

УДК: 616 - 092.18:616 - 006

Б.С. Хышиктуев, З.Ц. Ринчинов, П.Б. Цыдендамбаев, Р.Ю. Хлобыстин

## НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ НЕОПТЕРИНА У ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

***Резюме.** Разработанный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии неоптерина позволил выявить некоторые закономерности уровня неоптерина у пациентов со злокачественными опухолями. В целом, во всех исследуемых группах с различными нозологическими формами рака зарегистрирована гиперпродукция неоптерина, обусловленная активаторным влиянием ИФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ .*

**АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ.** В структуре причин смертности населения по России и в мире онкологическая патология занимает 3-е место после сердечно-сосудистых заболеваний и травм [2]. Ежегодно в стране более 120 тысяч человек признаются инвалидами по этой причине, что свидетельствует о чрезвычайно высокой значимости ранней диагностики, профилактики и лечения этих заболеваний [1].

В связи с этим поиск новых методов ранней и дифференциальной диагностики, критериев прогноза злокачественных опухолей, а также установление новых закономерностей, характерных для злокачественного роста, является весьма актуальным. В этом плане перспективными выглядят исследования, связанные с изучением уровня неоптерина. В настоящее время неоптерин рассматривается как маркер активации клеточного иммунитета [3, 4, 5, 6, 15]. Это связано прежде всего с тем, что измерение биологически более инертного метаболита для дополнительной оценки состояния клеточного звена иммунитета представляет максимальный интерес. Особенно акцентируется тот факт, что изменение его концентраций в крови отражает совместное действие различных цитокинов на популяцию моноцитов/макрофагов, стимулированных  $\gamma$ -интерфероном [6, 11]. Из данных литературы известно, что уровень неоптерина повышается при многих онкологических заболеваниях (раке поджелудочной

железы, легких, печени, яичников, молочной железы) [7, 10, 12, 13 15, 17, 19].

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 78 пациентов, страдающих онкологической патологией, из них 31 больной раком желудка (РЖ), 16 - толстого кишечника (РТК), 20 - молочной железы (РМЖ) и 11 - почки (РП). Исследования выполнялись до и после оперативного лечения.

Для установления диагноза и характеристики нозологических форм рака мы пользовались международной классификацией по системе TNM и гистологической классификацией.

В группе больных раком желудка (n=31) преобладали мужчины (58,1%). Средний возраст пациентов - 60,6 года. Среди них больные с поражением антрального отдела органа составили 38,6%, а у 61,4% местом повреждения было тело желудка, причем 66,5% опухолей локализовались в нижней трети. Согласно международной классификации, распределение пациентов по стадиям злокачественного процесса выглядело следующим образом: у 46,7% злокачественное новообразование выявлено на 2-й, а у 53,3% - на стадии 3а. Макроскопическая картина характеризовалась преобладанием язвенно-инфильтративной формы. Она обнаружена у 26 пациентов (83,9%). Полиповидная форма рака выявлена у 3 пациентов (9,7%); по одному случаю с блюдцеобразной и грибовидной формами (3,2%) соответственно. Гистологический тип опухоли у всех обследованных данной группы - аденокарцинома с различной степенью дифференцировки: в 79% случаев - умереннодифференцированный, 13% - низкодифференцированный, 8% - высокодифференцированный.

В группе больных раком толстого кишечника (n=16) преобладающее число составляли женщины (56,3%). Средний возраст пациентов - 64,1 года. У этих пациентов регистрировались поражения различных отделов ободочной кишки (9 наблюдений - 56,3%). Из них у 4-х патологический процесс локализовался в ее восходящем отделе, у 2-х в области печеночного угла, а в 3-х случаях местом повреждения была сигмовидная кишка. Разные участки прямой кишки оказались одинаково чувствительны к возникновению опухоли (в 3-х случаях - в среднеампулярном, в 2-х - в ректосигмоидном, в 2-х - в верхнеампулярном отделах). У всех больных злокачественная опухоль обнаружена на стадии 2а (68,8%) и 2б (31,2%). Изучение макропрепаратов позволило сделать следующий вывод: чаще всего встречалась язвенно-инфильтративная форма (62,5%).

Реже обнаруживался рак других вариаций: полиповидная форма выявлена у 3 пациентов (18,8%); грибовидная у 2 (12,5%); циркулярная только у 1 больного (6,2%). Гистологически для опухолей у всех больных характерны аденокарциномы с различной степенью дифференцировки: наибольший процент (77%) случаев приходился на умеренно-дифференцированный рак, меньше всего (6,2%) - на низкодифференцированный, в 16,8% обнаруживались высокодифференцированные аденокарциномы.

В группе больных раком молочной железы (n=20) средний возраст составлял 55,4 года. У 11 из них опухолевый процесс выявлен на стадии 2а, у 9 - на стадии 2б. Гистологически у всех пациентов диагностирован инфильтрирующий протоковый рак.

В группу больных раком почки (n=11) вошли 9 мужчин (81,2%) и 2 женщины (18,2%). Средний возраст составил 63,7 лет. У 7 из них выявлена 1 стадия поражения, у 4 пациентов - 2 стадия. Гистологическое исследование выявило у всех пораженных почечно-клеточный рак.

Диагноз обследованным больным был выставлен на основании клинико-анамнестических данных, подтвержденных лабораторно-инструментальными методами исследования. Всем пациентам забор крови проводился дважды: в момент поступления в стационар для проведения хирургического лечения и перед выпиской из стационара.

В контрольную группу вошли 20 человек обоего пола (11 мужчин и 9 женщин), которые по результатам клинического, лабораторного обследований отнесены к группе здоровых лиц. Возрастная амплитуда колебалась в пределах от 19 до 54 лет, при этом средний возраст составлял 34,3 года.

У всех обследуемых выявлялись уровни неоптерина методом ВЭЖХ анализа с УФ и флюориметрической детекцией [9]. Установление концентраций ФНО- $\alpha$ , ИФ- $\gamma$  и раково-эмбрионального антигена проводили методом твердофазного ИФА с применением наборов реагентов ЗАО "Вектор-Бест" (г. Новосибирск).

Анализ полученных данных проведен с помощью метода вариационной статистики с определением различий по критерию Стьюдента. Статистический обсчет выполнялся на компьютере IBM Pentium-4 пакетом "Microsoft Excel professional for Windows XP".

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** С помощью разработанного нами метода хроматографи-

ческого анализа изучена концентрация неоптерина у больных с впервые диагностированными опухолевыми процессами в различных органах до и после проведения хирургического лечения.

Предварительное исследование значений данного вещества у здоровых лиц разного возраста и пола не обнаружило достоверных отличий, обусловленных этими факторами, что также подтверждается работами [8, 14, 16].

Анализ результатов у больных с разными стадиями, морфологическими формами раков и степени дифференцировки опухолей внутри одной нозологической формы, значимых различий в концентрации неоптерина не выявил. Это позволило сравнить данные величины, не учитывая влияния вышеперечисленных факторов.

Наличие злокачественного процесса приводило к повышению продукции неоптерина у всех обследуемых пациентов, за исключением лиц, страдающих раком почки (табл. 1). Так, его значения возрастали на 70,9% ( $p < 0,001$ ), 101,6% ( $p < 0,001$ ) и 62,5% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем при раке желудка, толстого кишечника и молочной железы соответственно. Следовательно, уровень данного метаболита при указанных локализациях достоверно превышал таковой при раке почки. Как видно из таблицы 1, наибольшее содержание неоптерина было характерным для пациентов с РТК, цифры которого были на 18,0% ( $p < 0,01$ ) и 24,1% ( $p < 0,001$ ) больше, чем у больных РЖ и РМЖ соответственно. Подобное явление, по всей вероятности, обусловлено усилением процессов реабсорбции неоптерина в толстом кишечнике и, главным образом, возросшей продукцией ИФ- $\gamma$  (см. ниже).

Хирургическое лечение вызвало неоднозначный эффект. После операции на желудке содержание неоптерина значительно уменьшилось на 28,5%, ( $p < 0,001$ ), но не достигало уровня здоровых лиц. Оперативное вмешательство на толстом кишечнике провоцировало дальнейший рост цифр изучаемого соединения, которые составляли 130,5% ( $p < 0,001$ ) от таковых до лечения. Необходимо отметить, что маммэктомия не влияла на содержание неоптерина в сыворотке крови, а оперативное лечение больных раком почки приводило к снижению его величин почти на 40% ( $p < 0,001$ ), причем они были также статистически значительно ниже таковых у здоровых лиц.

Было бы некорректно рассматривать изменения концентрации неоптерина при любых физиологических и патологических процессах без изучения факторов, влияющих на его продукцию.

Таблица 1  
Содержание неоптерина, ИФ-γ, ФНО-α в сыворотке крови у онкологических больных до и после хирургического лечения (M±m)

Обследуемые группы	Неоптерин (нмоль/л)	
	До лечения	После лечения
Контроль (n=20)	9,44±0,39	
Рак желудка (n=31)	16,13±0,43*	11,54±0,48*, **
Рак толстого кишечника (n=16)	19,03±0,97*	24,83±0,80*, **
Рак молочной железы (n=20)	15,34±0,54*	14,22±0,62*
Рак почки (n=11)	9,76±0,85	5,88±0,67*, **
	ИФ-γ (пг/мл)	
	До лечения	После лечения
Контроль (n=20)	12,83±0,83	
Рак желудка (n=31)	30,26±3,19*	15,22±2,77**
Рак толстого кишечника (n=16)	31,67±3,29*	16,51±2,57**
Рак молочной железы (n=20)	21,43±2,69*	22,44±2,19*
Рак почки (n=11)	24,53±2,03*	19,03±1,26*, **
	ФНО-α (пг/мл)	
	До лечения	После лечения
Контроль (n=20)	2,74±0,46	
Рак желудка (n=31)	5,85±0,27*	3,24±0,44**
Рак толстого кишечника (n=16)	6,14±0,49*	4,06±0,66**
Рак молочной железы (n=20)	4,15±0,46*	4,38±0,71
Рак почки (n=11)	3,86±0,59	5,70±0,51*, **

Примечание: \* - достоверные различия по сравнению с контролем; \*\* - достоверные отличия между показателем до и после лечения; достоверность различий между группами больных указана в тексте

Среди них главным индуктором его синтеза является интерферон-γ, который активирует ключевой фермент в цепочке превращения гуанозинтрифосфата в неоптерин [18].

В меньшей степени регулируют его секрецию ФНО-α и другие цитокины, причем первый вызывает опосредованную супериндукцию интерферон-зависимого синтеза неоптерина [5].

Увеличение концентрации ИФ-γ относительно контрольной группы зарегистрировано во всех исследуемых группах онкологических больных на момент поступления в стационар (табл. 1) Наиболее значимый подъем величин данного лимфокина обнаружен в группах с РЖ и РТК. Их значения возрастали на 135,9% (p<0,05) и на 146,8% (p<0,05) по сравнению с контролем соответственно. У больных раком молочной железы и почки цифры ИФ-γ были также выше таковых у здоровых лиц, но они достоверно были меньше, чем у пациентов с РЖ и РТК. При злокачественном

поражении молочной железы содержание ИФ-γ составляло 70,7% (p<0,05) и 67,7% (p<0,05) от его значений при РЖ и РТК соответственно, а при РП - 81,0% (p<0,05) и 77,5% (p<0,05) соответственно.

После проведенного хирургического лечения уровень данного цитокина у пациентов с РЖ и РТК резко уменьшался почти в 2 раза (p<0,001 и p<0,001) по сравнению с исходными значениями и не отличался от величин контрольной группы. Незначительное, но достоверное падение этого показателя наблюдалось у лиц с раком почки, а удаление злокачественного очага в молочной железе никаким образом не сказывалось на продукции ИФ-γ. Необходимо подчеркнуть, что у пациентов этих двух групп содержание данного лимфокина значительно превышало контрольные цифры (табл. 1).

Несколько похожая направленность сдвигов была зарегистрирована нами при изучении содержания ФНО-α (табл. 1). Повышение его концентрации в 2,1 (p<0,01), 2,2 (p<0,05) и 1,5 (p<0,05) раза по сравнению с контролем зарегистрировано при раке желудка, толстого кишечника и рака молочной железы соответственно.

При локализации опухолевого процесса в почке отмечалась лишь тенденция к росту этого цитокина, при этом его цифры были статистически значимо меньше на 34,0% (p<0,01) и 37,1% (p<0,01), чем у пациентов с РЖ и РТК соответственно. Аналогичная закономерность была характерна и для больных РМЖ - уровень ФНО-α составлял лишь 70,9% (p<0,001) и 67,6% (p<0,001) от такового при раке желудка и колоректальном раке соответственно.

Хирургическое лечение у пациентов с раком толстого кишечника вызвало снижение цифр ФНО-α на 66,1% (p<0,05) и достоверно не отличалось от величин контроля. Подобный эффект наблюдался и при лечении рака желудка. У этих пациентов его уровень снизился на 55,4% (p<0,01). В группе больных раком почки наблюдалась обратная картина. Оперативное лечение вызвало повышение продукции ФНО-α на 46% (p<0,05) по сравнению с величинами до лечения и статистически значимо превышало контрольные цифры на 108% (p<0,01). Концентрации изучаемого цитокина у больных, прооперированных по поводу РМЖ, оставались в тех же самых пределах, что и до лечения (табл. 1).

Таким образом, резюмируя представленные результаты, можно констатировать, что у больных со злокачественным поражением желудочно-

кишечного тракта (рак желудка, колоректальный рак) и молочной железы регистрируется повышение содержания неоптерина в сыворотке крови, что свидетельствует об активации моноцитарно-макрофагального звена иммунитета. При раке почки уровень неоптерина не изменяется. Хирургическое лечение обследуемых больных приводит к снижению концентрации неоптерина только у лиц с раком желудка и почки, при раке толстого кишечника его продукция ещё больше усиливается, у пациентов с раком молочной железы остается на прежнем уровне. У больных раком желудка, колоректальным раком гиперпродукция неоптерина сопряжена с активаторным влиянием ИФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ , уровень которых значительно возрастает. Наличие злокачественного процесса в молочной железе приводит к росту значений неоптерина за счет стимулирующего эффекта, прежде всего, ФНО- $\alpha$ ; после хирургического лечения высокое содержание неоптерина поддерживается за счет активации его синтеза ИФ- $\gamma$ .

#### ЛИТЕРАТУРА

1. "Государственный доклад о состоянии здоровья населения Российской Федерации за 2003 год" // Здравоохранение Российской Федерации. - 2004. - №3. - С. 13-23.
2. "Государственный доклад о состоянии здоровья населения Российской Федерации за 2004 год", // Здравоохранение Российской Федерации. - 2005. - №4. - С. 15-20.
3. Неоптерин: новый иммунологический маркер аутоиммунных ревматических заболеваний / Е.Л. Насонов и др. // Клини. Медицина. - 2000. - № 8. - С. 43-46.
4. Орлова О.В. Диагностическое значение неоптерина при инфицировании вирусами пациентов с пересаженным сердцем / О.В. Орлова, Р.Б. Манцаева, О.П. Шевченко // Клини. лаб. диагностика. - 2006. - №2. - С. 10-12.
5. 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. - Т.45. - С. 355-390.
6. Шевченко О.П. Неоптерин / О.П. Шевченко, Г.А. Олефиренко, О.В. Орлова // Лаб. Медицина. - 2001. - № 4. - С. 55-61.
7. Determination of neopterin - a marker of cellular immunity in gastrointestinal and pancreatic carcinoma / Conrad F. et al. // Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines. - 1984. - Vol. 3. - P. 357-366.
8. Factors influencing serum neopterin concentrations in a population of blood donors / H. Schennach et al. // Clin. Chem. - 2002. - Vol. 48(4). - P. 643-645.
9. HPLC Determination of Neopterin in Biological Liquids for Clinical Purposes / A.A. Dutov, et al. // Russian Journal of Physical Chemistry A. - 2007. - Vol. 81, No. 3. - P. 421-423.
10. Increased production of immune activation marker neopterin by colony-stimulating factors in gynecological cancer patients / C. Marth et al. // Int. J. Cancer. - 1994. - Jul 1; 58(1). - P. 20-23.
11. Interferon-gamma modifies cytokine release in vitro by monocytes from surgical patients / C. Schinkel et al. // J. Trauma. - 2001. - Feb; 50(2). - P. 321-323.
12. Lewenhaupt A. Serum levels of neopterin as related to the prognosis of human prostatic carcinoma / A. Lewenhaupt, P. Ekman, P. Eneroth et al. // Europ. Urol. - 2001. - 12. - 422-425.
13. Modulation of neopterin formation and tryptophan degradation by Th1- and Th2-derived cytokines in human monocytic cells / G. Weiss et al. // Clin. Exp. Immunol. - 1999. - Jun; 116(3). - P. 435-440.
14. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: application in malignant disease / G. Reibnegger et al. // Cancer Detect. Prev. - 1991. - Vol. 15. - P. 483-490.
15. Neopterin as a marker for immune system activation / C. Murr et al. // Curr. Drug Metab. - 2002. - Apr; 3(2). - P. 175-187.
16. Neopterin concentrations in fetal and maternal blood: a marker of cell-mediated immune activation / N. Radunovic et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. - 1999. - Jul; 181(1). - P. 170-173.
17. Prognostic significance of urinary neopterin levels in patient with hepatocellular carcinoma / H. Kawasaki et al. // Tohoku J. exp. Med. - 1988. - Vol. 155. - P. 311-318.
18. Shintaku H. Disorders of tetrahydrobiopterin metabolism and their treatment / H. Shintaku // Curr. Drug Metab. - 2002. - Vol. 3. - P. 123-131.
19. Urinary neopterin in patients with advanced colorectal carcinoma / B. Melichar et al. // Int. J. Biol. Markers. - 2006. - Jul-Sep 21(3). - P. 190-198.