



Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов крови у больных описторхозом в зависимости от степени выраженности фиброза печени

В.В. Цуканов^{✉1}, Е.Г. Горчилова², О.А. Коленчукова¹, И.И. Гвоздев¹, А.А. Савченко¹, Э.В. Каспаров¹, А.В. Васютин¹, Ю.А. Тонких¹, А.Г. Борисов¹, О.С. Ржавичева²

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр”» Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск, Россия;

²ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-Медицина” города Красноярск», Красноярск, Россия

Аннотация

Цель. Изучить активность нейтрофильных гранулоцитов у больных описторхозом в зависимости от выраженности фиброза печени.

Материалы и методы. Всего обследованы 74 больных хроническим описторхозом (39 мужчин и 35 женщин, средний возраст 42,3 года) и 32 практически здоровых пациента (17 мужчин и 15 женщин, средний возраст 41,5 года) в возрасте от 24 до 60 лет. Диагностика описторхоза осуществлялась двумя методами: копроовоскопия и выявление яиц или тел взрослых паразитов в дуоденальном содержимом. Фиброз печени определялся методом эластометрии по шкале METAVIR у всех 74 больных описторхозом. Исследование функциональной активности нейтрофилов в крови проведено всем 74 больным описторхозом и 32 здоровым лицам из группы контроля методом хемилюминесцентного анализа с измерением интенсивности выработки активных форм кислорода в спонтанной и зимозаниндуцированной реакции в люцигенин- и люминолзависимых процессах.

Результаты. Фиброз печени F2 по METAVIR зарегистрирован у 20,3% обследованных лиц, фиброз печени F3–F4 по METAVIR определялся у 17,6% больных описторхозом. У больных описторхозом с фиброзом печени F3–F4 по METAVIR регистрировалось значительное снижение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в сравнении с лицами с фиброзом печени F0–F1 по METAVIR, о чем свидетельствовало значительное снижение максимальной интенсивности выработки активных форм кислорода (I_{max}) и площади под кривой (S) хемилюминесценции в люцигенин- и люминолзависимых процессах как в спонтанной реакции, так и в индуцированной зимозаном реакции. Заключение. Полученные результаты дают новую информацию для объяснения механизмов развития фиброза печени у больных описторхозом и создают перспективы для развития диагностических и лечебно-профилактических технологий.

Ключевые слова: описторхоз, фиброз печени, нейтрофилы, функциональная активность

Для цитирования: Цуканов В.В., Горчилова Е.Г., Коленчукова О.А., Гвоздев И.И., Савченко А.А., Каспаров Э.В., Васютин А.В., Тонких Ю.А., Борисов А.Г., Ржавичева О.С. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов крови у больных описторхозом в зависимости от степени выраженности фиброза печени. Терапевтический архив. 2021;93(11):1271–1277. DOI: 10.26442/00403660.2021.11.201165

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Цуканов Владислав Владимирович** – д-р мед. наук, проф., зав. клиническим отд-нием патологии пищеварительной системы взрослых и детей НИИ медицинских проблем Севера ФГБНУ ФИЦ КНЦ. Тел.: +7(391)256-81-71; e-mail: gastro@impn.ru; ORCID: 0000-0002-9980-2294

Горчилова Екатерина Германовна – врач-гастроэнтеролог гастроэнтерологического отд-ния ЧУЗ «КБ “РЖД-Медицина” города Красноярск»

Коленчукова Оксана Александровна – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера ФГБНУ ФИЦ КНЦ. ORCID: 0000-0001-9552-447X

Гвоздев Иван Игоревич – мл. науч. сотр. лаб. молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера ФГБНУ ФИЦ КНЦ. ORCID: 0000-0002-1041-9871

Савченко Андрей Анатольевич – д-р мед. наук, проф., зав. лаб. молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера ФГБНУ ФИЦ КНЦ. ORCID: 0000-0001-5829-672X

Каспаров Эдуард Вильямович – д-р мед. наук, проф., дир. НИИ медицинских проблем Севера, зам. дир. по научно-организационной работе ФГБНУ ФИЦ КНЦ. ORCID: 0000-0002-5988-1688

Васютин Александр Викторович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. клинического отд-ния патологии пищеварительной системы взрослых и детей НИИ медицинских проблем Севера ФГБНУ ФИЦ КНЦ. ORCID: 0000-0002-6481-3196

Тонких Юлия Леонгардовна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. клинического отд-ния патологии пищеварительной системы взрослых и детей НИИ медицинских проблем Севера ФГБНУ ФИЦ КНЦ. ORCID: 0000-0001-7518-1895

✉ **Vladislav V. Tsukanov.** E-mail: gastro@impn.ru; ORCID: 0000-0002-9980-2294

Ekaterina G. Gorchilova

Oksana A. Kolenchukova. ORCID: 0000-0001-9552-447X

Ivan I. Gvozdev. ORCID: 0000-0002-1041-9871

Andrei A. Savchenko. ORCID: 0000-0001-5829-672X

Eduard V. Kasparov. ORCID: 0000-0002-5988-1688

Aleksandr V. Vasyutin. ORCID: 0000-0002-6481-3196

Julia L. Tonkikh. ORCID: 0000-0001-7518-1895

Functional activity of blood neutrophilic granulocytes in patients with opisthorchiasis, depending on the severity of liver fibrosis

Vladislav V. Tsukanov^{✉1}, Ekaterina G. Gorchilova², Oksana A. Kolenchukova¹, Ivan I. Gvozdev¹, Andrei A. Savchenko¹, Eduard V. Kasparov¹, Aleksandr V. Vasyutin¹, Juliia L. Tonkikh¹, Aleksandr G. Borisov¹, Olga S. Rzhavicheva²

¹Federal Research Center “Krasnoyarsk Scientific Center”, Krasnoyarsk, Russia;

²Clinical hospital “RZD-Medicine” of the city of Krasnoyarsk, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

Aim. To study the activity of neutrophilic granulocytes in patients with opisthorchiasis, depending on the severity of liver fibrosis.

Materials and methods. A total of 74 patients with chronic opisthorchiasis (39 men and 35 women, average age 42.3 years) and 32 practically healthy patients (17 men and 15 women, average age 41.5 years) aged 24 to 60 years were examined. Diagnosis of opisthorchiasis was carried out by two methods: coproscopy and identification of eggs or bodies of adult parasites in duodenal content. Liver fibrosis was determined by the method of elastometry according to the METAVIR scale in all 74 patients with opisthorchiasis. The study of the functional activity of neutrophils in the blood was performed to all 74 patients with opisthorchiasis and 32 healthy individuals from the control group by chemiluminescent analysis with measurement of the reactive oxygen species (ROS) production intensity in a spontaneous and zymosan-induced reaction in lucigenin and luminol-dependent processes.

Results. Liver fibrosis F2 by METAVIR was registered in 20.3% of the examined individuals, liver fibrosis F3–F4 by METAVIR was detected in 17.6% of patients with opisthorchiasis. In patients with opisthorchiasis with liver fibrosis F3–F4 by METAVIR, a significant decrease in the functional activity of neutrophilic granulocytes was registered in comparison with individuals with liver fibrosis F0–F1 by METAVIR, as evidenced by a significant decrease in the maximum intensity of ROS production (Imax) and the area under the curve (S) chemiluminescence in lucigenin and luminol-dependent processes both in the spontaneous and zymosan-induced reaction.

Conclusion. These results provide new information to explain the mechanisms of liver fibrosis in patients opisthorchiasis and create opportunities for the development of diagnostics and preventive technologies.

Keywords: opisthorchiasis, liver fibrosis, neutrophils, functional activity

For citation: Tsukanov VV, Gorchilova EG, Kolenchukova OA, Gvozdev II, Savchenko AA, Kasparov EV, Vasyutin AV, Tonkikh JuL, Borisov AG, Rzhavicheva OS. Functional activity of blood neutrophilic granulocytes in patients with opisthorchiasis, depending on the severity of liver fibrosis. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.)*. 2021;93(11):1271–1277. DOI: 10.26442/00403660.2021.11.201165

Введение

Фиброз печени является общим патологическим ответом на хроническое воспаление печени, которое может быть вызвано различными этиологическими агентами [1]. Патогенез фиброза печени является сложным процессом, который возникает вследствие множественных взаимодействий между экстрацеллюлярным матриксом, звездчатыми клетками, эндотелиальными клетками и иммунной системой [2]. Иннатная иммунная система является 1-й линией защиты против повреждающих факторов, вызывающих воспаление печени. В печени иннатную иммунную систему образует комплекс НК-клеток (натуральных киллеров), дендритных клеток, нейтрофилов, эозинофилов. Нейтрофилы играют особенно важную роль в защите печени от различных инфекций [3]. Помимо своей способности лизировать патогены нейтрофилы обладают высоким потенциалом регулирования иммунного ответа [4]. В этой связи изучение активности нейтрофильных гранулоцитов у больных описторхозом в зависимости от выраженности фиброза печени представляется безусловно перспективным.

Другой аспект актуальности заключается в широкой распространенности различных видов трематод, являющихся возбудителями описторхоза у человека. *Opisthorchis viverrini* и *Clonorchis sinensis* вызывают патологию у 45 млн

человек в странах Южной, Юго-Восточной и Восточной Азии [5]. В России инвазия *Opisthorchis felineus* определяется в эндемичных очагах у 10–15% населения [6]. В этой связи Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) приняла резолюцию WHO 54.19, включающую Рамочную программу контроля и профилактики геогельминтозов в Европейском регионе ВОЗ на 2016–2020 гг., которая содержит призыв к наращиванию усилий по контролю и элиминации геогельминтозов.

Цель исследования – изучить активность нейтрофильных гранулоцитов у больных описторхозом в зависимости от выраженности фиброза печени.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе терапевтического отделения клиники ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН НИИ МПС и гастроэнтерологического отделения ЧУЗ «КБ “РЖД-Медицина” города Красноярск». Всего обследованы 74 больных хроническим описторхозом (39 мужчин и 35 женщин, средний возраст 42,3 года) и 32 практически здоровых пациента (17 мужчин и 15 женщин, средний возраст 41,5 года) в возрасте от 24 до 60 лет.

Для диагностики описторхоза использовались эпидемиологические, паразитологические, иммунологические

Информация об авторах / Information about the authors

Борисов Александр Геннадьевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера ФГБНУ ФИЦ КНЦ. ORCID: 0000-0002-9026-2615

Ржавичева Ольга Сергеевна – канд. мед. наук, зав. гастроэнтерологическим отд-нием ЧУЗ «КБ “РЖД-Медицина” города Красноярск»

Aleksandr G. Borisov. ORCID: 0000-0002-9026-2615

Olga S. Rzhavicheva

Таблица 1. Характеристики функциональной активности нейтрофилов в люминолзависимом процессе у пациентов с описторхозом в сравнении со здоровыми лицами**Table 1. Characteristics of neutrophil functional activity in the luminol-dependent process in patients with opisthorchiasis in comparison with healthy individuals**

Показатель	Пациенты с описторхозом (n=74)	Здоровые лица (n=32)	p	
	Me	Me		
	(Q ₂₅ -Q ₇₅)	(Q ₂₅ -Q ₇₅)		
Спонтанная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (Tmax)	1395 (255-2399)	968 (422-1846)	0,5
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (Imax)	12 495 (7246-21 722)	29 535 (21 513-59 322)	<0,001
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (S)	44 020 (22 510-74 610)	87 970 (64 189-207 122)	<0,001
Зимозан-индуцированная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (Tmax)	1121 (627-1822)	972 (677-1132)	0,7
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (Imax)	38 612 (17 673-72 755)	184 438 (89 636-236 610)	<0,001
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (S)	127 400 (44 320-198 700)	439 016 (259 634-643 438)	<0,001
ИА фагоцитоза	2,64 (1,72-3,79)	3,68 (2,16-4,98)	0,2	

Примечание. Здесь и далее в табл. 2-4: достоверность различий показателей определена с помощью критерия Манна-Уитни; о.е. – относительные единицы.

Таблица 2. Характеристики функциональной активности нейтрофилов в люцигенинзависимом процессе у пациентов с описторхозом в сравнении со здоровыми лицами**Table 2. Characteristics of neutrophil functional activity in the lucigenin-dependent process in patients with opisthorchiasis in comparison with healthy individuals**

Показатель	Пациенты с описторхозом (n=74)	Здоровые лица (n=32)	p	
	Me	Me		
	(Q ₂₅ -Q ₇₅)	(Q ₂₅ -Q ₇₅)		
Спонтанная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (Tmax)	1665 (1010-2363)	1279 (934-1836)	0,5
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (Imax)	2837 (1198-5408)	13 538 (6113-23 063)	<0,001
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (S)	8716 (3898-18 800)	42 524 (23 651-88 288)	<0,001
Зимозан-индуцированная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (Tmax)	1288 (984-1538)	1164 (897-1495)	0,8
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (Imax)	4671 (2617-7095)	18 518 (10 963-45 006)	<0,001
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (S)	13 665 (7170-21 290)	65 540 (34 814-162 326)	<0,001
ИА фагоцитоза	1,72 (0,86-2,80)	1,46 (0,95-2,28)	0,6	

Таблица 3. Характеристики функциональной активности нейтрофилов в люминолзависимом процессе у пациентов с описторхозом в зависимости от степени фиброза печени**Table 3. Characteristics of neutrophil functional activity in the luminol-dependent process in patients with opisthorchiasis depending on the degree of liver fibrosis**

Показатель	Пациенты с описторхозом и фиброзом F0–F1 по METAVIR (n=46)	Пациенты с описторхозом и фиброзом F2 по METAVIR (n=15)	Пациенты с описторхозом и фиброзом F3–F4 по METAVIR (n=13)	<i>P</i> ₁₋₂	<i>P</i> ₂₋₃	<i>P</i> ₁₋₃	
	<i>Me</i>	<i>Me</i>	<i>Me</i>				
	(<i>Q</i> ₂₅ – <i>Q</i> ₇₅)	(<i>Q</i> ₂₅ – <i>Q</i> ₇₅)	(<i>Q</i> ₂₅ – <i>Q</i> ₇₅)				
Спонтанная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (<i>T</i> _{max})	1214 (257–2067)	1026 (252–1988)	2168 (686–2907)	0,7	0,01	0,02
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (<i>I</i> _{max})	17 156 (8156–27 836)	10 867 (6384–21 541)	9648 (3447–17 115)	0,2	0,6	0,01
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (<i>S</i>)	46 345 (28 564–73 932)	29 407 (21 653–53 579)	18 381 (9866–44 583)	0,1	0,08	0,006
Зимозан-индуцированная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (<i>T</i> _{max})	1142 (663–1636)	1112 (721–1507)	1191 (658–1785)	0,9	0,8	0,9
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (<i>I</i> _{max})	36 278 (19 689–56 702)	79 853 (39 404–112 389)	10 233 (1374–41 587)	0,01	0,005	0,01
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (<i>S</i>)	120 300 (75 450–194 000)	227 400 (124 400–373 100)	32 665 (1948–134 400)	0,02	0,008	0,03
ИА фагоцитоза	2,64 (1,99–3,11)	6,50 (4,82–7,78)	1,77 (1,34–2,17)	<0,001	<0,001	0,002	

и клинко-инструментальные методы. Клиническая симптоматика и анамнестические сведения изучались с применением стандартной анкеты, разработанной на основании действующих международных классификаций.

Основными методами лабораторной диагностики являлись паразитологические исследования с определением яиц или тел взрослых паразитов в дуоденальном содержимом и/или в кале, которые применялись у всех 74 пациентов. Также всем 74 больным описторхозом и 32 лицам из контрольной группы определялись антитела к описторхисам.

Для диагностики сопутствующих изменений и осложнений всем пациентам выполняли ультразвуковое исследование печени и поджелудочной железы и фиброгастроскопию.

Фиброз печени изучался у всех 74 пациентов с описторхозом методом эластометрии с применением ультразвуковых систем Aixplorer (Франция) или Siemens Acuson S2000 (Германия). Производилось графическое изображение движения сдвиговой волны и количественная оценка эластичности обследуемого участка ткани в кПа.

Оценка фиброза проводилась по шкале METAVIR [7]. Выделялось 4 степени фиброза в зависимости от выявляемых показателей эластичности печени: F0 – фиброз отсутствует (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 портоцентральными септами; F4 – цирроз (12,6 кПа).

Группа контроля набиралась из здоровых лиц, которые во время профилактического осмотра не предъявляли гастроэнтерологических жалоб, не имели выраженных хронических заболеваний различных органов и систем, характеризовались нормальными показателями клинического и биохимического анализов крови, отсутствием маркеров к вирусным гепатитам и антител к описторхисам и отрицали в анамнезе сведения о злоупотреблении алкоголем.

Таблица 4. Характеристики функциональной активности нейтрофилов в люцигенинзависимом процессе у пациентов с описторхозом в зависимости от степени фиброза печени**Table 4. Characteristics of neutrophil functional activity in the lucigenin-dependent process in patients with opisthorchiasis depending on the degree of liver fibrosis**

Показатель	Пациенты с описторхозом и фиброзом F0–F1 по METAVIR (n=36)	Пациенты с описторхозом и фиброзом F2 по METAVIR (n=12)	Пациенты с описторхозом и фиброзом F3–F4 по METAVIR (n=10)	<i>p</i> ₁₋₂	<i>p</i> ₂₋₃	<i>p</i> ₁₋₃	
	<i>Me</i>	<i>Me</i>	<i>Me</i>				
	(<i>Q</i> ₂₅ – <i>Q</i> ₇₅)	(<i>Q</i> ₂₅ – <i>Q</i> ₇₅)	(<i>Q</i> ₂₅ – <i>Q</i> ₇₅)				
Спонтанная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (<i>T</i> _{max})	1510 (887–2205)	1907 (1396–2479)	2124 (1274–2892)	0,3	0,7	0,2
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (<i>I</i> _{max})	3554 (1405–5467)	3889 (1436–6482)	1587 (518–3034)	0,8	0,04	0,05
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (<i>S</i>)	9104 (3252–19 290)	10 670 (4481–21 270)	3590 (1679–9480)	0,8	0,01	0,02
Зимозан-индуцированная реакция	Время выхода на максимум хемилюминесценции, с (<i>T</i> _{max})	1320 (967–1538)	1275 (1163–1345)	1348 (968–2180)	0,8	0,5	0,8
	Максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, о.е. (<i>I</i> _{max})	5181 (2617–7830)	3944 (3262–4875)	2195 (487–8862)	0,6	0,1	0,03
	Площадь под кривой хемилюминесценции, ×10 ³ о.е. (<i>S</i>)	15 695 (7170–21 840)	10 370 (8516–13 690)	6032 (1554–16 210)	0,3	0,7	0,02
ИА фагоцитоза	1,72 (1,01–2,69)	1,05 (0,72–2,13)	1,68 (0,94–2,83)	0,1	0,1	0,9	

Исследование функциональной активности нейтрофилов в крови проведено всем 74 больным описторхозом и 32 здоровым лицам из группы контроля. Хемилюминесцентный анализ применялся для изучения интенсивности выработки активных форм кислорода (АФК) в культуре нейтрофильных гранулоцитов крови, в том числе в ответ на внешний стимул (зимозан). Определялась активность люцигенин- и люминолзависимой спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. Первичные АФК (супероксидный анион) исследовались с помощью активатора люцигенина и вторичные АФК (H₂O₂, ·OH, HClO) – с помощью люминола. По спонтанной хемилюминесцентной реакции изучали базовый уровень функциональной активности нейтрофилов, при стимуляции зимозаном определяли резервные возможности клеток. Хемилюминесцентная активность оценивалась в течение 90 мин на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе CL3606 (Россия). Определяли следующие характеристики функциональной активности клеток: время

выхода на максимум (*T*_{max}), максимальное значение интенсивности (*I*_{max}) и площадь под кривой (*S*) хемилюминесценции. Вычисляли индекс активации (ИА) фагоцитоза путем отношения *S* в зимозаниндуцированной реакции к *S* в спонтанной реакции.

Исследование проводилось с разрешения этического комитета ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН (протокол №4 от 02.08.2019). Каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, регламентирующей проведение научных исследований.

Результаты исследований оценивались согласно общепринятым методам статистического анализа. Статистическая обработка проводилась на персональном компьютере при помощи пакета прикладных программ Statistica (версия 7,0) и SPSS v.12.0. Для количественных показателей описание выборок производили с помощью подсчета медианы (*Me*) и интерквартильного размаха в виде 1 и 3-го квартилей (*C*₂₅ и *C*₇₅).

Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Для анализа статистической значимости различий качественных признаков использовался критерий χ^2 . Для оценки факторов риска применялось вычисление отношения шансов и доверительного интервала для отношения шансов. Достоверным считается уровень значимости при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Фиброз печени F2 по METAVIR зарегистрирован у 20,3% обследованных лиц, фиброз печени F3–F4 по METAVIR определялся у 17,6% больных описторхозом. Полученные факты указывают на то, что описторхоз является предиктором выраженного фиброза печени и его следует относить к факторам риска канцерогенеза.

Следует заметить, что Международное агентство по исследованию рака с 1994 г. отнесло *Clonorchis sinensis* и *Opisthorchis viverrini* к 1-й группе канцерогенов [8]. В России встречается преимущественно *Opisthorchis felineus* [9]. Работ по изучению канцерогенности для *Opisthorchis felineus* недостаточно, что, по-видимому, связано с меньшей его распространенностью за рубежом, однако российские ученые подтверждают высокую вероятность промотерной роли этого паразита в канцерогенезе [10]. Следует подчеркнуть, что мы впервые продемонстрировали значительную долю определения выраженного фиброза печени у больных с инвазией *Opisthorchis felineus*.

Мы исследовали выработку АФК методом хемилюминесцентного анализа, характеризующего функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов. Определяли спонтанную выработку АФК фагоцитами, а также применяли их стимулирование зимозаном для оценки их способности отвечать на дополнительную антигенную нагрузку. Люминолзависимая реакция определяет продукцию всего пула АФК. Люцигенинзависимый процесс позволяет изучить продукцию супероксид-анион радикала ферментом НАДФН-оксидазой на внешней мембране нейтрофильных гранулоцитов. Фермент НАДФН-оксидаза способствует выработке супероксид-анион радикала на стадии киллинга в процессе фагоцитоза нейтрофилами.

У больных описторхозом регистрировалось значительное снижение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в сравнении со здоровыми лицами, о чем свидетельствовало значительное снижение максимальной интенсивности выработки АФК (I_{max}) и площади под кривой (S) хемилюминесценции в люминолзависимом процессе как в спонтанной, так и в индуцированной зимозаном реакции (табл. 1). Аналогичные закономерности зарегистрированы при исследовании функции нейтрофилов в люцигенинзависимом процессе (табл. 2).

При изучении функциональной активности нейтрофилов крови в люминолзависимом процессе у пациентов с описторхозом в зависимости от степени фиброза печени мы обнаружили следующие закономерности. В спонтанной реакции у пациентов с фиброзом печени F3–F4 по METAVIR I_{max} и S ниже, а T_{max} больше, чем у лиц с фи-

брозом печени F0–F1 по METAVIR. В зимозаниндуцированной реакции I_{max} и S у больных описторхозом с фиброзом F2 достоверно выше, чем у пациентов с F0–F1 и F3–F4. При этом данные показатели ниже в группе F3–F4, в сравнении с группой F0–F1. В итоге ИА у пациентов с фиброзом печени степени F2 значительно повышен, а в группе F3–F4 снижен в сравнении с группой F0–F1 (табл. 3). Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов с умеренным фиброзом отмечается повышенная реакция нейтрофилов на антигенную нагрузку, а прогрессирование фиброза в степень F3–F4 приводит к значительному снижению ответа нейтрофилов на дополнительный антиген.

В люцигенинзависимом процессе функциональная активность нейтрофилов крови значительно снижалась у больных описторхозом с фиброзом печени F3–F4 по METAVIR в сравнении с лицами с фиброзом печени F0–F1 и F2 по METAVIR в спонтанной реакции, о чем свидетельствовало значительное снижение I_{max} и S. В зимозаниндуцированной реакции I_{max} и S снижены у пациентов с фиброзом печени F3–F4 по METAVIR в сравнении с лицами с фиброзом печени F0–F1 по METAVIR (табл. 4).

Роль нейтрофилов в развитии фиброза и цирроза печени активно изучается в последние годы. В систематическом обзоре группа исследователей показала прогностическую ценность отношения количества нейтрофилов к количеству лимфоцитов крови у больных циррозом печени [11]. В других исследованиях отношение нейтрофилов к лимфоцитам крови ассоциировано с неблагоприятным исходом у пациентов с циррозом печени [12, 13]. Известно, что некоторые субпопуляции нейтрофилов способны ингибировать Т-клеточный ответ [4]. Показано, что нейтрофилы могут играть роль в регулировании активности НК-клеток [14]. В свою очередь, НК-клетки индуцируют апоптоз звездчатых клеток и тормозят активность развития фиброза печени [15, 16]. В этой связи возник термин «дефект функциональной активности нейтрофилов», исследование которого может дать новые результаты [17].

Заключение

Мы обнаружили, что выраженный фиброз печени наблюдается у значительной доли больных описторхозом. Хемилюминесцентный анализ продемонстрировал значительное снижение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в крови у больных описторхозом в сравнении со здоровыми лицами, а также у больных описторхозом с выраженным фиброзом печени в сравнении с пациентами с описторхозом с минимальным фиброзом печени. Полученные результаты дают новую информацию для объяснения механизмов развития фиброза печени у больных описторхозом и создают перспективы для развития диагностических и лечебно-профилактических технологий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Список сокращений

АФК – активные формы кислорода

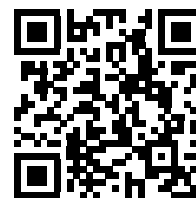
ИА – индекс активации

НАДФН-оксидаза – никотинамидадениндинуклеотидфосфат-оксидаза

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol*. 2013;3(4):1473-92. DOI:10.1002/cphy.c120035
2. Elpek GÖ. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: an update. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7260-76. DOI:10.3748/wjg.v20.i23.7260
3. Xu R, Huang H, Zhang Z, Wang FS. The role of neutrophils in the development of liver diseases. *Cell Mol Immunol*. 2014;11(3):224-31. DOI:10.1038/cmi.2014.2
4. Pillay J, Kamp VM, van Hoffen E, et al. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1. *J Clin Invest*. 2012;122(1):327-36. DOI:10.1172/JCI57990
5. Prueksapanich P, Piyachaturawat P, Aumpansub P, et al. Liver fluke-associated biliary tract cancer. *Gut Liver*. 2018;12(3):236-45. DOI:10.5009/gnl17102
6. Цуканов В.В., Тонких Ю.Л., Гилюк А.В., и др. Диагностика, клиника и лечение описторхоза. *Доктор.Ру*. 2019;(8):49-53 [Tsukanov VV, Tonkikh YL, Gilyuk AV, et al. Diagnostika, klinika i lechenie opistorkhoza. *Doctor.Ru*. 2019;(8):49-53 (in Russian)]. DOI:10.31550/1727-2378-2019-163-8-49-53
7. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997;349(9055):825-32. DOI:10.1016/s0140-6736(96)07642-8
8. Bouvard V, Baan R, Straif K, et al. A review of human carcinogens – Part B: biological agents. *Lancet Oncol*. 2009;10(4):321-2. DOI:10.1016/s1470-2045(09)70096-8
9. Цуканов В.В., Горчилова Е.Г., Васютин А.В., и др. Современные принципы ведения больных с описторхозом. *Врач*. 2019;30(12):25-8 [Tsukanov VV, Gorchilova EG, Vasyutin AV, et al. Sovremennye printsipy vedeniia bol'nykh s opistorkhozom. *Vrach*. 2019;30(12):25-8 (in Russian)]. DOI:10.29296/25877305-2019-12-07
10. Максимова Г.А., Жукова Н.А., Кашина Е.В., и др. Роль *Opisthorchis felinus* в индукции рака желчных протоков. *Паразитология*. 2015;49(1):3-11 [Maksimova GA, Zhukova NA, Kashina EV, et al. Rol' *Opisthorchis felinus* v induktsii raka zhelchnykh protokov. *Parazitologiya*. 2015;49(1):3-11 (in Russian)].
11. Peng Y, Li Y, He Y, et al. The role of neutrophil to lymphocyte ratio for the assessment of liver fibrosis and cirrhosis: a systematic review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;12(5):503-13. DOI:10.1080/17474124.2018.1463158
12. Rice J, Dodge JL, Bambha KM, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio associates independently with mortality in hospitalized patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(11):1786-91. DOI:10.1016/j.cgh.2018.04.045
13. Bakshi SS. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(4):799. DOI:10.1016/j.cgh.2018.09.009
14. Jaeger BN, Donadieu J, Cognet C, et al. Neutrophil depletion impairs natural killer cell maturation, function, and homeostasis. *J Exp Med*. 2012;209(3):565-80. DOI:10.1084/jem.20111908
15. Radaeva S, Sun R, Jaruga B, et al. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners. *Gastroenterology*. 2006;130(2):435-52. DOI:10.1053/j.gastro.2005.10.055
16. Melhem A, Muhanna N, Bishara A, et al. Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC. *J Hepatol*. 2006;45(1):60-71. DOI:10.1016/j.jhep.2005.12.025
17. Tritto G, Bechlis Z, Stadlbauer V, et al. Evidence of neutrophil functional defect despite inflammation in stable cirrhosis. *J Hepatol*. 2011;55(3):574-81. DOI:10.1016/j.jhep.2010.11.034

Статья поступила в редакцию / The article received: 29.01.2020



OMNIDOCTOR.RU