



# Роль сывороточных и ультрасонометрических маркеров в ранней диагностике злокачественной трансформации перидуктального фиброза печени на фоне инвазии *Opisthorchis felineus*

А.Е. Ковширина<sup>1</sup>, О.С. Федорова<sup>1\*</sup>, Ю.В. Ковширина<sup>2</sup>, В.А. Петров<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

**Цель исследования:** изучить роль сывороточных и ультрасонометрических маркеров в ранней диагностике злокачественной трансформации перидуктального фиброза печени при формировании холангиокарциномы на фоне хронической инвазии *Opisthorchis felineus* у населения эндемичных регионов.

**Методы.** Проведено комплексное одномоментное сравнительное исследование в дизайне «случай-контроль» с использованием оценки биохимических параметров (лактат, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, гамма-глутамилтранспептидаза, щелочная фосфатаза, глюкоза, прямой и непрямой билирубин, липопротеины высокой плотности и липопротеины низкой плотности, триглицериды, мочевины и общий белок), иммунологических параметров (трансформирующий фактор роста бета 1) и онкомаркеров (СА 19-9, CYFRA 21-1) в образцах сыворотки крови, полученных от больных инвазией *O. felineus*, имеющих перидуктальный фиброз и без такового, больных холангиокарциномой, развившейся на фоне инвазии *Opisthorchis felineus*, и больных описторхозом, а также представителей группы контроля.

**Результаты.** Оценка взаимосвязи между наличием ультразвуковых признаков описторхоз-ассоциированного перидуктального фиброза 1–2-й степени и изменениями биохимических, иммунологических параметров и содержания онкомаркеров у пациентов на фоне инвазии *O. felineus* продемонстрировала, что уровни щелочной фосфатазы, прямого билирубина, АСТ, глюкозы и онкомаркера СА 19-9 были значимо выше в группе пациентов с холангиокарциномой на фоне описторхоза, чем у исследуемых групп с перидуктальным фиброзом на фоне инвазии и без нее, а также контролями ( $p < 0,01$ ).

**Выводы.** Впервые получены пилотные данные о взаимосвязи ультрасонометрических признаков перидуктального фиброза печени и увеличения биохимических показателей (щелочная фосфатаза, прямой билирубин, аспартатаминотрансфераза, глюкоза), а также повышения онкомаркера СА 19-9, которые могут быть использованы для ранней диагностики злокачественной трансформации перидуктального фиброза печени с формированием холангиокарциномы на фоне хронической инвазии *O. felineus* у населения эндемичных регионов.

**Ключевые слова:** холангиокарцинома, онкомаркеры, рак, перидуктальный фиброз, лактат, биохимические маркеры, инвазия *Opisthorchis felineus*, ультрасонография

**Финансирование:** исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, грант «Изменение микробиоты кишечника как фактор прогрессирования перидуктального фиброза и развития холангиокарциномы» (№ 23-25-00432).

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

**Для цитирования:** Ковширина А.Е., Федорова О.С., Ковширина Ю.В., Петров В.А. Роль сывороточных и ультрасонометрических маркеров в ранней диагностике злокачественной трансформации перидуктального фиброза печени на фоне инвазии *Opisthorchis felineus*. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2023;33(6):16–25. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2023-33-6-16-25>

## Role of Serum and Ultrasonometric Markers in the Early Diagnosis of Malignant Transformation of Periductal Liver Fibrosis in Patients with *Opisthorchis Felineus* Infection

Anna E. Kovshirina<sup>1</sup>, Olga S. Fedorova<sup>1,\*</sup>, Yulia V. Kovshirina<sup>2</sup>, Vyacheslav A. Petrov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Central Research Institute for Organization and Informatization of Health Care, Moscow, Russian Federation

**Aim:** to study the role of serum and ultrasonometric markers in the early diagnosis of malignant transformation of periductal fibrosis of the liver during the formation of cholangiocarcinoma against the background of chronic invasion of *Opisthorchis felineus*, in the population of endemic regions.

**Methods.** A comprehensive one-stage comparative study was conducted in a case-control design, using the assessment of biochemical parameters (lactate, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase, glucose, direct and indirect bilirubin, high-density lipoproteins and low-density lipoproteins, triglycerides, urea and total protein), immunological parameters (transforming growth factor beta) and tumor markers (CA 19-9, CYFRA 21-1) in blood serum samples obtained from patients with *O. felineus* infection, with and without periductal fibrosis, *O. felineus*-infected patients with cholangiocarcinoma and representatives of control groups. During the analytical stage, the relationship between the structural features of the liver according to the results of ultrasound examination (presence of opisthorchiasis-associated periductal fibrosis), clinical parameters, parasitological study data (infection intensity), and changes in biochemical, immunological parameters and tumor markers in patients against the background of *O. felineus* infection was assessed. Statistical analysis was performed using the R programming language (version 3.6.1).

**Results.** Evaluation of the relationship between the presence of ultrasound signs of stage 1–2 opisthorchiasis-associated periductal fibrosis and changes in serum levels of the biochemical, immunologic parameters and oncomarkers in patients with *O. felineus* infection demonstrated that the levels of alkaline phosphatase, conjugated bilirubin, AST, glucose and CA 19-9 oncomarker were significantly higher in the serum of patients in the group with cholangiocarcinoma and opisthorchiasis ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion.** The first pilot data on the relationship between ultrasonometric signs of periductal liver fibrosis and the increase of CA 19-9 oncomarker as well as biochemical parameters (alkaline phosphatase, direct bilirubin, aspartate aminotransferase, glucose), which can be used for early diagnosis of malignant transformation of periductal liver fibrosis with the formation of cholangiocarcinoma in *O. felineus*-infected population in endemic regions, were obtained.

**Keywords:** cholangiocarcinoma, tumor markers, cancer, periductal fibrosis, lactate, biochemical markers, *Opisthorchis felineus* infection, ultrasonography

**Funding:** the study was supported by the Russian Science Foundation, grant “Changes in intestinal microbiota as a factor in the progression of periductal fibrosis and the development of cholangiocarcinoma” (No. 23-25-00432)

**Conflict of interest:** the authors declare that there is no conflict of interest.

**For citation:** Kovshirina A.E., Fedorova O.S., Kovshirina Yu.V., Petrov V.A. Role of Serum and Ultrasonometric Markers in the Early Diagnosis of Malignant Transformation of Periductal Liver Fibrosis in Patients with *Opisthorchis Felineus* Infection. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2023;33(6):16–25. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2023-33-6-16-25>

### Введение

Онкологические заболевания печени являются социально значимой патологией в мировых очагах трематодозов человека [1–8]. Холангиоцеллюлярный рак печени (холангиокарцинома, ХК) — одно из наиболее неблагоприятных в отношении прогноза злокачественных новообразований ввиду высокой смертности вследствие агрессивности опухолей данной локализации, отсутствия специфических симптомов, длительного бессимптомного течения и резистентности к терапии [9, 10].

В настоящее время накоплено достаточно эпидемиологических данных, подтверждающих взаимосвязь развития ХК с печеночными трематодозами, распространенными в Юго-Восточной Азии. Так, гельминты *Opisthorchis viverrini* (*O. viverrini*) и *Clonorchis sinensis* (*C. sinensis*) включены в реестр биологических канцерогенов

1-й группы с доказанной онкогенностью для людей [11, 12].

В эндемичных регионах России актуальность представляет изучение проблемы описторхоза и ассоциированных с ним хронических заболеваний, поскольку печеночная трематода *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*) является причиной хронического воспалительного процесса, длительно протекающего бессимптомно и способствующего развитию перидуктального фиброза, предрасполагающего к развитию ХК [5, 13, 14]. Ранее опубликованные эпидемиологические данные продемонстрировали значимую ассоциацию инвазии *O. felineus* с фиброзом печени и ХК [15, 16].

В настоящее время в мире не разработаны алгоритмы ранней доклинической диагностики ХК, ассоциированной с хронической инвазией *O. felineus*, что приводит к поздней верификации

диагноза, несвоевременному лечению и высокой летальности [17, 18].

Проведение исследования для разработки новых подходов к скринингу онкологических заболеваний гепатобилиарной зоны позволит усовершенствовать раннюю диагностику тяжелых заболеваний печени, проводить своевременное лечение пациентов, способствуя улучшению прогноза у данной категории больных.

Таким образом, цель исследования — изучить роль сывороточных и ультрасонометрических маркеров в ранней диагностике злокачественной трансформации перидуктального фиброза печени при формировании холангиокарциномы на фоне хронической инвазии *O. felineus* у населения эндемичных регионов.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СибГМУ); протокол одобрен Этическим комитетом СибГМУ (заключение № 4815 от 20.06.2016 г.). Выполнено одномоментное сравнительное исследование «случай-контроль».

В исследование рекрутированы участники ранее проведенных проектов «Фундаментальные подходы к оптимизации диагностики и терапии природно-очаговой инвазии *Opisthorchis felineus* в эндемичных регионах» и «Идентификация новых диагностических маркеров для разработки технологий популяционного скрининга трематодозов» [14, 15]. Сформированы следующие исследуемые группы взрослых пациентов:

— Группа 1 — пациенты с гистологически верифицированной ХК, развившейся на фоне описторхоза ( $n = 24$ );

— Группа 2 — пациенты с инвазией *O. felineus*, осложненной перидуктальным фиброзом по данным ультразвукового исследования (УЗИ) гепатобилиарной системы ( $n = 36$ );

— Группа 3 — пациенты с инвазией *O. felineus* и без перидуктального фиброза по данным УЗИ гепатобилиарной системы ( $n = 29$ );

— Группа 4 — контрольная, состоящая из добровольцев, не имеющих инвазии *O. felineus*, без клинически значимых изменений гепатобилиарной системы ( $n = 30$ ).

Критерием включения для участников всех групп являлось наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании. Диагноз «холангиокарцинома» выставляли на основании результатов гистологического и/или гистохимического исследования биопсийного или постоперационного материала печени в соответствии со следующими кодами МКБ-10: C22.1 — рак внутрипеченочного желчного протока; C24 — злокачественное новообразование других и неуточненных частей желчевыводящих

путей; C24.0 — злокачественное новообразование внепеченочного желчного протока; C24.9 — злокачественное новообразование желчных путей неуточненное.

Инвазию *O. felineus* диагностировали при положительном результате паразитологического исследования (микроскопия двух образцов стула с использованием концентраторов «Parasep» («DiaSys Ltd», Великобритания)).

Наличие перидуктального фиброза 1–2-й степени подтверждали при проведении УЗИ гепатобилиарной системы с использованием мобильного ультразвукового сканнера высокого разрешения («Mindray M7», «Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co, Ltd», КНР) в соответствии с протоколом, предложенным в рамках ранее проведенных в Юго-Восточной Азии эпидемиологических исследований описторхоза [19]. Оценивались размеры печени, структурные особенности паренхимы печени (эхопризнаки перидуктального фиброза: увеличение перипортальной эхогенности более 3 мм вокруг внутрипеченочных желчных протоков второго порядка; а также расширение и утолщение стенки желчных протоков).

Биохимическое исследование сыворотки крови проводили на базе центральной клиническо-диагностической лаборатории СибГМУ с помощью автоматического биохимического анализатора ARCHITECT c4000 («Abbot», США) с количественным определением следующих параметров: аспартатаминотрансфераза (АСТ); аланинаминотрансфераза (АЛТ); общий, прямой и непрямой билирубин; общий белок альбумин, общий холестерол; липопротеины высокой плотности (ЛПВП); липопротеины низкой плотности (ЛПНП); триглицериды; мочевины; гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ); щелочная фосфатаза (ЩФ), глюкоза («DiaSys Diagnostic Systems GmbH», Германия). Измерение концентрации лактата в сыворотке крови проводилось при помощи анализатора Biosen C-line с использованием встроенного чип-сенсора («EKF-diagnostic GmbH», Германия).

Иммунологические методы определения в сыворотке крови уровня цитокина трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF- $\beta$ 1), а также онкомаркеров СА 19-9 и CYFRA 21-1 проводили методом иммуноферментного анализа с использованием наборов ООО «Хема» (Россия) и «Cloud-Clone Corp.» (США).

Статистический анализ данных проводили с использованием языка программирования R версии 3.6.1. Для оценки межгрупповых различий по измеренным параметрам использовали критерий Краскела — Уоллиса и тест Манна — Уитни — Вилкоксона в случае отсутствия нормального распределения либо ANOVA и  $t$ -тест Стьюдента при наличии нормального распределения. Методы реализованы в пакете «stats» (R Core Team, 2019). Проверку распределений параметров на соответствие нормальному закону

осуществляли с использованием критерия Шапиро — Уилка. Взаимосвязи определяли с использованием ранговой корреляции Спирмена, реализованной в пакете «psych» (R package version 1.9.12). Категориальные переменные сравнивались с помощью  $\chi^2$  критерия Пирсона.

Для визуализации использовали пакет «ggplot2» (2016). Дополнительная идентификация факторов, ассоциированных с перидуктальным фиброзом, проводилась с использованием метода Boruta. Данный метод основан на использовании алгоритма случайного леса для классификации наблюдений по измеренным параметрам в соответствии с заданной группировкой (по наличию ХК, перидуктального фиброза, инвазии *O. felineus*) и последующей оценке важности каждого из параметров для классификации [20].

## Результаты

В исследование включены 119 участников: 53,0 % — мужчины; возраст — 18–87 лет, средний

возраст —  $53,1 \pm 1,6$  года. Группы были сопоставимы по полу и возрасту. Демографическая и клиническая характеристики исследуемой выборки представлены в таблице 1.

В группах сравнения (группы 1–3) была оценена средняя интенсивность инвазии, она составила  $1284,1 \pm 655,6$ ;  $2083,3 \pm 760,5$  и  $865,6 \pm 406,3$  яйца гельминта в 1 г кала соответственно (табл. 1).

Результаты продемонстрировали, что у больных ХК на фоне описторхоза (группа 1) преимущественно встречались такие симптомы, как желтуха, абдоминальная боль, гепатомегалия, болезненность печени при пальпации, пузырьные симптомы. Большинство пациентов, страдающих инвазией *O. felineus* (группы 1, 2 и 3), имели клинически выраженную форму болезни. Наиболее часто встречающимися симптомами у участников исследования являлись боль в животе, вздутие, положительные пузырьные симптомы Кера и Ортнера, болезненность печени при пальпации, гепатомегалия (табл. 2).

**Таблица 1.** Демографические и клинические характеристики исследуемых групп

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the study groups

Показатель / <i>Parameter</i>	Группа 1 <i>Group 1</i>	Группа 2 <i>Group 2</i>	Группа 3 <i>Group 3</i>	Группа 4 <i>Group 4</i>	<i>p</i>
Демографические характеристики / <i>Demographic characteristics</i>					
Пол, <i>n</i> (%) <i>Gender, n (%)</i> мужской / <i>male</i> женский / <i>female</i>	15 (62,5) 9 (37,5)	17 (47,2) 19 (52,8)	16 (55,2) 29 (44,8)	15 (50) 15 (50)	$p > 0,05^*$
Возраст, лет <i>Age, years</i> $M \pm m$ 95% ДИ / 95 % CI	$63,0 \pm 2,2$ 8,6–15,4	$54,1 \pm 2,4$ 11,4–18,4	$48,9 \pm 3,5$ 15,03–25,6	$48 \pm 3,4$ 14,9–25,2	$p > 0,05^*$
Физикальное исследование / <i>Physical examination</i>					
Лихорадка, <i>n</i> (%) <i>Fever, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	1 (4,2) 23 (95,8)	2 (5,6) 34 (94,4)	1 (3,4) 28 (96,7)	—	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Желтуха, <i>n</i> (%) <i>Jaundice, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	7 (29,2) 17 (70,8)	1 (2,8) 35 (97,2)	—	—	$p_{1-2} < 0,05$
Боль в животе, <i>n</i> (%) <i>Abdominal pain, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	12 (50,0) 12 (50,0)	12 (33,3) 36 (66,7)	1 (3,4) 28 (96,7)	—	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Вздутие живота, <i>n</i> (%) <i>Bloating, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	2 (8,3) 22 (91,7)	12 (33,3) 24 (66,7)	1 (3,4) 29 (96,6)	3 (10,0) 27 (90,0)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$
Положительные пузырьные симптомы, <i>n</i> (%) <i>Positive signs of gallbladder disease, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	12 (50,0) 12 (50,0)	2 (5,6) 34 (94,4)	—	—	$p_{1-2} < 0,05$



**Продолжение таблица 1.** Демографические и клинические характеристики исследуемых групп  
**Continuation of Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the study groups

Микроскопия образцов стула / <i>Microscopy of stool samples</i>					
Интенсивность инвазии <i>O. felineus</i> (яиц в 1 г стула) <i>Intensity of O. felineus infestation</i> (eggs per 1 g of stool) $M \pm m$ 95% ДИ / 95 % CI	1284,1 $\pm$ 655,6 1858,8–4004,2	2083,3 $\pm$ 760,5 3639,1–5894,6	865,6 $\pm$ 406,3 1466,2–2723,5	—	$p > 0,05^*$
Ультразвуковое исследование гепатобилиарной системы / <i>Ultrasound examination of the hepatobiliary system</i>					
Расширение желчных протоков, $n$ (%) <i>Dilation of bile ducts, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	13 (54,2) 11 (42,8)	3 (8,3) 33 (91,7)	2 (6,9) 27 (93,1)	—	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$
Утолщение, неровные стенки желчных протоков, $n$ (%) <i>Thickened, uneven walls of bile</i> <i>ducts, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	10 (41,7) 14 (58,3)	4 (11,1) 32 (88,9)	1 (3,4) 28 (96,6)	1 (3,3) 29 (96,7)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$
Перидуктальный фиброз, $n$ (%) <i>Periductal fibrosis, n (%)</i> да / <i>yes</i> нет / <i>no</i>	18 (75,0) 6 (25,0)	36 (100) 0 (0)	—	—	$p_{1-2} < 0,05$

**Примечание:**  $M \pm m$  — среднее  $\pm$  стандартная ошибка; 95 % ДИ — 95 %-ный доверительный интервал; \* — во всех группах при попарном сравнении,  $p_{1-2}$  — при сравнении групп 1 и 2;  $p_{1-3}$  — при сравнении групп 1 и 3;  $p_{2-3}$  — при сравнении групп 2 и 3;  $p_{1-4}$  — при сравнении групп 1 и 4;  $p_{2-4}$  — при сравнении групп 2 и 4.

**Note:**  $M \pm m$  — mean  $\pm$  standard error; 95 % CI — 95 % confidence interval; \* — in all groups for pairwise comparison,  $p_{1-2}$  — for comparison of groups 1 and 2;  $p_{1-3}$  — when comparing groups 1 and 3;  $p_{2-3}$  — when comparing groups 2 and 3;  $p_{1-4}$  — when comparing groups 1 and 4;  $p_{2-4}$  — when comparing groups 2 and 4.

По результатам УЗИ гепатобилиарной системы гепатомегалия, новообразования в печени, утолщение и неровность стенки желчного пузыря, холелитиаз, перидуктальный фиброз, а также расширение и структурные изменения желчных протоков встречались статистически значимо выше в группе 1. Пациенты из группы 2 также значимо чаще имели увеличение печени и патологию желчевыводящих путей ( $p < 0,05$ ). Наличие образований в печени было верифицировано методами компьютерной и/или магнитно-резонансной томографии всем участникам из группы 1 (табл. 1).

В ходе исследования также оценили уровень биохимических маркеров (лактат, АСТ, АЛТ, ГГТ, щелочная фосфатаза, глюкоза, прямой и непрямой билирубин, ЛПВП, ЛПНП, триглицериды, общий холестерол, мочевины и общий белок), а также иммунологических маркеров (TGF- $\beta$ 1) и онкомаркеров (СА 19-9, CYFRA 21-1) в образцах сыворотки крови, полученных от больных инвазией *O. felineus*, имеющих ХК и перидуктальный фиброз (группы 1 и 2 соответственно) и без таковых (группа 3), неинвазированных индивидов без злокачественных новообразований (группа 4). У пациентов с ХК на фоне инвазии *O. felineus* уровни щелочной фосфатазы, прямого билирубина, АСТ и глюкозы были значимо выше

по сравнению с другими группами при парном сравнении ( $p < 0,01$ ). Результаты исследования образцов сыворотки крови представлены в таблицах 2–3.

Оценка взаимосвязи между особенностями структуры печени по результатам ультразвукового исследования (наличие описторхоз-ассоциированного перидуктального фиброза 1–2-й степени) и изменениями биохимических, иммунологических параметров и содержания онкомаркеров в сыворотке у пациентов на фоне инвазии *O. felineus* продемонстрировала, что уровень СА 19-9 в группе пациентов с ХК был значимо выше по сравнению с пациентами других групп ( $p < 0,01$ ). В группах 2–4 значимых различий по уровню исследуемых онкомаркеров получено не было.

Визуализирующий метод с использованием пакета «ggplot2» (рис.) показал, что изменения уровней таких биохимических показателей, как щелочная фосфатаза, прямой билирубин, АСТ, глюкоза, а также онкомаркера СА 19-9 в комплексе являются значимыми предикторами перидуктального фиброза печени на фоне хронической инвазии *O. felineus* у населения эндемичных регионов ( $p < 0,01$ ).

На оси абсцисс приведены измеренные факторы, на которых проводилась классификация

**Таблица 2.** Результаты определения биохимических показателей в исследуемых группах,  $Me(Q1; Q3)^*$   
**Table 2.** Results of determination of biochemical parameters in the study groups,  $Me(Q1; Q3)^*$

Показатель / <i>Parameter</i>	Группа 1 / <i>Group 1</i> (CCA+ OPI+)	Группа 2 / <i>Group 2</i> (PF+ OPI+)	Группа 3 / <i>Group 3</i> (PF– OPI+)	Группа 4 / <i>Group 4</i> (PF– OPI–)
АСТ, Ед./л <i>AST, U/L</i>	42,5 (30; 78,5)	19,0 (15; 23,5)	16,5 (14,0; 31,3)	19,0 (14,0; 31,3)
АЛТ, Ед./л <i>ALT, U/L</i>	23,5 (9,5; 57,5)	9,5 (6,0; 17,8)	10,0 (6,0; 17,0)	10,0 (6,0; 19,0)
Билирубин общий, мкмоль/л <i>Total bilirubin, umol/L</i>	16,5 (6,8; 77,4)	5,2 (3,2; 9,4)	7,3 (3,8; 12,4)	10,1 (1,9; 15,4)
Билирубин прямой, мкмоль/л <i>Direct bilirubin, umol/L</i>	5,3 (2,6; 39,3)	2,4 (1,9; 3,1)	2,6 (1,9; 3,6)	2,35 (1,8; 3,8)
Общий белок, г/л <i>Total protein, g/L</i>	70,0 (59,8; 78,3)	80,0 (75,0; 84,0)	80,0 (72,5; 83,0)	75,5 (69,9; 80,9)
Альбумин, г/л <i>Albumin, g/L</i>	33,5 (28; 43)	45,0 (20,7; 48,0)	47,0 (43,0; 48,5)	46,0 (14,1; 48,5)
Общий холестерол, ммоль/л <i>Total cholesterol, mmol/l</i>	4,9 (3,9; 5,7)	5,4 (4,6; 5,7)	4,6 (4,2; 5,4)	4,2 (3,5; 5,0)
ЛПВП, ммоль/л <i>HDL, mmol/L</i>	0,9 (0,6; 1,3)	1,3 (1,1; 1,7)	1,3 (1,2; 1,8)	1,4 (1,0; 1,8)
Триглицериды, ммоль/л <i>Triglycerides, mmol/L</i>	1,3 (0,9; 1,6)	1,0 (0,7; 1,6)	0,9 (0,7; 1,2)	0,6 (0,4; 0,9)
Мочевина, ммоль/л <i>Urea, mmol/L</i>	4,9 (4,2; 8,9)	5,1 (3,9; 6,6)	3,9 (3,2; 5,7)	4,5 (4,2; 4,8)
ГГТ, Ед./л <i>GGT, U/L</i>	250,5 (144,0; 715,5)	20,0 (16,0; 29,0)	22,0 (13,3; 60,0)	14,0 (11,8; 30,3)
ЩФ, Ед./л <i>ALP, U/L</i>	216,0 (145,5; 429,0)	75,0 (65,0; 95,0)	70,0 (47,8; 80,0)	66,0 (54,0; 79,0)
Глюкоза, ммоль/л <i>Glucose, mmol/L</i>	5,6 (4,9; 7,2)	4,8 (4,1; 5,2)	4,5 (4,2; 4,9)	4,8 (4,0; 7,6)
Лактат, ммоль/л <i>Lactate, mmol/L</i>	3,1 (2,5; 3,5)	4,2 (3,0; 5,5)	4,05 (2,6; 5,5)	4,1 (2,6; 5,2)

**Примечание:** \* – данные представлены в виде медианы ( $Me$ ), верхнего ( $Q1$ ) и нижнего ( $Q3$ ) квартилей; CCA – холангиокарцинома, OPI – инвазия *O. felineus*; PF – перидуктальный фиброз; АСТ – аспартатаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза; ЩФ – щелочная фосфатаза; «–» или «+» – наличие или отсутствие признака.

**Note:** \* – data are presented as median ( $Me$ ), upper ( $Q1$ ) and lower ( $Q3$ ) quartiles; CCA – cholangiocarcinoma; OPI – *O. felineus* infection; PF – periductal fibrosis; AST – aspartate aminotransferase; ALT – alanine aminotransferase; HDL – high density lipoproteins; GGT – gamma glutamyl transpeptidase; ALP – alkaline phosphatase; “–” or “+” – presence or absence of a sign.

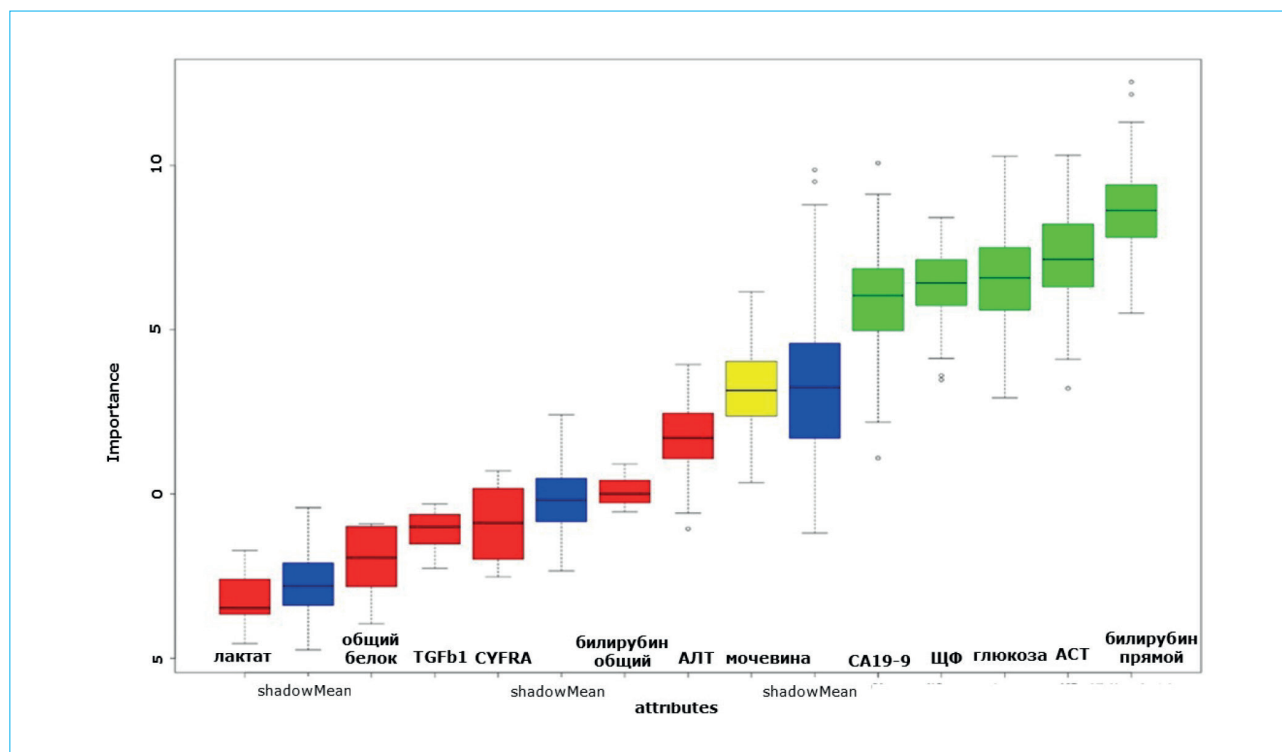
**Таблица 3.** Результаты определения иммунологических и онкомаркеров методом ИФА в исследуемых группах,  $Me(Q1; Q3)^*$

**Table 3.** Results of determination of immunological and tumor markers by ELISA in the study groups,  $Me(Q1; Q3)^*$

Показатель / <i>Parameter</i>	Группа 1 / <i>Group 1</i> (CCA+ OPI+)	Группа 2 / <i>Group 2</i> (PF+ OPI+)	Группа 3 / <i>Group 3</i> (PF– OPI+)	Группа 4 / <i>Group 4</i> (PF– OPI–)
TGF- $\beta$ 1, пг/мл / <i>pg/mL</i>	573,0 (308,3; 783,0)	498,0 (262,5; 649,5)	498,0 (349,5; 675,0)	507,0 (351,8; 669,8)
CA 19-9, Ед./мл / <i>U/L</i>	32,3 (14,8; 240,0)	8,4 (4,1; 12,1)	6,0 (3,6; 12,8)	8,0 (5,0; 16,5)
CYFRA 21-1, нг/мл / <i>ng/mL</i>	2,0 (0,9; 3,8)	0,9 (0,5; 2,1)	0,9 (0,8; 1,8)	0,9 (0,3; 1,7)

**Примечание:** \* – данные представлены в виде медианы ( $Me$ ), верхнего ( $Q1$ ) и нижнего ( $Q3$ ) квартилей; CCA – холангиокарцинома, OPI – инвазия *O. felineus*; PF – перидуктальный фиброз; «–» или «+» – наличие или отсутствие признака; TGF- $\beta$ 1 – трансформирующий фактор роста бета 1; CA 19-9, CYFRA 21-1 – онкомаркеры.

**Note:** \* – data are presented as median ( $Me$ ), upper ( $Q1$ ) and lower ( $Q3$ ) quartiles; CCA – cholangiocarcinoma; OPI – *O. felineus* invasion; PF – periductal fibrosis; “–” or “+” – presence or absence of a sign; TGF- $\beta$ 1 – transforming growth factor beta 1; CA 19-9, CYFRA 21-1 – oncomarkers.



**Рисунок.** Оценка параметра важности биохимических показателей и онкомаркеров для предсказания описторхоз-ассоциированного перидуктального фиброза (с использованием пакета «ggplot2»); АЛТ — аланин-аминотрансфераза, АСТ — аспаратаминотрансфераза, ЩФ — щелочная фосфатаза, TGF-β1 — трансформирующий фактор роста бета 1; СА 19-9, CYFRA 21-1 — онкомаркеры

**Figure.** Estimation of the importance parameter of biochemical parameters and tumor markers for predicting opisthorchiasis-associated periductal fibrosis (using the ggplot2 package); ALP — alkaline phosphatase; ALP — alkaline phosphatase; ALT — alanine aminotransferase; AST — aspartate aminotransferase; TGF-β1 — transforming growth factor beta 1; CA 19-9, CYFRA 21-1 — oncomarkers

пациентов по клиническим группам, среди них shadowMin, shadowMean и shadowMax — искусственные факторы, используемые для оценки достоверности важности, на оси ординат приведена важность каждого фактора для классификации. Зеленым цветом отмечены факторы, для которых важность значимо ( $p < 0,05$ ) превышала важность искусственных факторов, введенных в модель; синим цветом отмечены искусственные факторы; красным и желтым цветом — факторы с важностью ниже или равной искусственным факторам.

При анализе ассоциации между уровнем лактата и биохимических показателей, иммунологических, онкологических маркеров в сыворотке крови и интенсивностью инвазии *O. felineus* установлено, что в группе пациентов с инвазией *O. felineus*, осложненной перидуктальным фиброзом, имеется тенденция к снижению онкомаркера СА 19-9 у участников с более высокой интенсивностью инвазии *O. felineus* ( $p = 0,05$ ).

В результате проведенного исследования получены пилотные данные о взаимосвязи ультрасонометрических признаков повышения перипортальной и перидуктальной эхогенности с увеличением биохимических показателей (щелочная фосфатаза,

прямой билирубин, АСТ, глюкоза) и онкомаркера СА 19-9, которые могут служить ранними маркерами злокачественной трансформации перидуктального фиброза на фоне хронической инвазии *O. felineus* у населения эндемичных регионов.

## Обсуждение

Проблема заболеваний гепатобилиарной системы, ассоциированных с хроническим описторхозом, остается по-прежнему актуальной в эндемичных по инвазии *O. felineus* регионах Российской Федерации [4, 5, 14–16].

В настоящее время появляется все больше эпидемиологических доказательств в пользу канцерогенности трематоды *O. felineus*, играющей роль в развитии перидуктального фиброза и ХК [4, 5, 11, 16].

ХК является одним из наиболее неблагоприятных по прогнозу злокачественным новообразованием ввиду длительного бессимптомного течения, резистентности к терапии и высокой летальностью [8]. В связи с вышесказанным представляет интерес поиск современных методов доклинической

диагностики перидуктального фиброза печени и ХК у населения эндемичных регионов.

Для диагностики ХК используются методы ультразвуковой диагностики, а также КТ и МРТ с контрастированием, которые целесообразны для уточнения диагноза, но не могут быть использованы для скрининга в силу высокой стоимости, длительности процедуры, нагрузки на организм пациента и возможных противопоказаний. В то же время используемые на данный момент диагностические тесты на оценку уровня онкомаркеров не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью, но в совокупности с дополнительными биохимическими параметрами крови, возможно, позволят оценить стадию печеночного фиброза как предракового состояния, что может быть рекомендовано для скринингового исследования.

Так, наиболее чувствительным и специфичным маркером ХК является раковый антиген СА 19-9: увеличение его содержания в сыворотке выше 100 Ед./мл может быть использовано для диагностики ХК с чувствительностью, по различным данным, от 72 до 97 % и специфичностью 84–86 % [21, 22]. Проведенное нами исследование показало, что уровень СА 19-9 в сыворотке крови пациентов с ХК и описторхозом был значимо выше по сравнению с пациентами, инфицированными *O. felinus*, имеющими перидуктальный фиброз, и контрольной группой ( $p < 0,01$ ). Значимых различий по данному маркеру в группах 2–4 получено не было, однако в ходе настоящего исследования установлено, что изменение уровня биохимических показателей (щелочная фосфатаза, прямой билирубин, АСТ, глюкоза), а также онкомаркера СА 19-9 в комплексе являются значимыми предикторами перидуктального фиброза печени ( $p < 0,05$ ).

В последнее время также представляет актуальность изучение диагностического значения

маркера TGF- $\beta$  — белка внеклеточного матрикса, являющегося маркером сигнального пути при метастазировании ХК [23]. Следующим по чувствительности и специфичности маркером являются фрагменты цитокератина 19 (CYFRA 21-1), которые позволяют различить гепатоцеллюлярную карциному и внутрипеченочную ХК [21, 24]. Тем не менее воспроизводимости, чувствительности и специфичности более 90 % при определении ХК удается достичь только при использовании CYFRA 21-1 в совокупности с другими маркерами и исследованиями [25].

В ходе исследования метаболомного ответа на инвазию *O. felinus* показана ассоциация между концентрацией лактата в сыворотке крови и выраженностью перидуктального фиброза в печени — установленного предиктора развития ХК [26–29]. В нашем исследовании у пациентов с ХК уровень лактата сыворотки значимо ниже, чем в группах 2–4. Согласно опубликованным данным, это может являться предиктором развития полиорганной недостаточности у пациентов с заболеваниями в терминальной стадии [30].

## Выводы

Таким образом, впервые получены пилотные данные о взаимосвязи ультрасонометрических признаков перидуктального фиброза печени и увеличения биохимических показателей (щелочная фосфатаза, прямой билирубин, аспартатаминотрансфераза, глюкоза), а также повышения онкомаркера СА 19-9, которые могут быть использованы для ранней диагностики злокачественной трансформации перидуктального фиброза печени с формированием холангиокарциномы на фоне хронической инвазии *O. felinus* у населения эндемичных регионов.

## Литература / References

1. Khuntikeo N., Titapun A., Loilome W., Yongvanit P., Thinkhamrop B., Chamadol N., et al. Current perspectives on opisthorchiasis control and cholangiocarcinoma detection in Southeast Asia. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:117. DOI: 10.3389/fmed.2018.00117
2. Tang Z.L., Huang Y., Yu X.B. Current status and perspectives of Clonorchis sinensis and clonorchiasis: Epidemiology, pathogenesis, omics, prevention and control. *Infect Dis Poverty*. 2016;5(1):71. DOI: 10.1186/s40249-016-0166-1
3. *Здравоохранение в России 2019: Статистический сборник*. М.: Федеральная служба государственной статистики, 2019:37–9. [Health care in Russia 2019: Statistical digest. Moscow: Federal State Statistics Service, 2019:37–9. (In Russ.)]. URL: <https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravooohran-2019.pdf>
4. Fedorova O.S., Kovshirina Y.V., Kovshirina A.E., Fedotova M.M., Deev I.A., Petrovskiy F.I., et al. Opisthorchis felinus infection and cholangiocarcinoma in the Russian Federation: A review of medical statistics. *Parasitol Int*. 2017;66(4):365–71. DOI: 10.1016/j.parint.2016.07.010
5. Kovshirina Y.V., Fedorova O.S., Vtorushin S.V., Kovshirina A.E., Ivanov S.D., Chizhikov A.V., et al. Case report: Two cases of cholangiocarcinoma in patients with Opisthorchis felinus infection in Western Siberia, Russian Federation. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;100(3):599–603. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0652
6. Farthing M., Roberts S.E., Samuel D.G., Williams J.G., Thorne K., Morrison-Rees S., et al. Survey of digestive health across Europe: Final report. Part 1: The burden of gastrointestinal diseases and the organisation and delivery of gastroenterology services across Europe. *United European Gastroenterol J*. 2014;2(6):539–43. DOI: 10.1177/2050640614554154
7. WHO's Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability. 2020. URL: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>
8. Bridgewater J., Galle P.R., Khan S.A., Llovet J.M., Park J.W., Patel T., et al. Guidelines for the diagnosis and management of intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol*. 2014;60(6):1268–89. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.01.021



9. Patel T. Cholangiocarcinoma — controversies and challenges. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8(4):189–200. DOI: 10.1038/nrgastro.2011.20
10. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388(10053):1459–544. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31012-1
11. Marques M.M., Berrington de Gonzalez A., Beland F.A., Browne P., Demers P.A., Lachenmeier D.W., et al.; IARC Monographs Priorities Group. Advisory Group recommendations on priorities for the IARC Monographs. *Lancet Oncol*. Published online 18 April 2019. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30246-3
12. Sripa B., Brindley P.J., Mulvenna J., Laha T., Smout M.J., Mairiang E., et al. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* — multiple pathways to cancer. *Trends Parasitol*. 2012;28(10):395–407. DOI: 10.1016/j.pt.2012.07.006
13. Sripa B., Tangkawattana S., Brindley P.J. Update on pathogenesis of opisthorchiasis and cholangiocarcinoma. *Adv Parasitol*. 2018;102:97–113. DOI: 10.1016/bs.apar.2018.10.001
14. Fedorova O.S., Fedotova M.M., Sokolova T.S., Golovach E.A., Kovshirina Y.V., Ageeva T.S., et al. Opisthorchis felinus infection prevalence in Western Siberia: A review of Russian literature. *Acta Trop*. 2018;178:196–204. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.11.018
15. Fedorova O.S., Fedotova M.M., Zvonareva O.I., Mazeina S.V., Kovshirina Y.V., Sokolova T.S., et al. Opisthorchis felinus infection, risks, and morbidity in rural Western Siberia, Russian Federation. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(6):e0008421. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008421
16. Fedorova O.S., Kovshirina A.E., Kovshirina Y.V., Hattendorf J., Onishchenko S.V., Katanakhova L.L., et al. Opisthorchis felinus infection is a risk factor for cholangiocarcinoma in Western Siberia: A hospital-based case-control study. *Clin Infect Dis*. 2023;76(3):e1392–8. DOI: 10.1093/cid/ciac497
17. Monserenusorn C., Satayasontorn K., Rujkijyanont P., Traivaree C. Cholangiocarcinoma in a child with progressive abdominal distension and secondary hypercalcemia. *Case Rep Pediatr*. 2018;2018:6828037. DOI: 10.1155/2018/6828037
18. Asrani S.K., Devarbhati H., Eaton J., Kamath P.S. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol*. 2019;70(1):151–71. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.09.014
19. Sripa B., Bethony J.M., Sithithaworn P., Kaewkes S., Mairiang E., Loukas A., et al. Opisthorchiasis and Opisthorchis-associated cholangiocarcinoma in Thailand and Laos. *Acta Trop*. 2011;120(Suppl 1):S158–68. DOI: 10.1016/j.actatropica.2010.07.006
20. Kursa M.B., Rudnicki W.R. Feature selection with the Boruta package. *J Stat Soft*. 2010;36(11):1–13. DOI: 10.18637/jss.v036.i11
21. Pavicevic S., Reichelt S., Uluk D., Lurje I., Engelmann C., Modest D.P., et al. Prognostic and predictive molecular markers in cholangiocarcinoma. *Cancers (Basel)*. 2022;14(4):1026. DOI: 10.3390/cancers14041026
22. Rahnama-Azar A.A., Weisbrod A., Dillhoff M., Schmidt C., Pawlik T.M. Intrahepatic cholangiocarcinoma: Molecular markers for diagnosis and prognosis. *Surg Oncol*. 2017;26(2):125–37. DOI: 10.1016/j.sur- onc.2016.12.009
23. Puthdee N., Sriswasdi S., Pisitkun T., Ratanasirintra- woot S., Israsena N., Tangkijvanich P. The LIN28B/ TGF- $\beta$ /TGFBI feedback loop promotes cell migration and tumour initiation potential in cholangiocarcinoma. *Cancer Gene Ther*. 2022;29(5):445–55. DOI: 10.1038/s41417- 021-00387-5
24. Bertino G., Ardiri A., Malaguarnera M., Malaguarnera G., Bertino N., Calvagno G.S. Hepatocellular carcinoma serum markers. *Semin Oncol*. 2012;39(4):410–33. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2012.05.001
25. Lumachi F., Lo Re G., Tozzoli R., D'Aurizio F., Facomer F., Chiara G.B., et al. Measurement of serum carcinoembryonic antigen, carbohydrate antigen 19-9, cytokeratin-19 fragment and matrix metalloproteinase-7 for detecting cholangiocarcinoma: A preliminary case-control study. *Anticancer Res*. 2014;34(11):6663–7.
26. Sripa B., Thinkhamrop B., Mairiang E., Laha T., Kaewkes S., Sithithaworn P., et al. Elevated plasma IL-6 associates with increased risk of advanced fibrosis and cholangiocarcinoma in individuals infected by *Opisthorchis viverrini*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(5):e1654. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001654
27. Palmer W.C., Patel T. Are common factors involved in the pathogenesis of primary liver cancers? A meta-analysis of risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol*. 2012;57(1):69–76. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.022
28. Kokova D., Verhoeven A., Perina E.A., Ivanov V.V., Knyazeva E.M., Saltykova I.V., et al. Plasma metabolomics of the time resolved response to *Opisthorchis felinus* infection in an animal model (golden hamster, *Mesocricetus auratus*). *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(1):e0008015. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008015
29. Pershina A.G., Ivanov V.V., Efimova L.V., Shev- elev O.B., Vtorushin S.V., Perevozchikova T.V., et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy for differential assessment of liver abnormalities induced by *Opisthorchis felinus* in an animal model. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(7):e0005778. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005778
30. Oh D.H., Kim M.H., Jeong W.Y., Kim Y.C., Kim E.J., Song J.E., et al. Risk factors for mortality in patients with low lactate level and septic shock. *J Microbiol Immunol Infect*. 2019;52(3):418–25. DOI: 10.1016/j.jmii.2017.08.009

### Сведения об авторах

**Ковширина Анна Евгеньевна** — ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.  
Контактная информация: anna.evgenjevna.kovshirina@gmail.com; 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6116-8323>

### Information about the authors

**Anna E. Kovshirina** — Teaching Assistant at the Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a course of therapy at the Faculty of Pediatrics, Siberian State Medical University. Contact information: anna.evgenjevna.kovshirina@gmail.com; 634050, Tomsk, Moskovskiy Tract, 2.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6116-8323>

**Федорова Ольга Сергеевна\*** — доктор медицинских наук, проректор по научной работе и последиplomной подготовке, заведующая кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: olga.sergeevna.fedorova@gmail.com; 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

**Ковширина Юлия Викторовна** — кандидат медицинских наук, начальник отдела высшего и дополнительного образования ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения».

Контактная информация: yulia.v.kovshirina@gmail.com; 127254, г. Москва, ул. Добролюбова, 11.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6818-9792>

**Петров Вячеслав Алексеевич** — младший научный сотрудник центра биологических исследований и биоинженерии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: vyacheslav.a.petrov@mail.ru; 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5205-9739>

**Olga S. Fedorova\*** — Dr. Sci. (Med.), Vice-rector for Scientific Work and Postgraduate Training, Head of the Department of Faculty Pediatrics with a Course in Childhood Diseases, Siberian State Medical University.

Contact information: olga.sergeevna.fedorova@gmail.com; 634050, Tomsk, Moskovskiy Tract, 2.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

**Yulia V. Kovshirina** — Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Higher and Further Education, Central Research Institute for Organization and Informatization of Health Care.

Contact information: yulia.v.kovshirina@gmail.com; 127254, Moscow, Dobrolyubova str., 11.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6818-9792>

**Vyacheslav A. Petrov** — Junior Researcher, Center for Biological Research and Bioengineering, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University.

Contact information: vyacheslav.a.petrov@mail.ru; 634050, Tomsk, Moskovskiy Tract, 2.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5205-9739>

Поступила: 10.04.2023 Принята: 01.09.2023 Опубликовано: 29.12.2023  
Submitted: 10.04.2023 Accepted: 01.09.2023 Published: 29.12.2023

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author