

Субпопуляционный состав НК-клеток крови у больных гепатитом С с 1-м или 3-м генотипом

В.В. Цуканов , gastro@impn.ru, М.А. Черепнин, А.А. Савченко, А.В. Васютин, Э.В. Каспаров, А.Г. Борисов, В.Д. Беленюк, Ю.Л. Тонких

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г

Резюме

Введение. В последнее время вырос интерес к роли НК-клеток при вирусных гепатитах. Обнаружено антифибротическое действие этих клеток, но причины их дисфункции, приводящие к развитию фиброза печени, остаются неясными.

Цель. Изучить субпопуляционный состав НК-клеток крови методом проточной цитометрии в зависимости от выраженности клинико-морфологических проявлений хронического гепатита С (ХВГС) с 1-м или 3-м генотипом.

Материалы и методы. Клинико-лабораторное обследование, определение фиброза печени методом эластометрии по шкале METAVIR и исследование субпопуляционного состава НК-клеток в крови методом проточной цитометрии (с определением маркеров CD3, CD16 и CD56) было проведено у 143 больных ХВГС (74 пациента с 1-м генотипом и 69 лиц с 3-м генотипом) и у 20 человек контрольной группы.

Результаты. У больных как с 1-м, так и с 3-м генотипом ХВГС регистрировалось значительное снижение общего содержания НК-клеток, субпопуляций CD3⁺CD16⁺CD56^{bright} и CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} в крови среди лиц с фиброзом печени F3-F4 по METAVIR в сравнении с пациентами с фиброзом печени F0-F1 по METAVIR. У больных с 3-м генотипом ХВГС отмечалось снижение общего содержания НК-клеток и субпопуляции CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} в крови у лиц с высокой вирусной нагрузкой в сравнении с пациентами с низкой вирусной нагрузкой. Этой взаимосвязи не определялось у больных с 1-м генотипом ХВГС.

Выводы. Полученные закономерности подчеркивают значительную роль НК-клеток в патогенезе ХВГС и верифицируют идею о применении активации НК-клеток для иммунотерапии фиброза печени у пациентов с ХВГС.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, 1-й и 3-й генотипы хронического вирусного гепатита С, НК-клетки, фиброз печени, вирусная нагрузка, воспалительная активность

Для цитирования: Цуканов ВВ, Черепнин МА, Савченко АА, Васютин АВ, Каспаров ЭВ, Борисов АГ, Беленюк ВД, Тонких ЮЛ. Субпопуляционный состав НК-клеток крови у больных гепатитом С с 1-м или 3-м генотипом. *Медицинский совет*. 2023;17(18):44–51. <https://doi.org/10.21518/ms2023-058>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Subpopulation composition of blood NK cells in patients with hepatitis C with genotype 1 or 3

Vladislav V. Tsukanov , gastro@impn.ru, Mikhail A. Cherepnin, Andrei A. Savchenko, Alexander V. Vasyutin, Eduard V. Kasparov, Alexander G. Borisov, Vasilij D. Belenyuk, Julia L. Tonkikh

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia

Abstract

Introduction. Recently, there has been increased interest in the role of NK cells in viral hepatitis. An antifibrotic effect of these cells has been found, but the causes of their dysfunction leading to the development of liver fibrosis remain unclear.

Aim. To study the subpopulation composition of blood NK cells by flow cytometry, depending on the severity of clinical and morphological manifestations of chronic viral hepatitis C (CVHC) with genotype 1 or 3.

Materials and methods. Clinical, laboratory examinations, determination of liver fibrosis by elastometry using the METAVIR scale and study of the subpopulation composition of NK cells in the blood by flow cytometry (with definition of markers CD3, CD16 and CD56) were carried out in 143 patients with CVHC, including 74 patients with genotype 1 and 69 individuals with genotype 3, and in 20 people of the control group.

Results. In patients with both CVHC genotypes 1 and 3, a significant decrease in the total content of NK cells, CD3⁺CD16⁺CD56^{bright} and CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} subpopulations in the blood among individuals with liver fibrosis F3-F4 according to METAVIR was registered in comparison with patients with liver fibrosis F0-F1 according to METAVIR. In patients with CVHC genotype 3, there was a decrease in the total content of NK cells and a subpopulation of CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} in the blood of individuals with a high viral load compared to patients with a low viral load. This relationship was not determined in patients with CVHC genotype 1.

Conclusion. The obtained regularities emphasize the significant role of NK cells in the pathogenesis of CVHC and verify the idea of using NK cells activation for immunotherapy of liver fibrosis in patients with CVHC.

Keywords: viral hepatitis C, genotypes 1 and 3 of HCV, NK cells, liver fibrosis, viral load, inflammatory activity

For citation: Tsukanov VV, Cherepnin MA, Savchenko AA, Vasyutin AV, Kasparov EV, Borisov AG, Belenyuk VD, Tonkikh JuL. Subpopulation composition of blood NK cells in patients with hepatitis C with genotype 1 or 3. *Meditsinskiy Sovet*. 2023;17(18):44–51. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2023-058>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Традиционно считается, что противовирусный иммунный ответ на вирус гепатита С обусловлен адаптивными иммунными клетками, в частности В-клетками и Т-клетками [1]. Но после идентификации в 1975 г. [2, 3] естественных киллеров (NK-клеток), являющихся компонентом врожденного иммунитета, была продемонстрирована их способность на быстрое действие и мощный ответ на клетки, инфицированные вирусом, и раковые клетки [4]. NK-клетки составляют 10% клеток в общей популяции мононуклеарных клеток периферической крови и представляют собой третью по величине популяцию лимфоцитов после В- и Т-клеток [5]. Изучению роли NK-клеток при хроническом вирусном гепатите С (ХВГС) посвящены ряд работ [1, 6, 7]. Было показано, что вирус гепатита С влияет на число, фенотип и функцию NK-клеток, а терапия ингибиторами протеаз восстанавливает нормальный адаптивный фенотип и увеличивает продукцию гамма-интерферона этой субпопуляцией клеток [8]. Обнаружено антифибротическое действие NK-клеток путем ликвидации активированных звездчатых клеток [9]. Вместе с тем причины дисфункции NK-клеток, приводящие к развитию фиброза печени, остаются неясными [10]. Недостаточно изучена патофизиология NK-клеток при разных генотипах вируса гепатита С. В связи с этим исследование субпопуляционного состава NK-клеток крови в зависимости от выраженности клинико-морфологических проявлений ХВГС с разными генотипами вируса является, безусловно, актуальным.

Цель исследования – изучить субпопуляционный состав NK-клеток крови методом проточной цитометрии в зависимости от выраженности клинико-морфологических проявлений ХВГС с 1-м или 3-м генотипом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе терапевтического отделения клиники НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН и ООО «Институт клинической иммунологии» (Красноярск). Исследование субпопуляционного состава NK-клеток в крови методом проточной цитометрии было проведено у 143 больных ХВГС: у 74 пациентов с 1-м генотипом (38 мужчин и 36 женщин, средний возраст 44,1 лет) и у 69 лиц с 3-м генотипом (35 мужчин и 34 женщины, средний возраст 43,7 лет) – и у 20 практически здоровых лиц контрольной группы.

Критериями включения были объективно диагностированный ХВГС с 1-м или 3-м генотипом у пациентов в возрасте от 18 до 60 лет, ранее не получавших терапию

ХВГС и подписавших информированное согласие на обследование. В исследование включали пациентов до начала противовирусной терапии.

Критериями исключения из исследования были: 1) возраст младше 18 и старше 60 лет; 2) ВИЧ-инфекция; 3) онкологические заболевания; 4) 2, 4, 5, 6, 7-й генотипы ХВГС; 5) другие хронические заболевания печени различной этиологии (другие вирусные гепатиты, описторхоз, неалкогольная жировая болезнь печени, алкогольная болезнь печени, аутоиммунный гепатит, болезнь Вильсона – Коновалова, гемохроматоз и др.); 6) туберкулез; 7) беременность; 8) выраженные хронические заболевания различных органов и систем; 9) употребление наркотиков; 10) наличие ВИЧ-инфекции; 11) пациенты, отказавшиеся принять участия в научном исследовании.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц (10 мужчин и 10 женщин, средний возраст 43,3 лет) с исключенными во время профилактического осмотра выраженными хроническими заболеваниями различных органов и систем, отсутствием жалоб на состояние здоровья, имеющих нормальные показатели клинического и биохимического анализов крови, с отсутствием в крови маркеров вирусного гепатита В и С и отрицавших в анамнезе сведения о злоупотреблении алкоголем.

Диагноз «ХВГС» устанавливали на основании эпидемиологических и клинико-лабораторных данных при обнаружении специфических серологических маркеров ХВГС и РНК-вируса гепатита С согласно рекомендациям Европейской ассоциации по изучению печени (EASL) [11, 12]. Определение содержания РНК-вируса осуществляли методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе Biorad CFX96 Real Time System (BioRad Laboratories, США) с применением тест-системы Abbott RealTime HCV test® (Abbott, США). Генотип вируса гепатита С определяли с помощью набора VERSANT® HCV Amplification 2.0 (LiPA; Siemens, Германия).

Для диагностики сопутствующих изменений и осложнений всем пациентам выполняли клинический и биохимический анализы крови, а также ультразвуковое исследование печени и поджелудочной железы. Биохимическое исследование крови включало определение трансаминаз (АЛТ и АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), общего и прямого билирубина, общего белка, альбумина, железа, меди, при необходимости осуществлялось определение церулоплазмина. Уровень активности ХВГС определяли по содержанию трансаминаз в крови на основании

Лос-Анджелесской классификации гепатита [13]. При подозрении на наличие аутоиммунного гепатита проводилось измерение в крови концентрации IgG и специфических аутоантител (ASMA; LKM-1; anti-LC1).

Степень фиброза печени у пациентов оценивали методом эластометрии с применением ультразвуковой системы Aixplorer (Франция), которая использует для получения изображения сдвиговые волны (Shear Wave Imaging). Расчет модуля эластичности (жесткости печени) осуществлялся по формуле $E = 3 \cdot \rho \cdot V_s^2$, где E – модуль эластичности в килопаскалях (кПа), ρ – плотность в кг/м³ и V_s – скорость распространения сдвиговой волны в м/с. Жесткость печени или значения V_s постепенно увеличиваются с прогрессированием фиброза печени и считаются эффективными показателями для постановки диагноза фиброза печени в целом и цирроза печени в частности. Оценка фиброза проводилась по шкале METAVIR [14]. Выделялось 4 степени фиброза в зависимости от выявляемых показателей эластичности печени: F0 – фиброз отсутствует ($\leq 5,8$ кПа); F1 – 5,9–7,2 кПа, что соответствует портальному и перипортальному фиброзу без септ; F2 – 7,3–9,5 кПа, портальный и перипортальный фиброз с единичными септами; F3 – 9,6–12,5 кПа, портальный и перипортальный фиброз со множественными септами – (мостовидными) с портопортальными и портоцентрными септами; F4 – цирроз ($\geq 12,6$ кПа).

Исследование субпопуляционного состава NK-клеток было осуществлено 143 больным ХВГС и 20 здоровым лицам контрольной группы методом прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA), меченных флуоресцентными красителями с определением маркеров CD3 (маркер зрелых Т-лимфоцитов, отсутствует у NK-клеток), CD16 (мембранный рецептор, играющий роль в антитело-зависимой клеточной цитотоксичности) и CD56 (невральная молекула межклеточной адгезии 1). Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [15]. Пробоподготовку выполняли по стандартной методике [16]. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) Центра коллективного пользования КНЦ СО РАН. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов. Обработку полученных цитофлуориметрических результатов осуществляли с помощью программ Navios Software v. 1.2 и Kaluza v. 2.1.1 (Beckman Coulter, США).

В соответствии со ст. 24 Конституции РФ и Хельсинкской декларацией о проведении научных исследований все обследованные были ознакомлены с целями, методами и возможными осложнениями в ходе исследований и подписали информированные согласия на участие в обследованиях. Исследование проводилось с разрешения этического комитета ФИЦ КНЦ СО РАН (протокол №4 от 02.08.2019 г.).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008 г.) и Microsoft Excel (Microsoft, США, 2007 г.). Результаты исследования были представлены для выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения, медианой (Me) и интерквартильным интервалом (C_{25} – C_{75}). Достоверность между количественными показателями независимых выборок оценивали с помощью критериев Краскэла – Уоллиса и Манна – Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы дадим краткое определение основным субпопуляциям NK-клеток крови, которые мы исследовали. По уровню экспрессии CD56 NK-клетки человека можно разделить на две подгруппы: CD56^{dim} («тусклые», с пониженной экспрессией CD56) и CD56^{bright} («яркие», обладают высокой экспрессией CD56) [17]. CD56^{dim}-клетки составляют 90% от общей популяции NK-клеток в периферической крови, функционально они обладают высокой цитотоксической активностью. Примерно 10% NK-клеток периферической крови принадлежат к субпопуляции CD56^{bright}, которые в основном участвуют в продукции цитокинов [18]. В зависимости от уровней экспрессии CD56 и CD16 NK-клетки подразделяются на четыре основные субпопуляции. Клетки CD3⁺CD16⁺CD56^{bright} обладают наименьшей цитотоксической активностью среди всех NK-клеток и активно продуцируют цитокины (интерферон- γ , фактор некроза опухоли альфа и др.). Субпопуляция CD3⁺CD16⁺CD56^{bright} преимущественно продуцирует цитокины, но также в небольшой степени проявляет антитело-зависимую цитотоксичность. Клетки CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} обладают высокой цитотоксической активностью, но без антитело-зависимой функции. CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} – наибольшая по численности субпопуляция NK-клеток в крови с высокой антитело-зависимой цитотоксической активностью [19].

Суммарное содержание NK-клеток, а также количество CD3⁺CD16⁺CD56^{bright}- и CD3⁺CD16⁺CD56^{dim}-клеток в крови резко снижалось у больных ХВГС обоих генотипов с фиброзом печени F3–F4 в сравнении с пациентами с ХВГС с фиброзом печени F0–F1 по METAVIR и со здоровыми лицами. Эти результаты имеют принципиальное значение в связи с важной ролью NK-клеток в регулировании активности фиброгенеза. Снижение доли CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK-клеток регистрировалось только у пациентов с фиброзом печени F3–F4 по METAVIR среди лиц с 3-м генотипом ХВГС (критерий Краскэла – Уоллиса, $p = 0,04$). У больных с 1-м генотипом подобной закономерности не наблюдалось (критерий Краскэла – Уоллиса, $p = 0,24$; табл. 1).

Суммарное содержание NK-клеток в крови в зависимости от активности воспаления не имело достоверных отличий у больных как с 1-м, так и 3-м генотипом ХВГС. При анализе субпопуляционного состава NK-клеток нами

● **Таблица 1.** Субпопуляционный состав НК-клеток в крови у больных ХВГС 1-го и 3-го генотипа в зависимости от стадии фиброза печени по METAVIR (%), Me (C_{25} – C_{75})

● **Table 1.** Blood NK cells subpopulation profile in patients with chronic HCV genotypes 1 and 3 according to the liver fibrosis stage evaluated on METAVIR scale (%), Me (C_{25} – C_{75})

Субпопуляции НК Пациенты	Фиброз печени по METAVIR	НК-клетки CD3 ⁺ -CD16 ⁺ CD56 ^{bright}	НК-клетки CD3 ⁺ -CD16 ⁺ CD56 ^{bright}	НК-клетки CD3 ⁺ -CD16 ⁺ CD56 ^{dim}	НК-клетки CD3 ⁺ -CD16 ⁺ CD56 ^{dim}	НК-клетки, всего
Пациенты с 1-м генотипом ХВГС (n = 74)	1. F0-F1 (n = 32)	0,22 (0,09–0,44)	1,86 (0,09–4,23)	1,67 (0,92–2,77)	7,11 (1,30–9,49)	10,88 (4,10–15,72)
	2. F2 (n = 27)	0,26 (0,15–0,38)	1,68 (0,08–5,23)	1,52 (1,25–4,39)	7,87 (1,11–10,00)	11,29 (4,33–18,26)
	3. F3-F4 (n = 15)	0,37 (0,15–0,60)	0,22 (0,19–2,43)	1,14 (1,03–4,30)	3,38 (1,78–6,85)	5,11 (3,88–10,56)
Пациенты с 3-м генотипом ХВГС (n = 69)	4. F0-F1 (n = 21)	0,22 (0,15–0,39)	2,47 (0,11–4,73)	2,19 (1,22–3,77)	9,49 (0,53–11,33)	14,34 (4,38–19,04)
	5. F2 (n = 26)	0,21 (0,14–0,26)	1,29 (0,08–3,68)	1,58 (1,10–2,52)	6,35 (0,41–9,13)	9,43 (3,27–14,36)
	6. F3-F4 (n = 22)	0,18 (0,09–0,37)	0,44 (0,13–2,05)	1,22 (1,01–2,64)	3,74 (1,59–8,59)	5,58 (3,37–11,23)
7. Здоровые лица (n = 20)		0,39 (0,22–1,35)	1,28 (0,73–4,16)	1,86 (0,77–2,15)	6,73 (4,8–15,35)	10,26 (7,27–20,46)
p_{1-3}		0,03	0,001	0,21	0,001	0,008
p_{2-3}		0,34	0,01	0,72	0,001	0,006
p_{4-6}		0,22	<0,001	0,03	<0,001	0,002
p_{5-6}		0,28	0,02	0,63	0,01	0,13
p_{1-7}		0,001	0,16	0,26	0,28	0,82
p_{2-7}		0,05	0,21	0,38	0,35	0,77
p_{3-7}		0,31	0,002	0,29	0,001	0,007
p_{4-7}		0,04	0,09	0,46	0,42	0,24
p_{5-7}		0,03	0,74	0,51	0,31	0,64
p_{6-7}		0,02	0,003	0,26	0,01	0,01
p_{1-2-3} (Краскэла – Уоллиса)		0,35	0,003	0,24	0,03	0,02
p_{4-5-6} (Краскэла – Уоллиса)		0,84	0,001	0,04	0,001	0,001

Примечание. Достоверность различий показателей между двумя группами рассчитана с использованием критерия Манна – Уитни, достоверность различий между несколькими группами – с помощью критерия Краскэла – Уоллиса.

также не зарегистрировано отчетливой взаимосвязи CD3⁺CD16⁺CD56^{dim}- и CD3⁺CD16⁺CD56^{dim}-клеток с воспалительной активностью у пациентов с обоими генотипами ХВГС. Наблюдалось небольшое, но достоверное повышение CD3⁺CD16⁺CD56^{bright}- и CD3⁺CD16⁺CD56^{bright}-клеток у больных с высокой воспалительной активностью, выраженное в большей степени у лиц с 1-м генотипом в сравнении с пациентами с 3-м генотипом ХВГС (табл. 2). При интерпретации этих данных мы предположили, что активное воспаление в печени оказывает стимулирующее действие на выработку НК-клеток.

У больных ХВГС с 3-м генотипом общее количество НК-клеток и содержание CD3⁺CD16⁺CD56^{dim}-клеток в крови было снижено при высокой вирусной нагрузке (более 800 000 МЕ) в сравнении с пациентами с низкой нагрузкой. Данная зависимость верифицировалась критерием Краскэла – Уоллиса ($p = 0,04$ и $p = 0,03$ соответственно). У пациентов с ХВГС с 1-м генотипом показатели общего количества НК-клеток и CD3⁺CD16⁺CD56^{dim}-клеток в крови не изменялись в зависимости от вирусной нагрузки (критерий Краскэла – Уоллиса, $p = 0,48$ и $p = 0,52$ соответственно; табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

С нашей точки зрения, фундаментальным результатом нашей работы является обнаружение значительного снижения суммарного содержания НК-клеток и двух их субпопуляций CD3⁺CD16⁺CD56^{bright} и CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} у больных с обоими генотипами ХВГС с фиброзом печени F3-F4 по METAVIR в сравнении с пациентами с фиброзом печени F0-F1 по METAVIR. Полученные данные согласуются с современными взглядами на антифибротическую активность НК-клеток. Ранее было показано, что в ответ на повреждение гепатоцитов активируются как звездчатые клетки печени (ЗКП), так и НК-клетки [9]. ЗКП являются преобладающими непаренхиматозными клетками, которые обеспечивают восстановление ткани в ответ на повреждение печени, однако гиперактивация этих клеток приводит к отложению внеклеточного матрикса и, следовательно, к фиброзу печени [20]. В настоящее время нет сомнений, что НК-клетки лизируют как инфицированные вирусом гепатоциты, так и активированные ЗКП с помощью нескольких

● **Таблица 2.** Субпопуляционный состав НК-клеток в крови у больных ХВГС 1-го и 3-го генотипа в зависимости от уровня АЛТ в крови (%), Me (C_{25} - C_{75})

● **Table 2.** Blood NK cells subpopulation profile in patients with chronic HCV genotypes 1 and 3 according to the blood ALT level (%), Me (C_{25} - C_{75})

Субпопуляции НК Пациенты	Уровень АЛТ	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{bright}	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{bright}	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{dim}	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{dim}	НК-клетки, всего
Пациенты с 1-м генотипом ХВГС (n = 74)	1. 0–1 норма (n = 36)	0,27 (0,15–0,54)	0,34 (0,11–2,43)	2,53 (1,67–4,12)	5,39 (2,06–10,42)	9,75 (4,68–16,56)
	2. 1–3 нормы (n = 24)	0,19 (0,06–0,33)	1,49 (0,09–4,24)	1,58 (0,82–2,48)	6,00 (1,52–7,88)	10,18 (3,44–14,58)
	3. 3–5 норм (n = 10)	0,42 (0,22–0,69)	1,28 (0,34–3,12)	1,06 (0,76–1,65)	5,62 (1,83–9,41)	8,74 (3,85–14,17)
	4. Более 5 норм (n = 4)	0,64 (0,22–1,22)	2,37 (0,35–4,37)	1,56 (1,34–2,97)	6,63 (1,65–8,97)	10,8 (4,52–16,53)
Пациенты с 3-м генотипом ХВГС (n = 69)	5. 0–1 норма (n = 20)	0,24 (0,15–0,29)	0,35 (0,11–2,14)	1,92 (1,26–2,23)	8,89 (3,25–13,11)	12,11 (5,16–17,66)
	6. 1–3 нормы (n = 34)	0,22 (0,11–0,36)	1,95 (0,19–3,86)	1,95 (0,69–2,71)	3,17 (1,12–5,44)	7,69 (2,30–12,06)
	7. 3–5 норм (n = 10)	0,18 (0,14–0,38)	1,59 (0,15–2,93)	1,44 (0,77–2,53)	6,08 (2,27–11,66)	9,73 (3,61–16,96)
	8. Более 5 норм (n = 5)	0,23 (0,10–0,45)	3,46 (0,42–4,82)	1,98 (0,86–2,69)	7,95 (5,48–9,61)	13,62 (6,86–17,57)
9. Здоровые лица (n = 20)		0,39 (0,22–1,35)	1,28 (0,73–2,16)	1,86 (0,77–2,15)	6,73 (4,8–15,35)	10,26 (7,27–20,46)
p_{1-4}		0,04	0,001	0,18	0,76	0,83
p_{2-3}		0,01	0,63	0,28	0,77	0,73
p_{2-4}		0,03	0,08	0,81	0,66	0,85
p_{3-6}		0,61	0,01	0,84	0,03	0,007
p_{5-8}		0,88	0,001	0,76	0,74	0,69
p_{7-8}		0,72	0,04	0,57	0,68	0,22
p_{1-9}		0,47	0,01	0,14	0,72	0,28
p_{2-9}		0,03	0,59	0,62	0,64	0,31
p_{3-9}		0,39	0,38	0,24	0,68	0,08
p_{4-9}		0,05	0,05	0,59	0,78	0,79
p_{5-9}		0,06	0,02	0,48	0,05	0,54
p_{6-9}		0,04	0,84	0,85	0,001	0,01
p_{7-9}		0,02	0,73	0,31	0,69	0,47
p_{8-9}		0,11	0,004	0,81	0,23	0,19
$p_{1-2-3-4}$ (Краскэла – Уоллиса)		0,001	0,01	0,64	0,68	0,42
$p_{5-6-7-8}$ (Краскэла – Уоллиса)		0,41	0,01	0,71	0,55	0,23

Примечание. Достоверность различий показателей между двумя группами рассчитана с использованием критерия Манна – Уитни, достоверность различий между несколькими группами – с помощью критерия Краскэла – Уоллиса.

механизмов, включая экзоцитоз гранул, TRAIL- и FasL-опосредованный апоптоз и секрецию антифибротических цитокинов (интерферон- γ , интерлейкин-10, интерлейкин-22) [21]. Таким образом, ранее описанный для Т-хелперов и Т-киллеров феномен истощения [22], наблюдающийся при хронизации вирусного гепатита С, по всей видимости, распространяется и на содержание и функцию НК-клеток, что приводит к прогрессированию фиброза печени. Одним из перспективных прикладных эффектов этого процесса является вероятность применения или активации НК-клеток в качестве новой терапевтической стратегии лечения фиброза печени [21, 23].

Отсутствие очевидных взаимосвязей между содержанием общего количества НК-клеток и их субпопуляций при повышении воспалительной активности у лиц как с 1-м, так и с 3-м генотипом ХВГС позволяет обратиться к работам, в которых было показано, что НК-клетки могут не только подавлять вирусную инфекцию, но и в некоторых случаях через продукцию воспалительных цитокинов усиливать гепатоцеллюлярное повреждение [24, 25].

Следует заметить, что хроническая активация НК-клеток необязательно означает усиление всех аспектов функции НК-клеток. Цитотоксичность НК-клеток увеличивается, но продукция интерферона- γ НК-клетками снижается при ХВГС [26]. Эта функциональная

● **Таблица 3.** Субпопуляционный состав НК-клеток в крови у больных ХВГС 1-го и 3-го генотипа в зависимости от уровня вирусной нагрузки (%), Ме (C_{25} - C_{75})

● **Table 3.** Blood NK cells subpopulation profile in patients with chronic HCV genotypes 1 and 3 according to the viral load levels (%), Me (C_{25} - C_{75})

Субпопуляции НК Пациенты	Уровень вирусной нагрузки	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{bright}	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{bright}	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{dim}	НК-клетки CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{dim}	НК-клетки, всего
Пациенты с 1-м генотипом ХВГС (n = 74)	1. 600–30 000 (n = 9)	0,21 (0,05–0,27)	0,39 (0,05–2,76)	2,33 (0,87–2,37)	6,45 (1,67–11,17)	10,16 (4,34–14,42)
	2. 30 000–800 000 (n = 38)	0,27 (0,13–0,59)	2,16 (0,06–4,97)	1,67 (1,29–3,51)	5,18 (0,94–10,39)	10,05 (4,14–16,58)
	3. Более 800 000 (n = 27)	0,27 (0,14–0,46)	0,96 (0,10–3,21)	1,65 (0,83–2,86)	5,88 (1,37–10,85)	9,49 (4,05–14,91)
Пациенты с 3-м генотипом ХВГС (n = 69)	4. 600–30 000 (n = 7)	0,16 (0,07–0,25)	1,59 (0,09–3,65)	2,07 (0,68–2,97)	6,84 (2,7–11,54)	12,79 (5,25–18,27)
	5. 30 000–800 000 (n = 32)	0,22 (0,14–0,46)	1,57 (0,14–3,26)	1,68 (1,15–2,76)	5,49 (1,39–9,98)	10,75 (4,29–16,31)
	6. Более 800 000 (n = 31)	0,23 (0,13–0,54)	0,79 (0,17–2,84)	2,05 (1,19–2,51)	3,26 (0,59–8,57)	7,60 (3,09–4,29)
7. Здоровые лица (n = 20)		0,39 (0,22–1,35)	1,28 (0,73–2,16)	1,86 (0,77–2,15)	6,73 (4,8–15,35)	10,26 (7,27–20,46)
p_{1-3}		0,84	0,12	0,07	0,41	0,79
p_{2-3}		0,92	0,02	0,60	0,72	0,81
p_{4-6}		0,79	0,07	0,76	0,01	0,02
p_{5-6}		0,89	0,12	0,25	0,02	0,04
p_{1-7}		0,07	0,003	0,22	0,89	0,87
p_{2-7}		0,12	0,04	0,56	0,65	0,82
p_{3-7}		0,05	0,21	0,62	0,84	0,46
p_{4-7}		0,04	0,16	0,67	0,89	0,58
p_{5-7}		0,01	0,21	0,55	0,74	0,85
p_{6-7}		0,03	0,04	0,64	0,006	0,01
p_{1-2-3} (Краскэла – Уоллиса)		0,87	0,16	0,25	0,52	0,48
p_{4-5-6} (Краскэла – Уоллиса)		0,46	0,22	0,60	0,03	0,04

Примечание. Достоверность различий показателей между двумя группами рассчитана с использованием критерия Манна – Уитни, достоверность различий между несколькими группами – с помощью критерия Краскэла – Уоллиса.

поляризация НК-клеток обусловлена постоянным воздействием эндогенного интерферона- α , который усиливает экспрессию преобразователя сигнала и активатора транскрипции 1 (STAT1) в НК-клетках и индуцирует предпочтительное фосфорилирование STAT1 по сравнению с STAT4. Фосфорилированный STAT1 (pSTAT1) затем стимулирует цитотоксичность НК-клеток, в то время как отсутствие фосфорилирования STAT4 ухудшает продукцию интерферона- γ , которая модулируется фосфорилированным STAT4 [27].

Интересным фактом является определение высокой вирусной нагрузки у больных ХВГС с 3-м генотипом со снижением общего количества НК-клеток и доли CD3⁺CD16⁺CD56^{dim}-клеток в крови. Подобного явления не отмечалось у больных с 1-м генотипом ХВГС. С нашей точки зрения, эта закономерность ассоциирована с более выраженным истощением НК-клеток у пациентов с 3-м генотипом ХВГС и объясняет ранее показанное нами существенное превалирование частоты фиброза печени F3-F4 по METAVIR у пациентов с 3-м генотипом в сравнении с 1-м генотипом ХВГС [28, 29].

ВЫВОДЫ

Мы показали, что у больных как с 1-м, так и 3-м генотипом ХВГС регистрируется значительное снижение общего содержания НК-клеток, субпопуляций CD3⁺CD16⁺CD56^{bright} и CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} в крови среди лиц с фиброзом печени F3-F4 по METAVIR в сравнении с пациентами с фиброзом печени F0-F1 по METAVIR. Только у больных с 3-м генотипом ХВГС отмечалось снижение общего содержания НК-клеток и субпопуляции CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} в крови у лиц с высокой вирусной нагрузкой в сравнении с пациентами с низкой вирусной нагрузкой. Эта взаимосвязь не определяется у больных с 1-м генотипом ХВГС. Полученные закономерности подчеркивают значительную роль НК-клеток в патогенезе ХВГС и верифицируют идею о применении активации НК-клеток для иммунотерапии фиброза печени у пациентов с ХВГС.



Поступила / Received 05.06.2023
Поступила после рецензирования / Revised 15.08.2023
Принята в печать / Accepted 30.08.2023

Список литературы / References

1. Njimegnie GF, Read SA, Fewings N, George J, McKay F, Ahlenstiel G. Immunomodulation of the Natural Killer Cell Phenotype and Response during HCV Infection. *J Clin Med*. 2020;9(4):1030. <https://doi.org/10.3390/jcm9041030>.
2. Herberman RB, Nunn ME, Lavrin DH. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic acid allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int J Cancer*. 1975;16(2):216–229. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910160204>.
3. Kiessling R, Klein E, Wigzell H. "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol*. 1975;5(2):112–117. <https://doi.org/10.1002/eji.1830050208>.
4. Goyos A, Fort M, Sharma A, Lebrech H. Current Concepts in Natural Killer Cell Biology and Application to Drug Safety Assessments. *Toxicol Sci*. 2019;170(1):10–19. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz098>.
5. Mandal A, Viswanathan C. Natural killer cells: In health and disease. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2015;8(2):47–55. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2014.11.006>.
6. Howell J, Viswanathan K. The role of natural killer cells in hepatitis C infection. *Antivir Ther*. 2013;18(7):853–865. <https://doi.org/10.3851/IMP2565>.
7. Björkström NK, Strunz B, Ljunggren HG. Natural killer cells in antiviral immunity. *Nat Rev Immunol*. 2022;22(2):112–123. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00558-5>.
8. Mele D, Oliviero B, Mantovani S, Ludovisi S, Lombardi A, Genco F et al. Adaptive Natural Killer Cell Functional Recovery in Hepatitis C Virus Cured Patients. *Hepatology*. 2021;73(1):79–90. <https://doi.org/10.1002/hep.31273>.
9. Wei Y, Bingyu W, Lei Y, Xingxing Y. The antifibrotic role of natural killer cells in liver fibrosis. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2022;247(14):1235–1243. <https://doi.org/10.1177/15353702221092672>.
10. Yoon JC, Yang CM, Song Y, Lee JM. Natural killer cells in hepatitis C: Current progress. *World J Gastroenterol*. 2016;22(4):1449–1460. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i4.1449>.
11. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol*. 2017;66(1):153–194. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.09.001>.
12. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018;69(2):461–511. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.026>.
13. Ludwig J. Terminology of chronic hepatitis, hepatic allograft rejection, and nodular lesions of the liver: summary of recommendations developed by an international working party, supported by the World Congresses of Gastroenterology, Los Angeles, 1994. *Am J Gastroenterol*. 1994;89(8 Suppl):177–181. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8048409>.
14. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIR, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIR groups. *Lancet*. 1997;349(9055):825–832. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)07642-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)07642-8).
15. Кудрявцев ИВ, Субботовская АИ. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шести-цветного цитофлуориметрического анализа. *Медицинская иммунология*. 2015;17(1):19–26. Режим доступа: <https://www.mimmun.ru/mimmun/article/viewFile/803/747>. Kudryavtsev IV, Subbotovskaya AI. Application of six-color flow cytometric analysis for immune profile monitoring. *Medical Immunology (Russia)*. 2015;17(1):19–26. (In Russ.) Available at: <https://www.mimmun.ru/mimmun/article/viewFile/803/747>.
16. Sutherland DR, Ortiz F, Quest G, Illingworth A, Benko M, Nayyar R, Marinov I. High-sensitivity 5-, 6-, and 7-color PNH WBC assays for both Canto II and Navios platforms. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018;94(4):637–651. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21626>.
17. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol*. 2001;22(11):633–640. [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(01\)02060-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(01)02060-9).
18. Caligiuri MA. Human natural killer cells. *Blood*. 2008;112(3):461–469. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>.
19. Poli A, Michel T, Thérèse M, Andrès E, Hentges F, Zimmer J. CD56^{bright} natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology*. 2009;126(4):458–465. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2008.03027.x>.
20. Yan Y, Zeng J, Xing L, Li C. Extra- and Intra-Cellular Mechanisms of Hepatic Stellate Cell Activation. *Biomedicines*. 2021;9(8):1014. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9081014>.
21. Zhang Y, Wu Y, Shen W, Wang B, Yuan X. Crosstalk between NK cells and hepatic stellate cells in liver fibrosis (Review). *Mol Med Rep*. 2022;25(6):208. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12724>.
22. Spengler U, Nattermann J. Immunopathogenesis in hepatitis C virus cirrhosis. *Clinical Science*. 2007;112(3):141–155. <https://doi.org/10.1042/CS20060171>.
23. Gao B, Radaeva S, Jeong WI. Activation of natural killer cells inhibits liver fibrosis: a novel strategy to treat liver fibrosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2007;1(1):173–180. <https://doi.org/10.1586/17474124.1.1.173>.
24. Tian Z, Chen Y, Gao B. Natural killer cells in liver disease. *Hepatology*. 2013;57(4):1654–1662. <https://doi.org/10.1002/hep.26115>.
25. Cheent K, Khakoo SI. Natural killer cells and hepatitis C: action and reaction. *Gut*. 2011;60(2):268–278. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.212555>.
26. Ahlenstiel G, Titerence RH, Koh C, Edlich B, Feld JJ, Rotman Y et al. Natural killer cells are polarized toward cytotoxicity in chronic hepatitis C in an interferon-alfa-dependent manner. *Gastroenterology*. 2010;138(1):325–335.e1–e2. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.08.066>.
27. Edlich B, Ahlenstiel G, Zabaleta Azpiroz A, Stoltzfus J, Noureddin M, Serti E et al. Early changes in interferon signaling define natural killer cell response and refractoriness to interferon-based therapy of hepatitis C patients. *Hepatology*. 2012;55(1):39–48. <https://doi.org/10.1002/hep.24628>.
28. Черепнин МА, Цуканов ВВ, Савченко АА, Васютин АВ, Тонких ЮЛ, Борисов АГ. Клинические проявления у пациентов с 1 и 3 генотипом вирусного гепатита «С» в зависимости от выраженности фиброза печени. *Доктор.Ру*. 2023;22(2):32–38. <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2023-22-2-32-38>. Cherepnin MA, Tsukanov VV, Savchenko AA, Vasyutin AV, Tonkikh JL, Borisov AG. Clinical manifestations in patients with genotypes 1 and 3 of viral hepatitis "C", depending on the severity of liver fibrosis. *Doctor.Ru*. 2023;22(2):32–38. (In Russ.) <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2023-22-2-32-38>.
29. Черепнин МА, Цуканов ВВ, Савченко АА, Васютин АВ, Каспаров ЭВ, Тонких ЮЛ, Борисов АГ. Сопоставление клинико-лабораторной характеристики и частоты фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С первого и третьего генотипов. *Медицинский совет*. 2022;7(98)–103. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-7-98-103>. Cherepnin MA, Tsukanov VV, Savchenko AA, Vasyutin AV, Kasparov EV, Tonkikh JL, Borisov AG. Comparison of clinical and laboratory characteristics and frequency of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis C of the first and third genotypes. *Meditsinskiy Sovet*. 2022;7(98)–103. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-7-98-103>.

Вклад авторов:

Концепция статьи – В.В. Цуканов

Концепция и дизайн исследования – В.В. Цуканов, А.А. Савченко

Написание текста – А.В. Васютин, М.А. Черепнин, В.В. Цуканов

Сбор и обработка материала – М.А. Черепнин, А.А. Савченко, Э.В. Каспаров, А.Г. Борисов, В.Д. Беленюк, Ю.Л. Тонких

Обзор литературы – А.В. Васютин, В.В. Цуканов

Перевод на английский язык – А.В. Васютин

Анализ материала – В.В. Цуканов, А.А. Савченко, А.В. Васютин, Ю.Л. Тонких

Статистическая обработка – М.А. Черепнин

Редактирование – В.В. Цуканов, А.А. Савченко

Утверждение окончательного варианта статьи – В.В. Цуканов

Contribution of authors:

Concept of the article – Vladislav V. Tsukanov

Study concept and design – Vladislav V. Tsukanov, Andrei A. Savchenko

Text development – Alexander V. Vasyutin, Mikhail A. Cherepnin, Vladislav V. Tsukanov

Collection and processing of material – Mikhail A. Cherepnin, Andrei A. Savchenko, Eduard V. Kasparov, Alexander G. Borisov, Vasilij D. Belenyuk, Julia L. Tonkikh

Literature review – Alexander V. Vasyutin, Vladislav V. Tsukanov

Translation into English – Alexander V. Vasyutin

Material analysis – Vladislav V. Tsukanov, Andrei A. Savchenko, Alexander V. Vasyutin, Julia L. Tonkikh

Statistical processing – Mikhail A. Cherepnin

Editing – Vladislav V. Tsukanov, Andrei A. Savchenko

Approval of the final version of the article – Vladislav V. Tsukanov

Информация об авторах:

Цуканов Владислав Владимирович, д.м.н., профессор, заведующий клиническим отделением патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; <https://orcid.org/0000-0002-9980-2294>; gastro@impn.ru

Черепнин Михаил Александрович, младший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; mikhail.cherepnin@yandex.ru

Савченко Андрей Анатольевич, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; <https://orcid.org/0000-0001-5829-672X>; aasavchenko@yandex.ru

Васютин Александр Викторович, к.м.н., старший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; <https://orcid.org/0000-0002-6481-3196>; alexander@kraslan.ru

Каспаров Эдуард Вильямович, д.м.н., профессор, директор Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера; заместитель директора по научно-организационной работе, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; <https://orcid.org/0000-0002-5988-1688>; clinic@impn.ru

Борисов Александр Геннадьевич, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; <https://orcid.org/0000-0002-9026-2615>; 2410454@mail.ru

Беленюк Василий Дмитриевич, к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; <https://orcid.org/0000-0003-2848-0846>; dyh.88@mail.ru

Тонких Юлия Леонгардовна, к.м.н., ведущий научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы взрослых и детей, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; <https://orcid.org/0000-0001-7518-1895>; tjulia@bk.ru

Information about the authors:

Vladislav V. Tsukanov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Clinical Department of the Digestive System Pathology of Adults and Children of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9980-2294>; gastro@impn.ru

Mikhail A. Cherepnin, Junior Researcher of the Clinical Department of the Digestive System Pathology of Adults and Children of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; mikhail.cherepnin@yandex.ru

Andrei A. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5829-672X>; aasavchenko@yandex.ru

Alexander V. Vasyutin, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Clinical Department of the Digestive System Pathology of Adults and Children of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6481-3196>; alexander@kraslan.ru

Eduard V. Kasparov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of the Scientific Research Institute of medical problems of the North, Deputy Director for Scientific and Organizational Work of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5988-1688>; clinic@impn.ru

Alexander G. Borisov, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9026-2615>; 2410454@mail.ru

Vasilij D. Belenyuk, Cand. Sci. (Med.), Junior Researcher of the Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2848-0846>; dyh.88@mail.ru

Julia L. Tonkikh, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Clinical Department of the Digestive System Pathology of Adults and Children of Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Separate Subdivision "Scientific Research Institute of medical problems of the North"; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7518-1895>; tjulia@bk.ru