

УДК 616-002.5:577.1:612.017

Исследование уровня неоптерина при разных формах туберкулезного воспалительного процесса

О.В. Бердюгина, А.В. Ершова

Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Минздрава России, Екатеринбург

Research of level of a neopterin at different forms of tubercular inflammatory process

O.V. Berdyugina, A.V. Yershova

Ural Research Institute of Phthiopolmonology of Ministry of Health of the Russian Federation, Ekaterinburg

© О.В. Бердюгина, А.В. Ершова, 2015 г.

Резюме

Активация клеточного звена иммунной системы отражает повышение активности инфекционного процесса при туберкулезе легких. Неоптерин, синтез которого приводит в том числе к усилению деятельности макрофагов, стимулирует этот процесс. Целью данного исследования стало изучение концентрации неоптерина у больных в зависимости от формы туберкулезного процесса, его распространенности, а также лекарственной устойчивости возбудителя. Исследовали кровь 124 человек: первую группу составил 31 больной с ограниченной формой туберкулезного воспалительного процесса (туберкулемой), вторую группу — 44 больных с инфильтративным туберкулезом, третью группу — 24 больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких, четвертую группу — 25 человек, практически здоровых. Пациенты с туберкулемами имели активную фазу либо фазу стихающей или умеренной активности процесса. Больные с инфильтративным туберкулезом имели поражение 1–3 сегментов ткани или 4 и более сегментов. Средний возраст испытуемых составил $34,0 \pm 2,5$ года. Определение концентрации неоптерина выполнено иммуноферментным методом (IBL international, Hamburg Germany). Статистическая обработка данных проведена с использованием программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica for Windows v.6.1. Установлено, что у пациентов с туберкулемами содер-

жание неоптерина увеличивалось на 13,3% в сравнении с группой здоровых лиц, у пациентов с инфильтративным туберкулезом — на 57,1% ($p < 0,01$), у больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом — на 38,1% ($p < 0,01$). Распространенность процесса оказывала на изменение концентрации неоптерина незначительное влияние. При исследовании концентрации неоптерина у больных с туберкулемами различной фазы активности установлено, что активная фаза сопровождается увеличением содержания метаболита на 15%, а стихающая и умеренная фаза активности туберкулемы — увеличением на 12%. Мониторинг уровня неоптерина актуально для определения степени тяжести и активности инфекционного процесса, динамики его течения.

Ключевые слова: туберкулез легких; формы воспалительного процесса; объем поражения; активность туберкулемы; неоптерин

Summary

Activation of cells of immune system reflects increase of temperament of infectious process at tuberculosis of lungs. One of the reasons of it is neopterin. Synthesis of a neopterin causes still strengthening of work of macrophages. The purpose of this research patients have a studying of concentration of a neopterin with different forms of tubercular process, different prevalence, differ-

ent medicinal stability of the activator. Investigated blood of 124 people. The first group — 31 persons — had a limited form of tubercular inflammatory process (tuberculoma), the second group — 44 persons — had infiltrative tuberculosis, the third group — 24 persons — there was with fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis, the fourth group — 25 people — almost healthy people. Patients with tuberculoma had an active phase or a phase of the abating or moderate activity. Patients with infiltrative tuberculosis had defeat of 1–3 segments of fabric or 4 and more segments. Average age of examinees made 34.0 ± 2.5 years. Determination of concentration of a neopterin is executed by an enzyme-linked immunosorbent assay (IBL international, Hamburg Germany). Statistical data processing is carried out with use of the Microsoft Office Excel 2007 and Statistica for Windows v.6.1 programs. It was established that at patients from tuberculoma neop-

terin increased slightly — by 13.3% in comparison with group of healthy faces, at patients with infiltrative tuberculosis — for 57.1% ($p < 0.01$), at patients with fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis for 38.1% ($p < 0.01$). Prevalence of process had on change to concentration of a neopterin small impact. Investigating concentration of a neopterin at patients from tuberculoma of various phase of activity, it was established that the active phase is followed by increase in concentration of a metabolite by 15%, and the abating and moderate phase of activity of a tuberculoma — increase by 12%. Monitoring of level of a neopterin actually for determination of severity and activity of an infectious disease, dynamics of its current.

Keywords: tuberculosis of lungs; forms of inflammatory process; defeat volume; activity of a tuberculoma; neopterin

Введение

Неоптерин — низкомолекулярное производное гуанозинтрифосфата, синтезируемое преимущественно макрофагами при активации их некоторыми цитокинами: интерфероном (INF- γ), фактором некроза опухоли (TNF- α) и др. [1]. Увеличение концентрации этого метаболита является одним из высокоспецифичных и высокочувствительных маркеров усиления деятельности фагоцитов. Последние исследования показывают, что производные неоптерина способны модулировать и усиливать эффекты реакционных метаболитов кислорода, высвобождаемых в процессе иммунных реакций [2, 3]. Ключевой ролью неоптерина является его стимулирующее влияние на клеточное звено иммунитета под контролем Th1-хелперов [4, 5], а вовлечение клеточного звена иммунной системы в ответ на *M. tuberculosis* служит маркером утяжеления инфекционного процесса. Очевидно, что изменение концентрации неоптерина у больных туберкулезом легких отражает активацию Th1 — клеточно-опосредованного типа реагирования иммунной системы с развитием окислительного стресса [6]. Ранее описаны случаи повышения уровня неоптерина при ряде инфекционных заболеваний, в том числе при туберкулезе [7, 8].

Цель данного исследования: изучение концентрации неоптерина у больных в зависимости от формы туберкулезного процесса, его распространенности, а также лекарственной устойчивости возбудителя.

Материалы и методы исследования

Исследование одобрено этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреж-

дения «Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Екатеринбург) и выполнено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации. Для получения достоверных результатов при сравнительном анализе групп была сформирована стратифицированная выборка, проведено одномоментное проспективное бесповторное исследование. Больным туберкулезом помощь оказывали в период с 2011 по 2013 год. Критерии включения пациентов в исследование: возраст от 18 до 55 лет, отрицательные клинико-лабораторные данные наличия вирусных гепатитов В, С, а также вируса иммунодефицита человека.

Обследованы 124 человека, разделенных на четыре группы. Первая группа (31 человек) состояла из больных с ограниченной формой туберкулезного воспалительного процесса (туберкулема), в том числе вызванной лекарственно-устойчивыми изолятами *M. tuberculosis* (шифр А15.0–А15.3 по МКБ-10). На основании данных патогистологического заключения больные этой группы были разделены на две подгруппы: в первую были включены 16 пациентов с туберкулезом в активной фазе, во вторую — 15 больных с туберкулезом в фазе стихающей и умеренной активности. Вторая группа исследования (44 человека) имела инфильтративный туберкулез легких. Она состояла из 29 больных с распространенностью патологического процесса 1–3 сегмента одной доли легкого (29 больных) и 15 пациентов с поражением 4 и более сегментов с локализацией в 1–2 долях. В свою очередь, 29 больных с малой распространенностью процесса были дифференцированы на две подгруппы, в которых туберкулез был вызван лекарственно-чув-

ствительными изолятами *M. tuberculosis* (12 человек) и изолятами *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью — МЛУ (устойчивыми к сочетанию изониазида и рифампицина, независимо от наличия устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам) — 17 человек. Больные третьей группы исследования (24 человека) были госпитализированы с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких (ФКТ). Четвертая группа (25 человек) состояла из практически здоровых людей. Средний возраст обследованных составил $34,0 \pm 2,5$ года.

Гендерное распределение в группах и подгруппах было одинаковым. Клинико-рентгенологический статус пациентов устанавливался при поступлении в учреждение и на этапах лечения в соответствии со стандартом оказания медицинской помощи больным туберкулезом (Приказ Минздравсоцразвития РФ № 572 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным туберкулезом» от 21.07.2006 г.). Определение концентрации неоптерина, интерлейкина (IL-2), TNF- α в сыворотке крови выполнено иммуноферментным методом с использованием реагентов «Neopterin ELISA» компании IBL international (Hamburg Germany), «Human IL-2 Platinum ELISA» и «Human TNF- α total Platinum ELISA» фирмы eBioscience (Vienna, Austria) на оборудовании, включающем микропланшетный фотометр Multiskan Ascent (Thermo, Finland), промыватель планшетов Atlantis Asys Washer (Asys Hitech GmbH, Austria), шейкер-встряхиватель Shaker ST-3 Sky Line (Elme Ltd, Latvia). Статистическая обработка данных проведена с применением программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica for Windows v.6.1. Проверку гипотезы о нормальном распределении, а также о согласии ее с распределением генеральной совокупности выполняли, используя χ^2 -критерий Пирсона. Несмотря на то, что диффузия данных в ряде случаев подчинялась закону нормального распределения, для оценки полученных результатов были использованы непараметрические методы, что обусловлено небольшими объемами статистических выборок. Вычислялись: среднее арифметическое значение величины (M), среднее квадратическое отклонение (σ), статистическая медиана (Me), минимальное (Min), максимальное значение (Max). Оценка значимости различий между выборками проводили попарно, используя критерий U — Манна-Уитни. Показателем отсутствия различий между выборками считалась нулевая гипотеза при $p < 0,01$.

Результаты исследования

Одними из главных источников неоптерина в организме человека, наряду с NK-клетками, приня-

то считать моноциты (макрофаги). Увеличение числа этих клеток и повышение степени их активации у пациентов отражается на количестве продуцируемого неоптерина. Изучение концентрации этого метаболита в сыворотке крови больных показало (рис. 1), что у пациентов с туберкулемами этот показатель повышен на 13,3% в сравнении с группой здоровых лиц, у пациентов с инфильтративным туберкулезом — на 57,1% ($p < 0,01$), у больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом — на 38,1% ($p < 0,01$).

В последних двух группах также отмечены достоверно более высокие значения концентрации неоптерина в сравнении с больными туберкулемами: на 38,6% — у больных инфильтративным туберкулезом и на 21,9% — у больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких. Поскольку известно, что синтез неоптерина может быть индуцирован повышением содержания интрацеллюлярного IL-2 и TNF- α , проведено исследование их уровня. Установлено, что концентрация IL-2 у больных инфильтративным туберкулезом была увеличена в 914 раз ($p < 0,01$), при ФКТ — в 552 раза ($p < 0,01$) в сравнении с показателями здоровых людей и составила в среднем 192,0 пг/мл и 115,9 пг/мл соответственно. Концентрация TNF- α у пациентов с инфильтративным и ФКТ была увеличена в 3,3 ($p < 0,05$) и 5,4 раза ($p < 0,01$) в сравнении с больными с туберкулемами, что составило соответственно в среднем 305,8 и 509,1 пг/мл.

Распространенность процесса оказывала на изменение концентрации неоптерина незначительное влияние (рис. 2).

Независимо от объема поражения тканей легкого, этот показатель обнаруживал сходные закономерности изменения: концентрация пептида повышалась при инфильтративном туберкулезе распространенностью 1–3 сегмента в 1,56 раза, распространенностью более трех сегментов в 1,60 раза в сравнении с показателями здоровых лиц.

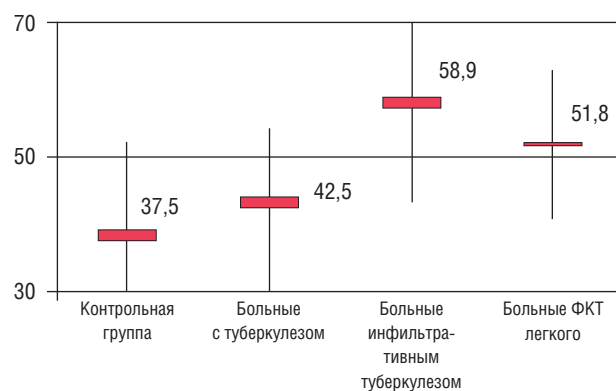


Рис. 1. Уровень неоптерина (нмоль/л) у больных с разными формами туберкулезного воспалительного процесса

Исследуя уровень неоптерина в зависимости от лекарственной чувствительности (ЛЧ) возбудителя (см. рис. 2), можно было отметить некоторые различия: у больных с ЛЧ изолятами *M. tuberculosis* уровень неоптерина был на 20% ниже, чем при туберкулезе с МЛУ, что может отражать более интенсивную активацию клеточного звена иммунитета у пациентов с МЛУ возбудителем.

При исследовании концентрации неоптерина у больных с туберкулемами разных фаз активности (рис. 3) было установлено, что активная фаза сопровождается увеличением концентрации метаболита на 15%, а стихающая и умеренная фазы активности туберкулемы — увеличением на 12% в сравнении со здоровыми людьми. Можно полагать, что наблюдаемые отклонения обусловлены наличием инфекционного заболевания, не сопровождающегося значительной воспалительной реакцией, которой сопутствует повышение концентрации неоптерина, увеличивающейся при острых инфекционных заболеваниях.

Обсуждение результатов и выводы

Поскольку при наблюдаемых формах туберкулезного воспалительного процесса отмечается различное увеличение концентрации неоптерина, можно полагать, что его концентрация взаимосвязана с активностью заболевания. Она может быть использована для оценки косвенного реагирования Th1 на присутствие *M. tuberculosis*. Мониторинг уровня неоптерина может быть полезным для определения степени тяжести и активности инфекционного заболевания, динамики его течения. В условиях того, что другим механизмом действия неоптерина является его влияние на увеличение производства реактивных форм кислорода, можно полагать, что концентрация неоптерина позволяет установить степень возникающего оксидативного стресса. Изменения уровня неоптерина, выявленные при туберкулемах, дают основание полагать, что наблюдаемые отклонения обусловлены наличием инфекционного заболевания, не сопровождающегося значительной воспалительной реакцией.

Таким образом, концентрация неоптерина в сыворотке крови ассоциирована с формой инфекционного процесса, вызванного *M. tuberculosis*. Высокие концентрации неоптерина могут быть косвенным критерием оценки наличия возбудителя с множественной лекарственной устойчивостью. Использование стабильного метаболита иммунокомпетентных клеток позволяет снизить варибельность показателя в зависимости от физико-химических условий анализа и физиологического состояния больного, с возможностью повышения точности прогноза.



Рис. 2. Уровень неоптерина (нмоль/л) у больных с разной распространенностью туберкулезного воспалительного процесса и лекарственной устойчивостью возбудителя

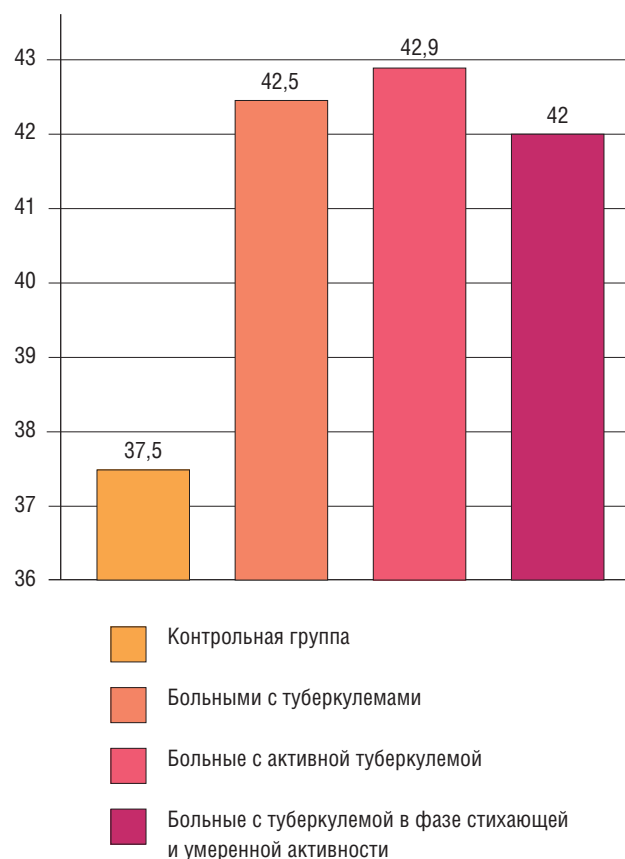


Рис. 3. Уровень неоптерина (нмоль/л) у больных с туберкулемами в разной фазе активности

Список литературы

1. Wirleitner B., Schroecksnadel K., Winkler C., Schennach H., Fuchs D. Resveratrol suppresses interferon-gamma-induced biochemical pathways in human peripheral blood mononuclear cells in vitro // *Immunol Lett.* — 2005. — N 100. — P. 159–163. doi: 10.1016/j.imlet.2005.03.008.
2. Hoffmann G., Wirleitner B., Fuchs D. Potential role of immune system activation-associated production of neopterin derivatives in humans // *Inflamm. Res.* — 2003. — N 52. — P. 313–321. doi: 10.1007/s00011-003-1181-9.
3. Razumovitch J.A., Semenkova G.N., Fuchs D., Cherenkevich S.N. Influence of neopterin on the generation of reactive oxygen species in human neutrophils // *FEBS Lett.* — 2003. — N 549. — P. 83–86. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00796-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00796-8).
4. Свиридов Е.А., Телегина Т.А. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете // *Успехи биологической химии.* — 2005. — Т. 45. — С. 355–390.
5. Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Werner E.R., Dierich M.P., Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: Application in HIV infection // *Immunol. Today.* — 1988. — N 9. — P. 150–155. doi: 10.1016/0167-5699(88)91203-0.
6. Immanuel C., Victor L., Chelvi K.S. Serum neopterin levels in HIV infected patients with & without tuberculosis // *Indian J. Med. Res.* — 2005. — Vol. 121. — P. 220–225.
7. Дудина К.Р., Кутателадзе М.М., Знойко О.О., Бокова Н.О., Шутько С.А., Козина А.Н., Огарёв В.В., Ющук Н.Д. Неоптерин — потенциальный диагностический и прогностический маркер при инфекционных заболеваниях // *Казанский медицинский журнал.* — 2014. — Т. 95, № 6. — С. 938–943.
8. Cok G., Parildar Z., Basol G., Kabaroglu C., Bayindir U., Habif S., Bayindir O. Pleural fluid neopterin levels in tuberculous pleurisy // *Clin. Biochem.* — 2007. — N 40. — P. 876–880. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.04.009.

Bibliography

1. Wirleitner B., Schroecksnadel K., Winkler C., Schennach H., Fuchs D. Resveratrol suppresses interferon-gamma-induced biochemical pathways in human peripheral blood mononuclear cells in vitro // *Immunol Lett.* — 2005. — N 100. — P. 159–163. doi: 10.1016/j.imlet.2005.03.008.
2. Hoffmann G., Wirleitner B., Fuchs D. Potential role of immune system activation-associated production of neopterin derivatives in humans // *Inflamm. Res.* — 2003. — N 52. — P. 313–321. doi: 10.1007/s00011-003-1181-9.
3. Razumovitch J.A., Semenkova G.N., Fuchs D., Cherenkevich S.N. Influence of neopterin on the generation of reactive oxygen species in human neutrophils // *FEBS Lett.* — 2003. — N 549. — P. 83–86. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00796-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00796-8).
4. Sviridov E.A., Telegina T.A. Neopterin i ego vosstanovlennye formy: biologicheskaya rol i uchastie v kletochnom immunitete // *Uspexi biologicheskoy ximii.* — 2005. — Т. 45. — С. 355–390. (rus)
5. Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Werner E.R., Dierich M.P., Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: Application in HIV infection // *Immunol. Today.* — 1988. — N 9. — P. 150–155. doi: 10.1016/0167-5699(88)91203-0.
6. Immanuel C., Victor L., Chelvi K.S. Serum neopterin levels in HIV infected patients with & without tuberculosis // *Indian J. Med. Res.* — 2005. — Vol. 121. — P. 220–225.
7. Dudina K.R., Kutateladze M.M., Znojko O.O., Bokova N.O., Shutko S.A., Kozina A.N., Ogaryov V.V., Yushhuk N.D. Neopterin — potencialnyj diagnosticheskij i prognosticheskij markyor pri infekcionnyx zabolevaniyah // *Kazanskij medicinskij zhurnal.* — 2014. — Т. 95, N 6. — С. 938–943. (rus)
8. Cok G., Parildar Z., Basol G., Kabaroglu C., Bayindir U., Habif S., Bayindir O. Pleural fluid neopterin levels in tuberculous pleurisy // *Clin. Biochem.* — 2007. — N 40. — P. 876–880. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.04.009.

Поступила в редакцию 15.12.2015