

## ЛИПОПОЛИСАХАРИД–СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК, НЕОПТЕРИН И ИНТЕРФЕРОН–Г КАК ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ БРУЦЕЛЛЕЗОМ

И.В. Санникова<sup>1</sup>, О.В. Махиня<sup>2</sup>, Н.И. Ковалевич<sup>3</sup>, Н.С. Саркисян<sup>3</sup>, М.В. Титоренко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

<sup>2</sup>Городская поликлиника № 2, Ставрополь, Россия

<sup>3</sup>Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия

**Lipopolysaccharide-binding protein, neopterin and interferon-gamma as indices of inflammation activity in patients with acute brucellosis**

I.V. Sannikova<sup>1</sup>, O.V. Mahinja<sup>2</sup>, N.I. Kovalevich<sup>3</sup>, N.S. Sarkisjan<sup>3</sup>, M.V. Titorenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

<sup>2</sup>City Polyclinic № 2, Stavropol, Russia

<sup>3</sup>Stavropol Research anti Plague Institute of Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia

### Резюме

*Цель:* определение уровня ЛПС-белка, неоптерина и ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови больных с острой формой бруцеллеза до и после лечения антибактериальными препаратами.

*Материалы и методы:* в исследование включены 65 больных острым бруцеллезом. Для определения уровня ЛПС-белка в сыворотке крови использовали тест-системы «Nucultbiotech, Netherlands», ELISA. Уровень неоптерина в сыворотке крови определяли с помощью тест-систем Neopterin ELISA «IBL, Hamburg». Определение уровня ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови проводили тест-системами Вектор Бест А-8752 гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ производства «Вектор-БЕСТ», Россия. Группу сравнения составили 32 здоровых донора, сопоставимые по полу и возрасту с больными бруцеллезом, не болевшие этой инфекцией, не вакцинированные против этой инфекции. Специфические лабораторные исследования крови, определение уровня ЛПС-белка, уровня ИФН- $\gamma$  и неоптерина в образцах сыворотки крови проводились в лабораториях Ставропольского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора

*Результаты:* при исследовании крови больных острым бруцеллезом до и после лечения определены показатели неоптерина, липополисахарид-связывающего белка и интерферона- $\gamma$ , значительно превышающие нормальные значения. Полученные результаты свидетельствуют о сохраняющемся активном воспалении и формировании хронического бруцеллеза.

*Заключение:* патогенетической основой практически закономерной трансформации острой стадии инфекции в хроническую является несостоятельность врожденного и адаптивного иммунитета в отношении бруцелл с созданием условий для незавершенного фагоцитоза и долгосрочного внутриклеточного паразитирования. ИФН- $\gamma$ , неоптерин и ЛПС-белок относятся к иммуномодулирующим факторам реакции иммунитета на возбудителя, и определение их уровня в крови боль-

### Abstract

*Brucellosis is characterized by nonspecific clinical manifestations, the possibility of subclinical flow, the development of relapses and chronic course. Currently, there are no laboratory criteria to assess the activity of inflammation in brucellosis, the effectiveness of the therapy, predict the outcome of the disease and the risks of recurrence. Available in clinical practice, laboratory tests to assess inflammation, in particular, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, leukocyte level, with brucellosis infection are almost not informative. An important role in the development of the cellular immune response against brucella is played by interferon- $\gamma$ , lipopolysaccharide-binding protein and neopterin. The aim of the study was to determine the level of lipopolysaccharide-binding protein, neopterin and interferon- $\gamma$  in the serum of patients with acute form of brucellosis before and after antibacterial treatment. When studying the blood of patients with acute brucellosis before and after therapy, the indices of neopterin, lipopolysaccharide-binding protein and interferon- $\gamma$  were significantly higher than normal values. The obtained results testify to the persisting active inflammation and the formation of a chronic brucellosis. Determination of the level of lipopolysaccharide-binding protein, neopterin and interferon- $\gamma$  in the blood of patients with brucellosis can be used as markers of inflammation and in monitoring the effectiveness of antibacterial therapy.*

ных бруцеллезом возможно использовать в качестве маркеров воспаления и в мониторинге эффективности антибактериальной терапии.

**Ключевые слова:** бруцеллез, воспаление, иммунный ответ, липополисахарид-связывающий белок, неоптерин, интерферон- $\gamma$ .

## Введение

Бруцеллез является одной из наиболее распространенных зоонозных инфекций в мире и занимает в структуре инфекционной патологии человека значительный удельный вес [1]. В России эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу характеризуется как неустойчивая, с наиболее высоким уровнем заболеваемости в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах [2]. Актуальность проблемы определяется значительными экономическими затратами и потерями общественного здоровья, связанными с заболеваемостью людей бруцеллезом и последствиями перенесенной инфекции. К одной из важнейших составляющих изучаемой проблемы относятся клинические особенности бруцеллеза у людей, в частности возможность терапевтической неудачи существующими схемами антибиотиков, чаще всего в форме рецидивов (от 5% до 15% неосложнённых случаев), и формирование хронического течения бруцеллеза [3]. Вариабельность клинических проявлений, их неспецифичность, возможность субклинического течения, отсутствие выраженного интоксикационного синдрома и формирование очаговых поражений во многом определяют значительные диагностические трудности. Рутинные лабораторные тесты, используемые в клинической практике для оценки активности воспалительных реакций, в частности СОЭ, С-реактивный белок, уровень лейкоцитов, фибриноген и др. при бруцеллезной инфекции, в том числе и в тяжелой форме, малоинформативны, а их показатели весьма вариабельны [1, 4, 5]. В настоящий период отсутствуют лабораторные критерии, позволяющие оценивать активность воспаления при бруцеллезе, эффективность проводимой терапии, прогнозировать исход болезни и риски рецидива. В этой связи исследователями были предприняты попытки поиска лабораторных маркеров и оценки их диагностической значимости в определении тяжести течения и активности воспаления при бруцеллезной инфекции [5–11].

Патогенез бруцеллеза и механизмы, с помощью которых бруцелла выживает в клетках иммунной системы хозяина, являются предметом многочисленных исследований и дискуссий. Возбудитель бруцеллеза *Brucella spp.* относится к факультативным внутриклеточным патогенам, которые могут существовать в фагоците (макрофаге),

**Key words:** brucellosis, inflammation, immune response, lipopolysaccharide-binding protein, neopterin, interferon- $\gamma$ .

дендритных клетках, плацентарных трофобластах и быть устойчивыми к нормальным механизмам уничтожения чужеродных агентов [12, 13]. Именно внутриклеточная выживаемость возбудителя определяет хроническое течение болезни, а также неспособность антибиотика к полной его эрадикации [3]. Основным барьером для бруцеллы является клеточный иммунитет или комплекс реакций, осуществляемых лимфоцитами и фагоцитами, гуморальному же иммунитету принадлежит вспомогательная роль [14]. Адекватный клеточный иммунный ответ имеет решающее значение для эрадикации бруцеллы. Полный анализ геномов *Brucella spp.* не выявил ни одного из классических факторов вирулентности, таких как токсины и фимбрии. К группе причастных к факторам вирулентности относится необычная молекула липополисахарида (ЛПС), расположенная во внешней оболочке бруцеллы [15]. Установлено, что ЛПС гладких штаммов (S-форм) бруцеллы или незнотоксический ЛПС на ранней стадии инфекции участвует в блокировании врожденного и специфического иммунитета, защищает возбудитель от микробицидной активности иммунной системы [16], изменяет способность инфицированной клетки в представлении антигена главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса II, ингибирует апоптоз инфицированных бруцеллой клеток [17, 18]. Таким образом, ЛПС бруцеллы действует как иммуномодулирующий фактор, необходимый для выживания и репликации возбудителя в организме хозяина [19, 20]. При попадании в системный кровоток ЛПС клеточной стенки связывает ЛПС-связывающий белок (ЛПС-белок). Образующийся комплекс ЛПС/ЛПС-белок взаимодействует с CD14 (мембранный гликозилфосфатидилинозитол-связанный белок, экспрессированный на поверхности клеток миелоидного ряда, особенно макрофагах, распознающих липополисахарид), который, в свою очередь, активирует TLR4-рецептор, играющий ключевую роль во врожденном иммунитете и активации его клеточного звена. Данные о роли ЛПС-белка в патогенезе бруцеллеза основаны на результатах экспериментальных исследований на моделях инфицированных животных и клеточных культурах. В этой связи исследования уровня ЛПС-белка в крови больных острым бруцеллезом представляет определенный научный интерес.

Ключевую роль в развитии воспалительных реакций, обусловленных системой клеточного иммунитета, против многочисленных внутриклеточных патогенов, в том числе и бруцеллы, принадлежит интерферону- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ) [14], который продуцируется активированными Т-хелперами 1 типа (Th1) и натуральными киллерами (НК-клетки). Важнейшей функцией ИФН- $\gamma$  является активация эффекторных функций макрофагов, их микробицидности и цитотоксичности, продукции цитокинов, активных радикалов кислорода и простагландинов. Добавление ИФН- $\gamma$  к макрофагам, выделенным от заражённых *Brucella abortus*, ингибирует рост внутриклеточных возбудителей [21]. Доказана роль различных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-10, IL-12), участвующих в контроле размножения бруцеллы в макрофагах, но ИФН- $\gamma$  играет ведущую роль в эрадикации возбудителя и выздоровлении от инфекции [22].

Одним из биологически активных соединений активированных макрофагов и дендритных клеток является неоптерин (пиразино-пиримидиновое гетероциклическое соединение), являющийся продуктом активации гуанозинтрифосфатциклогидролазы 1. Основным индуктором продукции неоптерина иммунокомпетентными клетками является ИФН- $\gamma$  [23]. Стабильность соединения позволяет рассматривать неоптерин как чувствительный маркер клеточного иммунного ответа, в отличие от цитокинов, структура которых очень лабильна [21]. В многочисленных исследованиях продемонстрировано повышение уровня неоптерина при инфекционных болезнях, злокачественных новообразованиях, отторжении трансплантата, ряде сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваний, а также рассматривается его диагностическая значимость в оценке воспаления, степени тяжести течения заболевания и эффективности проводимой терапии [24]. Ограниченное количество исследований по изучению показателей клеточного иммунного ответа в организме человека при заражении бруцеллезом, зачастую противоречивость полученных результатов, отсутствие лабораторных маркеров активности воспаления и эффективности антибактериальной терапии определили направление настоящего исследования.

**Цель исследования** — определение уровня ЛПС-белка, неоптерина и ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови больных с острой формой бруцеллеза до и после лечения антибактериальными препаратами.

#### Материалы и методы

В исследование включены 65 больных острым бруцеллезом, находившихся на лечении в инфекционном отделении городской больницы № 2 г. Ставрополя в период с 2013 по 2016 г. Средний

возраст больных составил  $38,22 \pm 14,96$  лет (варьировал от 20 до 76 лет). Большинство (69,2%) были мужчины ( $n = 45$ ), на долю женщин приходилось 30,7% ( $n = 20$ ). В работе использовалась классификация бруцеллеза Г.П. Руднева (1955). Диагноз бруцеллеза подтвержден лабораторными исследованиями: определение специфических антител с использованием реакций Хеддльсона, Райта, РПГА, ИФА, определение ДНК бруцеллы методом ПЦР, бактериологическим исследованием крови для выделения культуры возбудителя бруцеллеза.

Исследование Ig G, M к *Brucella* выполнялось методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением наборов реагентов *Brucella*IgG(M)-ИФА-БЕСТ на иммуноферментном анализаторе Biotec. Определение ДНК возбудителя бруцеллеза производилось с применением наборов реагентов Amplisens «ИнтерЛабСервис» на амплификаторе ДНК Rotorgene.

Для определения уровня ЛПС-белка в сыворотке крови использовали тест-системы «Nucultbiotech, Netherlands», ELISA. Уровень неоптерина в сыворотке крови определяли с помощью тест-систем Neopterin ELISA «IBL, Hamburg». Определение уровня ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови проводили тест-системами Вектор Бест А-8752 гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ производства «Вектор-БЕСТ», Россия. Группу сравнения составили 32 здоровых донора, сопоставимые по полу и возрасту с больными бруцеллезом, не болевшие этой инфекцией, не вакцинированные против этой инфекции.

Все больные получили курс антибактериальной терапии (доксциклин 200 мг/сут в комбинации с рифампицином 600 – 900 мг/сут на протяжении 45 дней) [26].

Образцы крови были получены при поступлении больного в стационар до назначения антибактериальной терапии и повторно после завершения курса комбинированной антибактериальной терапии. С этой целью пациенты были приглашены на контрольные визиты для осмотра и обследования. В качестве критериев активности воспаления использовали рутинные лабораторные тесты: уровень лейкоцитов (Л), скорость оседания эритроцитов (СОЭ), С-реактивный белок (СРБ).

Специфические лабораторные исследования крови, определение уровня ЛПС-белка, уровня ИФН- $\gamma$  и неоптерина в образцах сыворотки крови проводились в лабораториях Ставропольского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора.

Для определения различий в группах больных людей и здоровых доноров использовали  $t$ -критерий Стьюдента для несвязанных совокупностей. Для определения различий в показателях ЛПС-белка, неоптерина и ИФН- $\gamma$  у больных до и

после антибактериальной терапии использовали *t*-критерий Стьюдента для связанных совокупностей. Уровень статистической значимости принимали равным  $p < 0,05$ . Статистическая обработка полученных данных была проведена при помощи программ STATISTICA 6.0, Microsoft Excel 2007, БИОСТАТ 4.03.

### Результаты и обсуждение

Абсолютное большинство больных (89,2%) с подозрением на острый бруцеллез поступили в специализированный инфекционный стационар по бруцеллезу до 3 месяцев от начала заболевания. Во всех случаях нами отмечена достаточно поздняя диагностика бруцеллеза при первичном обращении за медицинской помощью по месту жительства пациентов (>3 недель от начала первых клинических проявлений). Вероятными причинами такой ситуации являются хорошая переносимость лихорадки и отсутствие специфических или оча-

говых поражений, что характерно для бруцеллезной инфекции в период её генерализации. Всего 7 (10,8%) больных были выявлены и направлены в стационар позднее 3 месяцев от начала заболевания. Почти половина больных (52,3%;  $n = 34$ ), ввиду отсутствия настороженности врачей или самостоятельно, необоснованно получали антибактериальную терапию. Все пациенты были жителями сельской местности. Основные клинические и лабораторные проявления бруцеллеза у обследованных нами больных представлены в таблице 1.

Культуры *Brucella* из крови выделены у 12 больных (18,5%), в том числе у одной больной с проявлениями мастита из пунктата молочной железы. У 10 (15,4%) больных выделена *Br. melitensis* (биовар I, II, III), у 2 больных — *Br. abortus* (биовар III, IV). У всех больных бруцеллез характеризовался среднетяжелым течением. У 16 (24,62%) больных при осмотре были определены только признаки генерализации инфекции без формирования оча-

Таблица 1

### Демографическая характеристика и клиничко-лабораторные показатели больных бруцеллезом

Показатели	Больные (абс./%)
Всего больных/образцов крови	65 (100%)
Демографические показатели:	
мужчины	45 (69,2%)
женщины	20 (30,8%)
Возраст	38,22±14,96 лет
Основные клинические проявления:	
Лихорадка	
до 38°C	7 (10,8%)
38 – 39°C	53 (81,5%)
>39°C	5 (7,7%)
Длительность лихорадки	17,24±9,37 дней
Длительность клинических проявлений	28,54±12,59 дней
Костно-суставные проявления:	
артралгии	65 (100%)
артриты реактивные	37 (56,9%)
сacroиелит	11 (16,9%)
гепато-/спленомегалия	58 (89,2%)
гепатит	34 (52,3%)
орхоэпидидимит	6 (9,2%)
мастит	1 (1,5%)
поражение ЦНС	0
Острый бруцеллез (до 3 мес. от начала заболевания)	58 (89,2%)
Подострый бруцеллез (3 – 6 мес. от начала заболевания)	7 (10,8%)
Степень тяжести:	
легкая	0
средняя	65 (100%)
тяжелая	0
Антибактериальная терапия до поступления в специализированный стационар	34 (52,3%)
Серологические реакции (Райта, Хеддльсона, РПГА, ИФА), диагностические титры	65 (100%)
ПЦР ДНК <i>Brucella</i>	25 (38,5%)
Выделение культуры <i>Brucella</i> из крови всего, в том числе:	12 (18,5%)
<i>B. abortus</i> (биовар III, IV)	2 (3,2%)
<i>B. melitensis</i> (биовар I, II, III)	10 (15,4%)

говых поражений. В большинстве случаев 75,4% (n=49) нами диагностированы очаговые проявления бруцеллезной инфекции в виде костно-суставных проявлений: реактивные артриты (n=37; 56,9%), сакроилеит (n=11; 16,9%). Основными клиническими проявлениями были лихорадка различной степени выраженности, гипергидроз, артралгии, гепатоспленомегалия (n=58 (89,2%)). У большинства больных (n=53; 81,5%) температурная реакция достигала фебрильных цифр (38–39°C), субфебрильная температура наблюдалась у 7 больных (10,8%), и только у 5 (7,7%) человек нами установлена пиретическая лихорадка (>39°C). Продолжительность лихорадки в условиях стационарного наблюдения за больными в среднем составила 17,2±9,4 дней. Из более редких очаговых поражений диагностированы орхоэпидидимиты у 6 больных (9,2%), в одном случае – мастит (1,5%), бруцеллезная этиология которого подтверждена выделением культуры *B. melitensis* из пунктата молочной железы. Поражение печени в виде гепатита с увеличением уровня печеночных ферментов (аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза в пределах 4 N) и умеренной гипербилирубинемией (не более 50 мкмоль/л) нами выявлено у 34 чел. (52,3%). Продолжительность описанных клинических проявлений бруцеллеза в период стационарного наблюдения составила 28,5±12,6 дней.

Из рутинных лабораторных показателей, позволяющих оценивать активность воспаления, нами проведена оценка количества Л, СОЭ и СРБ в крови больных бруцеллезом (табл. 2).

Количество Л в крови больных бруцеллезом при поступлении в стационар и после окончания курса антибактериальной терапии не отличалось от нормальных значений. Уровень СОЭ в острый период инфекции и лихорадки превышал нормальные значения и в среднем составил 20,9±1,9 мм/ч (p<0,05), а после окончания антибактериальной терапии показатель СОЭ (11,7±1,7 мм/ч) не отличался от нормальных значений. Количество СРБ в крови больных при поступлении до назначе-

ния антибактериальной терапии было выше уровня нормальных значений и составляло 15,6±3,1 мг/л (p<0,05), а после курса антибиотиков данный показатель не отличался от нормы.

При исследовании крови больных острым бруцеллезом до получения больными специфической антибактериальной терапии нами установлены достоверно превышающие нормальные значения показатели ЛПС-белка (42,8±1,4 нг/мл), неоптерина (15,83±1,99 нмоль/л) и ИНФ-γ (M=17,29±1,45 пг/мл) (p<0,05). После завершения курса антибактериальной терапии мы не выявили снижения уровней ЛПС-белка (40,52±1,4 нг/мл), неоптерина (12,11±1,8 нмоль/л) и ИФН-γ (12,92±1,01 пг/мл). Полученные показатели достоверно не отличались от исходных до лечения антибиотиками (p<sub>1,3</sub>>0,05) и, соответственно, оставались выше уровня в контрольной группе здоровых людей (p<0,05). При проведении корреляционно-регрессионного анализа между уровнями ИНФ-γ и неоптерина у больных как до назначения антибиотиков, так и после завершения лечения статистически значимой связи не выявлено (p>0,05).

Адекватный клеточный иммунный ответ определяет исход заражения бруцеллезом. Защитный иммунитет против внутриклеточных бактерий зависит от взаимодействия между различными подмножествами Т-клеток и цитокинами. Установлена ключевая роль ИФН-γ в каскаде воспалительных реакций, связанных с развитием клеточного иммунитета, направленного против целого ряда внутриклеточных патогенов. Выявленный нами высокий уровень ИФН-γ в крови больных острым бруцеллезом является закономерным отражением активации клеточного иммунного ответа. Аналогичные данные получены при исследовании на модели инфицированных мышей и в крови больных людей [4, 10]. После курса антибактериальной терапии в крови больных бруцеллезом сохраняется высокий уровень ИФН-γ с определённой тенденцией к снижению, но значительно превышающий уровень контрольной группы здоровых доноров.

Таблица 2

### Сравнение острофазовых и гематологических показателей крови у больных острым бруцеллезом и здоровых людей

Показатели	Здоровые n=32; M±m	До лечения антибиотиками n=65; M±m	После лечения антибиотиками n=65; M±m
ЛПС-белок, нг/мл	6,94±0,27	42,82±1,44*	40,52±1,4*
Неоптерин, нмоль/л	7,11±0,46	15,83±1,99*	12,11±1,8*
ИНФ-γ, пг/мл	7,7±0,2	17,29±1,45*	12,92±1,01*
СРБ, мг/л	5,26±0,97	15,63±3,05*	7,15±1,26
СОЭ, мм/ч	9,25±1,2	20,91±1,94*	11,66±1,75
Л, 10 <sup>9</sup> /л	5,29±2,54	6,31±0,75	6,08±1,26

\*p&lt;0,05 в сравнении со здоровыми донорами.

Полученные результаты свидетельствуют о сохраняющейся активности клеточного иммунного ответа, вероятно, продукции клетками Th1 и других провоспалительных цитокинов, стимулирующих цитотоксические клетки и Т-эффекторы гиперчувствительности замедленного типа. В зону локального воспаления или место, где остаются жизнеспособными бруцеллы, постоянно мигрируют моноциты/макрофаги. Функция активированных макрофагов направлена на элиминацию возбудителя, но при постоянной стимуляции в условиях окислительного стресса и продукции активированных форм кислорода развивается местное воспаление. Таким образом, формируются гранулёмы, являющиеся морфологическим субстратом хронической бруцеллезной инфекции [25].

Одним их серологических маркеров активации Th1-типа иммунного ответа является неоптерин, образующийся в активированных моноцитах и макрофагах из гуанозинтрифосфата. В крови больных острым бруцеллёзом нами установлен высокий уровень неоптерина, в два раза превышающий уровень показателей в контрольной группе. После курса антибактериальной терапии в крови больных бруцеллёзом при нормальной температурной реакции, отсутствии жалоб и регрессии всех клинических проявлений сохранялся высокий уровень неоптерина, достоверно превышающий нормальные значения и не отличающийся от исходного уровня.

Полученные нами данные уровня неоптерина и ИФН- $\gamma$  в крови больных острым бруцеллёзом свидетельствуют об активных воспалительных реакциях на клеточном уровне, индуктором которых является сохраняющаяся антигенная нагрузка. При бруцеллезе микробиологическая эрадикация не может являться приемлемым критерием в оценке терапевтической эффективности оптимальными схемами антибиотиков вследствие незавершенного фагоцитоза и возможности длительной персистенции патогена. Результаты исследований демонстрируют возможность долгосрочного присутствия жизнеспособных бактерий в организме человека в клеточном резервуаре, несмотря на антибактериальную терапию. После лечения антибиотиками острой формы бруцеллеза были выявлены положительные результаты ДНК бруцеллы методом ПЦР у 87% больных и у 70% спустя 12 месяцев [28]. Установленный нами высокий уровень ЛПС-белка подтверждает версию длительной персистенции возбудителя, несмотря на лечение антибиотиками и отсутствие полной эрадикации возбудителя. ЛПС бруцеллы выступает как иммуномодулирующий фактор, необходимый для выживания и репликации возбудителя в организме хозяина [15]. На ранних стадиях бруцеллезной инфекции вследствие низкой иммуностимулирующей активности ЛПС бруцеллы помогает возбу-

дителю избежать врожденного иммунного распознавания, а на поздних стадиях обеспечивает благоприятные условия для незавершенного фагоцитоза и развития хронического заболевания. Таким образом, патогенетической основой практически закономерной трансформации острой стадии инфекции в хроническую является несостоятельность врожденного и адаптивного иммунитета в отношении бруцелл с созданием условий для незавершенного фагоцитоза и долгосрочного внутриклеточного паразитирования. ИФН- $\gamma$ , неоптерин и ЛПС-белок относятся к иммуномодулирующим факторам реакции иммунитета на возбудителя.

### Заключение

В ходе нашего исследования установлено, что в острой фазе бруцеллеза происходит повышение уровня ЛПС-белка, неоптерина и ИФН- $\gamma$  с последующим его снижением при проведении курса антибактериальной терапии, но так и не достигающим уровня здоровых людей.

Исход естественного течения бруцеллеза у человека определяется результатом иммунных реакций между бруцеллой и иммунной системой в виде полной эрадикации патогена или развитием внутриклеточного паразитизма с формированием хронического заболевания. Такая особенность болезни определяет потребность в продолжительном комбинированном лечении острой стадии бруцеллеза лекарственными препаратами, усиливающими терапевтический эффект антибиотиков. Изучение уровня неоптерина, ЛПС-белка и ИФН- $\gamma$  в крови больных бруцеллезом позволяет расширить наше понимание клеточного иммунного ответа и определить возможные терапевтические стратегии на разных стадиях инфекционного процесса.

### Литература

1. Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N. et al. The new global map of human brucellosis // *Lancet Infectious Diseases*. 2006. №6. P. 91-99.
2. Обзор эпидемиологический и эпизоотологической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2016 году и прогноз на 2017 год // ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора [Официальный сайт]. URL: <http://www.snipchi.ru/updoc/Obzor.pdf> (дата обращения: 16.03.2018).
3. Ariza J., Bosilkovski M., Cascio A. et al. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations. *PLOS medicine*. 2007. Volume 4, Issue 12, e317. P. 1872-1878.
4. Demirdag K., Ozden M., Kalkan A. et al. Serum cytokine levels in patients with acute brucellosis and their relation to the traditional inflammatory markers // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2003. № 39. P. 149-153.
5. Aktug Demir N., Ural O. Serum interleukin-8 levels may predict relapse in brucellosis // *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2012. № 42 (5). P. 796-801.
6. Günel Ö., Barut S., Söğüt E. et al. Comparison between serum neopterin, procalcitonin, high-sensitivity C-reactive

protein concentrations and erythrocyte sedimentation rates of patients with brucellosis and extracellular bacterial infections // *Turkish Journal of Biochemistry*. 2014. №39 (1). P. 37–42.

7. Павлова, О.М. Клинико-иммунологические особенности бруцеллеза : автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.М. Павлова. – Ростов-на-Дону, 2004. – 24 с.

8. Refik M., Mehmet N., Durmaz R., Ersoy Y. Cytokine profile and nitric oxide levels in sera from patients with brucellosis // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2004. №37. P. 1659-1663.

9. Asaei S., Rasouli M., Moravej A. Interleukin-8 but not interleukin-6 variant may affect susceptibility to brucellosis // *Iranian Journal of Immunology*. 2013. №10 (3). P. 158-166.

10. Ahmed K., Al-Matrouk K.A., Martinez G. et al. Increased serum levels of interferon- $\gamma$  and interleukin-12 during human brucellosis // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1999. №61 (3). P. 425–427.

11. Ayaslioglu E., Tekeli E., Birengel S. Significant elevation of serum soluble CD14 levels in patients with brucellosis // *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2005. №58. P. 11-14.

12. Young E.J., Borchert M., Kretzer F.L., Musher D.M. Phagocytosis and killing of Brucella by human polymorphonuclear leukocytes. // *The Journal of Infectious Diseases*. 1985. № 151. P. 682-690.

13. Roop R.M., Gaines J.M., Anderson E.S. et al. Survival of the fittest: how Brucella strains adapt to their intracellular niche in the host. // *Medical Microbiology and Immunology*. 2009. № 198. P. 221–238.

14. Skendros P., Boura P. Immunity to brucellosis. // *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 2013. №32 (1). P. 137-147.

15. Smith L.D., Ficht T.A. Pathogenesis of Brucella. // *Critical Reviews in Immunology*. 1990. №17. P. 209-230.

16. Lapaque N., Moriyon I., Moreno E., Gorvel J.P. Brucella lipopolysaccharide acts as a virulence factor. // *Current Opinion in Microbiology*. 2005. № 8. P. 60-66.

17. Gross A., Terraza A., Ouahrani-Bettache S. et al. In vitro Brucella suis infection prevents the programmed cell death of human monocytic cells. // *Infection and Immunity*. 2000. № 8. P.342–351.

18. Tolomeo M., Di Carlo P., Abbadessa V. et al. Monocyte and lymphocyte apoptosis resistance in acute and chronic brucellosis and its possible implications in clinical management. // *Clinical Infectious Diseases*. 2003. № 36. P. 1533-1538.

19. Cardoso P.G., Macedo G.C., Azevedo V., Oliveira S.C. Brucella spp. noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. // *Microbial Cell Factories* [Офф. сайт]. 2006. №5-13. URL: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-5-13> (дата обращения 16.08.2018).

20. Celli J., de Chastellier C., Franchini D.M. et al. Brucella evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum. // *Journal of Experimental Medicine*. 2003. №198. P. 545–556.

21. Akgul E.Ö., Aydin İ., Çaycı T. et al. The indicator of cellular immune response in body fluids: neopterin // *Gulhane Medical Journal*. 2013. №55(3). P. 237-243.

22. Akbulut H. H., Kilic S. S., Bulut V., Ozden M. Determination of intracellular cytokines produced by Th1 and Th2 cells using flow cytometry in patients with brucellosis. // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2005. № 45. P. 253–258.

23. Свиридов, Е.А. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете / Е.А. Свиридов, Т.А. Телегина // *Успехи биологической химии*. – 2005. – № 45. – С. 355–390.

24. Дудина, К. Р. Неоптерин – потенциальный диагностический и прогностический маркер при инфекционных заболеваниях / К.Р. Дудина [и др.] //

Казанский медицинский журнал. – 2014. – Т. 95, № 6. – С. 938–943.

25. Белозеров, Е.С. Бруцеллез / Е.С. Белозеров. – Л.: Медицина, 1985. – 184 с.

26. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – С. 404–405.

28. Vrioni G., Pappas G., Priavali E. et al. An eternal microbe: Brucella DNA load persists for years after clinical cure. // *Clinical Infectious Diseases*. 2008. №46 (12). P. 131-136.

## References

1. Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N. et al. The new global map of human brucellosis // *Lancet Infectious Diseases*. 2006. №6. P. 91-99.

2. Overview of the epidemiological and epizootic situation of brucellosis in the Russian Federation in 2016 and the forecast for 2017 // Federal Governmental Health Agency Stavropol anti Plague Institute of Rospotrebnadzor [Internet]. URL: <http://www.snipchi.ru/updoc/Obzor.pdf> (cited 2018 July 16).

3. Ariza J., Bosilkovski M., Cascio A. et al. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations. *PLOS medicine*. 2007. Volume 4, Issue 12, e317. P. 1872-1878.

4. Demirdag K., Ozden M., Kalkan A. et al. Serum cytokine levels in patients with acute brucellosis and their relation to the traditional inflammatory markers // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2003. № 39. P. 149-153.

5. Aktug Demir N., Ural O. Serum interleukin-8 levels may predict relapse in brucellosis // *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2012. № 42 (5). P. 796-801.

6. Günel Ö., Barut S., Söğüt E. et al. Comparison between serum neopterin, procalcitonin, high-sensitivity C-reactive protein concentrations and erythrocyte sedimentation rates of patients with brucellosis and extracellular bacterial infections // *Turkish Journal of Biochemistry*. 2014. №39 (1). P. 37–42.

7. Pavlova O.M. Kliniko-immunologicheskie osobennosti brucelleza [Clinical and immunological features of brucellosis] [master's thesis]. Rostov-na-Donu (Russia); 2004. 24p (in Russian)

8. Refik M., Mehmet N., Durmaz R., Ersoy Y. Cytokine profile and nitric oxide levels in sera from patients with brucellosis // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2004. №37. P. 1659-1663.

9. Asaei S., Rasouli M., Moravej A. Interleukin-8 but not interleukin-6 variant may affect susceptibility to brucellosis // *Iranian Journal of Immunology*. 2013. №10 (3). P. 158-166.

10. Ahmed K., Al-Matrouk K.A., Martinez G. et al. Increased serum levels of interferon- and interleukin-12 during human brucellosis // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1999. №61 (3). P. 425–427.

11. Ayaslioglu E., Tekeli E., Birengel S. Significant elevation of serum soluble CD14 levels in patients with brucellosis // *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2005. №58. P. 11-14.

12. Young E.J., Borchert M., Kretzer F.L., Musher D.M. Phagocytosis and killing of Brucella by human polymorphonuclear leukocytes. // *The Journal of Infectious Diseases*. 1985. № 151. P. 682-690.

13. Roop R.M., Gaines J.M., Anderson E.S. et al. Survival of the fittest: how Brucella strains adapt to their intracellular niche in the host. // *Medical Microbiology and Immunology*. 2009. № 198. P. 221–238.

14. Skendros P., Boura P. Immunity to brucellosis. // *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 2013. №32 (1). P. 137-147.

15. Smith L.D., Ficht T.A. Pathogenesis of Brucella. // *Criti-*

cal Reviews in Immunology. 1990. №17. P. 209-230.

16. Lapaque N., Moriyon I., Moreno E., Gorvel J.P. Brucella lipopolysaccharide acts as a virulence factor. // Current Opinion in Microbiology. 2005. № 8. P. 60-66.

17. Gross A., Terraza A., Ouahrani-Bettache S. et al. In vitro Brucella suis infection prevents the programmed cell death of human monocytic cells. // Infection and Immunity. 2000. № 8. P. 342–351.

18. Tolomeo M., Di Carlo P., Abbadessa V. et al. Monocyte and lymphocyte apoptosis resistance in acute and chronic brucellosis and its possible implications in clinical management. // Clinical Infectious Diseases. 2003. № 36. P. 1533-1538.

19. Cardoso P.G., Macedo G.C., Azevedo V., Oliveira S.C. Brucella spp. noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. // Microbial Cell Factories [Internet]. 2006. №5-13. URL: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-5-13> (cited 16.08.2018).

20. Celli J., de Chastellier C., Franchini D.M. et al. Brucella evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum. // Journal of Ex-

perimental Medicine. 2003. №198. P. 545–556.

21. Akgul E., Aydin., Ayçi T. et al. The indicator of cellular immune response in body fluids: neopterin // Gulhane Medical Journal. 2013. №55(3). P. 237-243.

22. Akbulut H. H., Kilic S. S., Bulut V., Ozden M. Determination of intracellular cytokines produced by Th1 and Th2 cells using flow cytometry in patients with brucellosis. // FEMS Immunology and Medical Microbiology. 2005. № 45. P. 253–258.

23. Sviridov E. A., Telegina T.A. Uspehi biologicheskoy himii. 2005; 45: 355—390 (in Russian).

24. Dudina K. R., Kutateladze M. M., Znojko O.O. et al. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2014. 95 (6): 938-943.

25. Belozherov E.S. Brucellosis. Leningrad: Medicine, 1985. 184 p (in Russian).

26. Jushhuk N.D., Vengerov Ju. Ja. Infectious Diseases: National Leadership. Edited by. N.D. Jushhuk, Ju. Ja. Vengerov. Moscow: GJeOTAR-Media, 2010. P.404-405.

28. Vrioni G., Pappas G., Priavali E. et al. An eternal microbe: Brucella DNA load persists for years after clinical cure. // Clinical Infectious Diseases. 2008. №46 (12). P. 131-136.

*Авторский коллектив:*

*Санникова Ирина Викторовна* — профессор кафедры инфекционных болезней и фтизиатрии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета, д.м.н.; тел.: 8(8652)24-19-86, e-mail: dr.sannikova@gmail.com

*Махия Ольга Васильевна* — врач-инфекционист Городской поликлиники № 2 г. Ставрополя; тел.: 8(8652)24-19-86, e-mail: olgapoltavskaya@yandex.ru

*Ковалевич Надежда Игоревна* — заведующая научно-профилактической клинико-диагностической лабораторией Ставропольского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора, к.м.н.; тел.: 8(8652)26-03-12, e-mail: n.kovalevich@list.ru

*Саркисян Нушик Сааковна* — врач клинической лабораторной диагностики научно-профилактической клинико-диагностической лабораторией Ставропольского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора, к.м.н.; тел.: 8(8652)26-03-12, e-mail: nyshik25@yandex.ru

*Титоренко Марина Владимировна* — доцент инфекционных болезней и фтизиатрии с курсом Ставропольского государственного медицинского университета, к.м.н.; тел.: 8(8652)24-19-86, e-mail: marititorenko@gmail.com