

УДК 616-097.3: 617-001.17

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ НЕОПТЕРИНА И ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖГОВОЙ ТРАВМОЙ

Лебедев М.Ю., Пученкина Е.В.

ФГБУ «ННИИТО» Минздравсоцразвития России, Нижний Новгород, e-mail: info@nniito.ru

Неоптерин является маркером активации клеточного иммунитета. Основными клетками продуцентами неоптерина являются активированные интерфероном-гамма (IFN- $\gamma$ ) моноциты/макрофаги. Нами было выдвинуто предположение, что в острый период ожоговой болезни увеличение сывороточного содержания неоптерина будет зависеть от концентрации IFN- $\gamma$  в крови. В данной статье проведен анализ изменений в соотносительном сывороточном содержании неоптерина и IFN- $\gamma$  у двадцати пациентов с термической в течение первых двух недель ожоговой болезни. Учитывались время, прошедшее с момента травмы, площадь ожога, возраста пострадавших и исход ожоговой болезни. Выявлено что в острый период ожоговой болезни происходило постепенное повышение сывороточного уровня неоптерина, достигавшее своего максимума на десятые сутки от момента травмы. Содержание IFN- $\gamma$  в сыворотке крови тяжелообожженных имело высокую вариабельность, и его изменения носили хаотический характер. Статистически значимых различий содержания неоптерина и IFN- $\gamma$  в крови в зависимости от времени, прошедшего с момента травмы, площади ожоговой поверхности и исходов ожоговой болезни обнаружено не было. Имелась тенденция к более высоким уровням неоптерина у пациентов старше 50 лет. Наличие статистически значимых взаимоотношений между сывороточным содержанием неоптерина и IFN- $\gamma$  также не обнаружено. Это указывает на то, что у обожженных активация моноцитов/макрофагов происходит не только под воздействием IFN- $\gamma$ , но и других активирующих факторов.

**Ключевые слова:** неоптерин, IFN- $\gamma$ , ожоги

## THE DYNAMICS OF SERUM LEVELS OF NEOPTERIN AND INTERFERON-GAMMA IN BURN PATIENTS

Lebedev M.Y., Puchenkina E.V.

Nizhny Novgorod Institute of Traumatology and Orthopaedics, Nizhny Novgorod, e-mail: info@nniito.ru

Neopterin is the marker of immune cell activation. Main cells-producers of neopterin are activated by interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) monocytes/macrophages. We suggested the increase of serum content of neopterin to depend on IFN- $\gamma$  concentration in blood. The analysis of the changes in correlative serum content of neopterin and IFN- $\gamma$  in 20 patients with thermal trauma within first 2 weeks of burn disease. The time having passed after the moment of trauma, square of burn, patient's age, outcome of burn disease were considered. It was revealed that gradual increasing of serum level of neopterin was taking place within the acute period of the burn disease having peak on the 10th day from the moment of trauma. IFN- $\gamma$  content in blood serum of seriously-burned patients had a great variability and its changes had a chaotic character. Statistically significant difference in the square of burn area and outcomes of burn disease was not found. There was a trend to the higher levels of neopterin in patients older than 50 years old. The presence of statistically significant relations between serum content of neopterin and IFN- $\gamma$  was not found either. It shows that mono-cytes/macrophages are activated not only under influence of IFN- $\gamma$  but other activating factors.

**Keywords:** neopterin, IFN- $\gamma$ , burns

Тяжесть состояния после ожоговой травмы, высокая частота посттравматических инфекций напрямую связаны с устойчивостью иммунной системы организма пострадавшего [2].

В настоящее время большое значение уделяется изучению поляризованных иммунных реакций (Romagnani S. Th1/Th2 cells. Inflamm Bowel Dis. 1999 Nov; 5(4): 285–94.). Известно, что тяжелая термическая травма приводит к преимущественной активации Th2 клеток, которые с помощью цитокинов антагонистов подавляют функциональную активность Th1 лимфоцитов и препятствуют тем самым активации макрофагов и цитотоксических лимфоцитов [10, 12]. При этом Th2 ответ недостаточен для защиты от большинства инфекций [5] и при ожоговой болезни рассматривается как один из механизмов, приводящих к им-

мунодепрессии, и факторов развития инфекционных осложнений [9]. Вместе с тем имеются данные, что термическая травма приводит к активации макрофагов, что выражается в увеличении после ожоговой травмы сывороточного содержания неоптерина [11].

Неоптерин ([2-амино-4-гидрокси-6-(D-эритро-1',2',3'-тригидроксипропил)-птеридин]), представитель птериновых азотистых гетероциклических соединений, физиологическая концентрация которого в крови поддерживается работой печени [1]. При тяжелой термической травме содержание неоптерина в сыворотке крови увеличивается в первые десять суток от момента ее получения и сохраняется высоким на протяжении нескольких недель в независимости от площади ожоговой поверхности и исходов ожоговой болезни [3].

Показано, что при патологических состояниях главными клетками-продуцентами неоптерина являются моноциты/макрофаги, а основным действующим началом, ответственным за стимуляцию продукции неоптерина данными клетками, является интерферон-гамма [8, 11]. Другие активационные факторы, в том числе цитокины, также индуцируют синтез неоптерина, но их действие значительно менее выражено [1, 4].

При заболеваниях, связанных с активацией иммунной системы, концентрация неоптерина в организме значительно увеличивается параллельно с увеличением IFN- $\gamma$  и может служить индикатором последнего [6, 13, 14].

Нами было выдвинуто предположение, что в острый период ожоговой болезни увеличение сывороточного содержания неоптерина одновременно будет сопровождаться изменением концентрации IFN- $\gamma$ .

В настоящей работе проведен анализ изменений в соотносительном сывороточном содержании неоптерина и IFN- $\gamma$  в зависимости от времени, прошедшего с момента ожоговой травмы, площади ожога поверхности тела (п.т.), возраста пациентов и исходов ожоговой болезни.

#### Материалы и методы исследования

Исследованы образцы крови 20 пациентов с термической травмой в возрасте от 37 до 75 лет. Все пациенты получали стандартное лечение, принятое в клинике термических поражений и включающее оперативные вмешательства и медикаментозную терапию. Специфических иммуномодуляторов не использовали.

#### Содержание неоптерина и IFN- $\gamma$ в сыворотке крови тяжелообожженных пациентов

| Показатель    | Норма           | Площадь ожога  | Сутки с момента травмы |             |             |             |
|---------------|-----------------|----------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|
|               |                 |                | 1–3                    | 4–6         | 7–9         | 10 и более  |
| Неоптерин     | До 10 нмоль/л   | До 15% п.т.    | 12,3 ± 5,3             | 10,7 ± 1,6  | 14,4 ± 2,1  | 14,5 ± 3,4  |
|               |                 | Свыше 15% п.т. | 17,4 ± 13,6            | 15,4 ± 11,8 | 14,2 ± 4,8  | 32,8 ± 32,4 |
|               |                 | Всего          | 14,8 ± 9,4             | 13,0 ± 6,7  | 14,3 ± 3,4  | 23,6 ± 18,1 |
| IFN- $\gamma$ | 10,4 ± 35 пг/мл | До 15% п.т.    | 14,5 ± 11,9            | 23,1 ± 20,4 | 32,4 ± 14,6 | 12,4 ± 4,9  |
|               |                 | Свыше 15% п.т. | 2,8 ± 7,1              | 3,7 ± 9,3   | 3,0 ± 5,5   | 7,1 ± 10,7  |
|               |                 | Всего          | 8,6 ± 9,5              | 13,4 ± 14,8 | 17,7 ± 18,9 | 9,7 ± 7,8   |

Содержание IFN- $\gamma$  в сыворотке крови тяжелообожженных имело высокую вариабельность. В половине исследуемых образцов уровень IFN- $\gamma$  в крови тяжелообожженных был ниже порога чувствительности используемых тест-систем, при этом максимальные значения достигали 343,4 пг/мл. Вследствие этого, возможно, статистически значимых различий сывороточного содержания IFN- $\gamma$  в зависимости от времени, прошедшего с момента травмы обнаружено не было. Выявились выраженные тенденции различного содержания IFN- $\gamma$  в зависимости от площади ожоговой

поверхности. Сыворотку крови забирали в утренние часы одновременно с плановыми анализами, начиная с первых суток от момента травмы и в течение первых двух недель. В качестве образцов для исследования использовали сыворотку крови, которую выделяли в день забора материала и хранили при температуре –40 °С до момента постановки анализа.

Определение уровня неоптерина выполняли с использованием тест-систем Neopterin ELISA «IBL, Hamburg» согласно прилагаемой инструкции. Результаты выражали в нмоль/л. Для исследования уровня IFN- $\gamma$  в сыворотке крови использовались тест-системы «IFN- $\gamma$  Human» производства «Bender MedSystems» Согласно прилагаемой инструкции результаты выражали в пг/мл. За показатели нормы принимали значения, указанные производителями.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ SPSS-14. При анализе взаимосвязей использовали коэффициент корреляции Пирсона. Уровень статистической значимости принимали равным 0,05. Результаты описаны как  $M \pm \sigma$ .

#### Результаты исследования и их обсуждение

В острый период ожоговой болезни происходило постепенное повышение сывороточного уровня неоптерина, достигавшее своего максимума на десятые сутки от момента травмы (таблица). Статистически значимых различий содержания неоптерина в крови в зависимости от времени, прошедшего с момента травмы, площади ожоговой поверхности и исходов ожоговой болезни обнаружено не было. Имелась тенденция к более высоким уровням неоптерина у пациентов старше 50 лет (рис. 1).

поверхности, возраста пациентов и исходов ожоговой болезни. Так, у пациентов с площадью ожога свыше 15% поверхности тела уровень IFN- $\gamma$  в крови был ниже, чем у пострадавших с менее обширными ожогами (см. таблицу). Кроме того, более низкие сывороточные концентрации IFN- $\gamma$  регистрировались у больных с неблагоприятным исходом ожоговой болезни (рис. 2) и в возрасте свыше пятидесяти лет (см. рис. 1). Обнаружена статистически значимая отрицательная взаимосвязь между возрастом пострадавших и уровнем IFN- $\gamma$  в крови ( $r = -0,34, p < 0,05$ ).

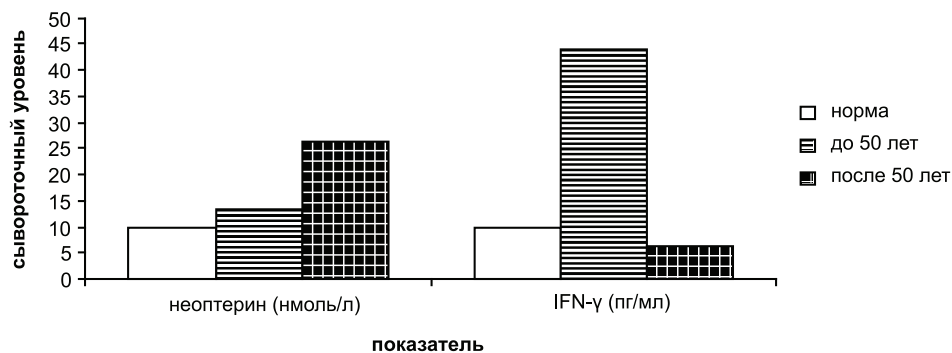


Рис. 1. Содержание неоптерина и IFN- $\gamma$  в сыворотке крови у обожженных пациентов в зависимости от возраста

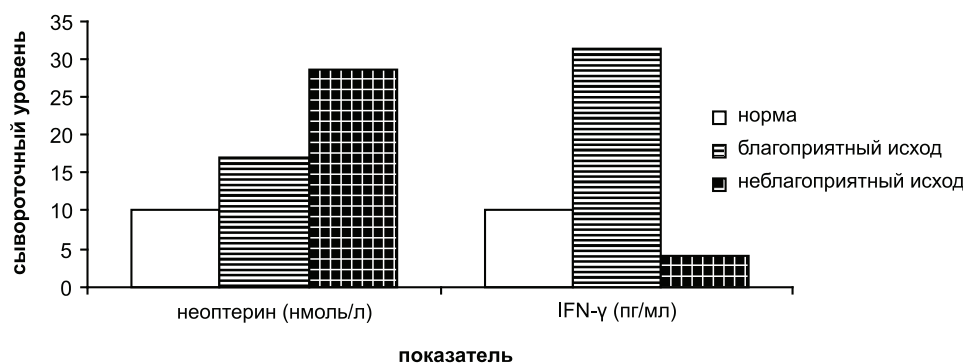


Рис. 2. Содержание неоптерина и IFN- $\gamma$  в сыворотке крови у обожженных пациентов в зависимости от исхода ожоговой болезни

Проведенный корреляционный анализ не выявил наличия взаимоотношений между содержанием неоптерина и IFN- $\gamma$  в крови пострадавших от термической травмы в первые две недели от момента ее получения.

Ранее было показано, что термическая травма приводит к увеличению сывороточного содержания неоптерина [7]. Однако найти достоверной зависимости динамических изменений данного показателя и самого факта ожоговой травмы, ее осложнений и исходов в исследовании не удалось. В каждой группе, анализируемой по вышеприведенным признакам, были пациенты со стабильным содержанием неоптерина в периферической крови, сопоставимым с уровнем нормы или значительно превосходившим нормальные значения.

### Заключение

Таким образом, можно говорить о том, что повышенный уровень неоптерина в крови пациентов с ожоговой болезнью является одним из признаков активации клеточного звена иммунной системы в ответ на термическое поражение. Отсутствие взаимосвязи сывороточного содержания неоптерина и IFN- $\gamma$  у обожженных указывает на то, что у обожженных активация моноцитов/макрофагов происходит не только

под воздействием IFN- $\gamma$ , но и других активизирующих факторов, и при ожоговой болезни неоптерин не может рассматриваться в качестве индикатора последнего.

### Список литературы

1. Свиридов Е.А., Телегина Т.А. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете / Е.А Свиридов, Т.А Телегина. // Успехи биологической химии. – 2005. – т. 45. – С. 355–390.
2. Allgower M., Schoenenberger G.A., Sparkes B.G. Burning the largest immune organ / M Allgower, G.A Schoenenberger, B.G. Sparkes // Burns. – 1995. – Vol. 21. – № 1. – P. 19–20.
3. Balogh D., Lammer H., Kornberger E., Stuffer M., Schönitzer D. Neopterin plasma levels in burn patients // Burns. – 1992. – Vol. 18, № 3. – P. 185–188.
4. Bitterlich G., Szabó G., Werner E.R., Larcher C., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Schulz T.F., Troppmair J., Wachter H., et al. // Selective induction of mononuclear phagocytes to produce neopterin by interferons. Immunobiology. – 1988. – Vol. 176, № 3. – P. 228–235.
5. Del Prete G. The concept of type-1 and type-2 helper T cells and their cytokines in humans // Int Rev Immunol. – 1998. – Vol. 16, № 3–4. – P. 427–455.
6. Euteneuer F., Schwarz M.J., Hennings A., Riemer S., Stapf T., Selberdinger V., Rief W. Psychobiological aspects of somatization syndromes: contributions of inflammatory cytokines and neopterin. Psychiatry Res. – 2012. – № 30. – P. 195(1-2):60-5. Epub 2011 Aug 24.
7. Grabosch A., Rokos H. Neopterin as parameter of cell-mediated immunity response in thermally injured patients // Burns. – 1992. – Vol. 18, № 2. – P. 113–116.

8. Huber C., Batchelor J.R., Fuchs D., Hausen A., Lang A., Niederwieser D., Reibnegger G., Swetly P., Troppmair J., Wachter H. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma // *J Exp Med.* – 1984. – Vol. 160, № 1. – P. 310–316.
9. Lyons A., Kelly J.L., Rodrick M.L., Mannick J.A., Lederer J.A. Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection // *Ann Surg.* – 1997. – Vol. 226, № 4. – P. 450–458; discussion 458–460.
10. Miller A.C., Rashid R.M., Elamin E.M. The «T» in trauma: the helper T-cell response and the role of immunomodulation in trauma and burn patients // *J Trauma.* – 2007. – Vol. 63, № 6. – P. 1407–1417.
11. Murr C., Widner B., Wirleitner B., Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation // *Curr Drug Metab.* – 2002. – Vol. 3, № 2. – P. 175–187.
12. O'Sullivan S.T., Lederer J.A., Horgan A.F., Chin D.H., Mannick J.A., Rodrick M.L. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection // *Ann Surg.* – 1995. – Vol. 222, № 4. – P. 482–490; discussion 490–492.
13. Parker D.C., Mielke M.M., Yu Q., Rosenberg P.B., Jain A., Lyketsos C.G., Fedarko N.S., Oh E.S. Plasma neopterin level as a marker of peripheral immune activation in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease // *Int J Geriatr Psychiatry.* – 2012 Apr 27. doi: 10.1002/gps.3802.
14. Yadav A.K., Sharma V., Jha V. Association between Serum Neopterin and Inflammatory Activation in Chronic Kidney Disease // *Mediators Inflamm.* 2012;2012:476979. Epub 2012 Aug 26.
6. Euteneuer F., Schwarz M.J., Hennings A., Riemer S., Stapf T., Selberdinger V., Rief W. Psychobiological aspects of somatization syndromes: contributions of inflammatory cytokines and neopterin. *Psychiatry Res.* 2012. 30;195(1–2):60–5. Epub 2011 Aug 24
7. Grabosch A., Rokos H. Neopterin as parameter of cell-mediated immunity response in thermally injured patients // *Burns.* 1992. Vol. 18, no. 2. pp. 113–116.
8. Huber C., Batchelor J.R., Fuchs D., Hausen A., Lang A., Niederwieser D., Reibnegger G., Swetly P., Troppmair J., Wachter H. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma // *J Exp Med.* 1984. Vol. 160, no. 1. pp. 310–316.
9. Lyons A., Kelly J.L., Rodrick M.L., Mannick J.A., Lederer J.A. Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection // *Ann Surg.* 1997. Vol. 226, no. 4. pp. 450–458; discussion 458–460.
10. Miller A.C., Rashid R.M., Elamin E.M. The «T» in trauma: the helper T-cell response and the role of immunomodulation in trauma and burn patients // *J Trauma.* 2007. Vol. 63, no. 6. pp. 1407–1417.
11. Murr C., Widner B., Wirleitner B., Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation // *Curr Drug Metab.* 2002. Vol. 3, no. 2. pp. 175–187.
12. O'Sullivan S.T., Lederer J.A., Horgan A.F., Chin D.H., Mannick J.A., Rodrick M.L. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection // *Ann Surg.* 1995. Vol. 222, no. 4. pp. 482–490; discussion 490–492.
13. Parker D.C., Mielke M.M., Yu Q., Rosenberg P.B., Jain A., Lyketsos C.G., Fedarko N.S., Oh E.S. Plasma neopterin level as a marker of peripheral immune activation in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease // *Int J Geriatr Psychiatry.* 2012 Apr 27. doi: 10.1002/gps.3802.
14. Yadav A.K., Sharma V., Jha V. Association between Serum Neopterin and Inflammatory Activation in Chronic Kidney Disease // *Mediators Inflamm.* 2012;2012:476979. Epub 2012 Aug 26.

### References

1. Sviridov E.A., Telegina T.A. Neopterin i ego vosstanovlennyye formy: biologicheskaya rol i uchastie v kletochnom immunitete [Neopterin and its restored forms: a biological role and participation in cellular immunity] / E.A. Sviridov, T.A. Telegina // *Uspekhi biologicheskoy khimii.* 2005. t. 45. pp. 355–390.
2. Allgower M., Schoenberger G.A., Sparkes B.G. Burning the largest immune organ / M Allgower, G.A Schoenberger, B.G. Sparkes // *Burns.* 1995. Vol. 21. no. 1. pp. 19–20.
3. Balogh D., Lammer H., Kornberger E., Stuffer M., Schönitzer D. Neopterin plasma levels in burn patients // *Burns.* 1992. Vol. 18, no. 3. pp. 185–188.
4. Bitterlich G., Szabó G., Werner E.R., Larcher C., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Schulz T.F., Troppmair J., Wachter H., et al. // Selective induction of mononuclear phagocytes to produce neopterin by interferons. *Immunobiology.* 1988. Vol. 176, no. 3. pp. 228–235.
5. Del Prete G. The concept of type-1 and type-2 helper T cells and their cytokines in humans // *Int Rev Immunol.* 1998. Vol. 16, no. 3-4. pp. 427–455.

### Рецензенты:

Контрощикова К.Н., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФПКВ ГБОУ ВПО «НижГМА», г. Нижний Новгород;  
Новиков В.В., д.б.н., директор НИИ молекулярной биологии и региональной экологии ФГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 29.11.2012.