

## ДИНАМИКА УРОВНЯ НЕОПТЕРИНА У ПАЦИЕНТОВ С ОПОЯСЫВАЮЩИМ ГЕРПЕСОМ

А.Л. Якубенко<sup>1</sup>, А.А. Яковлев<sup>1,2</sup>, В.Б. Мусатов<sup>1,2</sup>, З.Н. Кинго<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

### The dynamics of neopterin level in patients with herpes zoster

A.L. Yakubenko<sup>1</sup>, A.A. Yakovlev<sup>1,2</sup>, V.B. Musatov<sup>1,2</sup>, Z.N. Kingo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, Saint-Petersburg, Russia

#### Резюме

Неоптерин является специфическим маркером активации клеточного и моноцитарно-макрофагального звеньев иммунной системы. Связь уровня сывороточного неоптерина с особенностями клинического течения опоясывающего герпеса не известна.

Цель: изучить концентрацию сывороточного неоптерина у больных опоясывающим герпесом.

Материалы и методы: в исследование были включены 55 пациентов с клинической картиной опоясывающего герпеса (30 ВИЧ-позитивных, 25 – с отрицательным ВИЧ-статусом). Трижды за период наблюдения измерялся уровень неоптерина в сыворотке крови (до начала лечения ацикловиром, на 3-й день лечения и после заживления высыпаний). Оценивались клиническое течение опоясывающего герпеса и динамика лабораторных показателей.

Результаты: было установлено, что уровень неоптерина повышен у всех больных с опоясывающим герпесом. В динамике лечения ацикловиром концентрация неоптерина достоверно снижалась (с 30(17;32) до 12(11;27) нмоль/л ( $p=0,0000001$ ), но оставалась выше нормальных значений к моменту заживления высыпаний у большинства пациентов. Уровень неоптерина до начала и после окончания курса лечения не различался в зависимости от ВИЧ-статуса. Только на третий день наблюдения концентрация неоптерина была несколько выше у пациентов с ВИЧ-инфекцией, что отражает изменённую реактивность иммунной системы в данной группе больных. У пациентов с варицелла зостер вiremией содержание неоптерина на третий день лечения ацикловиром было выше по сравнению с больными без вiremии (23,5(12,7;30,0) и 12(4,2;24,5) нмоль/л соответственно,  $p=0,037$ ).

Заключение: полученные данные свидетельствуют, что динамика уровня сывороточного неоптерина может служить показателем эффективности иммунного ответа при опоясывающем герпесе.

**Ключевые слова:** неоптерин, герпес зостер, ВИЧ-инфекция, вирус варицелла зостер.

#### Введение

Опоясывающий герпес (ОГ) возникает при реактивации латентной варицелла зостер инфекции

#### Abstract

Neopterin is a specific marker of cellular immunity and monocytes/macrophages activation. Correlation between serum neopterin levels and clinical features of herpes zoster is unknown.

The objective of the study was to determine the concentration of serum neopterin in patients with herpes zoster.

Methods: 55 patients with herpes zoster (30 HIV-positive and 25 HIV-negative) were included. Serum neopterin levels were measured three times during the observation period (before onset of treatment with acyclovir, on the 3rd day of treatment and after healing of skin lesions). The clinical course and dynamics of laboratory data were also evaluated.

Results: The study showed that elevated serum neopterin levels were found in all patients with herpes zoster. Neopterin concentrations were significantly reduced during acyclovir treatment (from 30 (17; 32) to 12 (11; 27) nmol/L ( $p = 0,0000001$ ), but remained above the upper limit of normal by the time skin lesions were healed in most patients. Neopterin levels before and after treatment weren't associated with HIV-status. Neopterin concentration was slightly higher in patients with HIV infection on the third day of observation only, that could reflect the abnormal immunoreactivity of this host. Neopterin levels in patients with varicella zoster viremia were higher compared to patients without viremia on the third day of treatment with acyclovir (23.5 (12.7; 30.0) and 12 (4.2, 24.5) nmol/L, respectively,  $p = 0,037$ ).

Conclusions: These results suggest that the dynamics of serum neopterin could be a marker of effectiveness of immune response in herpes zoster.

**Key words:** neopterin, herpes zoster, HIV-infection, varicella zoster virus.

в организме человека. Основным фактором риска ОГ является наличие клеточного иммунодефицита, чаще всего ассоциированного с естественным

старением иммунной системы или с прогрессированием ВИЧ-инфекции [1, 2].

Одним из маркеров активации клеточного иммунного ответа является производное гуанозинтрифосфата — неоптерин. Уровень сывороточного неоптерина служит интегративным показателем действия цитокинов на популяцию моноцитов и макрофагов [3]. Молекула неоптерина, по сравнению с цитокинами, имеет высокую стабильность в различных биологических жидкостях и легко проникает из тканей в кровоток, что позволяет эффективно использовать его сывороточную концентрацию для мониторинга состояния клеточного иммунитета при многих заболеваниях, в том числе вирусной этиологии [4, 5].

В настоящее время роль неоптерина в течении ОГ не изучена: отсутствуют сведения о динамике уровня данного показателя в процессе развития заболевания, нет данных о связи уровня неоптерина с клиническим течением ОГ и ВИЧ-статусом пациентов.

**Цель** — изучить содержание неоптерина в сыворотке крови больных с опоясывающим герпесом.

#### Материалы и методы

В исследование были включены 55 пациентов с опоясывающим герпесом, госпитализированных в Клиническую инфекционную больницу им. С.П. Боткина в 2012 — 2014 гг. Все больные имели свежие везикулёзные высыпания и не принимали специфического противовирусного лечения по поводу герпетической инфекции до начала процедур исследования. После первого забора крови пациентам назначалось стандартное лечение ацикловиром в дозе 0,8 г 5 раз в день перорально. Длительность терапии ацикловиром определялась клиническим течением заболевания и составила от 4 до 33 дней (медиана — 7 дней). Проводилась ежедневная оценка клинического состояния больных, в том числе динамика сыпи и температуры тела. Трижды за период наблюдения (до начала приема ацикловира, на третий день лечения и через два дня после окончания противовирусной терапии) проводился забор образцов крови для определения уровня неоптерина методом ИФА (IBL, Германия), а также на гемограмму, иммунограмму, вирусную нагрузку ВИЧ, качественную ПЦР на вирус варицелла зостер (ВЗВ) (АмлиСенс, Россия) и уровень антител IgM и IgG к ВЗВ методом ИФА (ВекторБест, Россия).

Каждый пациент был тестирован на ВИЧ-инфекцию: установлено 30 положительных и 25 отрицательных ВИЧ-статусов. Как видно из представленных данных (табл. 1), для ВИЧ-инфицированных пациентов был характерен

более молодой возраст и низкий уровень CD4-лимфоцитов по отношению к ВИЧ-негативному контингенту. Сравнимые группы оказались однородны по гендерному составу, срокам заболевания, локализации поражённого дерматомы и количеству осложнений. Частота выявления ВЗВ-виремии, обнаружение антител класса М к ВЗВ и уровень моноцитов (одних из основных продуцентов неоптерина) также значимо не различались (см. табл. 1).

Таблица 1

#### Клинико-лабораторная характеристика больных с опоясывающим герпесом в зависимости от ВИЧ-статуса

Признак	ВИЧ+ (n = 30)	ВИЧ- (n = 25)	Значение р
Возраст, Ме (min — max)	36 (25 — 63) лет	58 (18 — 90) лет	0,0001
Пол (мужчины/женщины)	2/1	2/3	0,061
День сыпи на момент старта лечения, Ме (25%; 75%)	5 (4; 7) дней	4 (3; 5) дней	0,073
Локализация высыпаний (дерматомы); n (%)			
Шейные	9 (30%)	4 (16%)	0,341
Грудные	13 (43%)	12 (48%)	0,790
Поясничные	2 (7%)	0 ( — )	0,495
Крестцовые	0 ( — )	1 (4%)	0,455
Тригеминальные	6 (20%)	8 (32%)	0,363
Осложнения; n (%)	7 (23%)	10 (40%)	0,245
Уровень CD4-лимфоцитов до начала лечения, Ме (25%;75%)	274(158;423) кл/мкл	803(543;951) кл/мкл	0,0001
Уровень моноцитов до начала лечения, Ме (25%;75%)	0,77(0,55;1,01) *10 <sup>9</sup> /л	0,65(0,49;0,90) *10 <sup>9</sup> /л	0,133
ВЗВ-виремия до начала лечения, n из обследованных (%)	19 из 26 (73%)	18 из 22 (81%)	0,514
ВЗВ-IgM до начала лечения, n (%)	8 (27%)	11 (44%)	0,256

Осложнённое течение ОГ наблюдалось у 17 больных (31%). Среди осложнений встречались кожная диссеминация (3 ВИЧ+; 4 ВИЧ-), кератит (4 ВИЧ-), иридоциклит (1 ВИЧ-), кератоиридоциклит (2 ВИЧ+; 1 ВИЧ-), синдром Ханта (1 ВИЧ+), серозный менингит с периферическим парезом большеберцового нерва и кожной диссеминацией (1 ВИЧ+). Статистической достоверности в часто-

те развития осложнений между ВИЧ-позитивными и ВИЧ-негативными больными получено не было.

У 7 из 55 пациентов наблюдалось присоединение вторичной бактериальной инфекции (3 ВИЧ+; 4 ВИЧ-), по поводу которой назначалась терапия доксициклином 0,1 г 2 раза в сутки в течение 7 дней. Другой значимой патологии, требовавшей назначения антибиотикотерапии, у пациентов выявлено не было.

Верхняя граница нормального уровня сывороточного неоптерина составила 10 нмоль/л. Порог чувствительности качественной ПЦР ВЗВ был равен 500 к/мл.

Для статистической обработки использовалась программа SPSS, ver 20. При описании и анализе данных применялись среднее значение (95% доверительный интервал), медиана (25%; 75% процентиля), тест Фишера, коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмана, Т-тест для зависимых и независимых выборок, тест Манна – Уитни, ранговый тест Вилкоксона, а также одномерный дисперсионный анализ с повторными измерениями. При логарифмировании нулевые концентрации принимались за половину от минимально достоверно определяемого уровня тест-системы. Критический уровень значимости был равен 0,05. Все приводимые значения  $p$  – двусторонние.

### Результаты и обсуждение

В результате проведённого исследования было обнаружено, что уровень сывороточного неоптерина повышен у всех обследованных пациентов с клинической картиной ОГ. Медиана данного показателя до начала лечения ацикловиром в три раза превышала верхнюю границу нормы (30(17;32) нмоль/л). Достоверных различий в концентрации неоптерина у больных с ОГ в зависимости от ВИЧ-статуса не наблюдалось (табл. 2).

Таблица 2

#### Уровень сывороточного неоптерина у пациентов с опоясывающим герпесом на фоне лечения ацикловиром в зависимости от ВИЧ-статуса

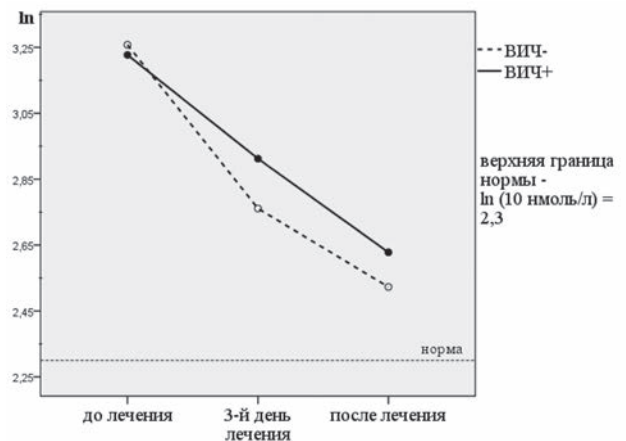
Время забора сыворотки	Уровень неоптерина; Ме (25% – 75%) нмоль/л			Значение $p$
	Все пациенты (n = 55)	ВИЧ+ (n = 30)	ВИЧ– (n = 25)	
До лечения	30 (17 – 32)	30 (17 – 33)	28 (18 – 35)	0,685
3-й день лечения	23 (12 – 30)	29 (13 – 30)	17,5 (12 – 28,5)	0,027
После лечения	12 (11 – 27)	12 (12 – 20)	12 (9 – 30)	0,578

Значение  $p$  – при сравнении показателей ВИЧ-положительных и ВИЧ-отрицательных пациентов.

На 3-й день терапии ацикловиром медиана уровня неоптерина в сыворотке ВИЧ-инфицированных больных достоверно превышала таковую у ВИЧ-отрицательного контингента (29(13;30) и 17,5(12;28,5) нмоль/л соответственно;  $p = 0,027$ ) (см. табл. 2). Несколько замедленная скорость снижения данного показателя у пациентов с ВИЧ-инфекцией к 3-му дню наблюдения может отражать особенность реактивности иммунной системы.

Медиана значений сывороточного неоптерина после окончания лечения у ВИЧ-позитивных и ВИЧ-негативных больных не различалась (см. табл. 2). У абсолютного большинства пациентов в обеих сравниваемых группах уровень неоптерина к моменту заживления сыпи не достигал нормальных значений (ВИЧ+ – 93% (28/30), ВИЧ– – 76% (19/25),  $p = 0,123$ ), что свидетельствует о продолжающейся активации моноцитарного звена клеточного иммунитета и незавершённости патологического процесса.

При анализе динамики концентрации неоптерина в процессе лечения ОГ выявлено достоверное снижение данного показателя к моменту заживления кожных высыпаний ( $p = 0,0000001$ ). Как видно из представленных данных (рис.), у пациентов с ВИЧ-инфекцией скорость снижения уровня неоптерина не имела значимых отличий от ВИЧ-негативной выборки ( $p = 0,609$ ) (см. рис.).



**Рис.** Динамика уровня сывороточного неоптерина (значения логарифмированы (ln)) у больных ОГ на фоне лечения ацикловиром в зависимости от ВИЧ-статуса (n = 55; однофакторный дисперсионный анализ с повторными наблюдениями;  $r$ -значение при сравнении групп = 0,609;  $p$ -значение между начальным и конечным уровнем неоптерина в обеих группах = 0,0000001)

При анализе клинических особенностей течения ОГ обнаружено, что локализация первично поражённого дерматома, осложненное течение

заболевания, наличие лихорадочного синдрома и сроки заживления высыпаний не коррелировали с уровнем неоптерина. У пациентов с более выраженной сыпью (обильной, сливного характера или при наличии геморрагического содержимого в полостных элементах) концентрация сывороточного неоптерина имела тенденцию к более выраженному повышению по сравнению с таковой у пациентов с умеренными кожными проявлениями ОГ (30 нмоль/л (23;36) и 28 нмоль/л (13;30) соответственно,  $p=0,037$ ), что отражает активность воспалительного процесса в коже. Уровень неоптерина не зависел от наличия вторичной бактериальной инфекции ( $p=0,776$ ), что, возможно, связано с ранней диагностикой и своевременным назначением антибиотикотерапии [6].

Известно, что основными продуцентами неоптерина являются клетки моноцитарно-макрофагального ряда [4]. При анализе содержания неоптерина и уровня моноцитов крови корреляции между этими показателями выявлено не было ( $r = 0,025$ ,  $p=0,860$ ). Возможно, это связано с активным перемещением моноцитов из кровеносного русла с последующей макрофагальной трансформацией в поражённых органах и тканях. При анализе уровня моноцитов в процессе лечения ОГ отмечалась достоверная динамика ( $p=0,002$ ): до начала лечения уровень моноцитов был повышен (среднее –  $0,76 (0,67;0,85) \times 10^9/\text{л}$ ) и снижался к моменту заживления сыпи (среднее –  $0,66 (0,61;0,72) \times 10^9/\text{л}$ ). Как и в случае с неоптеринем, уровень моноцитов у абсолютного большинства пациентов после заживления высыпаний не достигал нормальных значений (ВИЧ+ – 73% (22/30), ВИЧ– – 72% (18/25),  $p=0,762$ ), что отражает активность воспалительного процесса.

Сопоставление содержания неоптерина с другими лабораторными показателями: уровнем лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов, СОЭ, количеством циркулирующих CD4- и CD8-лимфоцитов, вирусной нагрузки ВИЧ не показало наличие каких-либо корреляций.

Пациенты включались в исследования на 2–7-й день от начала кожных высыпаний, при этом антитела класса М к ВЗВ выявились у 19 из 55 больных (8 ВИЧ+ и 11 ВИЧ-). К 3-му дню лечения ацикловиром ВЗВ IgM появились дополнительно у 4 человек (2 ВИЧ+ и 2 ВИЧ-). После окончания лечения, уже на фоне заживших кожных высыпаний, специфические антитела были определены ещё у 8 пациентов (6 ВИЧ+ и 2 ВИЧ-). Выявление IgM на фоне лечения ацикловиром может быть связано с эффективным подавлением репликации ВЗВ и, как следствие, отсутствием субстрата для реакции нейтрализации антигена.

Известно, что повышение содержания неоптерина в сыворотке крови обычно предшествует по-

явлению специфических IgM к инфекционному агенту [4, 5]. Прямой ассоциации между уровнем неоптерина и наличием ВЗВ антител класса М не установлено, однако была обнаружена связь между концентрацией неоптерина до начала лечения и присутствием ВЗВ IgM в сыворотке крови к 3-му дню терапии ( $p=0,048$ ). Пограничный уровень значимости в данном случае может быть связан небольшим объёмом выборки и с особенностью гуморального иммунитета у пациентов с ОГ. Таким образом, увеличение уровня сывороточного неоптерина предшествовало появлению специфических антител к ВЗВ.

Варицелла зостер виремия методом качественной ПЦР была выявлена у 37 из 48 обследованных больных (19 ВИЧ+, 18 ВИЧ-) (см. табл. 1). Установлено, что у пациентов с ВЗВ виремией уровень неоптерина к 3-му дню лечения ацикловиром достоверно превышал таковой у больных без виремии (23,5 нмоль/л (12,7;30,0) и 12 нмоль/л (4,2;24,5) соответственно;  $p=0,031$ ). Вероятно, замедление снижения концентрации неоптерина при циркуляции ВЗВ в крови связано с более напряженным клеточным иммунным ответом. Таким образом, высокий уровень неоптерина к третьему дню противовирусной терапии ОГ может служить маркёром виремии и свидетельствует об уровне активности клеточного и моноцитарно-макрофагального звеньев иммунного ответа на ВЗВ.

### Заключение

В результате проведённого исследования было установлено, что у всех пациентов с опоясывающим герпесом уровень неоптерина был повышен и достоверно снижался в процессе лечения ацикловиром. У ВИЧ-инфицированных пациентов концентрация неоптерина к 3-му дню терапии была несколько выше, чем у больных без ВИЧ-инфекции. Динамика уровня неоптерина в процессе лечения ацикловиром не зависела от ВИЧ-статуса ( $p=0,609$ ). Вероятно, это связано с компенсированной работой моноцитарно-макрофагального звена клеточного иммунитета у ВИЧ-инфицированных больных. Динамика количества моноцитов в процессе лечения ацикловиром оказалась сходной с динамикой уровня неоптерина, хотя прямой корреляции между данными показателями получено не было. К моменту заживления кожных высыпаний уровни неоптерина и моноцитов у большинства пациентов не достигали нормальных значений, что свидетельствует о продолжающейся активности иммунного процесса после клинического выздоровления от ОГ.

Высокий уровень неоптерина на третий день лечения ацикловиром (23,5 (12,7;30,0) нмоль/л) коррелировал с наличием варицелла зостер виремии. Высокий уровень неоптерина к 3-му дню



терапии ацикловиром свидетельствует о риске диссеминации и требует более длительного курса лечения с последующим ПЦР контролем эффективности проводимой терапии.

Полученные данные свидетельствуют, что динамика неоптерина является показателем активности клеточного и моноцитарно-макрофагального звеньев иммунного ответа при опоясывающем герпесе.

#### Литература

1. Gershon AA, Gershon MD, Breuer J, et al. Advances in the understanding of the pathogenesis and epidemiology of herpes zoster. *J Clin Virol.* 2010 May;48 Suppl 1:S2-7.
2. Исаков, В.А. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / В.А. Исаков, Е.И. Архипова, Д.В. Исаков; под ред. В.А. Исакова. — 2-е изд., перераб. и доп. — СПб: СпецЛит, 2013. — 670 с.
3. Шевченко, О.П. Неоптерин / О.П. Шевченко, Г.А. Олефиренко, О.В. Орлова // *Лабораторная медицина.* — 2001. — № 4. — С. 55–61.
4. Hamerlinck FF. Neopterin: a review. *Exp Dermatol.* 1999; 8(3):167–176.

5. Eisenhut M. Neopterin in Diagnosis and Monitoring of Infectious Diseases. *J. Biomarkers.* 2013; 2013:1–10.

6. Pourakbari B, Mamishi S, Zafari J, et al. Evaluation of procalcitonin and neopterin level in serum of patients with acute bacterial infections. *Brazilian journal of infectious diseases.* 2010; 14(3):252-255.

#### References

1. Gershon AA, Gershon MD, Breuer J, et al. Advances in the understanding of the pathogenesis and epidemiology of herpes zoster. *J Clin Virol.* 2010 May;48 Suppl 1:S2-7.
2. Isakov V.A., Arhipova E.I., Isakov D.V. Herpesviral infections in human: Guidelines for physicians (2nd edition, revised and enlarged). — Saint Petersburg: SpecLit; 2013. — 670 pp. (in Russian).
3. Shevchenko O.P. Olefirenko G.A., Orlova O.V. *Laboratornaya medicina.* 2001; 4:55-61. (in Russian)
4. Hamerlinck FF. Neopterin: a review. *Exp Dermatol.* 1999; 8(3):167–176.
5. Eisenhut M. Neopterin in Diagnosis and Monitoring of Infectious Diseases. *J. Biomarkers.* 2013; 2013:1–10.
6. Pourakbari B, Mamishi S, Zafari J, et al. Evaluation of procalcitonin and neopterin level in serum of patients with acute bacterial infections. *Brazilian journal of infectious diseases.* 2010; 14(3):252-255.

#### Авторский коллектив:

*Якубенко Александра Леонидовна* — аспирант кафедры инфекционных болезней, эпидемиологии и дерматовенерологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета; тел.: 8(812) 717-89-60, e-mail: sasha.yakubenko@gmail.com

*Яковлев Алексей Авенурович* — заведующий кафедрой инфекционных болезней, эпидемиологии и дерматовенерологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, главный врач Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)717-28-48, e-mail: botkin\_hosp@zdrav.spb.ru

*Мусатов Владимир Борисович* — доцент кафедры инфекционных болезней, эпидемиологии и дерматовенерологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, заместитель главного врача по медицинской части Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, к.м.н.; тел.: 8(812)717-77-61, e-mail: botkin\_hosp@zdrav.spb.ru

*Кинго Зоя Николаевна* — врач лабораторной диагностики Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, к.м.н.; тел.: 8(812)717-78-02, e-mail: kingospb@mail.ru