

## НЕОПТЕРИН ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ С ВРОЖДЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ И ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Пищулина М.Э., Цирульникова И.Е., Муратова Н.Ш., Цирульникова О.М., Готье С.В.

ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

Неоптерин (НП) является маркером активации макрофагов, а измерение его уровня в плазме крови используется для мониторинга острого отторжения после трансплантации сердца, почки. Целью настоящего исследования было изучить содержание неоптерина в плазме крови детей до и после родственной трансплантации фрагмента печени и связь его динамики с течением послеоперационного периода.

В исследование включено 72 ребенка с терминальной стадией заболеваний печени в возрасте  $17 \pm 11$  (4–28) месяцев, 15 здоровых детей в возрасте  $9,9 \pm 5,7$  (3–21) и 38 доноров фрагмента печени в возрасте  $37 \pm 19$  (18–56) лет. Уровень НП у детей до трансплантации ( $25,2 \pm 19,9$  нмоль/л) был значительно выше, чем у доноров и здоровых детей ( $5,5 \pm 3,4$  и  $6,3 \pm 2,7$  нмоль/л соответственно,  $p < 0,01$ ). Уровень неоптерина в плазме крови реципиентов с признаками дисфункции трансплантата, развившейся на 28–32-е сутки после трансплантации ( $61,9 \pm 30,9$  нмоль/л), был выше, чем у реципиентов без осложнений ( $24,0 \pm 5,6$  нмоль/л,  $p < 0,01$ ). Измерение концентрации НП у реципиентов печени целесообразно для мониторинга течения посттрансплантационного периода.

*Ключевые слова:* неоптерин, трансплантация печени.

## NEOPTERIN IN PEDIATRIC LIVING-DONOR LIVER TRANSPLANT PATIENT

Shevchenko O.P., Olefirenko G.A., Pishchulina M.E., Tsirulnikova I.E., Muratova N.Sh., Tsirulnikova O.M., Gautier S.V.

Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs, Moscow

Neopterin (NP) is a marker of macrophages activation and is used for monitoring rejection in patients after heart, renal transplantation. The aim of the study was to evaluate plasma levels of NP in children before and after living-donor liver transplantation (LDLT) and its relationship with the postoperative course. The study included 72 children with end-stage liver disease (ESLD), aged  $17 \pm 11$  (4–28) months before and after LDLT, 15 healthy children aged  $9.9 \pm 5.7$  (3–21) months and 38 adult living-related liver donors, aged  $37 \pm 19$  (18–56) years.

In children with ESLD pre-transplant plasma levels of NP ( $25.2 \pm 19.9$  nmol/l) was significantly higher than in healthy donors or healthy children ( $5.5 \pm 3.4$  and  $6.3 \pm 2.7$  nmol/l, resp.,  $p < 0.01$ ). After LDLT plasma level of NP was higher in children, who had graft dysfunction at days 28–32 ( $61.9 \pm 30.9$  nmol/l) after LDLT than in children who had no graft dysfunction ( $24.0 \pm 5.6$  nmol/l). The measurement of NP concentrations may be useful for monitoring of the postoperative course.

*Key word:* neopterin, liver transplantation.

В последние годы ряд перспективных исследований в клинической трансплантологии направлен на поиск биомаркеров, уровень концентрации которых в плазме крови может отражать ак-

тивность процессов, непосредственно определяющих реакцию организма на присутствие трансплантата и динамику течения посттрансплантационного периода.

*Статья поступила в редакцию 18.01.11 г.*

*Контакты:* Шевченко Ольга Павловна, д. м. н., профессор, зам. директора по научно-исследовательской работе.  
*Тел.* 8-963-644-96-00, *e-mail:* transplant2009@mail.ru

Среди таких маркеров важное место занимает неоптерин, который является продуктом активации макрофагов и используется в трансплантологии для прогнозирования и мониторинга острого и хронического отторжения, оценки эффективности лечения, а также для дифференцирования инфекционных осложнений и острого отторжения после трансплантации сердца и почки [4, 8, 9].

Неоптерин (НП) – производное гуанозинтрифосфата, синтезирующийся преимущественно моноцитами/макрофагами в результате их активации в процессе иммунного ответа. В меньших количествах неоптерин образуется в активированных клетках эндотелия сосудов. Купферовские клетки печени, являющиеся тканевыми макрофагами, также обладают способностью продуцировать неоптерин. Стимулирует синтез неоптерина интерферон- $\gamma$  (ИФ- $\gamma$ ), вырабатываемый активированными Т-лимфоцитами. Повышенное содержание неоптерина было обнаружено в плазме крови пациентов при заболеваниях, связанных с активацией клеточного иммунитета, в том числе остром отторжении трансплантата, а также острых и хронических инфекциях. [3, 10, 13].

Трансплантация позволяет сохранить жизнь пациентам с неизлечимыми заболеваниями печени различного генеза. Большую группу пациентов, нуждающихся в трансплантации, составляют дети раннего возраста с циррозом, развившимся вследствие врожденных и наследственных холестатических заболеваний печени и желчевыводящих путей. Перспективным направлением в лечении этих пациентов является трансплантация фрагмента печени от родственных доноров, которое позволяет решить проблему нехватки донорских органов, а также снизить риск осложнений. Это связано не только с меньшими повреждениями паренхимы печени, но и с возможностью получить орган, более совместимый по иммунологическим показателям [1]. Несмотря на то, что использование фрагмента печени от живого родственного донора дает лучшие результаты по сравнению с трансплантацией трупной печени, актуальным остается прогнозирование и поиск неинвазивных методов контроля течения послеоперационного периода.

В настоящей работе оценивали содержание неоптерина в плазме крови детей с врожденной патологией печени и желчевыводящих путей и связь его динамики с течением послеоперационного периода после родственной трансплантации фрагмента печени.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 72 ребенка в возрасте от 4 до 28 мес. ( $17 \pm 11$ ), из них 33 мальчика и 39 девочек с циррозом, вызванным врожденными и на-

следственными холестатическими заболеваниями печени и желчевыводящих путей (атрезия желчевыводящих путей – 50, болезнь Байлера – 9, синдром Аладжиля – 7, синдром Кароли – 6 детей). После трансплантации фрагмента печени от живого родственного донора всем пациентам назначалась иммуносупрессивная терапия, включающая програф и медрол.

Группу сравнения составили 15 детей (13 мальчиков и 2 девочки) в возрасте от 3 до 21 мес. ( $9,9 \pm 5,7$ ), не страдающих заболеваниями печени и инфекционно-воспалительными заболеваниями и проходящих плановое диспансерное обследование после перенесенного дисбактериоза. Были обследованы также 38 родственных доноров фрагмента печени (22 мужчины и 16 женщин) в возрасте от 18 до 56 лет ( $37 \pm 19$ ).

Плановое клинико-лабораторное обследование включало общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, определение активности печеночных ферментов, анализ коагулограммы, концентрации иммунодепрессантов, вирусологическое и бактериологическое исследования.

В плазме крови всех пациентов с помощью иммуноферментного метода измеряли уровни неоптерина (IBL, Германия), маркера активации Т-клеток sCD30 (Bender MedSystems GmbH, США) и С-реактивного белка в высокочувствительном диапазоне (hsCRP) – методом иммунотурбидиметрии с усилением латексом (Orion, Финляндия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ для научно-технических расчетов SPSS 11.5.0 (LEAD Technologies Inc., США). Достоверность различий количественных параметров в двух группах (для признаков с нормальным распределением) определяли по t-критерию Стьюдента. Связь количественных и качественных параметров оценивали на основании коэффициента ранговой корреляции Спирмана.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень неоптерина в плазме крови детей, страдающих циррозом, развившимся в результате врожденных и наследственных заболеваний печени и желчевыводящих путей, составил в среднем  $25,2 \pm 19,9$  нмоль/л и был достоверно выше, чем в группе сравнения. Более чем у половины детей до трансплантации печени содержание неоптерина превышало верхнюю границу референсных значений (9 нмоль/л). Средняя концентрация неоптерина не различалась у мальчиков и девочек ( $25,5 \pm 20,1$  и  $24,8 \pm 19,0$  нмоль/л соответственно,  $p = 0,13$ ). Не обнаружено корреляции неоптерина с возрастом (от 4 до 28 месяцев) реципиентов ( $r = -0,16$ ,  $p = 0,08$ ). Не было выявлено связи уровня неоптерина с уров-

нями билирубина ( $r = -0,09$ ;  $p = 0,08$ ), креатинина ( $r = 0,19$ ;  $p = 0,07$ ), активностью ферментов печени: аланинаминотрансферазы, АЛТ ( $r = 0,12$ ;  $p = 0,08$ ) и аспаратаминотрансферазы, АСТ ( $r = 0,03$ ;  $p = 0,09$ ), гамма-глутамилтрансферазы ГГТ ( $r = 0,19$ ;  $p = 0,07$ ), а также концентрацией С-реактивного белка ( $r = 0,08$ ;  $p = 0,09$ ) и маркера активации Т-лимфоцитов sCD30 ( $r = 0,03$ ;  $p = 0,92$ ).

У детей группы сравнения средняя концентрация неоптерина составила  $6,3 \pm 2,7$  нмоль/л. У родственных доноров фрагмента печени средний уровень неоптерина до операции составил  $5,5 \pm 3,4$  нмоль/л, и ни у одного из обследованных его содержание в плазме крови не превысило концентрацию 9 нмоль/л, принятую за верхнюю границу референтных значений (рис. 1). Средняя концентрация неоптерина не различалась у мужчин и женщин ( $5,3 \pm 3,2$  и  $6,9 \pm 3,8$  нмоль/л соответственно,  $p = 0,23$ ).

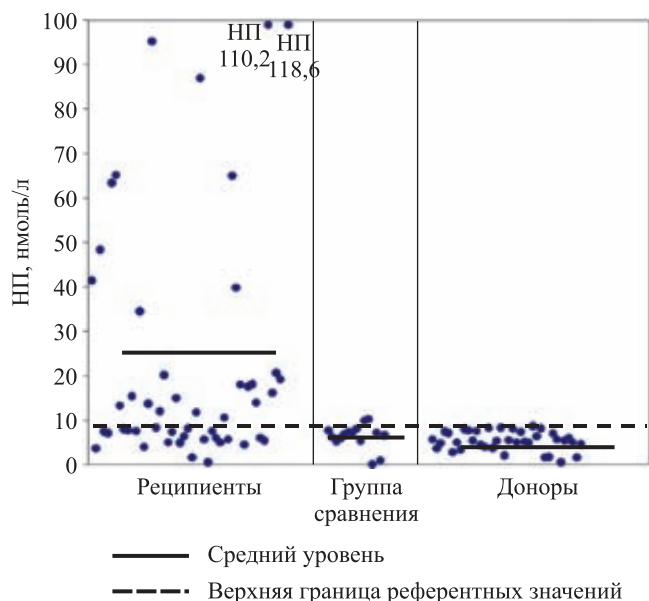


Рис. 1. Уровни неоптерина у реципиентов, пациентов группы сравнения и доноров фрагмента печени до трансплантации

Повышение содержания неоптерина в плазме крови является следствием активации клеточного иммунитета при заболеваниях различного генеза. Уровень неоптерина коррелирует с тяжестью заболевания, в связи с чем измерение его концентрации в плазме крови рекомендовано использовать для оценки эффективности проводимого лечения и прогнозирования течения заболевания [3, 14]. У детей, страдающих циррозом, вызванным врожденными и наследственными заболеваниями печени и желчевыводящих путей, уровень неоптерина оказался значительно выше, чем у детей без патологии печени и здоровых взрослых, что может являться след-

ствием заболевания и/или отражать активацию купферовских клеток (макрофагов печени).

После трансплантации фрагмента печени уровень неоптерина в плазме крови реципиентов повышался к 5–7-м сут, а затем снижался. У доноров после операции среднее содержание неоптерина в плазме крови изменялось незначительно (табл. 1).

Таблица 1

**Динамика содержания неоптерина в плазме крови реципиентов и доноров после трансплантации фрагмента печени**

	Доноры, n = 38	Реципиенты, n = 72
До трансплантации печени (нмоль/л)	$5,5 \pm 3,4$	$25,2 \pm 19,9^*$
5–7-е сут после ТП (нмоль/л)	$6,9 \pm 3,9$	$49,9 \pm 37,3^{**}$
12–14-е сут после ТП (нмоль/л)	$6,2 \pm 2,6$	$40,1 \pm 32,1$

Примечание. \* –  $p < 0,05$  в сравнении с уровнем у доноров; \*\* –  $p < 0,01$  в сравнении с уровнем у реципиентов до ТП.

У 16 из находившихся под наблюдением реципиентов печени на 26–32-е сут после трансплантации диагностирована дисфункция трансплантата, которая проявлялась повышением уровней ферментов печени и была компенсирована после коррекции иммуносупрессивной терапии. У остальных 56 находившихся под наблюдением детей признаков дисфункции в течение первого месяца после трансплантации фрагмента печени выявлено не было.

Среднее содержание неоптерина, измеренное спустя 28–32 сут после трансплантации, у реципиентов с дисфункцией трансплантата составило  $61,9 \pm 30,1$ , тогда как у пациентов без дисфункции было достоверно и значительно ниже –  $24,0 \pm 5,6$  нмоль/л (рис. 2).

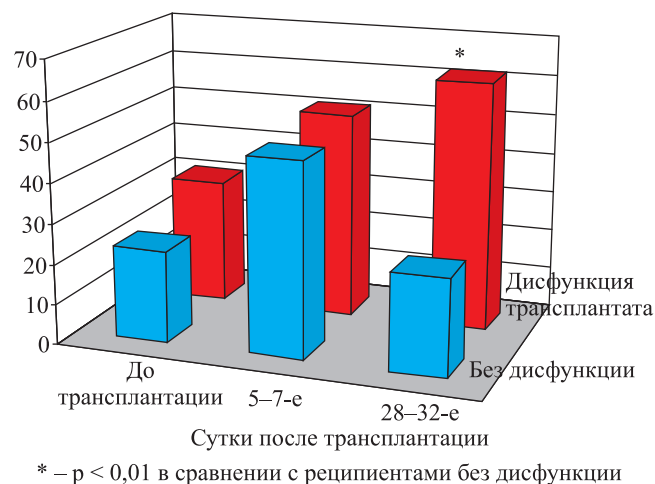


Рис. 2. Динамика неоптерина у реципиентов с дисфункцией трансплантата и без таковой

В качестве примеров ниже приводятся две выписки из историй болезни реципиентов фрагмента печени. В первом случае за время наблюдения в течение месяца после операции у ребенка не было выявлено признаков дисфункции трансплантата.

*Ребенок Ч., 11 мес. и/б № 1483/08. Диагноз при поступлении: цирроз печени в исходе билиарной атрезии, синдром портальной гипертензии, (гепатоспленомегалия), холестаза, печеночноклеточная недостаточность, аутоиммунная цитопения. Состояние после операции Касаи.*

*Ребенок от 4-й беременности, 4-х родов. Беременность протекала без особенностей, роды в срок без осложнений. Вес при рождении 3500 г, рост 53 см. В возрасте 3,5 мес. ребенку выполнена операция по Касаи. По результатам интраоперационной биопсии печени: атрезия желчевыводящих путей. В возрасте 7 мес. состояние ухудшилось: резко увеличались размеры живота, появилась желтушность кожи и склер. Проведенное консервативное лечение привело к улучшению состояния.*

*При поступлении в ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова (ФНЦТИО) состояние тяжелое, обусловленное выраженностью гепатодепрессивного, холестатического синдромов. Склеры иктеричны. Живот несколько увеличен в размерах, на коже выраженная венозная сеть. На КТ органов брюшной полости – цирроз печени, гепатоспленомегалия, признаки портальной гипертензии. В биохимическом анализе крови: билирубин общий – 966,8 мкмоль/л, альбумин – 38,9 г/л, АСТ – 171,6 Ед./л, АЛТ – 80,4 Ед./л, ЩФ – 341,2 Ед./л, ГГТ – 51,6 Ед./л, СРБ – 7,6 мг/л, НП – 5,4 нмоль/л.*

*09.09.08 проведена трансплантация в ортотопическую позицию левого латерального сектора печени от живого родственного донора (отца).*

*Послеоперационный период протекал без особенностей, послеоперационная рана зажила первичным натяжением.*

*В анализе крови, проведенном на 7-е сут после операции: билирубин общий – 128,4 мкмоль/л, альбумин – 39,2 г/л, АСТ – 37,5 Ед./л, АЛТ – 116,0 Ед./л, ЩФ – 355,6 Ед./л, ГГТ – 192,8 Ед./л, СРБ – 10,4 мг/л, НП – 11,9 нмоль/л.*

*В анализе крови на 14-е сут после операции: билирубин общий – 42,6 мкмоль/л, альбумин – 33,0 г/л, АСТ – 28,1 Ед./л, АЛТ – 23,3 Ед./л, ЩФ – 350,9 Ед./л, ГГТ – 91,6 Ед./л, СРБ – 8,9 мг/л, НП – 16,8 нмоль/л.*

*В анализе крови на 21-е сут после операции: билирубин общий – 43,81 мкмоль/л, альбумин – 41,0 г/л, АСТ – 31,9 Ед./л, АЛТ – 30,5 Ед./л, ЩФ – 436,5 Ед./л, ГГТ – 100,3 Ед./л, СРБ – 4,3 мг/л, НП – 8,5 нмоль/л.*

*При дальнейшем наблюдении уровень неоптерина не превышал 10 нмоль/л, активность ферментов АЛТ и АСТ существенно не менялась.*

В приведенном примере уровень неоптерина в плазме крови ребенка с билиарной атрезией до операции не превышал верхней границы нормальных значений. После операции концентрация неоптерина увеличилась до 16,8 нмоль/л, и к 21-му дню его содержание снизилось до референтных значений, то есть динамика содержания неоптерина в плазме крови описанного реципиента фрагмента печени типична для послеоперационного периода, протекающего без осложнений.

Далее представлен клинический пример у реципиента фрагмента печени с дисфункцией трансплантата, развившейся на 26-е сут.

*Ребенок А., 14 мес. И/б № 2031/08. Диагноз при поступлении: цирроз печени в исходе атрезии желчевыводящих путей с синдромами портальной гипертензии, холестаза, печеночноклеточной недостаточности.*

*Ребенок от 2-й беременности, протекавшей с угрозой прерывания в 1-м и 2-м триместрах. Желтуха с рождения. В 2,5 мес. выполнена операция по Касаи с временным положительным эффектом. В дальнейшем – постепенное ухудшение состояния, неоднократные госпитализации. В возрасте 11 мес. госпитализирован в ФНЦТИО по программе трансплантации фрагмента печени от живого родственного донора.*

*При поступлении: гепато-, спленомегалия, признаки портальной гипертензии, асцит. По лабораторным данным: признаки холестаза, печеночноклеточной недостаточности, НП – 3,6 нмоль/л. 26.01.09 выполнена ортотопическая родственная трансплантация левого латерального сектора печени от отца. Течение послеоперационного периода осложнилось развитием рецидивирующего кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода на 2-е сут после трансплантации.*

*В биохимическом анализе крови на 7-е сут после трансплантации: билирубин общий – 332,6 мкмоль/л, АСТ – 21,0 Ед./л, АЛТ – 33,9 Ед./л, ЩФ – 364 Ед./л, ГГТ – 66 Ед./л, альбумин – 43,8 г/л, НП – 13,4 нмоль/л.*

*В анализе крови на 14-е сут после операции: билирубин общий – 56,7 мкмоль/л, АСТ – 16,9 Ед./л, АЛТ – 8,9 Ед./л, ЩФ – 364 Ед./л, ГГТ – 66 Ед./л, НП – 6,5 нмоль/л.*

*В анализе крови на 24-е сут: билирубин общий – 59,55 мкмоль/л, альбумин – 44,54 г/л, АСТ – 87,1 Ед./л, АЛТ – 28,1 Ед./л, ЩФ – 544 Ед./л, ГГТ – 47,7 Ед./л, НП – 16,2 нмоль/л.*

*В анализе крови на 26-е сут: билирубин общий – 70,57 мкмоль/л, АСТ – 134,1 Ед./л, АЛТ – 43,4 Ед./л, ЩФ – 679 Ед./л, ГГТ – 44,1 Ед./л, альбумин – 45,3 г/л, в связи с чем была проведена коррекция иммуносупрессивной терапии. На фоне проводимого лечения состояние ребенка стабилизировалось.*

В описанном примере в течение первых недель после трансплантации динамика неоптерина была типичной для послеоперационного периода. После постепенного снижения уровня неоптерина на 24-е сут зафиксировано повторное и значительное повышение, которое сопровождалось последующим возрастанием активности ферментов печени, потребовавшим коррекции иммуносупрессивной терапии. В биохимическом анализе крови, проведенном на 26-е сут после трансплантации, обнаружено повышение активности печеночных ферментов, свидетельствующее о дисфункции трансплантата, в связи с чем была предпринята коррекция иммуносупрессивной терапии.

У детей с циррозом печени, развившимся вследствие врожденных заболеваний печени и желчевыводящих путей, уровень маркера активации моноцитов/макрофагов неоптерина выше, чем у здоровых лиц. После родственной трансплантации фрагмента печени уровень неоптерина в плазме крови реципиентов повышается, достигая максимума к 5–7-м сут, что свидетельствует об активации макрофагального звена иммунитета. При течении послеоперационного периода без осложнений концентрация маркера снижается.

У реципиентов с признаками дисфункции трансплантата к концу первого месяца после операции уровень неоптерина выше, чем у реципиентов без осложнений. Измерение концентрации НП у реципиентов печени может быть полезным для прогноза и мониторинга течения посттрансплантационного периода.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Готье С.В., Константинов В.А., Цирульникова О.М. Трансплантация печени. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 246 с.
2. Готье С.В., Шевченко О.П. Новые лабораторные тесты – новое в клинической трансплантологии // Лабораторная медицина в свете концепции развития здравоохранения России до 2020 года. 2009. С. 82–94.
3. Насонов Е.Л. Современные направления иммунологических исследований при хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваниях человека // Тер. архив. 2001. № 8. С. 43–46.
4. Орлова О.В., Казаков Э.Н., Кормер А.Я. и др. Клинико-диагностическое и прогностическое значение неоптерина и С-реактивного белка при цитомегаловирусной пневмонии у пациента после трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2004. № 2. С. 13–17.
5. Шумаков В.И., Хубутя М.Ш., Шевченко О.П. и др. Гуморальное отторжение пересаженного сердца: корреляция уровней неоптерина с результатами иммуногистохимических исследований // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2003. № 1. С. 3–9.
6. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Орлова О.В. Алгоритм дифференцирования инфекционных осложнений и острого отторжения у реципиентов сердца // Инфекции в трансплантологии / Под ред. С.В. Готье. Тверь: Триада, 2010. С. 177–212.
7. Desai M., Neuberger J. Chronic Liver allograft rejection // Transplant. Proc. 2009. Vol. 41. P. 773–776.
8. Elenkov I.J. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance // Ann N Y Acad Sci. 2004 Jun. Vol. 1024. P. 138–146.
9. Havel M., Laczkovics A., Teufelsbauer H. et al. Neopterin as a new marker to detect acute rejection after heart transplantation // J. Heart Transplant. 1989. Vol. 8. P. 167–170.
10. Ilknur K., Demir M., Cevahir N. et al. Serum neopterin levels in patients with replicative and nonreplicative HBV carriers BCM Infectious Diseases. 2006. Vol. 6. P. 157.
11. Konigsrainer A., Reibnegger G., Ofner D. et al. Pancreatic juice neopterin excretion: reliable marker for detection of pancreatic allograft rejection // Transplant. Proc. 1990. Vol. 22. P. 671–672.
12. Melichar, Bohuslav, John J. et al. Intraperitoneal fluid neopterin, nitrate, and tryptophan after regional administration of interleukin-12 immunotherapy. 2003. Vol. 26 (3). P. 270–276.
13. Muller T.F., Trosch F., Ebel H. et al. Pancreas-specific protein, serum amyloid A and neopterin in the diagnosis of rejection after simultaneous pancreas and kidney transplantation // Transp. Int. 1997. Vol. 10 (3). P. 185–191.
14. Weimer R., Süsal C., Yildiz S. et al. Post-transplant sCD30 and neopterin as predictor of chronic allograft nephropathy: impact of different immunosuppressive regimens // Transplantation. 2006. Vol. 6. P. 1865–1847.