [22]. Более того, в гейте $CD4^+CD161^+$ резко возрастает количество $CD45R0^+$ лимфоцитов, что типично для сильно пожилых людей (см. рис. 2). Динамику соотношения Treg/Th17 в ответ на введение вирусных антигенов удалось проследить на примере вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита. Оказалось, что после введения антигенов быстро повышается количество Th_{act} и Th17 лимфоцитов в периферической крови, и только вслед

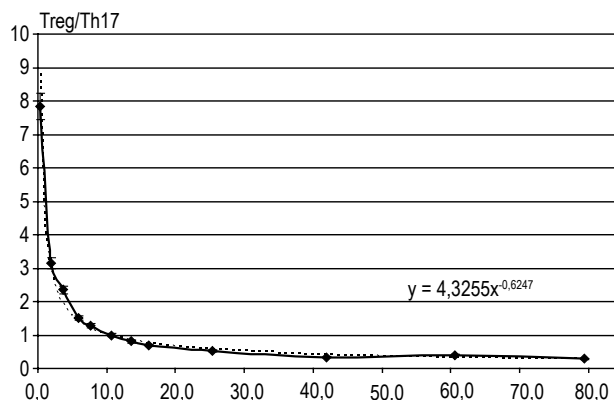


Рисунок 4. Зависимость соотношения Treg/Th17 в периферической крови здоровых людей от возраста ($M \pm SE$)

Примечание. По оси абсцисс – возраст в годах. Пунктирной линией обозначен график аппроксимации, представлена формула графика аппроксимации.

Figure 4. Age dependence of Treg/Th17 lymphocyte subsets ratio in peripheral blood of healthy humans ($M \pm SE$)

Note. Abscissa – number of years. Approximation line is shown by dotted curve.

за этим повышается уровень Treg. По завершении ответа на вакцину уровень Treg возвращается к исходному, тогда как уровень Th17 снижается, но остается чуть выше исходного. Это превышение было не значимым, однако такая тенденция наблюдалась [4]. По-видимому, специфические Th17-лимфоциты образуются при каждом иммунном ответе, и после его завершения какая-то небольшая часть образовавшихся в данном иммунном ответе Th17 превращается в Th17 памяти и сохраняется в организме, чем и объясняется постепенный прирост субпопуляции Th17 с возрастом. В то же время, очевидно, iTreg образуются с некоторой задержкой по времени для завершения иммунного ответа и подавления активированных Th17. Видимо, Treg-клетки памяти тоже постепенно накапливаются, но процесс этот идет менее интенсивно, чем у Th17, поэтому соотношение Treg/Th17 с возрастом постепенно снижается.

Обращают на себя внимание особенности развития иммунной системы в возрасте 10-12 лет. К этому возрасту постепенное снижение абсолютного количества лимфоцитов, $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток выходит на плато. В этом возрасте происходит перекрест графиков зависимости Treg и Th17 от возраста, как абсолютные количества, так и для процентного соотношения. В этом же возрасте начинает выходить на плато график соотношения Treg/Th17. Более того, известно, что к этому возрасту уровень сывороточных IgA

приближается к взрослой норме [7]. Также завершается созревание IgG2 субкласса, уровень которого в сыворотке крови догоняет взрослую норму к 10-12 годам жизни, тогда как другие IgG-субклассы достигают уровня взрослой нормы существенно раньше [5]. Также хорошо известно, что к этому возрасту в основном заканчиваются частые простудные заболевания, от которых так страдают дети дошкольного и младшего школьного возраста. По-видимому, к 10-12 годам происходит основное становление иммунной системы, а далее достигнутые успехи закрепляются и расширяются. Однако это лишь наблюдения и предположения, требующие отдельного исследования.

Таким образом, в результате проделанной работы удалось показать, что процент Treg в гейте CD3⁺CD4⁺ практически не зависит от возраста обследуемых лиц и аппроксимируется линейной

функцией. В абсолютном выражении уровень Treg в детском возрасте прогрессивно снижается и после 10 лет выходит на плато и аппроксимируется логарифмической кривой. При исследовании возрастной динамики уровня Th17 обнаружен устойчивый рост этой субпопуляции как в процентном, так и в абсолютном выражении. Процент этих клеток от гейта CD3⁺CD4⁺, и абсолютное количество аппроксимируется квадратными уравнениями. Возраст 10-12 лет является, по-видимому, критическим в процессе формирования иммунной системы, к этому возрасту завершаются основные процессы развития различных звеньев иммунитета и дальше происходит их созревание. В старшем возрасте (70 лет и более) выявлено снижение Treg- и Th17-клеток и в абсолютном, и в процентном выражении.

Список литературы / References

1. Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Мошев А.В., Козлов В.А. Характеристика субпопуляционного состава Т- и В-лимфоцитов у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких при использовании вакцины для профилактики синегнойной инфекции // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 5. С. 431-442. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V., Moshev A.V., Kozlov V.A. Characteristics of T- and B-cell subpopulation profile in the patients with chronic obstructive pulmonary disease treated with vaccine against *Pseudomonas aeruginosa*. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 5, pp. 431-442. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-5-431-442.
2. Никонова М.Ф., Донецкова А.Д., Сидорович О.И., Лусс Л.В., Ярилин А.А. Особенности экспрессии генов транскрипционных факторов, контролирующих дифференцировку адаптивных субпопуляций CD4⁺-Т-лимфоцитов, при аллергии // Иммунология, 2011. Т. 32, № 4. С. 189-191. [Nikonova M.F., Donetskova A.D., Sidorovich O.I., Luss L.V., Yarilin A.A. Peculiarities of expression of the genes encoding for transcription factors controlling differentiation of adaptive CD4⁺ T-lymphocyte subpopulations in allergy. *Immunologiya = Immunology*, 2011, Vol. 32, no. 4, pp. 189-191. (In Russ.)]
3. Пухальский А.Л., Топтыгина А.П. Сравнительное изучение механизмов антипролиферативного действия низких концентраций мафосфамида и циклоспорина А // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1993. Т. 115, № 5. С. 514-515. [Pukhalskiy L.A., Toptygina A.P. Comparative study of mechanisms of antiproliferative action of mafosfamide and cyclosporine A in low doses. *Byulleten eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1993, Vol. 115, no. 5, pp. 563-565. (In Russ.)].
4. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Алешкин В.А. Регуляция иммунного ответа у детей, привитых против кори, краснухи и эпидемического паротита // Иммунология, 2012. Т. 33, № 4. С. 175-179. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Alioshkin V.A. Immune response regulation in children vaccinated with measles, rubella and mumps. *Immunologiya = Immunology*, 2012, Vol. 33, no. 4, pp. 175-179. (In Russ.)]
5. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Копыльцова Е.А., Алешкин В.А. Возрастные особенности формирования гуморального звена иммунного ответа у детей // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 4-5. С. 289-294. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Kopyltsova E.A., Alioshkin V.A. Age related characteristics of humoral immunity maturation in children. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 4-5, pp. 289-294. (In Russ.)] doi: 10/15789/1563-0625-2012-4-5-289-294.
6. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (Проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology "Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers" (Draft). *Meditsinskaya*

immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10/15789/1563-0625-2012-3-255-268.

7. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медия, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.

8. Abbas A.K., Benoist C., Bluestone J.A., Campbell D.J., Ghosh S., Hori S., Jiang S., Kuchroo V.K., Mathis D., Roncarolo M.G., Rudensky A., Sakaguchi S., Shevach E.M., Vignali D.A., Ziegler S.F. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. *Nat. Immunol.*, 2013, Vol. 14, pp. 307-308.

9. Cevenini E., Monti D., Franceschi C. Inflammageing. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2013, Vol. 16, pp. 14-20.

10. Chougnet C.A., Tripathi P., Lages C.S., Raynor J., Sholl A., Fink P., Plas D.R., Hildeman D.A. A major role for Bim in regulatory T cell homeostasis. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, pp. 156-163.

11. Cosmi L., Palma R., Santarlasci V., Maggi L., Capone M., Frosali F., Rodolico G., Querci V., Abbate G., Angeli R., Berrino L., Fambrini M., Caproni M., Tonelli F., Lazzeri E., Parronchi P., Liotta F., Maggi E., Romagnani S., Annunziato F. Human interleukin 17-producing cells originate from a CD161⁺CD4⁺ T cell precursor. *J. Exp. Med.*, 2008, Vol. 205, no. 8, pp. 1903-1916.

12. den Braber I., Mugwagwa T., Vrisekoop N., Westera L., Mogling R., de Boer A.B., Willems N., Schrijver E.H., Spierenburg G., Gaiser K., Mui E., Otto S.A., Ruitter A.F., Ackermans M.T., Miedema F., Borghans J.A., de Boer R.J., Tesselaar K. Maintenance of peripheral naive T cells is sustained by thymus output in mice but not humans. *Immunity*, 2012, Vol. 36, no. 2, pp. 288-297.

13. Dong H., Qu S., Chen X., Zhu H., Tai X., Pan J. Changes in the cytokine expression of peripheral Treg and Th17 cells in children with rotavirus enteritis. *Exp. Ther. Med.* 2015, Vol. 10, no. 2, pp. 679-682.

14. Fontenot J.D., Rasmussen J.P., Williams L.M., Dooley J.L., Farr A.G., Rudensky A.Y. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor Foxp3. *Immunity*, 2005, Vol. 22, pp. 329-341.

15. Gregg R., Smith C.M., Clark F.J., Dunnion D., Khan N., Chakraverty R., Nayak L., Moss P.A. The number of human peripheral blood CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells increases with age. *Clin. Exp. Immunol.* 2005, Vol. 140, pp. 540-546.

16. Grindebacke H., Stenstad H., Quiding-Järbrink M., Waldenström J., Adlerberth I., Wold A.E., Rudin A. Dynamic development of homing receptor expression and memory cell differentiation of infant CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, pp. 4360-4370.

17. Korn T., Bettelli E., Oukka M., Kuchroo V.K. IL-17 and Th17 cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 27, pp. 485-517.

18. Lages C.S., Suffia I., Velilla P.A., Huang B., Warshaw G., Hildeman D.A., Belkaid Y., Chougnet C. Functional regulatory T cells accumulate in aged hosts and promote chronic infectious disease reactivation. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 181, pp. 1835-1848.

19. Li Y.Y., Wei S.G., Zhao X., Jia Y.Z., Zhang Y.F., Sun S.Z. Th17/Treg cell expression in children with primary nephritic syndrome and the effects of ox-LDL on Th17/Treg cells. *Genet. Mol. Res.*, 2016, Vol. 15, no. 2, pp. 1-8.

20. Li Q., Wang Y., Wang Y., Chen K., Zhou Q., Wei W., Wang Y. Treg/Th17 ratio acts as a novel indicator for acute coronary syndrome. *Cell Biochem. Biophys.*, 2014, Vol. 70, no. 2, pp. 1489-1498.

21. Mosmann T.R., Cherwinski H., Bond M.W., Giedlin M.A., Coffman R.L. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.*, 1986, Vol. 136, pp. 2348-2357.

22. Prelog M., Hillgardt D., Schmidt C.A., Przybylski G.K., Leierer J., Almanzar G., El Hajj N., Lesch K.P., Arolt V., Zwanzger P., Haaf T., Domschke K. Hypermethylation of FOXP3 Promoter and Premature Aging of the Immune System in Female Patients with Panic Disorder? *PLoS One*, 2016, Vol. 11, no. 6, e0157930. doi: 10.1371/journal.pone.0157930.

23. Pukhalsky A.L., Toptygina A.P., Viktorov V.V. Immunosuppressive action of cyclophosphamide in mice: contribution of some factors to determination of strain differences. *Int. J. Immunopharmacol.*, 1993, Vol. 15, no. 4, pp. 509-514.

24. Unutmaz D. RORC2: the master of human Th17 cell programming. *Eur. J. Immunol.*, 2009, Vol. 39, no. 6, pp. 1452-1455.

25. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M., Itoh M., Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.*, 1995, Vol. 155, pp. 1151-1164.

26. Seddiki N., Santner-Nanan B., Martinson J., Zaunders J., Sasson S., Landay A., Solomon M., Selby W., Alexander S.I., Nanan R., Kelleher A., Fazekas de St Groth B. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J. Exp. Med.*, 2006, Vol. 203, no. 7, pp. 1693-1700.
27. Schmitt V., Rink L., Uciechowski P. The Th17/Treg balance is disturbed during aging. *Exp. Gerontol.*, 2013, Vol. 48, no. 12, pp. 1379-1386.
28. Sharma S., Dominguez A.L., Lustgarten J. High accumulation of T regulatory cells prevents the activation of immune responses in aged animals. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 177, pp. 8348-8355.

Авторы:

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

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

Петричук С.В. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Закиров Р.Ш. — врач централизованной клинико-диагностической лаборатории ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Курбатова О.В. — научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Копыльцова Е.А. — к.м.н., старший научный сотрудник централизованной клинико-диагностической лаборатории ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Комах Ю.А. — д.м.н., руководитель лаборатории трансплантологии и клеточной биологии ФГАУ «Межотраслевой научно-технический комплекс „Микрохирургия глаза“ им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

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

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

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

Zakirov R.Sh., Clinical Pathologist, Centralized Diagnostic Laboratory, Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Kurbatova O.V., Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Kopyltsova E.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Centralized Diagnostic Laboratory, Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Komakh Yu.A., PhD, MD (Medicine), Head, Transplantology and Cellular Biology Laboratory, The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow, Russian Federation