

# Фенотип МАИТ-клеток в крови у больных с инвазией *Opisthorchis felineus* в зависимости от выраженности фиброза печени

В.В. Цуканов<sup>✉</sup>, gastro@imprn.ru, Н.Е. Веселова, А.В. Васютин, А.А. Савченко, Ю.Л. Тонких, А.Г. Борисов

Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г

## Резюме

**Введение.** МАИТ-клетки – новая субпопуляция Т-клеток, осуществляющая протекцию слизистых барьеров против проникновения инородных субстанций. Работ, посвященных участию этих клеток в патогенезе паразитарных заболеваний, практически нет.

**Цель.** Определить фенотип МАИТ-клеток в крови у больных с инвазией *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*) в зависимости от выраженности фиброза печени.

**Материалы и методы.** Всего было обследовано 78 больных с инвазией *O. felineus* (мужчин – 42, женщин – 36) и 26 лиц контрольной группы (14 мужчин и 12 женщин). Диагностика описторхоза осуществлялась методами копроовоскопии и микроскопии дуоденального содержимого. Всем больным была осуществлена эластометрия печени на аппаратах Aixplorer (Франция) или Siemens Acuson S2000 (Германия) с определением степени фиброза печени по METAVIR. Оценка фенотипического состава лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). Выделяли Т-клетки, Т-хелперы и Т-цитотоксические лимфоциты, после чего на поверхности исследуемых клеток оценивали наличие NCR Va7.2 и CD161.

**Результаты.** Содержание МАИТ Т-хелперов было снижено у пациентов с инвазией *O. felineus* в сравнении со здоровыми лицами ( $p < 0,001$ ). У МАИТ Т-цитотоксических клеток подобной закономерности не определялось ( $p = 0,5$ ). У пациентов с фиброзом печени F2 по METAVIR, в сравнении с лицами F0 по METAVIR, наблюдалось уменьшение общего количества Т-клеток, Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток, а также МАИТ Т-хелперов и МАИТ Т-цитотоксических клеток. Так, содержание Т-хелперов CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup> составило 0,020% [0,004–0,042%] у больных описторхозом с F0 по METAVIR и 0,0% [0,0–0,003%] у пациентов с фиброзом печени F2 по METAVIR ( $p = 0,001$ ). Для Т-цитотоксических клеток CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup> эти показатели составили, соответственно, 1,47% [0,41–2,49%] и 0,12% [0,07–0,31%] ( $p < 0,001$ ).

**Выводы.** Дальнейшее изучение МАИТ-клеток у больных с патологией печени обладает несомненными перспективами для создания новых лечебно-диагностических технологий.

**Ключевые слова:** МАИТ-клетки, *Opisthorchis felineus*, фиброз печени, Т-хелперы, Т-цитотоксические клетки, NCR Va7.2, CD161

**Для цитирования:** Цуканов ВВ, Веселова НЕ, Васютин АВ, Савченко АА, Тонких ЮЛ, Борисов АГ. Фенотип МАИТ-клеток в крови у больных с инвазией *Opisthorchis felineus* в зависимости от выраженности фиброза печени. *Медицинский совет*. 2024;18(15):139–145. <https://doi.org/10.21518/ms2024-338>.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Blood MAIT cells phenotype in patients with *Opisthorchis felineus* invasion depending on the severity of liver fibrosis

Vladislav V. Tsukanov<sup>✉</sup>, gastro@imprn.ru, Natalia E. Veselova, Alexander V. Vasyutin, Andrey A. Savchenko, Julia L. Tonkikh, Alexander G. Borisov

Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia

## Abstract

**Introduction.** MAIT cells are a new subpopulation of T cells that protect mucous barriers against penetration of foreign substances. There are practically no studies devoted to the participation of these cells in the pathogenesis of parasitic diseases.

**Aim.** To study the phenotype of blood MAIT cells in patients with *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*) invasion depending on the severity of liver fibrosis.

**Materials and methods.** A total of 78 patients with *O. felineus* invasion (42 men and 36 women) and 26 control group individuals (14 men and 12 women) were examined. Opisthorchiasis was diagnosed using coproovoscopy and duodenal contents microscopy. All patients underwent liver elastometry using Aixplorer (France) or Siemens Acuson S2000 (Germany) systems with determination of the liver fibrosis degree according to METAVIR. The phenotype composition of lymphocytes was investigated using a Navios flow cytometer (Beckman Coulter, USA). T cells, T helpers, and T cytotoxic lymphocytes were isolated and the presence of NCR Va7.2 and CD161 on the surface of these cells was assessed.

**Results.** The content of MAIT T-helpers was decreased in patients with *O. felinus* invasion compared to healthy individuals ( $p < 0.001$ ). In MAIT T-cytotoxic cells, a similar pattern was not detected ( $p = 0.5$ ). In patients with liver fibrosis F2 according to METAVIR compared to individuals with F0 according to METAVIR, a decrease in the total number of T-cells, T-helpers and T-cytotoxic cells, as well as MAIT T-helpers and MAIT T-cytotoxic cells was observed. Thus, the content of CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup> T-helpers was 0.020% [0.004–0.042%] in patients with opisthorchiasis with F0 according to METAVIR and 0.0% [0.0–0.003%] in individuals with liver fibrosis F2 according to METAVIR ( $p = 0.001$ ). For CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup> T-cytotoxic cells, these indicators were, respectively, 1.47% [0.41–2.49%] and 0.12% [0.07–0.31%] ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion.** Further study of MAIT cells in patients with liver pathology has undoubted prospects for the creation of new therapeutic and diagnostic technologies.

**Keywords:** MAIT cells, *Opisthorchis felinus*, liver fibrosis, T-helpers, T-cytotoxic cells, NCR Va7.2, CD161

**For citation:** Tsukanov VV, Natalia EV, Vasyutin AV, Savchenko AA, Tonkikh JuL, Borisov AG. Blood MAIT cells phenotype in patients with *Opisthorchis felinus* invasion depending on the severity of liver fibrosis. *Meditinskii Sovet*. 2024;18(15):139–145. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2024-338>.

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

## ВВЕДЕНИЕ

В организме существуют барьеры, разделяющие внутреннюю и внешнюю среду. Эти барьеры включают кожу и слизистые оболочки полости рта, респираторных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта, они избирательно проницаемы, что обеспечивает пассаж воды, ионов, нутриентов и предотвращает проникновение патогенов и токсинов. Протекцию слизистых барьеров против проникновения инородных субстанций осуществляют иннатные и адаптивные иммунные клетки, в число которых входят ассоциированные со слизистой оболочкой инвариантные Т-клетки (mucosal-associated invariant T-cells, MAIT-клетки) [1]. MAIT-клетки находятся преимущественно в печени и крови. MAIT-клетки также называют иннатно-подобными или «нетрадиционными» (unconventional) Т-лимфоцитами, которые являются мостом между иннатным и адаптивным иммунитетом [2]. Основной функцией MAIT-клеток является распознавание бактериальных компонентов и защита от инфекционных патогенов и поддержание эпителиального гомеостаза при помощи взаимодействия с локальной микробиотой [3]. В современных обзорах MAIT-клетки называют «новой гвардией печени» в связи со способностью участвовать в создании вторичного барьера (firewall), защищающего печень от проникновения бактерий и других инородных агентов [4, 5]. В последние годы предпринимаются попытки изучения роли MAIT-клеток в генезе фиброза печени. Концепция этой ассоциации объясняется вероятным этиологическим действием инфекционных факторов в развитии воспаления и участием в этом процессе Т-лимфоцитов [2, 6].

Несмотря на большое количество работ, посвященных изменениям MAIT-клеток при бактериальных инфекциях [7–9], исследования по изучению роли этих клеток при паразитарных инвазиях единичны. В 2024 г. была опубликована статья, посвященная изучению фенотипа и функции MAIT-клеток у больных альвеококкозом [10]. Однако исследования по изменениям этих клеток при трематодо-зах полностью отсутствуют.

**Цель** исследования – определить фенотип MAIT-клеток в крови у больных с инвазией *Opisthorchis felinus* (*O. felinus*) в зависимости от выраженности фиброза печени.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинический осмотр, лабораторная диагностика, эластометрия печени и оценка фенотипического состава MAIT-клеток в крови методом проточной цитометрии выполнены на базе терапевтического отделения НИИ медицинских проблем Севера (г. Красноярск) и гастроэнтерологического отделения ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» (г. Красноярск) у 78 больных с инвазией *O. felinus* (средний возраст  $38,7 \pm 5,9$  года; мужчин – 42, женщин – 36) и 26 лиц контрольной группы (средний возраст  $37,5 \pm 6,1$  года; 14 мужчин и 12 женщин). Контрольная группа состояла из практически здоровых лиц 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, отсутствие маркеров к вирусным гепатитам В и С, отрицавшими в анамнезе сведения о злоупотреблении алкоголем.

Диагностика инвазии *O. felinus* осуществлялась при помощи микроскопии дуоденальной желчи и копроовоскопии. Дуоденальное зондирование выполнялось после предварительной 3-дневной подготовки с ограничениями в диете газообразующих продуктов, сладких, жирных блюд и после 12-часового голодания. Выполнялось получение классически трех порций желчи – «А», «В» и «С» (дуоденальная, пузырная и печеночная), извлеченных до и после стимулирования двигательной активности желчного пузыря. Для стимулирования двигательной активности желчного пузыря применяли 30 мл 30%-ного раствора сернокислой магнезии. Исследование продолжалось в течение всего времени истечения пузырной порции и еще 15–20 мин после появления светлой печеночной порции. В каждой порции определялся объем, цвет, выполнялось ее макроскопическое описание, в последующем проводилась микроскопия нативных мазков желчи по 5–10 образцов из всех порций. Наиболее информативными считались порции «В» и «С». Также при углубленном поиске выполнялась микроскопия и осадка желчи после ее центрифугирования с целью увеличения эффективности поиска яиц описторхисов. Исследование фекалий на наличие описторхоза выполнялось по методу Като – метод толстого мазка

под целлофаном. Толстый мазок представляет собой слой неразбавленных фекалий на предметном стекле, спрессованный под листком тонкого гигроскопичного целлофана, предварительно пропитанного глицерином.

Степень фиброза печени исследовалась методом сдвиговой волновой транзитной эластометрии с применением ультразвуковых систем Aixplorer (Франция), Siemens Acuson S2000 (Германия). Оценка фиброза осуществлялась по шкале METAVIR [6]. 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) – портальному и перипортальному фиброзу с единичными септами; F3 – (9,6–12,5 кПа) – портальному и перипортальному фиброзу со множественными септами – (мостовидными) с порто-портальными и портоцентрными септами; F4 – цирроз ( $\geq 12,6$  кПа).

Забор крови для исследования показателей MAIT-клеток производили утром натощак. Оценку фенотипического состава лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой пятицветной иммунофлуоресценции цельной периферической крови на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). В основе протокола гейтирования лежало выделение фракции лимфоцитов за счет экспрессии панлейкоцитарного маркера CD45. Используя специфичность взаимодействия моноклональных антител к CD3, CD4 и CD8, выделяли Т-клетки, Т-хелперы и Т-цитотоксические клетки (Т-ЦК), после чего оценивали наличие Т-клеточного рецептора NCR Va7.2 и маркера CD161 на поверхности исследуемых клеток (рисунок). Для обеспечения высокой достоверности анализа в каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов.

Все исследования выполнены после подписания испытуемыми информированного согласия в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. №266. Протокол исследования был одобрен ЛЭК ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера (протокол №3 от 15.09.2021).

Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007). Описание выборки производили с помощью вычисления медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде нижнего

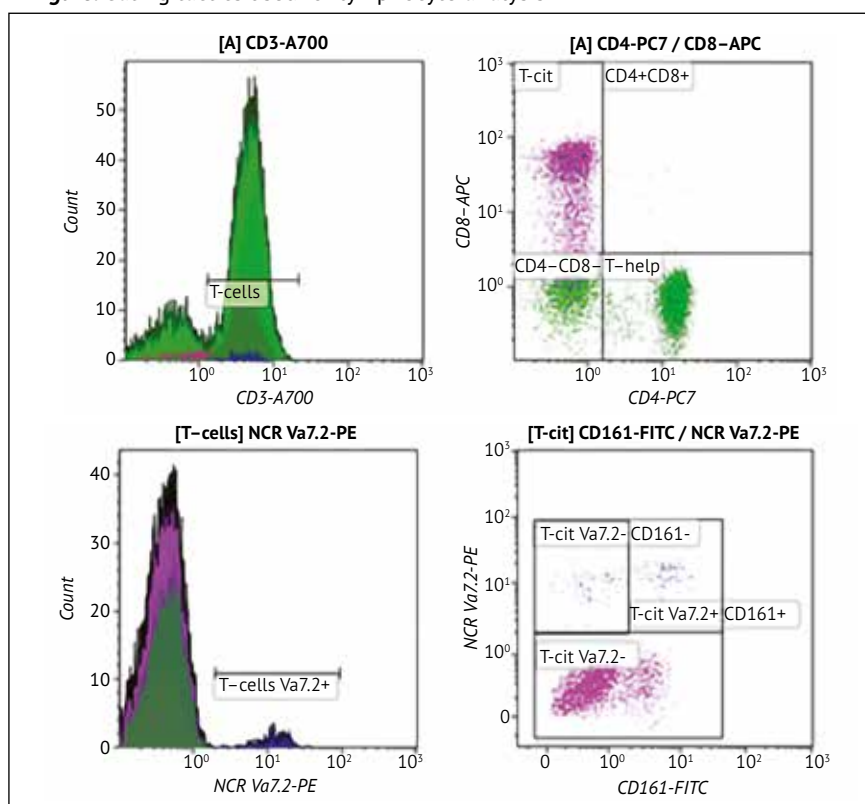
и верхнего квартилей ( $C_{25}$ – $C_{75}$ ). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна – Уитни. Достоверным считался уровень значимости при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы изучили методом проточной цитометрии фенотипические показатели Т-клеток крови у больных описторхозом в сравнении со здоровыми лицами. Общее содержание Т-клеток не отличалось в сравниваемых группах. Содержание Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+CD8^-$ ) было незначительно снижено у больных с инвазией *O. felineus*. Заслуживает внимание, что содержание Т-клеток, не относящихся к Т-хелперам и Т-цитотоксическим клеткам, имело отличия в группе больных и у пациентов контрольной группы. В частности, уровень  $CD3^+CD4^-CD8^-$ -клеток был существенно выше у больных описторхозом в сравнении со здоровыми лицами (табл. 1). Полученные данные обособывают интерес к изучению новых субпопуляций Т-клеток и их вероятной роли в развитии патологии.

Регистрировались определенные отличия в показателях MAIT Т-хелперов и MAIT Т-цитотоксических клеток у больных описторхозом. Если содержание Т-хелперов  $CD161^+$  NCR Va7.2<sup>+</sup> (MAIT) и  $CD161^+$  NCR Va7.2<sup>-</sup> было значительно снижено у пациентов с инвазией *O. felineus* в сравнении со здоровыми лицами, то у MAIT Т-цитотоксических клеток подобной закономерности не определялось (табл. 2). Это может объясняться выраженной целесообразностью сохранения эффекторных функций Т-лимфоцитов у больных паразитозом

- **Рисунок.** Тактика гейтирования, применяемая для анализа лимфоцитов  
 ● **Figure.** Gating tactics used for lymphocyte analysis



- **Таблица 1.** Количественные показатели Т-клеток у больных с инвазией *O. felinus* и контрольных лиц
- **Table 1.** Quantitative parameters of T cells in patients with *O. felinus* invasion and control individuals

| Группы.<br>Показатель (% от количества лимфоцитов)              | Больные описторхозом,<br>n = 78 |                                  | Контрольная группа,<br>n = 26 |                                  | p     |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------|
|                                                                 | Me                              | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                            | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> |       |
| Т-клетки (CD3 <sup>+</sup> )                                    | 75,53                           | 71,65–78,38                      | 77,26                         | 75,44–82,02                      | =0,3  |
| Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> ) | 44,95                           | 39,95–49,57                      | 49,61                         | 43,20–56,05                      | =0,08 |
| Т-ЦК (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> )      | 23,56                           | 18,95–27,38                      | 23,19                         | 20,27–26,30                      | =0,83 |
| CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -клетки      | 0,39                            | 0,28–0,89                        | 0,32                          | 0,21–0,45                        | =0,07 |
| CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup> -клетки      | 3,90                            | 2,48–8,08                        | 2,39                          | 1,35–5,12                        | =0,02 |

Примечание: достоверность различий показателей вычислена при помощи критерия Манна – Уитни; Т-ЦК – Т-цитотоксические клетки.

- **Таблица 2.** Количественные показатели MAIT Т-хелперов и MAIT Т-ЦК у больных с инвазией *O. felinus* и контрольных лиц
- **Table 2.** Quantitative indicators of MAIT T-helpers and MAIT T-CC in patients with *O. felinus* invasion and control individuals

| Группы.<br>Показатель (% от количества лимфоцитов)  | Больные описторхозом,<br>n = 78 |                                  | Контрольная группа,<br>n = 26 |                                  | p      |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------|
|                                                     | Me                              | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                            | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> |        |
| Т-хелперы CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>+</sup> | 0,40                            | 0,42–0,63                        | 0,57                          | 0,49–0,62                        | =0,28  |
| Т-хелперы CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup> | 0,004                           | 0,000–0,016                      | 0,035                         | 0,025–0,064                      | <0,001 |
| Т-хелперы CD161 <sup>-</sup> NCR Va7.2 <sup>+</sup> | 43,47                           | 39,31–48,10                      | 42,71                         | 40,67–52,02                      | =0,45  |
| Т-хелперы CD161 <sup>-</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup> | 0,107                           | 0,022–0,497                      | 2,33                          | 1,30–3,28                        | <0,001 |
| Т-ЦК CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>+</sup>      | 0,81                            | 0,49–1,17                        | 0,88                          | 0,63–1,21                        | =0,44  |
| Т-ЦК CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup>      | 0,93                            | 0,17–2,02                        | 1,01                          | 0,42–1,74                        | =0,62  |
| Т-ЦК CD161 <sup>-</sup> NCR Va7.2 <sup>+</sup>      | 20,60                           | 16,61–24,35                      | 20,29                         | 15,68–23,09                      | =0,52  |
| Т-ЦК CD161 <sup>-</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup>      | 0,34                            | 0,20–0,61                        | 0,44                          | 0,20–0,90                        | =0,36  |

Примечание: достоверность различий показателей вычислена при помощи критерия Манна – Уитни; Т-ЦК – Т-цитотоксические клетки.

и нарушением координирующей функции Т-хелперов при патологии.

Среди пациентов с инвазией *O. felinus* у 46,2% определен фиброз печени F0 по METAVIR, у 30,8% – F1, у 23,1% – F2 по METAVIR. При изучении иммунологических показателей в зависимости от выраженности фиброза печени у больных описторхозом мы получили более выраженные закономерности. У пациентов с фиброзом печени F2 по METAVIR, в сравнении с лицами F0 по METAVIR, наблюдалось значительное снижение общего количества Т-клеток, Т-цитотоксических клеток (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>) и незначительное снижение Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>), что свидетельствовало о выраженной дисфункции иммунной системы при сочетании описторхоза и выраженного фиброза печени. Содержание Т-клеток, не относящихся к Т-хелперам и Т-цитотоксическим клеткам, не отличалось у больных описторхозом с разной степенью выраженности фиброза печени (табл. 3).

- **Таблица 3.** Количественные показатели Т-клеток у больных с инвазией *O. felinus* в зависимости от выраженности фиброза печени
- **Table 3.** Quantitative parameters of T cells in patients with *O. felinus* invasion depending on the severity of liver fibrosis

| Выраженность фиброза.<br>Показатель<br>(% от количества лимфоцитов) | 1. F0 по METAVIR,<br>n = 36 |                                  | 2. F1 по METAVIR,<br>n = 24 |                                  | 3. F2 по METAVIR,<br>n = 18 |                                  | p                                                                            |
|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                     | Me                          | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                          | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                          | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> |                                                                              |
| Т-клетки (CD3 <sup>+</sup> )                                        | 78,38                       | 73,63–83,06                      | 75,34                       | 68,94–79,13                      | 69,76                       | 66,72–76,73                      | p <sub>1-2</sub> =0,47;<br>p <sub>2-3</sub> =0,1;<br>p <sub>1-3</sub> =0,007 |
| Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> )     | 46,43                       | 40,85–51,20                      | 45,83                       | 40,25–49,84                      | 42,53                       | 37,75–48,63                      | p <sub>1-2</sub> =0,82;<br>p <sub>2-3</sub> =0,17;<br>p <sub>1-3</sub> =0,11 |
| Т-ЦК (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> )          | 27,38                       | 22,32–30,00                      | 25,15                       | 20,00–28,09                      | 22,49                       | 18,95–26,37                      | p <sub>1-2</sub> =0,27;<br>p <sub>2-3</sub> =0,21;<br>p <sub>1-3</sub> =0,01 |
| CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -клетки          | 0,42                        | 0,26–0,91                        | 0,38                        | 0,29–1,01                        | 0,35                        | 0,28–0,80                        | p <sub>1-2</sub> =0,79;<br>p <sub>2-3</sub> =0,72;<br>p <sub>1-3</sub> =0,66 |
| CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup> -клетки          | 3,77                        | 2,33–8,01                        | 3,96                        | 2,57–8,08                        | 4,26                        | 2,90–8,26                        | p <sub>1-2</sub> >0,9;<br>p <sub>2-3</sub> =0,86;<br>p <sub>1-3</sub> =0,73  |

Примечание: достоверность различий показателей вычислена при помощи критерия Манна – Уитни; Т-ЦК – Т-цитотоксические клетки.



Можно предположить, что CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>-клетки участвуют в патогенезе инвазии *O. felineus*, но при этом не оказывают влияния на развитие фиброза печени.

У больных описторхозом с фиброзом печени F2 по METAVIR отмечалось значительное снижение Т-хелперов CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup> и CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>-</sup> в сравнении с лицами с фиброзом печени F0 по METAVIR (табл. 4). Как мы показывали ранее, эти же субпопуляции значительно снижались при инвазии *O. felineus*.

Т-цитотоксические клетки CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup> и CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>-</sup> также значительно снижались у больных описторхозом с фиброзом печени F2 по METAVIR в сравнении с пациентами с фиброзом печени F0 по METAVIR (табл. 5). Таким образом, развитие фиброза печени при инвазии *O. felineus* сопровождалось снижением как MAIT Т-хелперов, так и MAIT Т-цитотоксических клеток в крови.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже отмечалось, работы по изучению MAIT-клеток при паразитарных инвазиях практически отсутствуют. Только в одной статье, посвященной исследованию MAIT-клеток при паразитозе, было включено 29 образцов крови и 10 биоптатов печени пациентов с инвазией *Echinococcus multilocularis* [10]. В этом исследовании было обнаружено, что количество MAIT-клеток снижалось в периферической крови и увеличивалось в тканях печени. Циркулирующие MAIT-клетки демонстрировали фенотипы активации и истощения, а внутрипеченочные MAIT-клетки показывали увеличение фенотипов активации с повышенным уровнем интерферона- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ) и интерлейкина (ИЛ) -17A, а также высокую экспрессию хемокинового рецептора CXCR5. Частота циркулирующих MAIT-клеток коррелировала с размером повреждений и нарушениями функции печени у пациентов с альвеококкозом.

Содержание MAIT-клеток при патологии печени активно изучается. Обнаруженное нами снижение фенотипов MAIT-клеток в крови у пациентов с выраженным фиброзом печени можно объяснить двумя патогенетическими механизмами. Во-первых, феномен дисфункции Т-клеток (или истощение Т-клеток) ранее был хорошо изучен при хроническом вирусном гепатите С [11]. Хроническая стимуляция антигеном в течение длительного времени приводит к глубокой потере функции Т-клеток [12, 13], что в дальнейшем закрепляется изменениями

● **Таблица 4.** Количественные показатели MAIT Т-хелперов у больных с инвазией *O. felineus* в зависимости от выраженности фиброза печени

● **Table 4.** Quantitative indicators of MAIT T-helpers in patients with *O. felineus* invasion depending on the severity of liver fibrosis

| Выраженность фиброза. Показатель (% от количества лимфоцитов) | 1. F0 по METAVIR, n = 36 |                                  | 2. F1 по METAVIR, n = 24 |                                  | 3. F2 по METAVIR, n = 18 |                                  | p                                                                              |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
|                                                               | Me                       | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                       | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                       | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> |                                                                                |
| Т-хелперы CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>+</sup>           | 0,51                     | 0,42–0,66                        | 0,48                     | 0,42–0,58                        | 0,46                     | 0,42–0,67                        | p <sub>1-2</sub> =0,82;<br>p <sub>2-3</sub> >0,9;<br>p <sub>1-3</sub> =0,63    |
| Т-хелперы CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup>           | 0,020                    | 0,004–0,042                      | 0,002                    | 0,000–0,007                      | 0,000                    | 0,000–0,003                      | p <sub>1-2</sub> =0,002;<br>p <sub>2-3</sub> =0,31;<br>p <sub>1-3</sub> =0,001 |
| Т-хелперы CD161 <sup>-</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup>           | 45,41                    | 39,29–50,08                      | 44,82                    | 39,82–47,98                      | 42,14                    | 37,11–47,07                      | p <sub>1-2</sub> =0,75;<br>p <sub>2-3</sub> =0,31;<br>p <sub>1-3</sub> =0,22   |
| Т-хелперы CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup>           | 0,24                     | 0,03–1,18                        | 0,13                     | 0,02–0,37                        | 0,04                     | 0,01–0,13                        | p <sub>1-2</sub> =0,15;<br>p <sub>2-3</sub> =0,32;<br>p <sub>1-3</sub> =0,03   |

Примечание: достоверность различий показателей вычислена при помощи критерия Манна – Уитни

● **Таблица 5.** Количественные показатели MAIT Т-цитотоксических клеток у больных с инвазией *O. felineus* в зависимости от выраженности фиброза печени

● **Table 5.** Quantitative indicators of MAIT T-cytotoxic cells in patients with *O. felineus* invasion depending on the severity of liver fibrosis

| Выраженность фиброза. Показатель (% от количества лимфоцитов) | 1. F0 по METAVIR, n = 36 |                                  | 2. F1 по METAVIR, n = 24 |                                  | 3. F2 по METAVIR, n = 18 |                                  | p                                                                              |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
|                                                               | Me                       | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                       | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> | Me                       | C <sub>25</sub> –C <sub>75</sub> |                                                                                |
| Т-ЦК CD161 <sup>-</sup> NCR Va7.2 <sup>+</sup>                | 0,91                     | 0,53–1,17                        | 0,83                     | 0,49–1,14                        | 0,62                     | 0,43–1,49                        | p <sub>1-2</sub> =0,79;<br>p <sub>2-3</sub> =0,69;<br>p <sub>1-3</sub> =0,56   |
| Т-ЦК CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>+</sup>                | 1,47                     | 0,41–2,49                        | 1,02                     | 0,41–1,74                        | 0,12                     | 0,07–0,31                        | p <sub>1-2</sub> =0,39;<br>p <sub>2-3</sub> =0,004;<br>p <sub>1-3</sub> <0,001 |
| Т-ЦК CD161 <sup>-</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup>                | 22,08                    | 17,75–26,07                      | 20,48                    | 16,08–24,44                      | 19,63                    | 15,14–23,85                      | p <sub>1-2</sub> =0,74;<br>p <sub>2-3</sub> >0,9;<br>p <sub>1-3</sub> =0,51    |
| Т-ЦК CD161 <sup>+</sup> NCR Va7.2 <sup>-</sup>                | 0,42                     | 0,23–0,80                        | 0,37                     | 0,22–0,64                        | 0,12                     | 0,04–0,33                        | p <sub>1-2</sub> =0,57;<br>p <sub>2-3</sub> =0,02;<br>p <sub>1-3</sub> =0,02   |

Примечание: достоверность различий показателей вычислена при помощи критерия Манна – Уитни; Т-ЦК – Т-цитотоксические клетки.

транскрипционной и эпигенетической программ [14, 15]. В свою очередь, снижение функционального состояния Т-клеток ассоциировано с увеличением продукции воспалительных сигналов, участвующих в активации звездчатых клеток [16]. Вторая концепция сводится к тому, что MAIT-клетки в процессе защиты печени от системного воспаления и бактерий могут активировать функции, обладающие разрушительным потенциалом [17, 18]. При этом MAIT-клетки печени секретируют большое количество провоспалительных и фиброгенных цитокинов, таких как ИФН- $\gamma$ , фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и ИЛ-17 [19, 20]. Результаты исследования по MR1-зависимой активации MAIT-клеток с помощью звездчатых клеток печени показали, что взаимодействие между звездчатыми клетками печени и MAIT-клетками может реципрокно

усиливать их профиброзные свойства [21]. Среди других цитокинов, секретируемых MAIT-клетками, которые могут быть вовлечены в про- или антифиброзные процессы в печени, выделяют ИЛ-22, ИЛ-26 и ИФН- $\gamma$  [2]. В экспериментальных работах было показано, что ИЛ-22 обладает антифибротическим эффектом [22], ИЛ-26, напротив, был описан как профиброгенный [23], а роль ИФН- $\gamma$  в фиброгенезе является неоднозначной [24].

## Выводы

Таким образом, мы выполнили исследование, в котором продемонстрировали, что MAIT-клетки ассоциированы с фиброзом печени у пациентов с инвазией *O. felinus*. У больных с описторхозом и фиброзом печени F2 по METAVIR, в сравнении с лицами F0 по METAVIR, наблюдалось

значительное снижение общего количества Т-клеток (CD3<sup>+</sup>), Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>) и Т-цитотоксических клеток (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>), а также MAIT Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup>) и MAIT Т-цитотоксических клеток (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD161<sup>+</sup> NCR Va7.2<sup>+</sup>), что свидетельствовало о выраженной дисфункции иммунной системы при сочетании описторхоза и выраженного фиброза печени. В целом можно полагать, что угнетение MAIT-клеток свидетельствует об актуальности понимания инфекционного воспаления в печени в качестве триггера фиброза. С нашей точки зрения, дальнейшее изучение MAIT-клеток у больных с патологией печени обладает несомненными перспективами для создания новых лечебно-диагностических технологий. 

Поступила / Received 07.06.2024

Поступила после рецензирования / Revised 28.06.2024

Принята в печать / Accepted 09.07.2024

## Список литературы / References

1. Nel I, Bertrand L, Toubal A, Lehuen A. MAIT cells, guardians of skin and mucosa? *Mucosal Immunol.* 2021;14(4):803–814. <https://doi.org/10.1038/s41385-021-00391-w>.
2. Mehta H, Lett MJ, Klenerman P, Filipowicz Sinnreich M. MAIT cells in liver inflammation and fibrosis. *Semin Immunopathol.* 2022;44(4):429–444. <https://doi.org/10.1007/s00281-022-00949-1>.
3. Legoux F, Salou M, Lantz O. MAIT Cell Development and Functions: the Microbial Connection. *Immunity.* 2020;53(4):710–723. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.09.009>.
4. Kurioka A, Walker LJ, Klenerman P, Willberg CB. MAIT cells: new guardians of the liver. *Clin Transl Immunology.* 2016;5(8):e98. <https://doi.org/10.1038/cti.2016.51>.
5. Balmer ML, Slack E, de Gottardi A, Lawson MA, Hapfelmeier S, Miele L et al. The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota. *Sci Transl Med.* 2014;6(237):237ra66. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008618>.
6. Bengtsson B, Maucourant C, Sandberg JK, Björkstöm NK, Hagström H. Evaluation of mucosal-associated invariant T-cells as a potential biomarker to predict infection risk in liver cirrhosis. *PLoS ONE.* 2024;19(5):e0294695. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294695>.
7. Meermeier EW, Harrieff MJ, Karamooz E, Lewinsohn DM. MAIT cells and microbial immunity. *Immunol Cell Biol.* 2018;96(6):607–617. <https://doi.org/10.1111/imcb.12022>.
8. Klenerman P, Hinks TSC, Ussher JE. Biological functions of MAIT cells in tissues. *Mol Immunol.* 2021;130:154–158. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.12.017>.
9. Amini A, Pang D, Hackstein CP, Klenerman P. MAIT Cells in Barrier Tissues: Lessons from Immediate Neighbors. *Front Immunol.* 2020;11:584521. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.584521>.
10. Li J, Zhao H, Lv G, Aimulajiang K, Li L, Lin R, Aji T. Phenotype and function of MAIT cells in patients with alveolar echinococcosis. *Front Immunol.* 2024;15:1343567. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1343567>.
11. Ha SJ, West EE, Araki K, Smith KA, Ahmed R. Manipulating both the inhibitory and stimulatory immune system towards the success of therapeutic vaccination against chronic viral infections. *Immunol Rev.* 2008;223:317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00638.x>.
12. Kasprowicz V, Schulze Zur Wiesch J, Kuntzen T, Nolan BE, Longworth S, Berical A. et al. High level of PD-1 expression on hepatitis C virus (HCV)-specific CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T cells during acute HCV infection, irrespective of clinical outcome. *J Virol.* 2008;82(6):3154–3160. <https://doi.org/10.1128/JVI.02474-07>.
13. Penna A, Pilli M, Zerbini A, Orlandini A, Mezzadri S, Sacchelli L et al. Dysfunction and functional restoration of HCV-specific CD8 responses in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2007;45(3):588–601. <https://doi.org/10.1002/hep.21541>.
14. Khan O, Giles JR, McDonald S, Manne S, Ngiew SF, Patel KP et al. TOX transcriptionally and epigenetically programs CD8<sup>+</sup> T cell exhaustion. *Nature.* 2019;571(7764):211–218. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1325-x>.
15. Alfei F, Kanev K, Hofmann M, Wu M, Ghoneim HE, Roelli P et al. TOX reinforces the phenotype and longevity of exhausted T cells in chronic viral infection. *Nature.* 2019;571(7764):265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1326-9>.
16. Tanwar S, Rhodes F, Srivastava A, Tremblant PM, Rosenberg WM. Inflammation and fibrosis in chronic liver diseases including non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2020;26(2):109–133. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i2.109>.
17. Zhang H, Shen H, Zhou L, Xie L, Kong D, Wang H. Mucosal-Associated Invariant T Cells in the Digestive System: Defender or Destroyer? *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2023;15(4):809–819. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2022.12.014>.
18. Napier RJ, Adams EJ, Gold MC, Lewinsohn DM. The Role of Mucosal Associated Invariant T Cells in Antimicrobial Immunity. *Front Immunol.* 2015;6:344. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00344>.
19. Tan Z, Qian X, Jiang R, Liu Q, Wang Y, Chen C et al. IL-17A plays a critical role in the pathogenesis of liver fibrosis through hepatic stellate cell activation. *J Immunol.* 2013;191(4):1835–1844. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203013>.
20. Hegde P, Weiss E, Paradis V, Wan J, Mabire M, Sukriti S et al. Mucosal-associated invariant T cells are a profibrogenic immune cell population in the liver. *Nat Commun.* 2018;9(1):2146. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04450-y>.
21. Lett MJ, Mehta H, Keogh A, Jaeger T, Jacquet M, Powell K et al. Stimulatory MAIT cell antigens reach the circulation and are efficiently metabolised and presented by human liver cells. *Gut.* 2022;71(12):2526–2538. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2021-324478>.
22. Kong X, Feng D, Wang H, Hong F, Bertola A, Wang FS, Gao B. Interleukin-22 induces hepatic stellate cell senescence and restricts liver fibrosis in mice. *Hepatology.* 2012;56(3):1150–1159. <https://doi.org/10.1002/hep.25744>.
23. Zhang X, Xie X, Wang Y, Li W, Lin Z. Interleukin-26 promotes the proliferation and activation of hepatic stellate cells to exacerbate liver fibrosis by the TGF- $\beta$ 1/Smad2 signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol.* 2019;12(12):4271–4279. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31933827>.
24. He Y, Hwang S, Ahmed YA, Feng D, Li N, Ribeiro M et al. Immunopathobiology and therapeutic targets related to cytokines in liver diseases. *Cell Mol Immunol.* 2021;18(1):18–37. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00580-w>.

## Вклад авторов:

Концепция статьи – В.В. Цуканов

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

Написание текста – В.В. Цуканов, Н.Е. Веселова, А.В. Васютин

Сбор и обработка материала – Н.Е. Веселова, Ю.Л. Тонких, А.Г. Борисов

Обзор литературы – Н.Е. Веселова, А.В. Васютин, Ю.Л. Тонких

Анализ материала – В.В. Цуканов, А.А. Савченко

Статистическая обработка – А.В. Васютин, А.Г. Борисов

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, Andrey A. Savchenko*Text development* – Vladislav V. Tsukanov, Natalia E. Veselova, Alexander V. Vasyutin*Collection and processing of material* – Natalia E. Veselova, Julia L. Tonkikh, Alexander G. Borisov*Literature review* – Natalia E. Veselova, Alexander V. Vasyutin, Julia L. Tonkikh*Material analysis* – Vladislav V. Tsukanov, Andrey A. Savchenko*Statistical processing* – Alexander V. Vasyutin, Alexander G. Borisov*Editing* – Vladislav V. Tsukanov, Andrey 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, 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@imprn.ru](mailto:gastro@imprn.ru)

**Вeselova Наталья Евгеньевна**, младший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы взрослых и детей, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; [nataliaveselova4621@gmail.com](mailto:nataliaveselova4621@gmail.com)

**Васютин Александр Викторович**, к.м.н., старший научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, 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\\_vasyutin@mail.ru](mailto:alexander_vasyutin@mail.ru)

**Савченко Андрей Анатольевич**, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии, 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](mailto:aasavchenko@yandex.ru)

**Тонких Юлия Леонгардовна**, к.м.н., ведущий научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы взрослых и детей, 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](mailto:tjulia@bk.ru)

**Борисов Александр Геннадьевич**, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, 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](mailto:2410454@mail.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, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9980-2294>; [gastro@imprn.ru](mailto:gastro@imprn.ru)

**Natalia E. Veselova**, Junior Researcher of the Clinical Department of the Digestive System Pathology of Adults and Children, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North; 3g, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; [nataliaveselova4621@gmail.com](mailto:nataliaveselova4621@gmail.com)

**Alexander V. Vasyutin**, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Clinical Department of the Digestive System Pathology of Adults and Children, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 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](mailto:alexander@kraslan.ru)

**Andrey A. Savchenko**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 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](mailto:aasavchenko@yandex.ru)

**Julia L. Tonkikh**, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Clinical Department of the Digestive System Pathology of Adults and Children, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 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](mailto:tjulia@bk.ru)

**Alexander G. Borisov**, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 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](mailto:2410454@mail.ru)