DOI: 10.15825/1995-1191-2018-4-38-43

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА БЕТА 1 (TGF- β 1) ПРИ ПОДБОРЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ДОЗЫ ТАКРОЛИМУСА У ДЕТЕЙ – РЕЦИПИЕНТОВ ПЕЧЕНИ

Р.М. Курабекова¹, О.М. Цирульников^{1, 2}, О.Е. Гичкун^{1, 2}, И.Е. Пашкова¹,
Г.А. Олефиренко¹, О.П. Шевченко^{1, 2}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Уровень трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF- β 1) в крови связан с функцией печени и иммунным гомеостазом, что позволяет рассматривать его как потенциальный биомаркер потребности в дозе иммуносупрессанта такролимуса при трансплантации печени (ТП). **Цель.** Оценить диагностическую эффективность уровня TGF- β 1 в крови детей – реципиентов печени при определении индивидуальной дозы такролимуса. **Материалы и методы.** Обследовано 89 детей с терминальной стадией печеночной недостаточности в возрасте от 3 до 73 месяцев. Детям выполнялась ТП от живого родственного донора, после которой пациенты получали 2–3-компонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус. Концентрацию такролимуса и TGF- β 1 в крови измеряли методом ИФА. **Результаты.** Уровень TGF- β 1 в крови детей до ТП был достоверно ниже, чем у здоровых детей: 3,7 (1,3–8,4) и 19,3 (12,6–25,5) нг/мл, $p = 0,001$. Через месяц после ТП его содержание выросло до 8,1 (1,8–15,3) нг/мл ($p = 0,02$). Спустя год после ТП концентрация цитокина оставалась выше, чем до трансплантации: 6,6 (1,9–12,6) нг/мл, $p = 0,01$. Содержание TGF- β 1 не коррелировало с концентрацией такролимуса в крови, определяемой через 12 часов после последнего приема препарата, ни через месяц, ни через год после трансплантации. В то же время уровень цитокина через месяц после ТП был связан с суточной дозой такролимуса через год после операции ($r_s = -0,23$, $p = 0,04$). У реципиентов, получавших меньшие суточные дозы такролимуса (0,4–2,5 мг), уровень TGF- β 1 был выше, чем у получавших большие дозы препарата (3,0–6,0 мг): 9,1 (2,6–16,2) нг/мл против 4,2 (1,3–9,2) нг/мл, $p = 0,04$. Оценка диагностической эффективности уровня TGF- β 1 как теста на выявление потребности в дозе такролимуса показала, что площадь под ROC-кривой (AUC) составляла $0,66 \pm 0,07$; 95% ДИ [0,53–0,79], чувствительность и специфичность теста – 60 и 74% соответственно, а его пороговое значение – 6,7 нг/мл, при этом относительный риск (RR) потребности в более высокой дозе такролимуса составлял $3,14 \pm 0,48$; 95% ДИ [1,24–7,96]. **Заключение.** При уровне TGF- β 1 в крови детей – реципиентов печени через месяц после трансплантации менее 6,7 нг/мл риск потребности в дозе такролимуса более 3,0 мг в сутки в отдаленном посттрансплантационном периоде в 3,1 раза выше, чем у реципиентов с более высоким уровнем цитокина. Вероятность теста 66%, чувствительность – 62 и специфичность – 74%.

Ключевые слова: биомаркер, цирроз печени, дети – реципиенты печени, врожденные заболевания желчевыводящих путей.

Для корреспонденции: Шевченко Ольга Павловна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, 1.
Тел. (499) 190-38-77, E-mail: transplant2009@mail.ru

For correspondence: Shevchenko Olga Pavlovna. 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Tel. (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru

DIAGNOSTIC EFFECTIVENESS OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA 1 (TGF- β 1) AT ADJUSTMENT OF TACROLIMUS INDIVIDUAL DOSE IN PEDIATRIC LIVER RECIPIENTS

R.M. Kurabekova¹, O.M. Tsirolnikova^{1, 2}, O.E. Gichkun^{1, 2}, I.E. Pashkova¹, G.A. Olefirenko¹, O.P. Shevchenko^{1, 2}

¹ V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenovsky University), Moscow, Russian Federation

Blood level of transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) is associated with liver function and immune homeostasis, which suggests it as a potential biomarker for immunosuppressant tacrolimus dose requirement at liver transplantation (LT). **Aim.** To evaluate diagnostic efficacy of TGF- β 1 blood level at determination of individual tacrolimus dose requirement in children at LT. **Materials and methods.** 89 children with end stage liver disease aged from 3 to 73 months were examined. Children underwent living related LT, then the recipients received 2–3 component immunosuppressive therapy, including tacrolimus. Blood concentration of tacrolimus and TGF- β 1 was measured by ELISA. **Results.** TGF- β 1 blood level in children before LT was significantly lower than in healthy children: 3.7 (1.3–8.4) and 19.3 (12.6–25.5) ng/ml, $p = 0.001$. A month after LT, its concentration increased to 8.1 (1.8–15.3) ng/ml ($p = 0.02$). A year after LT, the cytokine level remained higher than before transplantation: 6.6 (1.9–12.6) ng/ml, $p = 0.01$. TGF- β 1 level did not correlate with tacrolimus blood concentration, determined 12 hours after the last administration of the drug, neither a month, nor a year after transplantation. At the same time, the cytokine level one month after LT was associated with a tacrolimus daily dose one year after the operation ($r = -0.23$, $p = 0.04$). In the recipients, who received smaller daily doses (0.4–2.5 mg) of tacrolimus, TGF- β 1 level was higher than in those receiving large doses (3.0–6.0 mg) of the drug: 9.1 (2.6–16.2) ng/ml vs. 4.2 (1.3–9.2) ng/ml, $p = 0.04$. Evaluation of diagnostic efficacy of the TGF- β 1 level as a test for the detection of tacrolimus dose requirement showed that the area under the ROC curve (AUC) was 0.66 ± 0.07 ; 95% CI [0.53–0.79], the sensitivity and specificity of the test were 60 and 74% at threshold value 6.7 ng/ml. Relative risk of higher tacrolimus dose requirement was 3.14 ± 0.48 ; 95% CI [1.24–7.96]. **Conclusion.** TGF- β 1 blood level in one month after LT less than 6.7 ng/ml is 3 times higher risk factor of tacrolimus dose requirement more than 3.0 mg per day. The likelihood of the test is 66%, the sensitivity and specificity – 60 and 74%.

Key words: biomarker, liver cirrhosis, pediatric recipients, congenital biliary diseases.

Трансплантация печени является эффективным методом лечения детей с терминальной стадией печеночной недостаточности в исходе различных заболеваний гепатобилиарной системы [1, 2]. Дальнейшее улучшение клинических результатов трансплантации невозможно без решения одной из важнейших проблем трансплантологии – оптимизации иммуносупрессивной терапии.

Такролимус, основной компонент иммуносупрессивной терапии, представляет собой препарат с узким терапевтическим диапазоном. Подбор дозы такролимуса проводят эмпирически с учетом биохимических показателей печени и концентрации препарата в крови. Для достижения целевой концентрации препарата в крови проводится постоянный мониторинг остаточной концентрации такролимуса в крови реципиента, которая, однако, слабо коррелирует с клиническим результатом трансплантации [3]. Такой подход может приводить к несбалансированным дозам иммуносупрессанта и увеличивать риск развития инфекций или отторжения трансплантата.

Персонализированная терапия на основе объективных показателей индивидуального иммунного ответа могла бы уменьшить частоту осложнений, улучшить показатели выживаемости трансплантата и пациента [4, 5]. Поэтому поиск объективных индикаторов, позволяющих проводить подбор оптимальной дозы такролимуса, является актуальной задачей трансплантологии [6].

Одним из таких показателей может быть уровень в крови трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF- β 1), плейотропного цитокина с иммуносупрессивным и профиброгенным действием. Ранее нами было показано, что уровень TGF- β 1 в крови детей-реципиентов при родственной трансплантации печени коррелирует с этиологией и тяжестью заболевания печени, что позволяет предполагать его связь с состоянием печени и рассматривать как возможный биомаркер, отражающий иммунный статус пациента и потребность в дозе такролимуса [7, 8]. Цель работы состоит в оценке диагностической эффективности

уровня TGF- β 1 в крови детей – реципиентов печени при определении индивидуальной дозы такролимуса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 89 детей в возрасте от 3 до 73 (медиана – 8) месяцев, из них 40 мальчиков (45%) и 49 девочек (55%), с терминальной стадией печеночной недостаточности, развившейся в исходе врожденных заболеваний гепатобилиарной системы. Этиология включала следующие заболевания: атрезию желчевыводящих путей (АЖВП, $n = 51$), гипоплазию желчевыводящих путей (ГЖВП, $n = 9$), синдром Алажилля ($n = 7$), болезнь Байлера ($n = 4$), синдром Кароли ($n = 4$) и другие ($n = 14$), в число которых вошли по 1–3 случая таких заболеваний, как криптогенный цирроз, фульминантный гепатит, синдромы Криглера–Наяра и Бадда–Киари, дефицит α -1 антитрипсина и гепатобластома. Группой сравнения служили здоровые дети ($n = 15$) в возрасте 10 ± 6 месяцев, из них 10 мальчиков (67%).

Всем реципиентам выполнялась гепатэктомия с сохранением нижней полой вены и затем ортотопическая трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора. После трансплантации фрагмента печени пациенты получали 2- или 3-компонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус, кортикостероиды и микофенолаты, начиная с 0–4-го дня после ТП. Стартовая доза такролимуса при его первом назначении составляла 0,1 мг/кг/сут, в раннем послеоперационном периоде – 0,2–0,3 мг/кг/сут (1–2 мг/сут у детей до 2 лет), в дальнейшем дозу корректировали для достижения целевой концентрации препарата в крови, которая составляла 4–8 нг/мл в течение первого месяца после ТП и 3–6 нг/мл – в последующий период [9]. В связи с тем что возраст детей – реципиентов печени в исследованных группах не различался, в работе используются суточные дозы такролимуса.

Обследование пациентов включало сбор анамнеза, полное физикальное и лабораторное обследование по протоколу, принятому в учреждении.

Концентрацию такролимуса измеряли в цельной венозной крови пациента, которую забирали в одноразовую пластиковую пробирку, содержащую в качестве антикоагулянта ЭДТА. Кровь забиралась через 12 часов после приема такролимуса. Необходимая при трансплантации печени у детей раннего возраста терапевтическая концентрация иммуносупрессанта такролимуса должна составлять 4–6 нг/мл через 12 часов после приема препарата. Мониторинг содержания в крови такролимуса в среднем проводят 2 раза в неделю. Концентрацию препарата измеряли на автоматическом анализаторе методом ИФА на микропланшетах. Для определения содержания в крови такролимуса использовали коммерческие на-

боры специфических реагентов для проведения ИФА («PRO-Trac II Tacrolimus ELISA», DiaSorin, США).

Измерение содержания TGF- β 1 проводили в плазме крови с помощью количественного твердофазного ИФА с использованием специфических наборов реагентов («Bender MedSystems», Австрия) в соответствии с инструкцией производителя. Измерение оптической плотности в лунках микропланшетов проводили с помощью автоматического микропланшетного спектрофотометра Zenyth 340r (Biochrom Anthos, Великобритания).

Данные выборки с нормальным распределением представлены как среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (CO или SD , standard deviation) – $M \pm SD$, верхняя и нижняя границы 95% доверительного интервала (ДИ). Данные непараметрической выборки представлены как медиана и значения от 25-го по 75-й процентилю.

Статистический анализ проводили методами параметрической или непараметрической статистики в зависимости от типа распределения выборки. Для выборки с нормальным распределением применяли сравнительный критерий Фишера и корреляционный анализ по Пирсону; при непараметрическом распределении рассчитывали U -критерий Манна–Уитни и парный критерий Вилкоксона, корреляционный анализ проводили по Спирману. Статистически значимыми считали различия, когда вероятность ошибки составляла менее 0,05 ($p < 0,05$).

Для оценки диагностических характеристик исследуемого маркера вычисляли площадь под кривой ROC (Receiver operating characteristic), отражающей вероятность, с которой тест способен отделить больных от здоровых, определяли диагностическую чувствительность и специфичность теста, а также пороговое значение и относительный риск (RR , relative risk). В качестве нулевой гипотезы принималось, что площадь под кривой ROC не отличается от величины 0,5 [10].

Для анализа данных использовали компьютерные статистические программы: MS Office Excel (MS, США), SPSS Statistics 20 (IBM, США) и Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Медиана (25-й – 75-й процентилю) уровня TGF- β 1 в крови детей в терминальной стадии печеночной недостаточности составила 3,7 (1,3–8,4) нг/мл и достоверно отличалась от медианного уровня здоровых детей того же возраста: 19,3 (12,6–25,5) нг/мл, $p = 0,001$. Через месяц после трансплантации печени от родственного донора содержание TGF- β 1 в крови реципиентов составило 8,1 (1,8–15,3) нг/мл и было достоверно выше, чем до операции ($p = 0,02$). Спустя год после трансплантации содержание TGF- β 1 у

реципиентов фрагмента печени составило 6,6 (1,9–12,6) нг/мл и также было достоверно выше, чем до трансплантации, $p = 0,01$. Полученные результаты показывают, что у детей с терминальной стадией печеночной недостаточности уровень TGF- β 1 значительно снижен по сравнению со здоровыми сверстниками, а трансплантация печени сопровождается достоверным увеличением уровня биомаркера через месяц после операции, который сохраняется и через год после хирургического лечения.

В работе Briem-Richter и соавт. [11] было показано, что более высокий уровень цитокина TGF- β 1 у детей – реципиентов печени сочетается с хорошей функцией трансплантата, что также согласуется с результатами нашего исследования, которое выявило, что низкий уровень TGF- β 1 в крови детей с заболеваниями печени коррелировал с частотой развития дисфункции трансплантата в раннем посттрансплантационном периоде [12]. Представленные данные позволяют предполагать, что более высокое содержание TGF- β 1 в крови может оказывать иммуносупрессивное действие на Т-клетки, и возможно, определять индивидуальную потребность в иммуносупрессии.

Был проведен анализ связи уровня TGF- β 1 в крови до и после трансплантации с концентрацией такролимуса в крови и дозой иммуносупрессанта, назначаемой через месяц после трансплантации и через год после нее. Не было выявлено корреляции между содержанием в крови TGF- β 1 и концентрацией такролимуса в крови, определяемой через 12 часов после последнего приема препарата, ни через месяц, ни через год после трансплантации.

В то же время уровень TGF- β 1 через месяц после трансплантации был связан с суточной дозой такролимуса через год после трансплантации ($r_s = -0,23$, $p = 0,04$).

Реципиенты были разделены на 2 группы: получавшие через год после ТП низкую (0,4–2,5 мг) и высокую дозу (3,0–6,0 мг) такролимуса. Средний возраст в группах соответственно составлял $13,2 \pm 13,1$ и $14,3 \pm 14,4$ месяца и статистически не различался ($p = 0,39$). Уровень TGF- β 1 в крови в этих группах достоверно не различался как до трансплантации – медианы (25-й – 75-й процентиль) составили 3,4 (1,6–7,6) и 5,0 (1,0–10,0) нг/мл соответственно ($p = 0,9$), так и через год после нее – 7,5 (1,9–13,5) и 3,8 (0,9–7,2) нг/мл соответственно ($p = 0,06$). Однако через месяц после ТП уровень цитокина в крови реципиентов, получавших меньшие дозы иммуносупрессанта, составлял 9,1 (2,6–16,2) нг/мл и был достоверно выше, чем у реципиентов, получавших большую дозу такролимуса – 4,2 (1,3–9,2) нг/мл, $p = 0,04$ (рис. 1).

Полученный результат показывает, что у детей-реципиентов с потребностью в более низкой дозе

Рис. 1. Динамика уровня TGF- β 1 после трансплантации печени у реципиентов, получавших низкую (0,4–2,5 мг) и высокую дозу (3,0–6,0 мг) такролимуса (* – $p = 0,03$ в сравнении с уровнем в группе с высокой дозой TAC, ** – $p = 0,01$ в сравнении с уровнем TGF- β 1 до ТП)

Fig. 1. Dynamics of TGF- β 1 level after liver transplantation in recipients receiving low (0.4–2.5 mg) and high (3.0–6.0 mg) dose of tacrolimus (* – $p = 0.03$ in comparison with the level in the group with a high dose of TAC, ** – $p = 0.01$ in comparison with the level of TGF- β 1 before LT)

иммуносупрессанта такролимуса через год после трансплантации уровень TGF- β 1 в крови в раннем послеоперационном периоде выше, чем у пациентов с потребностью в более высокой дозе препарата.

Следует отметить, что у реципиентов, получавших разные дозы такролимуса, различалась также динамика содержания биомаркера в крови после трансплантации печени. У реципиентов, получавших низкую дозу иммуносупрессанта, уровень цитокина достоверно растет после трансплантации с 3,4 (1,6–7,6) до 9,1 (2,6–16,2) нг/мл ($p = 0,01$), а у пациентов, получавших более высокую дозу такролимуса, его уровень практически не меняется: 5,0 (1,0–10,0) нг/мл до ТП против 4,2 (1,3–9,2) нг/мл через месяц после ТП, $p = 0,73$ (рис. 1).

Полученные нами данные о различии уровней TGF- β 1 через месяц после трансплантации в 2 группах реципиентов согласуются с экспериментальными исследованиями на животных моделях отторжения и спонтанной толерантности к печеночному трансплантату, в которых было показано, что в течение первых недель после трансплантации печени уровень TGF- β 1 растет при развитии спонтанной толерантности к трансплантату печени, а при развитии отторжения – снижается. Через некоторое время содержание цитокина возвращается на исходный уровень и не различается в обоих случаях [13, 14], что также согласуется с полученными в нашей работе данными об отсутствии различий в уровнях цитокина в двух исследованных группах через год после трансплантации.

Описанные выше клинические и экспериментальные работы других авторов и исследования нашей

лаборатории свидетельствуют, что TGF- β 1 является одним из ключевых регуляторов иммунного ответа при трансплантации печени и более высокий уровень его в крови способен ослаблять иммунный ответ. Это

Рис. 2. Анализ ROC-кривой для уровня TGF- β 1 в крови в раннем посттрансплантационном периоде как показателя потребности в ТАС в отдаленные сроки после ТП: AUC = $0,66 \pm 0,07$ ($p = 0,04$)

Fig. 2. Analysis of the ROC curve for the TGF- β 1 blood level in the early posttransplant period as an indicator of the TAC requirement in long term after LT: AUC = 0.66 ± 0.07 ($p = 0.04$)

позволяет рассматривать концентрацию TGF- β 1 в крови через месяц после ТП как прогностический показатель, позволяющий оценить потребность в дозе иммуносупрессанта такролимуса в более позднем посттрансплантационном периоде.

Оценка диагностической эффективности уровня TGF- β 1 как биомаркера, отражающего потребность в дозе такролимуса, методом анализа ROC-кривой показал, что значение площади AUC = $0,66 \pm 0,07$, 95% ДИ [0,53–0,79] и статистически достоверно ($p = 0,04$) отличалось от величины 0,5 (рис. 2).

Для расчета прогностически значимой пороговой концентрации TGF- β 1 как биомаркера потребности в дозе такролимуса был проведен анализ зависимостей чувствительности и специфичности теста от значений концентрации TGF- β 1 в крови (рис. 3). Равновесное значение чувствительности и специфичности теста, когда разность этих величин минимальна, соответственно составило 62 и 63% при концентрации маркера – 6,1 нг/мл. Максимальные значения показателей составили 60 и 74% соответственно, при значении концентрации TGF- β 1 в крови пациентов через месяц после трансплантации – 6,7 нг/мл.

При пороговом значении уровня цитокина в 6,7 нг/мл относительный риск потребности в более высокой дозе такролимуса $RR = 3,14 \pm 0,48$, 95% ДИ [1,24–7,96]. Полученный результат показывает, что у пациентов с уровнем цитокина в крови в раннем посттрансплантационном периоде менее 6,7 нг/мл вероятность назначения более высокой дозы такролимуса через год выше в среднем в 3,14 раза. Это значение является статистически достоверным, т. к. нижняя

Рис. 3. Анализ зависимостей чувствительности и специфичности уровня TGF- β 1 в крови детей-реципиентов через месяц после трансплантации печени

Fig. 3. Analysis of the sensitivity and specificity of TGF- β 1 blood level in pediatric recipients one month after liver transplantation

граница 95% ДИ превышает 1. Представленный анализ диагностической эффективности TGF- β 1 свидетельствует о приемлемых характеристиках теста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование показало, что определение уровня TGF- β 1 в крови детей – реципиентов печени через месяц после трансплантации позволяет прогнозировать с вероятностью 66%, чувствительностью 60% и специфичностью 74% у детей с уровнем TGF- β 1 менее 6,7 нг/мл вероятность потребности в дозе такролимуса более 3,0 мг в сутки в отдаленном посттрансплантационном периоде в 3 раза выше, чем у реципиентов с уровнем цитокина 6,7 нг/мл и выше.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ. Трансплантология: итоги и перспективы. Том VI. 2014 год. М.–Тверь: Триада, 2015: 448. *Gautier SV. Transplantologiya: itogi i perspektivy. Tom VI. 2014 god. M.–Tver: Triada, 2015: 448. [In Russian]*
2. Meirelles Junior RF, Salvalaggio P, Rezende MB, Evangelista AS, Guardia BD, Matielo CE et al. Liver transplantation: history, outcomes and perspectives. *Einstein*. 2015; 13 (1): 149–152.
3. Venkataramanan R, Shaw LM, Sarkozi L, Mullins R, Pirsch J, MacFarlane G et al. Clinical utility of monitoring tacrolimus blood concentrations in liver transplant patients. *J Clin Pharmacol*. 2001; 41 (5): 542–551.
4. Brooks E, Tett SE, Isbel NM, Staatz CE. Population Pharmacokinetic Modelling and Bayesian Estimation of Tacrolimus Exposure: Is this Clinically Useful for Dosage Prediction Yet? *Clin Pharmacokinet*. 2016; 55 (11): 1295–1335.
5. Sood S, Haifer C, Yu L, Pavlovic J, Churilov L, Gow PJ et al. A novel immune function biomarker identifies patients at risk of clinical events early following liver transplantation. *Liver Transpl*. 2017; 23 (4): 487–497.
6. Bohler T, Nolting J, Kamar N, Gurragehaa P, Reissner K, Glander P et al. Validation of immunological biomarkers for the pharmacodynamic monitoring of immunosuppressive drugs in humans. *Ther Drug Monit*. 2007; 29 (1): 77–86.
7. Курабекова РМ, Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Можейко НП, Цирульникова ИЕ, Олефиренко ГА. Связь уровня трансформирующего фактора роста бета 1 с фиброзом печени у детей с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (4): 221–225. *Kurabekova RM, Shevchenko OP, Tsiurlnikova OM, Mozheyko NP, Tsiurlnikova IE, Olefirenko GA. The relationship of level of transforming growth factor beta 1 with liver fibrosis in children with congenital diseases of hepatobiliary system. Klin Lab Diagn*. 2017; 4 (62): 221–225. [In Russian]
8. Курабекова РМ, Цирульникова ОМ, Шевченко ОП, Цирульникова ИЕ, Макарова ЛВ, Олефиренко ГА и др. Способ подбора режима иммуносупрессии после трансплантации печени детям раннего возраста. Пат. 2602302. Российская Федерация: Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова; Опубл. 20.11.2016, Бюл № 32. *Kurabekova RM, Tsiurlnikova OM, Shevchenko OP, Tsiurlnikova IE, Makarova LV, Olefirenko GA et al. Method of immunosuppression dosage adjustment after liver transplantation in children of early age. Pat. 2602302. Russian Federation: Federal Shumakov Research Center. Publ. 20.11.2016, Bull. № 32. [In Russian]*
9. Цирульникова ОМ, Лурье ЮЭ, Цирульникова ИЕ. Особенности иммуносупрессивной терапии у детей. Иммуносупрессивная терапия у детей при трансплантации печени. *Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов*. М.–Тверь: Триада, 2011: 273–337. *Tsiurlnikova OM, Lurie YE, Tsiurlnikova IE. Features of immunosuppressive therapy in children. Immunosuppressive therapy in children at liver transplantation. Immunosuppression at solid organ transplantation*. M.–Tver: Triada, 2011: 273–337. [In Russian]
10. Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., D'Agostino RB, Jr., Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med*. 2008; 27 (2): 157–172.
11. Briem-Richter A, Leuschner A, Krieger T, Grabhorn E, Fischer L, Nashan B et al. Peripheral blood biomarkers for the characterization of alloimmune reactivity after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2013; 17 (8): 757–764.
12. Шевченко ОП, Цирульникова ОМ, Курабекова РМ, Цирульникова ИЕ, Олефиренко ГА, Готье СВ. Уровень трансформирующего фактора роста β 1 в плазме крови детей – реципиентов печени и его связь с функцией трансплантата. *Иммунология*. 2015; 36 (6): 343–347. *Shevchenko OP, Tsiurlnikova OM, Kurabekova RM, Tsiurlnikova IE, Olefirenko GA, Gautier SV. Blood plasma level of transforming growth factor β 1 in pediatric liver transplant recipients and its relationship with graft function. Immunologiya*. 2015; 36 (6): 343–347. [In Russian (abstract in English)]
13. Li W, Kuhr CS, Zheng XX, Carper K, Thomson AW, Reyes JD et al. New insights into mechanisms of spontaneous liver transplant tolerance: the role of Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells. *Am J Transplant*. 2008; 8 (8): 1639–1651.
14. Shalev I, Selzner N, Shyu W, Grant D, Levy G. Role of regulatory T cells in the promotion of transplant tolerance. *Liver Transpl*. 2012; 18 (7): 761–770.

*Статья поступила в редакцию 8.10.2018 г.
The article was submitted to the journal on 8.10.2018*