

МЕХАНИЗМЫ ПОСТОПИСТОРХОЗНЫХ ЯВЛЕНИЙ В РЕЗИДУАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОПИСТОРХОЗА

Н.В. Карбышева, Е.А. Бобровский, И.П. Салдан

Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

Systemic mechanisms of chronic opisthorchiasis

N.V. Karbysheva, E.A. Bobrovskij, I.P. Saldan
Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Резюме

Цель: определение иммунобиохимических механизмов патологии в резидуальном периоде хронического описторхоза, патогенетически значимых критериев диагностики степени активности процесса.

Материалы и методы: обследовано 312 больных хроническим описторхозом с лабораторно подтвержденным диагнозом. У 312 пациентов проведена оценка функционального состояния гуморального звена иммунной системы до лечения и в резидуальном периоде инвазии (через 2 недели, 3 и 6 месяцев после лечения), изучена динамика выявления специфических маркеров (антигена класса IgM, IgG и ЦИК к антигену *Op. felineus*). В зависимости от течения описторхоза и проводимого лечения у 94 больных определены уровни аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК.

Результаты: у всех обследованных зарегистрировано повышенное образование иммунных комплексов и их циркуляция весь период наблюдения, в том числе и специфических к антигену *Op. felineus* (61,3% из числа серопозитивных). Выявлен достоверно высокий уровень аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК, продолжительность деструкции превышала регламентируемые сроки испансерного наблюдения (в течение полугода). Наличие деструкции не зависело от течения описторхоза – латентного или манифестного. Выявлена достоверная отрицательная корреляционная взаимосвязь уровня аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК и содержанием иммунных комплексов ($r = -0,48$, $r = -0,73$).

Заключение: гуморальные компоненты иммунного ответа при описторхозе являются лишь его маркерами при длительной циркуляции специфических и неспецифических иммунных комплексов и определяют persistence *Op. felineus* в организме хозяина. Выявленная деструкция по результатам определения уровней К нДНК и К дДНК в течение всего периода наблюдения определяет полиморфизм клиники и развитие постописторхозных явлений даже при эффективной дегельминтизации больных, а также активность процесса. Корреляционные взаимосвязи уровней аутоантител к ДНК и ЦИК свидетельствуют об участии в генезе деструкции иммунных механизмов.

Ключевые слова: хронический описторхоз, системная деструкция, аутоиммунные механизмы.

Abstract

Purpose: the evaluation of systemic immunobiochemical mechanisms of chronic opisthorchiasis, significant pathogenic criteria for the disease activity degree.

Subjects and methods: We studied 312 chronic opisthorchiasis patients with the laboratory-confirmed diagnosis. The functional status of humoral immunity was assessed in 312 patients before the course of treatment and during the residual period of the invasion (2 weeks, 3 and 6 months after the course of treatment) together with the dynamics of specific markers (IgM and IgG antibodies and antigen *Op. felineus* CICs). According to the course of opisthorchiasis and the treatment provided the levels of autoantibodies to native and denatured DNA antigens were assessed in 94 patients.

Results: All patients showed high levels of immune complexes which were circulating in blood during the whole period of the disease, including immune complexes specific to antigen *Op. felineus* (61.3% of all seropositive results). We revealed a significantly high level of autoantibodies to native and denatured DNA antigens and their destruction was observed for a longer period of time compared to the designated period of follow-up monitoring (during 6 months). The destruction took place irrespective of the course of opisthorchiasis – nonmanifest or manifest. The results show a significant negative correlation between the level of autoantibodies to native and denatured DNA antigens and the amount of immune complexes ($r = -0.48$, $r = -0.73$).

Conclusion: Humoral immune response components are only disease markers during the course of opisthorchiasis and long period of circulation of specific and nonspecific immune complexes and they cause *Op. felineus* persistence in a host organism. The destruction revealed according to the levels of K nDNA and K dDNA during the whole period of follow-up monitoring may be one of the symptoms of post-opisthorchiasis even in the case of effective dehelminthization and it may work as an objective criterion for the disease activity degree. The correlation between the levels of autoantibodies to DNA and CICs show that immune mechanisms contribute to the process of the destruction.

Key words: chronic opisthorchiasis, systemic destruction, autoimmune mechanisms.

Введение

Описторхоз, являясь одним из социально значимых гельминтозов в России и до настоящего времени «неуправляемой» паразитарной болезнью, наносит серьезный ущерб здоровью населения в нашей стране [1 – 4].

Особая форма многолетнего сосуществования паразита с организмом хозяина при описторхозе, способствующая системному поражению с вовлечением различных органов и систем, наблюдающемуся и после полноценной дегельминтизации, до настоящего времени не получила своего объяснения с позиций как характера иммунного ответа, так и механизмов развития и активности процесса. В связи с этим в классификации хронического описторхоза многие авторы выделяют постописторхозные явления [5, 6]. Понимание механизмов этого процесса, его выраженности могло бы способствовать подбору адекватной терапии инвазии и полноценной клинической реабилитации в резидуальном периоде описторхоза.

Цель исследования – определение иммунобиохимических механизмов системного характера патологии при хроническом описторхозе, патогенетически значимых критериев диагностики степени активности процесса.

Задачи исследования

1. Провести оценку функционального состояния гуморального звена иммунной системы у больных хроническим описторхозом до лечения и в резидуальном периоде инвазии.

2. Оценить динамику выявления специфических маркеров (антитела класса IgM, IgG и ЦИК к антигену *Op. felineus*) у больных хроническим описторхозом.

3. Изучить уровень аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК в зависимости от течения описторхоза и проводимого лечения.

Материалы и методы

Обследовано 312 больных хроническим описторхозом в возрасте от 15 до 65 лет с преобладанием лиц молодого и среднего возраста. Среди них было 189 (60,6%) женщин и 123 (39,4%) мужчины. Диагноз описторхоза поставлен по результатам клинического обследования больных, с учетом эпидемиологических и клинко-лабораторных данных (результаты копроовоскопии и/или дуоденального зондирования). Длительность процесса у всех больных была не менее года. У 288 наблюдающихся пациентов описторхоз протекал манифестно, у 24 больных отмечено латентное течение инвазии. У всех больных получено информированное согласие на проведение обследования.

Содержание иммуноглобулинов определялось прямым сэндвич-вариантом иммуноферментного

анализа. Исследования выполнялись на тест-системах IgM, IgA, IgG-стрип производства ЗАО «Вектор-БЕСТ» по инструкции производителя.

Определение иммуноглобулинов класса M, G, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) к антигену *Op. felineus* проводилось при помощи иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» «Описторх-IgM-стрип», «Тиатоп-стрип», «Тиатоп-ЦИК-стрип» у 312 больных хроническим описторхозом до лечения.

Аутоантитела к нативной и денатурированной ДНК сыворотки крови человека определялись с помощью тест-системы «ДНК-ТЕСТ» производства ПМЦ Сибмедприбор. Уровень аутоантител (ААТ) к нативной и денатурированной ДНК выражали общепринятым в литературе символом – К нДНК и К дДНК (К – отношение оптической плотности исследуемого образца к критической оптической плотности). Уровни аутоантител к нативной и денатурированной ДНК в сыворотке крови человека определяли у 78 больных до проведения антигельминтной терапии и после лечения – через 2 недели, 3 и 6 месяцев. Всего обследовано 94 больных.

Контрольная группа представлена 12 донорами. Для сравнения дополнительно использованы результаты обследования 20 «практически здоровых» лиц без проявлений каких-либо заболеваний.

Статистическую обработку результатов исследования проводили методами параметрической и непараметрической статистики с использованием статистических программ Statistica 7.0 for Windows. Значимость различий вариационных рядов в связанных попарно выборках оценивалась с помощью U-критерия Вилкоксона – Манна – Уитни, корреляция показателей вычислялась по методу Спирмена.

Результаты и обсуждение

В сыворотке крови больных хроническим описторхозом выявлялось достоверно значимое увеличение содержания всех трех классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA). При оценке «средних» значений уровень иммуноглобулина класса M превышал показатели «средней» контрольной группы ($p < 0,001$). Установлено достоверное повышение уровня Ig G. Наибольшей выраженности у наблюдаемых больных достигала продукция IgA ($p < 0,001$). Уровень этого иммуноглобулина более чем в 2 раза превышал показатели «средней» контрольной группы. В большей степени хроническая фаза описторхоза характеризовалась повышенным образованием ЦИК. Уровень иммунных комплексов у наблюдаемых больных достигал 106 у.е.оп. при «среднем» значении у лиц контрольной группы, равном 61 у.е.оп.

Результаты проведенного корреляционного анализа выявили наиболее значительную взаимосвязь по типу обратной связи между уровнем ЦИК и концентрацией IgA ($r = -0,64$, $p < 0,001$) при меньшей зависимости образования ЦИК от содержания IgM ($r = -0,27$) и IgG ($r = -0,32$).

Исследование функционального состояния гуморального звена иммунной системы, проведенное у больных хроническим описторхозом после лечения (через 2 недели, 3 и 6 месяцев), показало, что весь период наблюдения (в течение полугода) был отмечен незначительной динамикой IgG, более активной — IgM и IgA и монотонным уровнем циркулирующих иммунных комплексов (рис.).

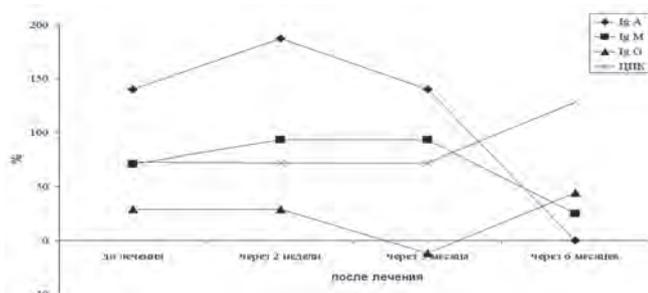


Рис. Динамика уровней основных классов иммуноглобулинов А, М, G и ЦИК у больных описторхозом до и после антигельминтной терапии, по оси абсцисс — сроки обследований; по оси ординат — уровни иммуноглобулинов А, М, G и ЦИК в процентах от исходного уровня

Отчетливая динамика показателей иммуноглобулинов и ЦИК зарегистрирована лишь через полгода после проведенного лечения. Уровень IgM оставался по-прежнему повышенным ($p < 0,001$) при сравнении с контрольной группой, но отмечалось его отчетливое снижение. IgA снизился до значений контрольной группы ($p > 0,05$). В то же время наблюдалось повышение значений IgG, наиболее выраженное за весь изучаемый период, и умеренное повышение ЦИК.

Было установлено, что на протяжении трех месяцев после лечения сохранялась обратная, но значительная корреляционная взаимосвязь между уровнями ЦИК и IgA ($r = -0,47$, $p < 0,0009$; $r = -0,50$, $p < 0,003$), что может свидетельствовать о преимущественном участии этого класса иммуноглобулинов в процессе образования ЦИК.

При проведении ИФА с одновременным использованием трех тест-систем у каждого пациента специфические маркеры (антитела класса IgM и/или IgG и/или ЦИК) выявлены у 245 из 312 обследованных больных, что составило 78,5% против 19,3% в группе контроля (по $\chi^2 p < 0,001$).

При длительности инвазии не более года у большинства больных (у 45 из 55) выявлялись специфические

антитела класса IgG. и IgM были обнаружены только у 3 пациентов этой группы. У 7 больных из 55 циркулировали иммунные комплексы. При течении инвазии более года и до 5 лет в три раза уменьшился процент выявления IgG. В то же время возрос процент тестирования циркулирующих иммунных комплексов. При продолжительности описторхоза не более года противописторхозные иммунные комплексы выявлялись у 12,7% обследованных, при инвазии от 2 до 5 лет — у 74,3%. В этом же периоде IgM были обнаружены лишь у одного больного.

Обследование больных с описторхозной инвазией более 5 лет показало, что у большинства серопозитивных лиц антитела циркулируют в виде иммунных комплексов. При течении описторхоза более 5 лет ЦИК зарегистрированы у 150 (61,3%) больных из 245 с сероположительным диагнозом. IgG в этом временном периоде были обнаружены только у 4 больных, что составило 1,6%. Иммуноглобулины класса М к антигену *Op. felineus* были выявлены у одного больного. Появление специфических антител класса IgM у больных хроническим описторхозом в небольшом проценте, но все-таки во все рассматриваемые временные периоды, было обусловлено обострением процесса, особенно с выраженным аллергическим компонентом (крапивница, отек Квинке).

Результаты исследования показали, что у больных хроническим описторхозом гуморальные компоненты иммунного ответа при описторхозной инвазии являются лишь её специфическими маркерами, но не обладают защитными свойствами. Антитела к антигенам *Op. felineus* длительно циркулируют преимущественно (более 70%) в составе иммунных комплексов, что не обеспечивает своевременной элиминации антигенов паразита и предопределяет состояние персистенции антигенов *Op. felineus* в организме хозяина.

Формирование кист в печени, щитовидной и поджелудочной железе, в почках, эрозивные и язвенные дефекты слизистой при гастроэнтероколитическом варианте хронической фазы инвазии послужили основанием для определения уровня аутоантител (ААТ) к нативной и денатурированной ДНК (нДНК, дДНК) у больных описторхозом как универсального маркера повреждения клеточных мембран при патологических процессах различной этиологии [6 – 10].

При оценке уровня аутоантител к антигенам нДНК в группе больных до лечения выявлен К нДНК, достоверно превышающий как «среднюю» контрольной группы, так и «среднюю» значения показателя, полученную при обследовании группы «практически здоровых» лиц. В процессе обследования больных описторхозом высокий уровень аутоантител выявлен и к антигенам дДНК.

Отмечен тот же характер процесса — достоверное повышение К дДНК до лечения при сравнении как с контрольной группой ($p < 0,001$), так и с группой «практически здоровых» лиц ($p < 0,001$).

Кроме оценки «средних» значений уровней аутоантител к антигенам ДНК, был проведен анализ существующих индивидуальных разбросов показателей К нДНК и К дДНК в группах обследуемых больных при сравнении как с контрольной группой, так и с группой «практически здоровых» лиц, который показал высокий уровень аутоантител к антигенам ДНК более чем в 90% случаев.

Практически важно, что наличие деструкции не зависело от течения описторхоза — латентного или манифестного. Активность процесса была выше при клинически выраженных формах болезни (табл.).

При проведении корреляционного анализа было выявлено, что уровни аутоантител к антигенам ДНК и ЦИК находятся в отрицательной взаимосвязи. Наиболее выраженная взаимосвязь до лечения прослеживалась между ЦИК и К дДНК ($r = -0,73$, $p < 0,001$), К дДНК и IgA ($r = 0,62$, $p < 0,001$).

Выявленные деструктивные процессы у больных хроническим описторхозом даже без манифестации процесса определили необходимость установления сроков их развития, возможных механизмов.

В динамике наблюдения (через 2 недели, 3 и 6 месяцев после лечения) К нДНК оставался на высоком уровне, практически не отличающемся от показателя у больных и через 3 месяца после лечения. Отчетливая тенденция к снижению уровня аутоантител к антигенам нДНК по сравнению с его значением в группе до лечения ($p < 0,01$) наметилась лишь через 6 месяцев после дегельминтизации. При сопоставлении с контрольной группой показатель К нДНК к концу периода наблюдения оставался по-прежнему достоверно высоким.

При определении аутоантител к антигенам дДНК прослеживался тот же характер процесса — повышение К дДНК до лечения при сравнении как с контрольной группой ($p < 0,001$), так и с группой

«практически здоровых» лиц ($p < 0,001$). Снижение К дДНК, уровень которого по-прежнему не достигал значений показателей контрольной группы ($p < 0,001$) и группы «практически здоровых» лиц ($p < 0,001$) отмечен только спустя полгода после дегельминтизации.

Установленная достоверная корреляция между К нДНК, К дДНК и IgA и ЦИК у больных описторхозом, а также на протяжении трехмесячного наблюдения после дегельминтизации может рассматриваться с позиции возможного участия в развитии деструкции иммунных механизмов.

Следовательно, выявленные высокие значения аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК свидетельствуют о наличии выраженных деструктивных процессов у больных хроническим описторхозом независимо от течения инвазии — латентного или манифестного. Большая выраженность деструкции по уровню аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК, выявленная при манифестации описторхоза, может служить объективным критерием активности процесса, которая не уменьшалась после антигельминтной терапии. Высокий уровень аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК сохранялся на протяжении всего периода наблюдения. Продолжительность деструктивных процессов по результатам определения уровней К нДНК и К дДНК превышала регламентируемые сроки диспансерного наблюдения (в течение полугодия) больных описторхозом. Полагаем, что выявленная деструкция, имеющая выраженный (по результатам определения уровня К нДНК и К дДНК) и продолжительный (более полугодия) характер, может быть существенной составляющей постописторхозных явлений даже при эффективной дегельминтизации больных, а зарегистрированный уровень аутоантител является подтверждением активности аутоиммунных реакций при хронической фазе описторхоза. Наличие корреляционных взаимосвязей уровней аутоантител к ДНК и ЦИК также свидетельствует в пользу участия в генезе деструкции при описторхозе иммунных механизмов.

Таблица

Уровни аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК (К нДНК и К дДНК) в сыворотке крови больных описторхозом в зависимости от течения инвазии ($\chi^2 \pm m$)

Показатели	Контрольная группа (n = 12)	Группа «практически здоровые» (n = 20)	Течение инвазии	
			манифестное (n = 54)	латентное (n = 24)
К нДНК	1,14±0,03	1,36±0,06	4,68±0,32	3,46±0,42
К дДНК	1,24±0,10	1,98±0,06	5,49±0,28	4,38±0,36
p			< 0,001	< 0,001
p ₁			< 0,05	< 0,05

p — с группой «практически здоровые»; p₁ — между группами с различным течением.

Выводы

1. Гуморальные компоненты иммунного ответа при описторхозной инвазии являются лишь её специфическими маркерами, но не обладают защитными свойствами, что способствует персистенции *Op. felineus* в организме хозяина, о чем свидетельствует длительная циркуляция специфических и неспецифических иммунных комплексов.

2. При хроническом описторхозе, независимо от манифестного или латентного течения инвазии, выявлены высокие значения аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК, определяющие системность патологического процесса с развитием аутоиммунных реакций.

3. Уровни аутоантител к нативной и денатурированной ДНК характеризуют выраженность деструкции и могут служить объективным критерием активности процесса.

4. Наличие высокого уровня аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК при хроническом описторхозе сохраняется даже после эффективной дегельминтизации и превышает регламентируемые сроки диспансерного наблюдения больных, что обуславливает патогенетические механизмы симптомокомплекса постописторхозных явлений в резидуальном периоде инвазии.

5. Участие иммунных механизмов в развитии деструктивных процессов при хроническом описторхозе необходимо учитывать при разработке адекватной комплексной терапии таких больных.

Литература

1. Григорьева, И.Н. Клинико-эпидемиологическая характеристика описторхоза / И.Н. Григорьева, В.И. Покровский // Научно-практический журнал. — 2012. — № 4. — С. 39–43.
2. Лаврентьева, Н.Н. Гельминтозы : учебное пособие / Н.Н. Лаврентьева. — Челябинск: ЧелГМА, 2010. — 67 с.
3. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010 году: государственный доклад. — М.: Фед. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. — 431 с.
4. Yongvanit P, Pinlaor S, Bartsch H. Oxidative and nitrate DNA damage: Key events in opisthorchiasis- induced carcinogenesis. *Parasitol. Int.* 2012;61(1):130-5.

5. Описторхоз у взрослых: клинические рекомендации / Л.Л. Позднякова [и др.]. — Новосибирск, 2014. — 53 с.

6. Бражникова, Н.А. Описторхозный склерозирующий холангит / Н.А. Бражникова, В.Ф. Цхай, Л.Ю. Петров // *Анналы хирург. гепатологии.* — 2011. — № 2. — С. 101–107.

7. Белобородова, Э.И. Течение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни на фоне хронического описторхоза / Э.И. Белобородова, И.А. Святенко, Е.В. Белобородова // *Клин. перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии.* — 2011. — № 4. — С. 26–30.

8. Маев, И.В. Поражение поджелудочной железы при гельминтозах / И.В. Маев [и др.] // *Consiliummedicum.* — 2010. — № 1. — С. 52–58.

9. Соловьева, А.В. Состояние тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза у беременных жительниц Обь-Иртышского бассейна с хроническим описторхозом / А.В. Соловьева, Н.А. Курлович, В.Г. Соловьев // *Мед. паразитол. и паразитарные болезни.* — 2012. — № 2. — С. 32–35.

10. Хардикова, С.А. Секреторная функция желудка у больных псориазом в сочетании с хроническим описторхозом до и после антигельминтной терапии / С.А. Хардикова, Э.И. Белобородова // *Клиническая медицина.* — 2011. — Т. 89, № 6. — С. 50–52.

References

1. Grigoreva I.N. *Nauchno-prakticheskiy zhurnal.* 2012; 4: 39-43 (in Russian).
2. Lavrenteva N.N. *Helminthiasis: Textbook.* Chelyabinsk; 2010 (in Russian).
3. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010 году : государственный доклад [On the sanitary-epidemiological situation in Russian Federation in 2010: state report]; 2011. 431 p (in Russian).
4. Yongvanit P, Pinlaor S, Bartsch H. Oxidative and nitrate DNA damage: Key events in opisthorchiasis- induced carcinogenesis. *Parasitol. Int.* 2012;61(1):130-5.
5. Pozdnyakova L.L. *Opisthorchiasis in adults: Clinical guidelines.* Novosibirsk; 2014 (in Russian).
6. Brazhnikova N.A. *Annalyi hirurg.gepatologii.* 2011; 2: 101-7 (in Russian).
7. Beloborodova E.I. *Klin. perspektivy v gastroenterologii, hepatologii.* 2011; 4: 26-30.
8. Maev I.V. *Consiliummedicum.* 2010; 1: 52-8 (in Russian).
9. Soloveva A.V. *Med.parazitol. i parazitarnye bolezni.* 2012; 2: 32-5 (in Russian).
10. Hardikova S.A. *Klinicheskaya meditsina.* 2011; 6: 50-2 (in Russian).

Авторский коллектив:

Карбышева Нина Валентиновна — заведующая кафедрой инфекционных болезней и фтизиатрии Алтайского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(3852)26-83-42, e-mail: nvk80@rambler.ru

Бобровский Евгений Александрович — декан медико-профилактического факультета, доцент кафедры инфекционных болезней и фтизиатрии Алтайского государственного медицинского университета, к.м.н., доцент; тел.: 8(3852)36-73-47, e-mail: mpfak@yandex.ru

Салган Игорь Петрович — ректор, заведующий кафедрой гигиены, основ экологии и безопасности жизнедеятельности Алтайского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(3852) 249-719, e-mail: kcgsgen@ab.ru

Уважаемые читатели!

Редакционная коллегия просит вас обсудить статью в плане правомочности использованных методов исследования при данной патологии.