

# НЕОПТЕРИН И ЕГО ВОССТАНОВЛЕННЫЕ ФОРМЫ: БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ И УЧАСТИЕ В КЛЕТОЧНОМ ИММУНИТЕТЕ

© 2005 г. Е. А. СВИРИДОВ, Т. А. ТЕЛЕГИНА

*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва*

I. Введение. II. Конъюгированные и неконъюгированные птерины в биологии. III. Биосинтез неоптерина в организме человека. Особенности при активации клеточного иммунитета. IV. Биологические функции неоптерина и его восстановленных форм. V. Заключение.

## I. ВВЕДЕНИЕ

Неоптерин [2-амино-4-гидрокси-6-(D-эритро-1',2',3'-тригидроксипропил)-птеридин] — достаточно широко распространен в природе. История его изучения началась в 1963 г., когда неоптерин был впервые выделен из рабочей пчелы, ее личинки и маточного молочка [1]. Производные неоптерина обнаружены у представителей различных типов и классов как животного, так и растительного мира. Это соединение выделено из бактерий [2, 3], в том числе фотосинтезирующих [4], насекомых [5, 6], млекопитающих [7–9], а также из растений [10, 11].

Основной интерес к неоптерину связан с его ролью маркера активации клеточного иммунитета человека.

---

*Принятые сокращения:* H<sub>4</sub>-биоптерин — тетрагидробиоптерин, IFN — интерферон; IL — интерлейкин; TNF — фактор некроза опухоли; GTP CH-I — гуанозинтрифосфатциклогидролаза 1; GFRP — регуляторный белок GTP CH-I; 6-PTPS — 6-пирувоилтетрагидроптеринсинтаза; SR — сепиаптеринредуктаза; DHFR — дигидрофолатредуктаза; DHPR — дигидроптеринредуктаза; PBMC — мононуклеары периферической крови; iNOS — индуцибельная форма NO-синтазы; ROS — активные формы кислорода; VSMC — гладкомышечные сосудистые клетки; ЛПС — липополисахариды; α-MSH — альфа-меланоцитстимулирующий гормон, АСТН — адренкортикотропный гормон.

*Адрес для корреспонденции:* sea@inbi.ras.ru

Работа поддержана грантами РФФИ 04-04-49625 и 03-04-20006-БНТС-а.

Клеточный иммунитет — это комплекс реакций, осуществляемых лимфоцитами и фагоцитами без участия эффекторов гуморального иммунитета — антител. Однако, поскольку строгое разделение клеточного и гуморального иммунитета невозможно, данный термин используется при описании такого противои инфекционного и противоопухолевого иммунного ответа, в котором антителам принадлежит не ведущая, а вспомогательная роль [12].

В 1967 г. Сакураи и Гото выделяют неоптерин из человеческой мочи, далее его идентифицируют как флюоресцирующий компонент, количество которого заметно увеличено в моче пациентов со злокачественными опухолями [13]. В 1979 г. Уотчер и соавт. обнаруживают повышенную экскрецию неоптерина как у пациентов с новообразованиями, так и у пациентов с вирусными инфекциями [14]. Год от года возрастает число работ, в которых неоптерин рассматривается как маркер активации клеточного иммунитета при ряде патологий. Так, если по запросу *neopterin* количество публикаций (согласно базе данных NCBI) в 80-х годах не превышало 600, то в 90-х годах оно составляло уже более 1500 и в новом тысячелетии интерес к неоптерину не ослабевает. Несколько публикаций о неоптерине как клиническом маркере, имеется и в отечественных изданиях [15–17]. Однако, несмотря на более чем четвертьвековую историю изучения и использования неоптерина в медицине, его биологическая роль продолжает оставаться неясной.

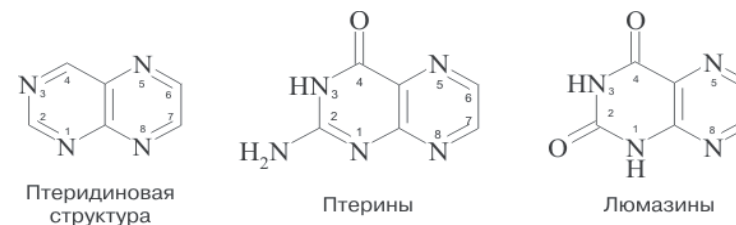
В настоящем обзоре мы попытались обобщить и проанализировать экспериментальные данные, посвященные выяснению биологической функции неоптерина и его восстановленных форм, в том числе их роли в клеточном иммунитете.

## II. КОНЬЮГИРОВАННЫЕ И НЕКОНЬЮГИРОВАННЫЕ ПТЕРИНЫ В БИОЛОГИИ

История изучения птеридинов началась в 1889 г., когда Гопкинс впервые выделил пигмент из крыльев бабочки [18]. Работы с этими пигментами продолжались и в 1936 г. Шопф дал им название «птеридины», от греческого слова *pteron* — крыло [19].

По своей структуре птеридины представляют собой конденсированное гетероциклическое соединение, состоящее из двух частей — пиримидиновой и пиазиновой. Встречающиеся в природе птеридины делятся на 2 класса: «конъюгированные» (фолиевая кислота и ее производные), в которых птеридиновая структура соединена с пара-аминобензоилглутаминовой кислотой, и «неконъюгированные» — птеридины, имеющие простые заместители в 6-м или 7-м положениях. Пос-

ледние, в свою очередь, можно разбить на две группы, отличающиеся друг от друга по замещениям в пиримидиновой части птеридиновой структуры — это 2-амино-4-оксо-соединения («птерины») и 2,4-диоксо-производные («люмазины»):



Биологические функции «конъюгированных» птеридинов известны и достаточно подробно изучены. Ферменты, содержащие в качестве коферментов производные тетрагидрофолиевой кислоты, осуществляют перенос одноуглеродных остатков, участвуя в синтезе пуринов, пиримидинов и метионина, они играют важную роль также в метаболизме серина, глицина и гистидина. Обмену фолатов посвящено большое количество работ. Мы приведем ссылки лишь на некоторые из монографий и обзорных статей [20–23].

Фолатные производные участвуют в фотобиологических процессах. Например, 5,10-метенилтетрагидрофолат (5,10-метенилТГФ) играет роль хромофора в составе ДНК-фотолиазы — фермента, ответственного за фоторепарацию ДНК, поврежденную УФ светом [24, 25]. 5,10-метенилТГФ входит также в состав криптохромов, фоторецепторных белков, осуществляющих регуляцию циркадных ритмов, реакции фототропизма и фотоморфогенеза растений [26–28]. Устойчивость 5,10-метенилТГФ к фотолизу в присутствии кислорода и высокий молярный коэффициент поглощения в области 320–380 нм, возможно послужили теми селективными признаками, по которым данное соединение было выбрано природой на роль фотосенсора ближнего УФ света в белках-фоторецепторах [29, 30].

«Неконъюгированные» птеридины также представляют интерес с точки зрения их участия в различных фотобиологических процессах. О чувствительности птеридинов к свету известно достаточно давно [31]. Они обнаружены в сетчатке глаза различных животных [32, 33] и, кроме того, могут являться хромофорами, поглощающими ближний ультрафиолетовый свет у высших растений и грибов [34–36]. Предполагается даже электрон-транспортная функция птеридинов в фотосинтетических системах различных организмов [37–39]. Однако, несмотря на это, на сегодняшний день всего несколько работ посвящены изучению фотохимии птеридинов [41–46].

В клетках животных «неконъюгированные» птеридины могут функционировать в качестве коферментов.

В настоящее время достаточно хорошо исследовано участие молибдоптерина в качестве кофермента некоторых редокс-ферментов. Молибденсодержащие редокс-ферменты широко распространены в животном и растительном мире. Они катализируют некоторые реакции метаболизма азота, серы и углерода. По типу катализируемых реакций их можно разделить на 2 категории: одни из них катализируют перенос кислородного атома, сопряженный с переносом электронов (нитратредуктаза, диметилсульфоксидредуктаза, сульфитоксидаза), а вторые катализируют реакции окислительного гидроксирования альдегидов и ароматических гетероциклических соединений (ксантиноксидаза, альдегидоксидоредуктаза) [46–48].

Наиболее изучен биооптерин, 5,6,7,8-тетрагидроформа которого служит коферментом ряда гидроксилаз ароматических аминокислот: фенилаланин-4-гидроксилазы — основного фермента метаболизма фенилаланина; тирозин-3- и триптофан-5-гидроксилаз — скоростилимитирующих ферментов биосинтеза нейромедиаторов дофамина и серотонина [49, 50]. Кроме того,  $H_4$ -биооптерин в составе глицерилэфирмонооксигеназы принимает участие в окислительном расщеплении эфиров липидов [51]. В последнее время установлено также, что он является коферментом NO-синтаз (NOS), участвуя в превращении аргинина в цитрулин и оксид азота [52, 53].

Несмотря на то, что ферментов, содержащих в качестве коферментов производные неоптерина, пока не обнаружено, тетрагидроформа данного птерина способна замещать нативный кофермент в  $H_4$ -биооптерин-зависимых ферментах без значительного изменения их каталитических свойств [49, 51, 54, 55].

### III. БИОСИНТЕЗ НЕОПТЕРИНА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА. ОСОБЕННОСТИ ПРИ АКТИВАЦИИ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА

#### НЕОПТЕРИН В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Неоптерин синтезируется из гуанозинтрифосфата. Фермент GTP СН-I катализирует образование 7,8-дигидронеоптеринтрифосфата из ГТФ. Отщепление фосфорных остатков клеточными фосфатазами приводит к образованию 7,8-дигидронеоптерина, при неферментативном окислении которого и образуется неоптерин [56, 57] (схема 1).

Физиологические концентрации неоптерина и его восстановленных форм в организме невысоки. В сыворотке взрослых здоровых людей концентрация неоптерина в среднем составляет 5,2 нМ/л [58].

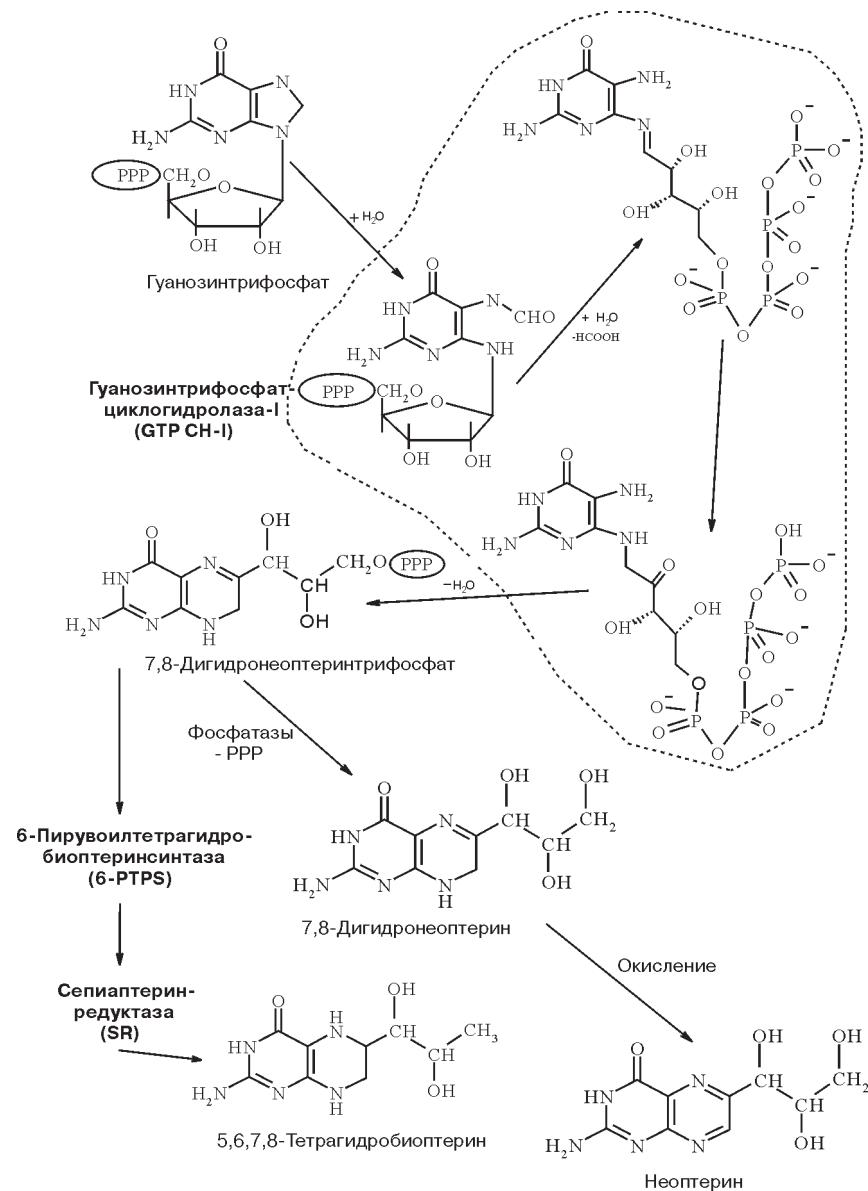


Схема 1. Биосинтез 7,8-дигидронеоптерина, неоптерина и 5,6,7,8-тетрагидробиоптерина.

Пунктиром выделена цепь последовательных превращений, катализируемых гуанозинтрифосфатциклогидролазой-I.

Имеются небольшие колебания, связанные с возрастом, физиологическим состоянием, расовыми различиями, отношением к курению [59–61]. За поддержание конститутивного уровня неоптерина в организме ответственна печень. Концентрация неоптерина в желчи в 100–200 раз превышает обнаруживаемую в сыворотке крови. Экскретируемый с желчью в тонком отделе кишечника неоптерин реабсорбируется в толстом кишечнике. Только 1% его обнаруживается в стуле [62]. Есть основания полагать, что часть неоптерина катаболизируется симбиотической микрофлорой толстого отдела кишечника [63]. Выведение неоптерина из организма осуществляют почки. Период его полувыведения составляет приблизительно 90 мин. Концентрации его в моче в 200–500 раз выше, чем в сыворотке крови [64]. Соотношение восстановленной формы неоптерина к окисленной в сыворотке/плазме венозной крови равно 1:1. Это же соотношение характерно для других биологических жидкостей [65–68]. Однако в артериальной крови наблюдается более высокое – 2:1 отношение 7,8-дигидроформы к ароматической форме неоптерина [62, 69, 70].

При патологических состояниях, связанных с активацией иммунной системы, концентрация неоптерина и 7,8-дигидронеоптерина в организме может значительно увеличиваться. Так, в работе Маргрейтер и соавт. приводятся значения в крови 100–250 нМ/л [71], Ивагаки и соавт. у пациентов с постоперативными инфекционными осложнениями отмечает уровень неоптерина в плазме – 1,6 мкМ/л [72].

Первоначально полагали, что ответственными за увеличение концентрации неоптерина в организме являются Т-клетки [73]. Однако позже было доказано, что главным его источником следует считать моноциты/макрофаги. Основным действующим началом, ответственным за стимуляцию продукции неоптерина данными иммунокомпетентными клетками, является IFN- $\gamma$  [56, 74, 75]. IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$  также индуцируют синтез неоптерина, но их действие значительно менее выражено [76, 77].

Интерферон- $\gamma$  – единственный представитель интерферонов II типа. Это плейотропный цитокин, продуцируемый исключительно Т-клетками и нормальными киллерами (НК-клетками). Однако новые данные говорят о том, что и В-клетки, и антигенпрезентирующие клетки (моноциты/макрофаги и дендритные клетки) также способны секретировать IFN- $\gamma$  [78].

Одной из функций IFN- $\gamma$  является индукция активности GTP СН-I в клетках человека, в частности, в лимфоцитах и макрофагах [79]. GTP СН-I экспрессируется конститутивно или индуцибельно практически во всех тканях человеческого организма. Иммуногистохимически показано присутствие этого фермента как в цитоплазме,

так и в ядре, причем доля цитоплазматического фермента составляет 90–95% [80, 81]. Несколько сплайсвариантов мРНК кодируют GTP СН-I, но лишь белок, соответствующий длинной рамке считывания, обладает каталитическими функциями [82–85].

Продукт GTP-СН-I – 7,8-дигидронеоптеринтрифосфат – является интермедиатом не только на пути синтеза неоптерина, но и  $H_4$ -биооптерина. Фермент 6-пирувоилтетрагидроптеринсинтаза (6-PTPS) катализирует реакцию превращения 7,8-дигидронеоптеринтрифосфата в 6-пирувоилтетрагидробиоптерин, а сепиаптеринредуктаза (SR) осуществляет конечное превращение данного соединения в  $H_4$ -биооптерин (схема 1) [86].

Однако, при значительном (в 10–20 раз) возрастании активности GTP СН-I в макрофагах, в результате действия на них IFN- $\gamma$ , активность 6-пирувоилтетрагидроптеринсинтазы (6-PTPS) выражено не меняется. Для ТНР-1 клеток (линия миеломоноцитов), обработанных IFN- $\gamma$  в сочетании с TNF- $\alpha$  отношение активностей ферментов GTP СН-I : 6-PTPS приблизительно 1 : 0,007. Моноциты/макрофаги человека конститутивно бедны 6-PTPS-активностью. Она в 20–200 раз ниже, чем у прочих млекопитающих. Причина кроется в том, что только 20% мРНК макрофагов человека имеют 3-й экзон, обеспечивая считывание полноценного белка [87].

Таким образом, минимизация синтеза  $H_4$ -биооптерина в моноцитах/макрофагах человека ведет к аккумуляции в них 7,8-дигидронеоптерина и неоптерина и последующей избыточной экскреции данных соединений.

#### ДРУГИЕ ИСТОЧНИКИ НЕОПТЕРИНА

Возможно, у человека транскрипционный пропуск 3-го экзона консервативен в гемопоэзе и остается неизменным при дифференцировке различных клеточных типов. Было показано, что CD34+ стволовые клетки, общий предшественник клеток миелоидного и лимфоидного рядов, имеют очень низкий уровень полноразмерной мРНК 6-PTPS. Т-клетки также бедны мРНК данного фермента с 3-м экзонном, но при этом активность GTP СН-I в них в 5–10 раз ниже, чем в моноцитах/макрофагах [87]. Кроме того, приблизительно через двое суток после стимуляции лектином или цитокинами (IFN- $\gamma$  и IL-2) активность GTP СН-I в клетках не соответствует уровню экспрессии мРНК, что может говорить о посттрансляционной модификации белка, приводящей к снижению или потере каталитической функции [88]. Поэтому, несмотря на низкий уровень 6-PTPS активности, Т-клетки не могут быть ответственны за увеличение количества неоптерина в организме в случае активации иммунной системы.

Потенциально источником неоптерина могут быть и НК-клетки, поскольку было обнаружено, что они конститутивно экспрессируют GTP СН-I, в то время как активность 6-PTPS и SR в них не обнаружена. Однако IFN- $\gamma$  на активность вышеперечисленных ферментов в НК-клетках не влияет [89].

Вместе с тем, макрофаги не единственный источник неоптерина в организме. Дендритные клетки, образующиеся из моноцитов [90], также способны продуцировать неоптерин. В ответ на стимуляцию IFN- $\gamma$  они значительно увеличивают экскрецию данного птеридина, но, в отличие от макрофагов, дендритные клетки более чувствительны к действию интерферонов I типа (IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ ) [91].

Стимулирует IFN- $\gamma$  продукцию неоптерина и в клетках не иммунной системы: эндотелиальных (HUVES), эпителиальных почечных и VSMC, а также в фибробластах. Однако эта продукция значительно ниже, чем у макрофагов, и сопровождается синтезом H<sub>4</sub>-биооптерина [92–95].

#### НЕКОТОРЫЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОДУКЦИЮ НЕОПТЕРИНА В ОРГАНИЗМЕ

##### *Цитокины*

Рассмотрим подробнее, какие еще цитокины, помимо интерферонов, способны влиять на образование неоптерина.

Прежде всего отметим, что цитокины – это класс растворимых сигнальных белков и пептидов, синтезирующихся и секретирующихся как иммунными, так и неиммунными клетками. Они действуют аутокринно (т.е. на клетку, которая их продуцирует), паракринно (на близлежащие клетки) или эндокринно (на мишени, удаленные от источника их продукции) и необходимы для развития, функционирования и взаимодействия иммунной системы с другими системами организма. Действие цитокинов опосредовано специфическими рецепторами на внешней стороне плазматической мембраны клеток [96].

В настоящее время выделяют следующие группы цитокинов: а) интерлейкины, б) интерфероны, в) факторы некроза опухоли, г) колониестимулирующие факторы, д) факторы роста, е) хемокины. Представители первых пяти групп будут рассмотрены далее.

Кроме того, некоторые цитокины можно классифицировать по профилям секретирующих их Т-хелперов. Как правило, Тх-1 клетки синтезируют интерлейкин-2 (IL-2), IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , тогда как Тх-2 – интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-10 (IL-10), интерлейкин-6 (IL-6) и т.д. Цитокины, выделяемые Тх-1 клетками, подавляют активность Тх-2 клеток, и наоборот [97, 98].

Так, IL-4 способствует развитию наивных CD4<sup>+</sup> Т-клеток в Т-хелперы 2-го типа и препятствует развитию ряда эффектов IFN- $\gamma$  [99]. Он ингибирует генерацию неоптерина нестимулированными моноцитами, а также ЛПС-индуцированную продукцию TNF- $\alpha$  и интерлейкина-12 (IL-12) этими клетками [100–103]. Более того, Вейс и соавт. [104] прямо продемонстрировали, что IL-4 и IL-10 ингибируют эффект IFN- $\gamma$  на синтез неоптерина моноцитами/макрофагами.

IL-2 способен усиливать синтез неоптерина. Однако, как показано на Т-клетках, непосредственно на активность ферментов, связанных с синтезом неоптерина, он не влияет [105]. Действие IL-2 связано со стимуляцией пролиферации Т-клеток, а также выработки ими IFN- $\gamma$ . Аналогично, за счет индукции синтеза IFN- $\gamma$  Т-клетками и макрофагами, а также за счет угнетения продукции цитокинов Тх-2-го типа и стимуляции дифференцировки наивных CD4<sup>+</sup> Т-клеток в Тх-1, IL-12 и IL-18 повышают концентрацию неоптерина в организме. Так, у пациентов с терапией IL-2, -12 и -18 отмечается возрастание уровня неоптерина в моче и крови [106–108].

При использовании гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) увеличение синтеза неоптерина связано, возможно, с увеличением числа моноцитов [109, 110] и индуцированием их созревания. В экспериментах *in vitro* показано, что созревающие макрофаги секретируют в 10 раз больше неоптерина, чем свежеизолированные моноциты крови [111, 112].

TNF- $\alpha$  – цитокин, обладающий ярко выраженным плейотропным действием, синтезируется преимущественно активированными мононуклеарными фагоцитами и Т-лимфоцитами [113]. Через сутки после внутривенной инъекции TNF- $\alpha$  вызывает повышение концентрации неоптерина в организме здоровых людей [114]. В опытах *in vitro* он оказывал незначительное влияние на увеличение секреции неоптерина макрофагами, в то же время супериндуцировал интерферон-зависимую продукцию неоптерина [115].

##### *Бактериальные токсины*

Бактериальные липополисахариды (ЛПС) также играют роль супериндукторов интерферона в отношении продукции неоптерина. Причем наиболее выраженным действием обладают ЛПС бактерий, образующих гладкие колонии, а не шероховатые – эндотоксин последних имеет более короткие полисахаридные цепи [116]. Однако, в отличие от TNF- $\alpha$ , ЛПС и самостоятельно способны заметно индуцировать синтез неоптерина моноцитами/макрофагами. Одним из

механизмов индукции, возможно, является снижение экспрессии GFRP – регуляторного белка GTP СН-I [117]. Остальные эндо- и экзотоксины грамотрицательных и грамположительных бактерий либо не оказывают никакого влияния на продукцию неоптерина, либо действие это незначительно. Для некоторых отмечен ко-стимулирующий эффект IFN- $\gamma$  [116].

Стоит, однако, отметить, что основной механизм, приводящий к умеренному увеличению концентрации неоптерина при острых бактериальных инфекциях, связан со способностью пирогенов индуцировать продукцию IFN- $\gamma$  Т-клетками [116, 118–121].

### Гормоны

Что касается влияния гормонов на продукцию неоптерина, то здесь нельзя обойти вниманием глюкокортикоиды. Известно, что глюкокортикоиды являются селективными супрессорами продукции антигенпрезентирующими и Т-клетками цитокинов T $\alpha$ -1 профиля, в частности IFN- $\gamma$ , приводя к сдвигу иммунного ответа по T $\alpha$ -2 гуморальному пути [122]. Также нужно отметить ряд публикаций, в которых говорится о снижении экспрессии мРНК GTP СН-I в различных клетках организма, вызванном глюкокортикоидами [123–126]. Следствием вышеописанных эффектов, очевидно, и является снижение уровня неоптерина в организме при применении данных гормонов [127].

Ингибирующим действием в отношении продукции неоптерина обладает также  $\alpha$ -меланоцитстимулирующий гормон ( $\alpha$ -MSH). Как и аденокортикотропный гормон (АСТН),  $\alpha$ -MSH является продуктом посттрансляционного процессинга проопиомеланокортина. Нейропептиды АСТН и  $\alpha$ -MSH имеют несколько точек приложения в ингибировании воспалительного каскада, в частности, редуцируют продукцию IFN- $\gamma$ , а также блокируют активацию макрофагов данным цитокином [128–130]. Имеются прямые экспериментальные доказательства уменьшения продукции неоптерина стимулированными макрофагами, вызванного действием  $\alpha$ -MSH [131].

### Железо

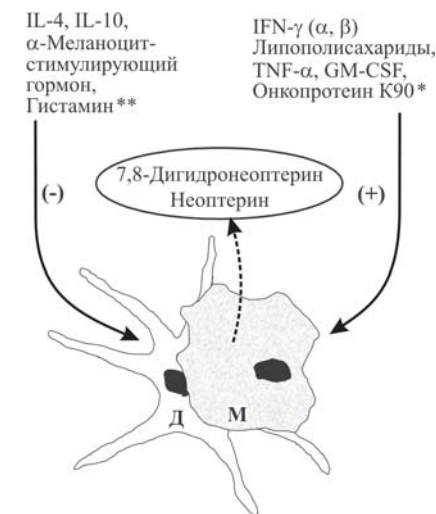
Установлено, что увеличение внутриклеточной концентрации железа также приводит к ингибированию синтеза неоптерина моноцитами/макрофагами, поскольку железо нарушает передачу сигнала IFN- $\gamma$ , необходимого для активации транскрипции GTP СН-I [132–134].

Влияние некоторых факторов на синтез неоптерина представлено на рис. 1.

Рис. 1. Влияние различных факторов на синтез неоптерина и 7,8-дигидронеоптерина иммунокомпетентными клетками.

М – моноцит/макрофаг;  
Д – дендритная клетка;  
IL-4 – интерлейкин-4;  
IL-10 – интерлейкин-10;  
TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли-альфа;  
IFN- $\gamma$  (- $\alpha$ ,  $\beta$ ) – интерферон-гамма (-альфа, бета);  
GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор.

\* – [135], \*\* – [136].



### ВЛИЯНИЕ ПТЕРИНОВ НА СОБСТВЕННУЮ ПРОДУКЦИЮ

Известно, что GTP СН-I – аллостерический фермент. Фенилаланин, единственная аминокислота среди субстратов тетрагидробиоптерин-зависимых гидроксилаз, активирует GTP СН-I. H $_4$ -биоптерин является отрицательным аллостерическим эффектором. Но не единственным. В целом ряде работ было продемонстрировано, что ингибирующим действием в отношении GTP СН-I обладают и другие восстановленные птеридины, такие как 7,8-дигидробиоптерин, 7,8-дигидронеоптерин, 5,6,7,8-тетрагидронеоптерин, сепиаптерин. Окисленные формы птеридинов, в частности неоптерин, не являются ингибиторами GTP СН-I. Считается, что действие аллостерических регуляторов опосредовано GFRP [137–140].

Наряду с этим неоптерин и 7,8-дигидронеоптерин способны стимулировать собственный синтез. Так, было отмечено, что 7,8-дигидронеоптерин увеличивает продукцию IFN- $\gamma$  Т-клетками [141]. Кроме того, в присутствии неоптерина более выражена продукция TNF- $\alpha$  мононуклеарами периферической крови (РВМС) и макрофагами, стимулированными IFN- $\gamma$  и IL-2 [142]. На гладкомышечных сосудистых клетках (VSMC) Хоффман и соавт. [143] продемонстрировали непосредственное стимулирующее действие неоптерина на синтез TNF- $\alpha$ . Таким образом, влиянием на продукцию цитокинов можно объяснить аутоиндуктивное образование неоптерина в РВМС, обнаруженное Барак и соавт. [144].

#### IV. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ НЕОПТЕРИНА И ЕГО ВОССТАНОВЛЕННЫХ ФОРМ

##### НЕОПТЕРИН – АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ АГЕНТ?

В 1986 г. Натан, исходя из того, что клеточные эффекты IFN- $\gamma$  имеют, в частности, антибактериальную направленность, высказал предположение, что неоптерин действует как эндогенный ингибитор синтеза фолатов бактерий [145].

Как известно, человек получает фолаты с пищей, а большинство микроорганизмов синтезируют их *de novo*. Поскольку в эукариотических клетках отсутствуют многие из ферментов, участвующих в биосинтезе фолиевой кислоты, в бактериях они являются удачными мишенями в антибактериальной химиотерапии [23]. В качестве примера отметим ингибирование дигидроптероатсинтазы сульфаниламидами и дигидрофолатредуктазы триметопримом, эффективно снижающими пул фолатов в бактериальных клетках и ингибирующими, таким образом, рост микроорганизмов.

Представляет интерес ингибирование и более ранних этапов синтеза фолатов, например, дигидронеоптеринальдотазы – фермента, катализирующего реакцию перехода 7,8-дигидронеоптерина в 6-гидроксиметил-7,8-дигидроптеридин. Неоптерин является нерасщепляемым аналогом субстрата и способен выступать в роли ингибитора дигидронеоптеринальдотазы [146, 147]. Этот факт делает предположение Натана [145] еще более привлекательным. Кроме того, Вейс и соавт. показали, что неоптерин усиливает ингибирующее действие хлорамина-Т на рост бактерий, в то время как 7,8-дигидронеоптерин поддерживает рост колоний в присутствии данного дезинфектанта [148]. Мы полагаем, что концентрация неоптерина и продолжительность эксперимента убедительны для предположения о подавлении активности дигидронеоптеринальдотазы. Однако, поскольку явного, статистически достоверного влияния производных неоптерина на рост бактериальных культур не выявлено [149], авторы работы [148] придерживаются другой трактовки результатов. Полученные ими данные рассматриваются в аспекте возможной модуляции неоптерином и 7,8-дигидронеоптеринном действия активных форм кислорода (ROS) [148]. Известно, что реализация антибактериальной функции макрофагами осуществляется, в частности, за счет генерации ROS [12, 150]. IFN- $\gamma$  стимулирует «оксидативный взрыв» макрофагов [151, 152]. Хлорамин-Т подавляет рост бактерий, генерируя свободнорадикальные соединения [153]. В опытах по выявлению эффекта ряда птеридинов на индуцированную хлорамином-Т хемилюминесценцию было установлено, что ароматические птеридины усиливают ее, а восстановлен-

ные гасят [154]. Отмечена строгая положительная корреляция в эффективности тушения или усиления хемилюминесценции птеридинами и степени их влияния на рост *E. coli* в присутствии хлорамина-Т. Причем, оказалось, что среди испытанных птеридинов, неоптерин наиболее сильно активировал свечение и ингибирование бактериального роста дезинфектантом, в то время как 7,8-дигидронеоптерин являлся наиболее выраженным тушителем хемилюминесценции и поддерживал рост *E. coli* [155].

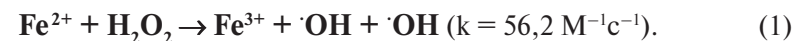
Однако, если для подавления бактериального роста вместо хлорамина-Т использовалась перекись водорода, то ароматическая форма неоптерина также усиливала бактерицидное действие, в то же время восстановленная форма, судя по данным работы [149], не способна влиять на ингибирование роста *E. coli*, при этом эффективность тушения 7,8-дигидронеоптеринном хемилюминесценции, индуцированной  $H_2O_2$ , сопоставима с таковой в случае хлорамина-Т [148]. Принимая во внимание то, что генерация активированными макрофагами перекиси водорода близко коррелирует с синтезом неоптерина и 7,8-дигидронеоптерина [156], предположение о модуляции птеринами бактерицидного действия ROS в данном случае вызывает некоторое сомнение.

Таким образом, механизм антибактериального действия неоптерина остается недостаточно изученным.

##### ПРООКСИДАНТНАЯ ФУНКЦИЯ НЕОПТЕРИНА

Неоптерин, как показано выше, усиливает хемилюминесценцию, индуцированную хлорамином-Т и перекисью водорода [148]. Однако, влияния неоптерина на ЭПР-сигнал, обусловленный  $\cdot OH$ -радикалами, генерированными хлорамином-Т, не обнаружено (около 30% радикалов, образующихся с участием дезинфектанта, являются гидроксильными радикалами). Неоптерин не влияет на формирование спиновых аддуктов DMPO (5,5-диметил-1-пирролин-1-оксид) в системе, генерирующей супероксидный радикал (NADPH цитохром P450 редуктаза с адриамицином в качестве субстрата) [157]. Формирование каких же радикалов обуславливает усиление хемилюминесценции в присутствии неоптерина?

Выяснилось, что необходимым условием проявления неоптеринном прооксидантных свойств является присутствие хелатов железа, например с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) или ДТПА (диэтиленаминпентаацетат) [158]. Несмотря на противоречивые данные о доступности железа в комплексе с ДТПА для катализа реакции Фэнтона (см. уравнение 1) [159–161], установлено, что ДТПА не блокирует продукцию гидроксильных радикалов [162, 163].



Вместе с тем, важно отметить, что при физиологических значениях рН образование  $\text{OH}^-$  заметно менее выражено, чем в случае комплекса железа с ЭДТА [164–166]. Однако влияние неоптерина на усиление хемилюминесценции, индуцированной пероксидом водорода (опыт проводился также при физиологических рН), одинаково в присутствии и ЭДТА, и ДТПА [158]. Кроме того, маннитол, тушитель гидроксильных радикалов, не ослабляет эффект неоптерина [167]. Таким образом, стимуляция неоптерином образования гидроксильных радикалов в реакции Фэнтона представляется неубедительной.

Было высказано предположение, что образование других ROS, таких как феррильные ( $\text{FeO}^{2+}$ ) и перферрильные ( $\text{FeO}^{3+}$ ) комплексы, возникающие как интермедиаты в реакции  $\text{H}_2\text{O}_2$  с Fe, может объяснить прооксидантный эффект неоптерина [167]. Известно, что комплексы железа с ЭДТА и ДТПА способны генерировать не только гидроксильные радикалы, но и феррильные и перферрильные комплексы [168, 169]. ДТПА и ЭДТА являются синтетическими хелатирующими агентами, в организме же пул каталитически активного железа находится в комплексе с рядом органических молекул, например цитратом, АДФ, АТФ, ГТФ [170]. В связи с этим, важно отметить, что в реакции Фэнтона комплексы железа с АДФ, например, ответственны за генерацию не только  $\text{OH}^-$  радикалов, но и феррильных комплексов [171].

Поскольку увеличение образования радикальных соединений в присутствии неоптерина не сопряжено с его химической модификацией и изменением концентрации в реакционной среде, можно заключить, что он действует по каталитическому механизму [172].

Здесь стоит также заметить, что при возбуждении УФ светом неоптерин в водных растворах ответственен за продукцию синглетного кислорода [173]. Данный эффект неоптерина отчасти объясняет зафиксированное в работе [174] усиление этим соединением повреждающего действия УФ света на клетки меланомы В-16.

#### НЕОПТЕРИН КАК ИНГИБИТОР ROS-ГЕНЕРИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ

Интересно отметить влияние неоптерина на активность ферментов так называемой «первой линии защиты организма», ответственных, в частности, за реализацию «оксидативного взрыва» макрофагов. NADPH-оксидаза способна в больших количествах генерировать супероксид анион и его производные. Так, комбинация NADPH-оксидазы с миелопероксидазой приводит к возникновению гипохлорной кислоты, а также синглетного кислорода [175–177]. Неоптерин в концентрации  $\sim 1$  мкМ способен ингибировать активность NADPH-оксидазы макрофагов [178], интересно, однако, что даже в концентрации 500 мкМ он не подавляет активность NADPH-оксидазы нейтрофилов

[179]. Вместе с тем, неоптерин дозозависимо ингибирует образование активных соединений в системе миелопероксидаза нейтрофилов/ $\text{H}_2\text{O}_2$  – его присутствие в концентрации 100 мкМ приводит к полному тушению хемилюминесценции в данной системе [180]. Неоптерин также тушит хемилюминесценцию в ксантин/ксантинооксидазной системе [181].

Ксантинооксидаза – продукт посттрансляционной модификации ксантинооксидоредуктазы – фермента, являющегося важным компонентом системы врожденного иммунитета. Ксантинооксидаза генерирует супероксид анион, дальнейшие превращения которого приводят к образованию пероксида водорода и гидроксильных радикалов [182]. Птерины способны модулировать данную функцию фермента. В частности, птерины, имеющие ароматическую структуру при отсутствии заместителей в положении С-7 являются ингибиторами ксантинооксидазы. Очевидно, что химическое строение неоптерина удовлетворяет этим требованиям. Неоптерин способен неконкурентно ингибировать реакции данного фермента. Причем, поскольку ксантинооксидаза, помимо продукции ROS, участвует в катаболизме пуринов, стоит отметить, что неоптерин более выражено ингибирует продукцию  $\text{H}_2\text{O}_2$ , чем мочевой кислоты [183, 184].

#### ВОССТАНОВЛЕННЫЕ ПТЕРИНЫ КАК АНТИОКСИДАНТЫ

Атака восстановленных птеринов на свободные радикалы впервые была продемонстрирована в 1988 г. [185]. Было показано, что  $\text{H}_4$ -биооптерин, 7,8-дигидробиоптерин и 7,8-дигидронеоптерин дозозависимо ингибируют хемилюминесценцию в модельной системе активированных зимозаном моноцитов.

Высокая эффективность нейтрализации ROS тетрагидроформами биооптерина и неоптерина подтвердилась и в дальнейших работах [186–189]. К примеру, было установлено, что постоянная скорости реакции (k)  $\text{H}_4$ -биооптерина с супероксид анион радикалом ( $\text{O}_2^-$ ) составляет  $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , что соответствует таковой у аскорбата [190]. Константы скорости реакции с пероксинитритом ( $\text{ONOO}^-$ ) таких известных антиоксидантов, как аскорбат, цистеин, восстановленный глутатион, соответственно равны:  $236 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $5,8 \times 10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [191–193], в то время как для  $\text{H}_4$ -биооптерина она в 6–10 раз выше ( $6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) [194].

Более того, была описана модельная антиоксидантная система, которая включала помимо  $\text{H}_4$ -биооптерина дигидроптеринредуктазу (DHPR) – фермент регенерации  $\text{H}_4$ -биооптерина, являющегося важным участником реакций гидроксирования ароматических аминокислот (Phe-, Trp-, Tyr-). [195, 196]. Эффективность системы не уступает таким известным антиоксидантным агентам, как аскорбиновая кислота, цистеин, восстановленный глутатион. Возможность существ-



вождения подобной системы в организме впервые обсуждалась в 1972 году в работе [197]. В пользу этого, как нам кажется, говорит и тот факт, что DHPR широко распространена в организме, и ее активность на порядки превосходит активность  $H_4$ -биоптеринзависимых гидроксиза азидокислот (Phe-, Trp-, Tug-) [198].

DHPR активна только в отношении нестабильных хиноноидных форм дигидроптерина [199, 200]. Помимо нее, за их восстановление ответственны также тиолы, аскорбат, восстановленные пиридиновые нуклеотиды, от величины внутриклеточной концентрации которых также зависит активность тетрагидроптерина как антиоксидантов [190, 201, 202].

Хиноноидные 5,6-дигидроптерины спонтанно переходят в 7,8-дигидроформы. Их восстановление до тетрагидроформы способна осуществлять дигидрофолатредуктаза (DHFR) [46, 203]. Данный фермент, так же как и DHPR, широко распространен в организме млекопитающих и в отличие, например, от *E. coli*, обладает широкой субстратной специфичностью. Он способен катализировать восстановление не только дигидрофолатов (непосредственных субстратов), но и неконъюгированных дигидроптеридинов, имеющих боковую цепь в положении С-6. Скорость данной неспецифической реакции зависит от природы и длины боковой цепи неконъюгированного птеридина, а также pH среды [204–206]. Адлер и соавт. экспериментально подтвердили возможность восстановления дигидрофолатредуктазой 7,8-дигидронеоптерина до 5,6,7,8-тетрагидроформы [207]. Более того, DHFR обладает способностью восстанавливать даже полностью окисленные неконъюгированные птерины, например, биоптерин. Можно думать, что подобное восстановление имеет место и в отношении неоптерина. Однако эффективность подобной реакции чрезвычайно мала [199].

Таким образом, несмотря на то, что восстановление конъюгированных птеридиновых субстратов осуществляется DHFR с большей эффективностью, чем неконъюгированных, в определенных условиях данный фермент можно рассматривать в качестве участника дополнительного минорного пути в предполагаемой нами тетрагидроптеринзависимой антиоксидантной системе, графическое изображение которой представлено на рис. 2.

#### АНТИОКСИДАНТНАЯ ФУНКЦИЯ 7,8-ДИГИДРОНЕОПТЕРИНА

Во-первых, отметим, что в работе [148] показано, что по эффективности тушения хемилюминесценции, индуцированной  $H_2O_2$  и хлораминот-Г 7,8-дигидронеоптерин не уступает  $H_4$ -неоптерину. В работе [208], в модельных системах с использованием ферментативных реакций, образующих  $O_2^-$  (ксантиноксидазной и глюкозооксидазной) или

с экзогенной  $H_2O_2$  для индукции люминолопосредованной хемилюминесценции, 7,8-дигидронеоптерин проявил себя даже более сильным тушителем хемилюминесценции, чем тетрагидроптерины ( $H_4$ -биоптерин и  $H_4$ -неоптерин).

Кроме того, при равных концентрациях 7,8-дигидронеоптерин приблизительно в два раза более эффективно ингибирует хемилюминесценцию, индуцированную супероксидным радикалом, чем аскорбат [209].

Во-вторых, 7,8-дигидронеоптерин способен взаимодействовать с пероксидами липидов [172, 210, 211], а также, хотя и значительно медленнее, с гидроперекисями протеинов. Последнее обстоятельство особенно важно с точки зрения выживания клеток в условиях оксидативного стресса, поскольку, как было показано на клеточной линии моноцитов U 937, именно окисление белков, а не липидов плазматической мембраны играет решающую роль в гибели клеток [212]. Алифатическая цепь 7,8-дигидронеоптерина позволяет ему ассоциироваться с клеточной мембраной, располагаясь вблизи мембранных белков и предотвращать их поражение. Механизм защитного действия, возможно, сводится к обрыву цепи окисления, как это установлено для  $\alpha$ -токоферола. По эффективности 7,8-дигидронеоптерин не уступает  $\alpha$ -токоферолу, имея близкую с ним константу скорости реакции с пероксильными радикалами ( $k = 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) [157]. Уменьшение за счет 7,8-дигидронеоптерина окисления  $\alpha$ -токоферола было продемонстрировано в работе [213]. Показано, что 7,8-дигидронеоптерин предотвращает также потерю клеточных тиолов [212].

В-третьих, было показано, что 7,8-дигидронеоптерин эффективно уменьшает нитрование тирозина пероксинитритом [209]. Это позволяет заключить, что он способен предохранять активированные макрофаги в очаге воспаления от цитотоксического действия радикальных азотистых соединений.



Рис. 2. Схема предполагаемой антиоксидантной системы с участием восстановленных птеринов.

ROS — активные формы кислорода.

Пунктиром обозначен минорный путь восстановления птеринов.

## ПРООКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТ 7,8-ДИГИДРОНЕОПТЕРИНА

Проявление прооксидантного эффекта 7,8-дигидронеоптерина имеет место при увеличении концентрации данного соединения. Так, в работе [167] отмечается, что 7,8-дигидронеоптерин в концентрации выше 1 мМ усиливает хемилюминесценцию, индуцированную перекисью водорода. Прооксидантный эффект можно наблюдать и при меньших концентрациях. Так, при использовании салициловой кислоты, метмиоглобина и метгемоглобина в качестве модельных субстратов для обнаружения генерации ROS в водных растворах 7,8-дигидронеоптерина было показано, что гидроксильное окисление салициловой кислоты происходит в присутствии 50 мкМ птерина [214], 40 мкМ является пороговой концентрацией, при которой происходит расщепление порфиринового кольца метмиоглобина и метгемоглобина [215].

Переключение с антиоксидантного на прооксидантное действие при увеличении концентрации наблюдается и у других восстанавливающих агентов, например аскорбата [216, 217]. Так, окисление производного тетрагидрофолата в присутствии железа значительно ускоряется с возрастанием (от 0 до 1 мМ) концентрации аскорбата [218]. Известно, что сильные антиоксиданты должны быть сильными восстанавливающими агентами. Аскорбат способен восстанавливать переходные металлы, в частности, железо из трехвалентного в двухвалентное состояние, тем самым инициируя образование высокотоксичных гидроксильных радикалов в реакции Фэнтона (см. ур. 1) [217].

Подобный механизм объясняет и прооксидантное действие 7,8-дигидронеоптерина. Так, было прямо продемонстрировано, что 7,8-дигидронеоптерин способен восстанавливать трехвалентное железо в двухвалентное [219]. Кроме того, при окислении в насыщенных кислородом растворах 7,8-дигидронеоптерин, возможно, непосредственно продуцирует супероксид анион, который, участвуя в реакциях Фэнтона (см. ур. 1) или Хабера-Вайса (уравнение 2) образует гидроксильные радикалы. Увеличение концентрации ионов железа ускоряет генерацию ROS, а такой хелатирующий агент, как дефероксамин, блокируя возможность восстановления железа, ингибирует образование супероксид аниона и гидроксильного радикала в растворах 7,8-дигидронеоптерина [214].



Скорость реализации прооксидантного эффекта 7,8-дигидронеоптерина заметно ниже, чем антиоксидантного. Но при избыточной продукции данного птерина в условиях активации иммунной системы прооксидантный эффект, очевидно, имеет место, и именно ему обязан 7,8-дигидронеоптерин своей ролью медиатора клеточного иммунитета.

## ОКИСЛЕНИЕ 7,8-ДИГИДРОНЕОПТЕРИНА

Как уже отмечалось, при патологических состояниях, связанных с активацией иммунной системы, в крови увеличивается количество 7,8-дигидронеоптерина, а также неоптерина. Однако в модельных условиях при физиологических рН аутоокисление 7,8-дигидронеоптерина в присутствии кислорода происходит с отрывом боковой цепи в положении С-6 и образованием 7,8-дигидроксантоптерина. Вступая в реакцию с ROS (при физиологических рН), антиоксидант 7,8-дигидронеоптерин стехиометрически расходуется, окисляясь также с потерей боковой цепи в позиции С-6 и образованием 7,8-дигидроксантоптерина и ксантоптерина [172, 220]. Откуда же тогда берется неоптерин?

Нужно иметь в виду, что природа продуктов окисления восстановленных птеринов зависит от многих факторов, в частности, рН среды, температуры, типа и концентрации буфера, а также воздействия света [21, 30]. Так, при окислении  $\text{H}_4$ -биоптерина в кислых условиях образуется 7,8-дигидробиоптерин, а в щелочной среде — 7,8-дигидроптерин и нефлюоресцирующее соединение (возможно, дигидроксантоптерин) [188, 221–223]. Что касается 7,8-дигидронеоптерина, то окисляющие агенты ( $\text{MnO}_2$ ,  $\text{I}_2$ ) при низких значениях рН также не отщепляют алифатическую цепь в положении С-6, окисляя соединение до неоптерина (схема 2).

Известно, что усиленный обмен веществ при воспалении приводит к накоплению недоокисленных продуктов углеводного обмена — молочной и трикарбоновых кислот. Вместе с этим, вследствие нарушения обмена жиров, белков и распада нуклеиновых кислот в очаге воспаления нарастает содержание жирных кислот, кетоновых тел, аминокислот, нуклеотидов и нуклеозидов. В результате развивается ацидоз. По мере истощения буферных систем и замедления крово- и лимфотока ацидоз нарастает и становится некомпенсированным. Чем острее протекает воспалительный процесс, тем выше концентрация водородных ионов в ткани, рН может падать до 5,6 и ниже [224]. Также нужно иметь в виду, что «оксидативный взрыв» в активированных фагоцитах сопровождается закислением рН [225].

Кроме того, при физиологических значениях рН гипохлорная кислота окисляет 7,8-дигидронеоптерин до неоптерина [226]. В организме, в очаге воспаления, за генерацию гипохлорной кислоты ответственна миелопероксидаза, фермент, обнаруживаемый у нейтрофилов, а также и в моноцитах/макрофагах [227].

Таким образом, приведенные выше факты способны объяснить образование в организме именно неоптерина из 7,8-дигидронеоптерина, а не 7,8-дигидроксантоптерина и ксантоптерина.

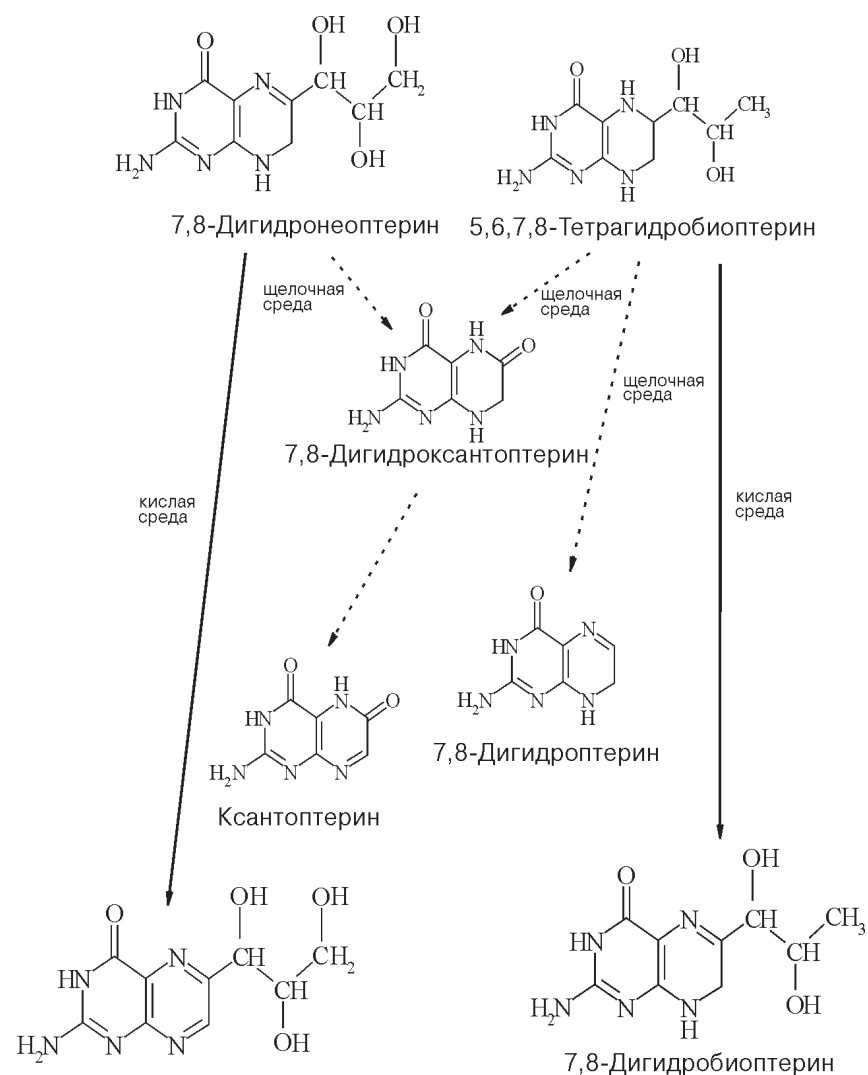


Схема 2. Возможные пути окисления восстановленных птеринов.

### НЕОПТЕРИН И 7,8-ДИГИДРОНЕОПТЕРИН КАК МЕДИАТОРЫ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА

Увеличение внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  играет важную роль в активации макрофагов, в частности, приводит к активации NADPH-оксидазы [228–231]. Неоптерин и 7,8-дигидронеоптерин, как было установлено Уолл и соавт., способствуют увеличению внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в миеломоноцитах THP-1 [230]. Известно, что ROS причастны к активации кальциевых каналов клетки [231, 232]. Очевидно, неоптерин и 7,8-дигидронеоптерин за счет генерации ROS изменяют проницаемость кальциевых каналов моноцитов/макрофагов, что позволяет данным птеринам участвовать в  $\text{Ca}$ -индуцированной активации этих клеток.

Изменения окислительно-восстановительного статуса клетки являются основной причиной активации таких транскрипционных факторов, как NF- $\kappa$ B, и AP-1, играющих важную роль в регуляции иммунного ответа [233, 234]. Гетеродимер AP-1 формируют протеины c-jun и c-fos. Их экспрессию способны индуцировать сравнительно малые количества ROS, а также ряд индукторов оксидативного стресса [234], в число которых, очевидно, входят неоптерин и 7,8-дигидронеоптерин. Так, было обнаружено, что неоптерин и 7,8-дигидронеоптерин ответственны за индукцию протоонкогена c-fos в клетках линии фибробластов NIH 3T3 [235]. В Т-лимфоцитах линии Jurkat 7,8-дигидронеоптерин также активировал AP-1, а в синергизме с TNF- $\alpha$  и NF- $\kappa$ B [236]. Активация транслокации NF- $\kappa$ B к ядру наблюдалась и в VSMC после их инкубации с неоптерин [237].

NF- $\kappa$ B, присутствующий во всех клетках иммунной системы, принимает участие в регуляции экспрессии ряда цитокинов (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) [234, 238]. Именно с активацией данного транскрипционного фактора может быть связана индукция неоптерин синтезом TNF- $\alpha$  в VSMC [143], а также IFN- $\gamma$  в Т-клеточной линии Jurkat [141]. Эти данные, дополняют объяснение аутоиндуктивного образования неоптерина в PBMC [142], которое приводилось в третьей части обзора. Заметим также, что на остеобластах было показано, что стимуляция NF- $\kappa$ B и AP-1 активация, необходимы для экспрессии GTP CH-1 [239].

С активацией NF- $\kappa$ B связывают также влияние неоптерина на экспрессию iNOS в VSMC [240] и молекул адгезии ICAM-1 в клетках альвеолярного эпителия [241].

Очевидно, именно за счет изменения концентрации ROS неоптерин и 7,8-дигидронеоптерин ингибируют продукцию эритропоэтина [242]. Известно, что экспрессия эритропоэтина зависит от гипоксия-индуцибельного транскрипционного фактора (HIF-1), деградация которого происходит в присутствии активных форм кислорода [234].

На основе приведенных фактов, можно сделать заключение, что реализация прооксидантных эффектов неоптерина и 7,8-дигидронеоптерина способна модулировать развитие реакций клеточного иммунитета.

#### СИНТЕЗ НЕОПТЕРИНА И ОКСИДА АЗОТА МАКРОФАГАМИ ЧЕЛОВЕКА

Оксид азота (NO) является важной внутри- и внеклеточной сигнальной молекулой, принимающей участие в регуляции ряда физиологических процессов. Вместе с тем, как свободнорадикальное соединение, в случае сверхпродукции оксид азота действует как цитотоксический агент, вовлеченный в развитие воспалительных реакций [243–246].

Продукция оксида азота в организме осуществляется несколькими изоформами NO-синтаз. Существуют конститутивные эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) и нейрональная NO-синтаза (nNOS), присутствующие в покоящихся клетках и активируемые ионами  $Ca^{2+}$  и кальмодулином [247, 248]. Последние исследования позволяют предположить наличие еще одной изоформы NO-синтаз – митохондриальной [249]. Конститутивные NO-синтазы образуют оксид азота в наномолярных концентрациях. За образование микромолярных концентраций этого радикального соединения ответственна индуцибельная NO-синтаза (iNOS). Она экспрессируется во многих клетках, в частности, моноцитах и макрофагах, являясь их дополнительным оружием в осуществлении бактерицидного, противогрибкового, противопаразитарного, противоопухолевого действий. Однако экспрессия iNOS имеет место лишь в случае стимуляции клеток цитокинами, продуктами бактериальной, вирусной природы [250].

Все изоформы NO-синтаз обнаруживают сходное строение. Это гомодимеры, имеющие два функциональных домена: редуктазный и оксидазный. Редуктазный домен имеет сайты связывания для NADPH, FAD и FMN, в то время как оксидазный – для гема, аргинина и  $H_4$ -биоптерина. Предполагаются следующие функции у  $H_4$ -биоптерина как кофермента NO-синтаз: это перенос электрона на гем-кислородный комплекс в процессе ферментативной реакции, а также поддержание димерной структуры NO-синтазы [53, 250].

Как было показано в третьем разделе обзора, образование больших количеств неоптерина и 7,8-дигидронеоптерина активированными моноцитами/макрофагами человека происходит за счет минимизации синтеза  $H_4$ -биоптерина. Возникает вопрос способны ли данные клетки в таком случае генерировать оксид азота в количествах, достаточных для реализации защитных функций.

Стимуляция IFN- $\gamma$  и ЛПС мышинных и крысиных моноцитов/макрофагов, не имеющих минимизации синтеза  $H_4$ -биоптерина, приво-

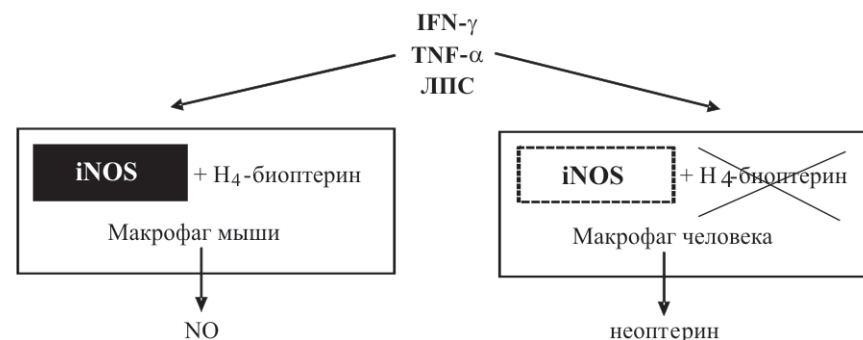


Рис. 3. Синтез оксида азота и неоптерина макрофагами мыши и человека при стимуляции цитокинами и бактериальными липополисахаридами.

дит к избыточной продукции этими клетками оксида азота. В отношении продукции оксида азота моноцитами/макрофагами человека данная стимуляция не эффективна (рис. 3) [251–255].

Однако уменьшение способности моноцитов/макрофагов человека генерировать оксид азота не объясняется лишь дефицитом  $H_4$ -биоптерина, поскольку устранение этого дефицита не приводит к усилению продукции NO [254, 256]. Количество  $H_4$ -биоптерина в культуральной жидкости коррелирует с продукцией оксида азота моноцитами человека лишь в случае трансфекции их iNOS гепатоцитов [257].

Причина, по которой человеческие моноциты/макрофаги не способны к синтезу больших количеств NO при стимуляции IFN- $\gamma$  и ЛПС, возможно, кроется и в том, что энхансер гена iNOS у человека, регулирующий ЛПС/IFN- $\gamma$  – индуцированную экспрессию, отличается от такового у мышей. Он имеет множественные нуклеотидные замены, приводящие к снижению ответа промотора iNOS-гена при стимуляции IFN- $\gamma$  и ЛПС [258]. В связи с этим стоит отметить интересную работу [259], в которой говорится, что у носителей точечной мутации в промоторе iNOS базовая активность данного фермента в 7 раз выше, чем у субъектов с геном дикого типа.

Однако утверждать, что макрофаги человека утратили способность экспрессировать большие количества функционально активной iNOS, не представляется возможным. Поскольку в ряде работ [260–264] при определенных условиях отмечалась способность данных клеток к синтезу значительных количеств NO. Изменяется ли в этих условиях синтез  $H_4$ -биоптерина моноцитами/макрофагами человека и как они сказываются на продукции неоптерина, не известно.

#### IV. НЕОПТЕРИН КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Поскольку продукция неоптерина активированными моноцитами/макрофагами коррелирует с продукцией ROS данными клетками, неоптерин может служить непрямым маркером развития оксидативного стресса в организме при воспалении [265, 266].

Достоверное определение уровня цитокинов в биологических жидкостях сопряжено с рядом серьезных трудностей. В частности, это связано с локальной продукцией цитокинов, коротким периодом их полужизни и циркуляцией в связанном состоянии — в комплексе с другими белками. Это приводит к значительным флуктуациям в данных клинических анализов и очень условно отражает продукцию цитокинов клетками [267–269]. Так как неоптерин является стабильным соединением (в окисленном состоянии), легко и точно детектируется, а основным стимулом его продукции признан IFN- $\gamma$ , то он способен быть дополнительным инструментом в оценке достоверного уровня IFN- $\gamma$  в организме [270].

Поскольку IFN- $\gamma$  — цитокин T $\alpha$ -1 профиля, то неоптерин также отражает преимущественное направление развития иммунного ответа [271]. Таким образом, концентрация неоптерина может служить дополнительным аргументом в спорных ситуациях наличия или отсутствия T $\alpha$ -1/T $\alpha$ -2 сдвига, например, при ВИЧ-инфекции. Развитие T $\alpha$ -1/T $\alpha$ -2 сдвига в процессе данного заболевания отмечается рядом авторов [272–276]. В других работах этот факт не находит подтверждения [277–280]. Вместе с тем, хорошо известно, что концентрация неоптерина увеличивается в крови в ходе заболевания и особенно высока на поздних стадиях [281–285]. То, что неоптерин можно рассматривать как маркер T $\alpha$ -1 поляризации, подтверждает и строгая обратная корреляция между концентрацией в крови неоптерина и иммуноглобулина E — маркера T $\alpha$ -2 поляризации [286].

Но труднее всего будет дать определение неоптерину как маркеру активации клеточного иммунитета.

Поскольку такая активация имеет место при очень широком круге патологических состояний, неоптерин как неспецифический маркер находит все большее применение в клинической лабораторной диагностике. Из обзорных работ, посвященных рассмотрению значимости неоптерина в диагностике, прогнозировании, мониторинге различных заболеваний, можно указать на монографию Шевченко и соавт. [287], а также на работы [56, 288, 289]. Кроме того, подобную информацию можно найти на сайте: [www.neopterin.net](http://www.neopterin.net). Ниже приведен перечень патологий, при которых отмечается повышение концентрации неоптерина в биологических жидкостях человека (крови, моче, слюне, спинномозговой и синовиальной жидкостях) (таблица).

Таблица  
Клинические состояния, при которых наблюдается увеличение концентрации неоптерина в организме человека

№	Клинические состояния	Некоторые примеры
1	Вирусные инфекции	а) корь б) вирус иммунодефицита человека в) цитомегаловирусная инфекция
2	Бактериальные инфекции	а) туберкулез б) лепра в) сепсис г) малярия
3	Паразитарные заболевания	а) шистоматоз б) саркоидоз
4	Аутоиммунные заболевания	а) системная красная волчанка б) аутоиммунный тиреоидит в) ревматоидный артрит г) неспецифический язвенный колит
5	Опухолевые патологии	а) хронический лимфолейкоз б) неходжкинская лимфома в) множественная миелома г) меланома
6	Сердечно-сосудистые заболевания	а) атеросклероз б) инфаркт миокарда в) застойная сердечная недостаточность
7	Нейродегенеративные заболевания	а) болезнь Альцгеймера б) болезнь Паркинсона
8	Отторжение трансплантата	
9	Множественные травмы	

Стоит отметить также и значение определения неоптерина при создании банков крови, так как повышение уровня данного соединения может служить индикатором латентно протекающих заболеваний у доноров [60].

Для определения неоптерина обычно используются радиоиммунный и иммуноферментный анализ, а также высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC). Первые два метода достаточно просты в исполнении, хорошо воспроизводимы и не требуют больших затрат времени и высокой квалификации специалиста для проведения анализа [290, 291]. Возможность использования готовых коммерческих наборов делает их основными в клинико-лабораторной практике.

Метод HPLC находит все более широкое применение не только при научных исследованиях, но и в диагностической практике. Примеры протоколов анализа проб мочи, крови, спинномозговой жидкости на содержание неоптерина приведены в работах [292–295]. Стоит особо отметить недавнюю публикацию бразильских ученых [296], предложивших способ, значительно облегчающий и удешевляющий опре-

деление неоптерина методом HPLC (УФ-детектор, изократическая система, элюент — фосфатный буфер, время анализа не превышает 20 минут).

## V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, при патологических состояниях человека, связанных с активацией клеточного иммунитета, концентрация неоптерина в крови может увеличиваться на 2–3 порядка. Клетками, ответственными за его избыточную продукцию, являются активированные моноциты/макрофаги. Данные клетки имеют высокую активность GTP СН-I и низкую 6-PTPS, поэтому при стимуляции их, в частности IFN- $\gamma$ , происходит избыточная продукция 7,8-дигидронеоптерина и неоптерина на фоне минимизации синтеза H<sub>4</sub>-биоптерина. Биологическое значение этой минимизации, очевидно, в отсутствие необходимости в H<sub>4</sub>-биоптерине как коферменте для iNOS, поскольку в моноцитах/макрофагах человека, в отличие, например, от грызунов, высокого уровня экспрессии функционально активного белка iNOS при стимуляции IFN- $\gamma$  не наблюдается.

Продукция 7,8-дигидронеоптерина и неоптерина сопряжена с «оксидативным взрывом» моноцитов/макрофагов. В связи с этим, необходимость в синтезе данных соединений может быть связана, с одной стороны, с самозащитой моноцитов/макрофагов от повреждающего действия ROS. Так, 7,8-дигидронеоптерин, вступая в реакцию с активными радикалами, предотвращает их окислительное действие в отношении липидов, а главное, белков клеточной мембраны моноцитов/макрофагов. При этом 7,8-дигидронеоптерин окисляется до неоптерина. Неоптерин, ингибируя активность макрофагальных ферментов, генерирующих ROS, влияет на степень «оксидативного взрыва».

С другой стороны, за счет прооксидантного эффекта, усиливаемого в присутствии ионов переходных металлов, неоптерин и 7,8-дигидронеоптерин способны потенцировать защитные эффекты, связанные с «оксидативным взрывом». В частности, прооксидантное действие данных птеринов играет роль в индукции экспрессии ряда генов, вовлеченных в реакции клеточного иммунитета — цитокинов, молекул адгезии и др.

Очевидно, что действие неоптерина и 7,8-дигидронеоптерина в организме многопланово и имеет массу точек приложения. Конкретные эффекты зависят от условий среды и особенностей различных тканей организма, а также соотношения окисленной и восстановленной форм неоптерина. Как видно из обзора, к настоящему времени остается еще ряд вопросов в области изучения биологических функций птеринов и их роли в организме человека.

Авторы выражают благодарность А.В. Жердеву за критическое прочтение рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Rembold, H., Bushmann, L. (1963) Ann. Chem., **662**, 72.
2. Plowman, J., Cone, J., Guroff, G. (1974) J. Biol. Chem., **249**, 5559.
3. Urushibara, T., Forrest, H. (1970) Biochem. Biophys. Res. Commun., **40**, 1189.
4. Kobayashi, K., Forrest, H. (1967) Biochim. Biophys. Acta, **141**, 642.
5. Goto, T., Jap, J. (1963) J. Zool., **14**, 91.
6. Katoh, S., Sueoka, T., Yamada, S. (1980) Insect. Biochem., **10**, 119.
7. Aksnes, J., Borsum, K., Hagve, T.A., Kierulff, P., Muller, F., Rollag, H. (1995) Scand. J. Lab. Invest., **55**, 201–210.
8. Goldberg, M., Fuchs, C. (1996) Zentralbl. Veterinarmed., **43**, 201–209.
9. Stang, B.V., Koller, L.D. (1998) Res. Vet. Sci., **65**, 87–88.
10. Yoshida, T., Akino, M. (1980) Experimentia, **36**, 639.
11. Kohashi, M. (1980) J. Biochem. (Tokyo), **87**, 1581–1586.
12. Ро́йт А., Бростофф, Дж., Ме́йл, Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. 592 с.
13. Sakurai, A., Goto, M. (1967) J. Biochem. (Tokyo), **61**, 142–145.
14. Wachter, H., Hausen, A., Grassmayr, K. (1979) Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., **360**, 1957–1960.
15. Самсонов М.Ю., Голбан Т.Д., Насонов Е.Л., Масенко В.П. (1992) Клини. мед., № 3–4, 40–41.
16. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю. (2000) Сердечная недостаточность, **1**, № 4.
17. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Орлова О.В. (2000) Лаборатория, № 4, 6.
18. Hopkins, F.G. (1889) Nature, **40**, 335.
19. Schopf, C., Becker, E. (1936) Justus Liebig's Ann. Chem., **524**, 49–144.
20. Андреева Н.А. (1974) Ферменты обмыва фолиевой кислоты. Москва: Наука, 96 с.
21. Blakley, R.L., Benkovic, S.J. (1984) Foliates and pterins. vol. 1. New-York: John Wiley & Sons. 630 p.
22. Lucock, M. (2000) Mol. Genet. Metab., **71**, 121–138.
23. Bermingham, A., Derrick, J.P. (2002) BioEssay, **24**, 637–648.
24. Heelis, P., Kim, S.T., Okamura, T., Sancar, A. (1993) J. Photochem. Photobiol., B, **17**, 219–228.
25. Hearst, J.E. (1995) Science, **268**, 1858–1859.
26. Todo, T. (1999) Mutation Res., **434**, 89–97.
27. Cashmore, A.R., Jarillo, J.A., Wu, Y.J., Liu, D. (1999) Science, **284**, 760–765.
28. Wolf, G. (2002) Nutrition Rev., **60**, 257–260.
29. Земскова Ю.Л., Телегина Т.А., Колесников М.П., Людникова Т.А., Умрихина А.В., Свиридов Е.А., Крицкий М.С. (2003) Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования, т.3, М.: РУДН, 67–70.
30. Телегина Т.А., Людникова Т.А., Земскова Ю.Л., Свиридов Е.А., Крицкий М.С. (2005) Прикладная биохимия и микробиология, **41**, 315–323.
31. Forrest, H.S., Mitchell, H.K. (1955) J. Am. Chem. Soc., **77**, 4865–4869.
32. Pirie, A., Simpson, D. (1946) Biochem. J., **40**, 14–20.
33. Gremer-Bartels, G., Gerding, H., Krause, K., Yektapour-Tabrizi, M. (1992) Pteridines, **3**, 75–76.
34. Gremer-Bartels, G., Ebels, I. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**, 2415–2418.
35. Galland, P., Senger, H. (1988) Photochem. Photobiol., **48**, 811–820.
36. Hohl, N., Galland, P., Senger, H. (1992) Photochem. Photobiol., **55**, 239–245.
37. Fuller, R.S., Nugen, N.A. (1969) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **63**, 1311.

38. Fuller, R.S., Kidder, G.W., Nugent, N.A., Dewey, V.C., Rigopoulos, N. (1971) Photochem. Photobiol., **14**, 359–371.
39. Galland, P., Geib, D., Hohl, N., Senger, H. (1994) Photochem. Photobiol., **59**, 69–75.
40. Неверов К.В., Миронов Е.А., Людникова Т.А., Красновский А.А., Крицкий М.С. (1996) Биохимия, **61**, 1627–1636.
41. Kritsky, M.S., Lyudnikova, T.A., Mironov, E.A., Moskaleva, I.V. (1997) J. Photochem. Photobiol. B, **39**, 43–48.
42. Suarez, G., Cabrerizo, F.M., Lorente, C., Thomas, A.H., Capparelli, A.L. (2000) J. Photochem. Photobiol. A, **132**, 53–57.
43. Крицкий М.С., Телегина Т.А., Людникова Т.А., Умрихина А.В., Земскова Ю.Л. (2001) ДАН, **380**, 408–410.
44. Thomas, A.H., Lorente, C., Capparelli, A.L., Pokhrel, M.R., Braun, A.M., Oliveros, E. (2002) Photochem. Photobiol. Sci., **1**, 421–426.
45. Lorente, C., Capparelli, A.L., Thomas, A.H., Braun, A.M., Oliveros, E. (2004) Photochem. Photobiol. Sci., **3**, 167–173.
46. Nichol, C.A., Smith, G.K., Duch, D.S. (1985) Annu. Rev. Biochem., **54**, 729–764.
47. Kisker, C., Schindelin, H., Rees, D.C. (1997) Annu. Rev. Biochem., **66**, 233–267.
48. Bertero, M.G., Rothery, R.A., Palak, M., Hou, C., Lim, D., Blasco, F., Weiner, J.H., Strynadka, N.C.J. (2003) Nat Struct Biol., **10**, 681–687.
49. Fitzpatrick, P.F. (1999) Annu. Rev. Biochem., **68**, 355–381.
50. Bassan, A., Blomberg, M., Siegbahn, P. (2003) Chem. Eur. J., **9**, 4055–4067.
51. Taguchi, H., Armarego, W. (1998) Med. Res. Rev., **18**, 43–89.
52. Kaufman, S. (1993) Annu. Rev. Nutr., **13**, 261–286.
53. Werner-Felmayer, G., Golderer, G., Werner, E.R. (2002) Curr. Drug Metab., **3**, 159–173.
54. Presta, A., Siddhanta, U., Wu, C., Sennequier, N., Huang, L., Abu-Soud, H., Erzurum, S., Stuehr, D. (1998) Biochemistry, **37**, 298–310.
55. Gorren, A., Kungl, A., Schmidt, K., Werner, E., Mayer, B. (2001) Nitric Oxide, **5**, 176–186.
56. Murr, C., Widner, B., Wirleitner, B., Fuchs, B. (2002) Curr. Drug Metabol., **3**, 175–187.
57. Oettl, K., Reibnegger, G. (2002) Curr. Drug Metabol., **3**, 203–209.
58. Wachter, H., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Werner, E.R. (1989) Adv. Clin. Chem., **27**, 81–141.
59. Reibnegger, G., Huber, L.A., Jurgens, G., Schonitzer, D., Werner, E.R., Wachter, H., Wick, G., Traill, K.N. (1988) Mech. Ageing Dev., **46**, 67–82.
60. Radunovic, N., Kuczynski, E., Rebarber, A., Nastic, D., Lockwood, C.J. (1999) Am. J. Obstet. Gynecol., **181**, 170–173.
61. Schennach, H., Murr, C., Gachter, E., Mayersbach, P., Schonitzer, D., Fuchs, D. (2002) Clin. Chem., **48**, 643–645.
62. Weiss, G., Glaser, K., Kronberger, P., Ambach, E., Fuchs, D., Bodner, E., Wachter, H. (1992) Biol. Chem. Hoppe Seyler, **373**, 289–294.
63. Fukushima, T., Nixon, J. (1980) Appl. Environ. Microbiol., **40**, 244–248.
64. Fuchs, D., Stahl-Hennig, C., Gruber, A., Murr, C., Hunsmann, G., Wachter, H. (1994) Kidney Int. Suppl., **47**, S8–11.
65. Fredrikson, S., Link, H., Eneroth, P. (1987) Acta Neurol. Scand., **75**, 352–355.
66. Krause, A., Protz, H., Goebel, K.M. (1989) Ann. Rheum. Dis., **48**, 636–640.
67. Reibnegger, G., Fuchs, D., Zangerle, R., Wachter, H. (1990) Clin. Chem., **36**, 1379–1380.
68. Hagberg, L., Dotevall, L., Norkrans, G., Larsson, M., Wachter, H., Fuchs, D. (1993) J. Infect. Dis., **168**, 1285–1288.
69. Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Werner, E.R., Dierich, M.P., Wachter, H. (1988) Immunol. Today, **9**, 150–155.
70. Fuchs, D., Milstien, S., Kramer, A., Reibnegger, G., Werner, E.R., Goedert, J.J., Kaufman, S., Wachter, H. (1989) Clin. Chem., **35**, 2305–2307.
71. Margreiter, J., Schlager, A., Balogh, A., Maier, H., Balogh, D., Lindner, K.H., Fuchs, D., Schobersberger, W. (2000) J. Mol. Cell Cardiol., **32**, 1265–1274.
72. Iwagaki, H., Hizuta, A., Kobashi, K., Isozaki, H., Takakura, N., Tanaka, N. (1999) Pteridines, **10**, 20–23.
73. Huber, C., Fuchs, D., Hausen, A., Margreiter, R., Reibnegger, G., Spielberger, M., Wachter, H. (1983) J. Immunol., **130**, 1047–1050.
74. Huber, C., Batchelor, J.R., Fuchs, D., Hausen, A., Lang, A., Niederwieser, D., Reibnegger, G., Sweity, P., Troppmair, J., Wachter, H. (1984) J. Exp. Med., **160**, 310–316.
75. Schinkel, C., Licht, K., Zedler, S., Schinkel, S., Fuchs, D., Faist, E. (2001) Shock, **16**, 329–333.
76. Bitterlich, G., Szabo, G., Werner, E.R., Larcher, C., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Schulz, T.F., Troppmair, J., Wachter, H. (1988) Immunobiology, **176**, 228–235.
77. Meyer, K.C., Cornwell, R., Carlin, J.M., Powers, C., Irizarry, A., Byrne, G.I., Borden, E.C. (1992) Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., **6**, 639–646.
78. Schroder, K., Hertzog, P.J., Ravasi, T., Hume, D.A. (2004) J. Leukoc. Biol., **75**, 1–27.
79. Schoedon, G., Troppmair, J., Fontana, A., Huber, C., Curtius, H.C., Niederwieser, A. (1987) Eur. J. Biochem., **166**, 303–310.
80. Schoedon, G., Curtis, H., Niederwieser, A. (1987) Biochem. Biophys. Res. Comm., **148**, 1232–1236.
81. Elzaouk, L., Laufs, S., Heerklotz, D., Leimbacher, W., Blau, N., Resibois, A., Thony, B. (2004) Biochim. Biophys. Acta, **1670**, 56–68.
82. Togari, A., Ichinose, H., Matsumoto, S., Fujita, K., Nagatsu, T. (1992) Biochem. Biophys. Res. Commun., **187**, 359–365.
83. Gutlich, M., Jaeger, E., Rucknagel, K.P., Werner, T., Rodl, W., Ziegler, I., Bacher, A. (1994) Biochem. J., **302** (Pt 1), 215–221.
84. Golderer, G., Werner, E.R., Heufler, C., Strohmaier, W., Grobner, P., Werner-Felmayer, G. (2001) Biochem. J., **355**, 499–507.
85. Hwu, W.L., Yeh, H.Y., Fang, S.W., Chiang, H.S., Chiou, Y.W., Lee, Y.M. (2003) Biochem. Biophys. Res. Commun., **306**, 937–942.
86. Thony, B., Auerbach, G., Blau, N. (2000) Biochem. J., **347**, 1–16.
87. Leitner, K.L., Meyer, M., Leimbacher, W., Peterbauer, A., Hofer, S., Heufler, C., Muller, A., Heller, R., Werner, E.R., Thony, B., Werner-Felmayer, G. (2003) Biochem. J., **373**, 681–688.
88. Schott, K., Gutlich, M., Ziegler, I. (1993) J. Cell Physiol., **156**, 12–16.
89. Schott, K., Yodoi, J., Schwulera, U., Ziegler, I. (1991) Biochem. Biophys. Res. Commun., **176**, 1430–1436.
90. Пащенко М.В., Пинегин Б.В. (2001) Иммунология, **22**, 7–16.
91. Wirleitner, B., Reider, D., Ebner, S., Bock, G., Widner, B., Jaeger, M., Schennach, H., Romani, N., Fuchs, D. (2002) J. Leukoc. Biol., **72**, 1148–1153.
92. Andert, S.E., Griesmacher, A., Zuckermann, A., Muller, M.M. (1992) Clin. Exp. Immunol., **88**, 555–558.
93. Werner-Felmayer, G., Werner, E., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Schmidt, K., Weiss, G., Wachter, H. (1993) J. Biol. Chem., **268**, 1842–1846.
94. Moutabarrak, A., Takahara, S., Nakaniishi, I., Kokado, Y., Takano, Y., Kameoka, H., Ishibashi, M., Zaid, D. (1994) Scand. J. Immunol., **39**, 27–30.
95. Walter, R., Linscheid, P., Blau, N., Kierat, L., Schaffner, A., Schoedon, G. (1998) Immunol. Lett., **60**, 13–17.
96. Пальцев М.А., Иванов А.А. (1995) Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 224 с.
97. Mosmann, T.R., Coffman, R.L. (1986) Ann. Rev. Immunol., **7**, 145–173.

98. *Ketlinский С.А.* (2002) Иммунология, **23**, 77–79.
99. *Oral, S.M., De Palo, V.A.* (2000) CHEST, **117**, 1162–1172.
100. *Essner, R., Rhoades, K., McBride, W.H., Morton, D.L., Economou, J.S.* (1989) J. Immunol., **142**, 3857–3861.
101. *McBride, W.H., Economou, J.S., Nayersina, R., Comora, S., Essner, R.* (1990) Cancer Res., **50**, 2949–2952.
102. *Moutabarrak, A., Takahara, S., Namiki, M., Kameoka, H., Seguchi, T., Yokokawa, K., Takano, Y., Sonoda, T., Ishibashi, M., Zaid, D. et al.* (1992) Lymphokine Cytokine Res., **11**, 327–330.
103. *Levings, M.K., Schrader, J.W.* (1999) J. Immunol., **162**, 5224–5229.
104. *Weiss, G., Murr, C., Zoller, H., Haun, M., Widner, B., Ludescher, C., Fuchs, D.* (1999) Clin. Exp. Immunol., **116**, 435–440.
105. *Ziegler, I., Schott, K., Lubbert, M., Herrmann, F., Schwulera, U., Bacher, A.* (1990) J. Biol. Chem., **265**, 17026–17030.
106. *Roberts, J.D., Bigelow, J.C., Moore, A.L., Belinson, J.L., Stewart, J.A., Hacker, M.P.* (1994) J. Immunother., **15**, 53–58.
107. *Herzyk, D.J., Soos, J.M., Maier, C.C., Gore, E.R., Narayanan, P.K., Nadwodny, K.L., Liu, S., Jonak, Z.L., Bugelski, P.J.* (2002) Cytokine, **20**, 38–48.
108. *Melichar, B., Lenzi, R., Rosenblum, M., Kudelka, A.P., Kavanagh, J.J., Melicharova, K., Templin, S., Garcia, M.E., Abbruzzese, J.L., Freedman, R.S.* (2003) J. Immunother., **26**, 270–276.
109. *Marth, C., Weiss, G., Koza, A., Reibnegger, G., Daxenbichler, G., Zeimet, A.G., Fuchs, D., Wachter, H., Dapunt, O.* (1994) Int. J. Cancer, **58**, 20–23.
110. *Skog, A.L., Wersall, P., Ragnhammar, P., Frodin, J.E., Mellstedt, H.* (2002) Cancer Immunol. Immunother., **51**, 255–262.
111. *Brugger, W., Kreutz, M., Andreesen, R.* (1991) J. Leukoc. Biol., **49**, 483–489.
112. *Kreutz, M., Krause, S.W., Hennemann, D., Rehm, A., Andreesen, R.* (1992) Res. Immunol., **143**, 107–115.
113. *Dinarello, C.A.* (2000) CHEST, **118**, 503–508.
114. *van der Poll, T., van Deventer, S.J., Hack, C.E., Wolbink, G.J., Aarden, L.A., Buller, H.R., ten Cate, J.W.* (1992) Blood, **79**, 693–698.
115. *Werner-Felmayer, G., Werner, E.R., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Wachter, H.* (1989) Biol. Chem. Hoppe-Seyler, **370**, 1063–1069.
116. *Werner-Felmayer, G., Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D., Hausen, A., Murr, C., Reibnegger, G., Werner, E.R., Wachter, H.* (1995) Clin. Diagn. Laborat. Immunol., **2**, 307–313.
117. *Werner, E.R., Bahrani, S., Heller, R., Werner-Felmayer, G.* (2002) J. Biol. Chem., **277**, 10129–10133.
118. *Niederwieser, A., Joller, P., Seger, R., Blau, N., Prader, A., Bettex, J.D., Luthy, R., Hirschel, B., Schaedelin, J., Vetter, U.* (1986) Klin. Wochenschr., **64**, 333–337.
119. *Denz, H., Fuchs, D., Hausen, A., Huber, H., Nachbauer, D., Reibnegger, G., Thaler, J., Werner, E.R., Wachter, H.* (1990) Klin. Wochenschr., **68**, 218–222.
120. *Henderson, D.C., Rippin, J.J.* (1995) Immunol. Lett., **45**, 29–34.
121. *Murr, C., Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D., Gerlach, D., Werner-Felmayer, G., Dierich, M.P., Wachter, H.* (1996) Immunobiology, **195**, 314–322.
122. *Elenkov, I.J.* (2004) Ann. N.Y. Acad. Sci., **1024**, 138–146.
123. *Zmierczak, H., Teuber, J., Wiest, R., Hatz, H.J., Helmke, K.* (1991) Immun. Infekt., **19**, 95–96.
124. *Pluss, C., Werner, E.R., Wachter, H., Pfeilschifter, J.* (1997) Br. J. Pharmacol., **122**, 534–538.
125. *Mitchell, B.M., Dorrance, A.M., Webb, R.C.* (2003) Hypertension, **41** (3Pt2), 669–674.
126. *Franscini, N., Bachli, E.B., Blau, N., Fischler, M., Walter, R.B., Schaffner, A., Schoedon, G.* (2004) Circulation, **110**, 186–192.
127. *Benfield, T.L., Schattenkerk, J.K., Hofmann, B., Jensen, B.N., Nielsen, T.L., Lundgren, J.D.* (1994) J. Infect. Dis., **169**, 1170–1173.
128. *Johnson, H.M., Torres, B.A., Smith, E.M., Dion, L.D., Blalock, J.E.* (1984) J. Immunol., **132**, 246–250.
129. *Koff, W.C., Dunegan, M.A.* (1985) J. Immunol., **135**, 350–354.
130. *Catania, A., Cutuli, M., Garofalo, L., Carlin, A., Airaghi, L., Barcellini, W., Lipton, J.M.* (2000) Ann. N.Y. Acad. Sci., **917**, 227–231.
131. *Rajora, N., Ceriani, G., Catania, A., Star, R.A., Murphy, M.T., Lipton, J.M.* (1996) J. Leukoc. Biol., **59**, 248–253.
132. *Weiss, G., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Werner, E.R., Werner-Felmayer, G., Wachter, H.* (1992) Exp. Hematol., **20**, 605–610.
133. *Weiss, G., Wachter, H., Fuchs, D.* (1995) Immunol. Today, **16**, 495–500.
134. *Oexle, H., Kaser, A., Most, J., Belmann-Weiler, R., Werner, E., Werner-Felmayer, G., Weiss, G.* (2003) J. Leukoc. Biol., **74**, 287–294.
135. *Altindag, Z.Z., Marth, C., Werner-Felmayer, G., Natoli, C., Zeimet, A.G., Wachter, H., Iacobelli, S., Fuchs, D.* (1996) Cancer Lett., **107**, 143–148.
136. *Gruber, A., Murr, C., Wirleitner, B., Werner-Felmayer, G., Fuchs, D.* (2000) Immunol. Lett., **72**, 133–136.
137. *Bellahsene, Z., Dhondt, J.-L., Ferrioux, J.-P.* (1984) Biochem. J., **217**, 59–65.
138. *Shen, R., Alam, A., Zhang, Y.* (1988) Biochim. Biophys. Acta, **965**, 9–15.
139. *Jacobson, K.B., Manos, R.E.* (1989) Biochem. J., **260**, 135–141.
140. *Milstien, S., Jaffe, H., Kowlessur, D., Bonner, T.I.* (1996) J. Biol. Chem., **271**, 19743–19751.
141. *Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D., Wachter, H.* (1996) Immunobiology, **196**, 350–355.
142. *Barak, M., Gruener, N.* (1991) Immunol. Lett., **30**, 101–106.
143. *Hoffmann, G., Frede, S., Kenn, S., Smolny, M., Wachter, H., Fuchs, D., Grote, J., Rieder, J., Schobersberger, W.* (1998) Int. Arch. Allergy Immunol., **116**, 240–245.
144. *Barak, M., Merzbach, D., Gruener, N.* (1990) Scand. J. Clin. Lab. Invest., **50**, 705–714.
145. *Nathan, C.F.* (1986) Interferon, **7**, 125–143.
146. *Zimmermann, M., Tolman, R.L., Morman, H., Graham, D.W., Rogers, E.* (1977) J. Med. Chem., **20**, 1213–1215.
147. *Sanders, W., Nienaber, V., Lerner, C., McCall, J.O., Merrick, S., Swanson, S., Harlan, J., Stoll, V., Stamper, G., Betz, S., Condroski, K. et al.* (2004) J. Med. Chem., **47**, 1709–1718.
148. *Weiss, G., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Werner, E., Werner-Felmayer, G., Semenzit, E., Dierich, M., Wachter, H.* (1993) FEBS Lett., **321**, 89–92.
149. *Wede, I., Widner, B., Fuchs, D.* (1999) Free Radic. Res., **31**, 381–388.
150. *Forman, H., Torres, M.* (2002) Am. J. Respir. Crit. Care Med., **166**, S4–S8.
151. *Nathan, C., Murray, H., Wiebe, M., Rubin, B.* (1983) J. Exp. Med., **158**, 670–689.
152. *Boehm, U., Klamp, T., Groot, M., Howard, J.C.* (1997) Annu. Rev. Immunol., **15**, 749–795.
153. *Gottardi, W.* (1992) Arch. Pharmacol., **325**, 377–384.
154. *Reibnegger, G., Fuchs, D., Murr, C., Dierich, M., Pfliegerer, W., Wachter, H.* (1995) Free Radic. Biol. Med., **18**, 515–523.
155. *Horejsi, R., Estelberger, W., Mlekusch, W., Moller, R., Otil, K., Vrecko, K., Reibnegger, G.* (1996) Free Radic. Biol. Med., **21**, 133–138.
156. *Nathan, C.F.* (1987) J. Clin. Invest., **79**, 319–326.



157. Oettl, K., Dikalov, S., Freisleben, H.-J., Mlekusch, W., Reibnegger, G. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **234**, 774–778.
158. Murr, C., Fuchs, D., Gossler, W., Hausen, A., Reibnegger, G., Werner, E., Werner-Felmayer, G., Esterbauer, G., Wachter, H. (1994) *FEBS Lett.*, **338**, 223–226.
159. Graf, E., Mahoney, J.R., Bryant, R., Eaton, J. (1984) *J. Biol. Chem.*, **259**, 3620–3624.
160. Morehouse, L., Thomas, C., Aust, S. (1984) *Arch. Biochem. Biophys.*, **232**, 366–377.
161. Winston, G., Feierman, D., Cederbaum, A. (1984) *Arch. Biochem. Biophys.*, **232**, 378–390.
162. Egan, T., Barthakur, S., Aisen, P. (1992) *J. Inorg. Biochem.*, **48**, 241–249.
163. Engelmann, M.D., Bobier, R., Cheng, I. (2003) *Biomaterials*, **16**, 519–527.
164. Sutton, H.C. (1985) *J. Free Radic. Biol. Med.*, **1**, 195–202.
165. Winterbourn, C., Sutton, C. (1986) *Arch. Biochem. Biophys.*, **244**, 27–34.
166. Fisher, A., Maxwell, S., Naughton, D. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **316**, 48–51.
167. Murr, C., Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D., Werner, E., Esterbauer, H., Pfeleiderer, W., Wachter, H. (1996) *Free Radic. Biol. Med.*, **21**, 449–456.
168. Yamazaki, I., Piette, L. (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**, 13589–13594.
169. Yin, D., Lingnert, H., Ekstrand, B., Brunk, U.T. (1992) *Free Radic. Biol. Med.*, **13**, 543–556.
170. Toyokuni, S. (2002) *Redox Rep.*, **7**, 189–197.
171. Gutteridge, J.M., Nagy, I., Maitd, L., Floyd, R.A. (1990) *Arch. Biochem. Biophys.*, **277**, 422–428.
172. Herpfer, I., Greilberger, J., Ledinski, G., Widner, B., Fuchs, D., Jurgens, G. (2002) *Free Radic. Res.*, **36**, 509–520.
173. Thomas, A., Lorente, C., Capparelli, A., Martinez, C., Braun, A., Oliveros, E. (2003) *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2**, 245–250.
174. Kojima, S., Icho, T., Mori, H., Arai, T. (1995) *Anticancer Res.*, **15**, 1975–1980.
175. Forman, H., Torres, M. (2002) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **166**, S4–S8.
176. Arnhold, J., Furtmuller, P.G., Obinger, C. (2003) *Redox Rep.*, **8**, 179–186.
177. Robinson, J., Ohira, T., Badwey, J. (2004) *Histochem. Cell Biol.*, **122**, 293–304.
178. Kojima, S., Nomura, T., Icho, T., Kajiwara, Y., Kitabatake, K., Kibota, K. (1993) *FEBS Lett.*, **329**, 125–128.
179. Watanabe, K., Arai, T., Mori, H., Nakao, S., Suzuki, T., Tajima, K., Makino, K., Mori, K. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **233**, 447–450.
180. Razumovitch, J., Fuchs, D., Semenkova, G., Cherenkevich, S. (2004) *Biochim. Biophys. Acta*, **1672**, 46–50.
181. Kojima, S., Icho, T., Kajiwara, Y., Kubota, K. (1992) *FEBS Lett.*, **304**, 163–166.
182. Vorbach, C., Harrison, R., Capocchi, M. (2003) *Trends Immunol.*, **24**, 512–517.
183. Wede, I., Altindag, Z., Widner, B., Wachter, H., Fuchs, D. (1998) *Free Radic. Res.*, **29**, 331–338.
184. Oettl, K., Reibnegger, G. (1999) *Biochim. Biophys. Acta*, **1430**, 387–395.
185. Heales, S.J., Blair, J.A., Meinschad, C., Ziegler, I. (1988) *Cell Biochem. Funct.*, **6**, 191–195.
186. Kojima, S., Ona, S., Izuka, I., Arai, T., Mori, H., Kubota, K. (1995) *Free Radic. Res.*, **23**, 419–430.
187. Milstien, S., Katusic, Z. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **263**, 681–684.
188. Patel, K., Stratford, M., Wardman, P., Everett, S. (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **32**, 203–211.
189. Kirsch, M., Korth, H., Stenert, V., Sustmann, R., de Groot, H. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 24481–24490.

190. Vasquez-Vivar, J., Whitsett, J., Martasek, P., Hogg, N., Kalyanaraman, B. (2001) *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 975–985.
191. Squadrito, G.L., Jin, X., Pryor, W.A. (1995) *Arch. Biochem. Biophys.*, **322**, 53–59.
192. Masumoto, H., Kissner, R., Koppenol, W.H., Sies, H. (1996) *FEBS Lett.*, **398**, 179–182.
193. Sies, H., Arteel, G.E. (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 1451–1455.
194. Kuzkaya, N., Weissmann, N., Harrison, D., Dikalov, S. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 22546–22554.
195. Shen, R.S. (1991) *Neurotoxicology*, **12**, 201–208.
196. Shen, R.S., Zhang, Y.X. (1991) *Chem. Biol. Interact.*, **78**, 307–319.
197. Rembold, J., Buff, K. (1972) *Eur. J. Biochem.*, **28**, 586–591.
198. Craine, J., Hall, E., Kaufman, S. (1972) *J. Biol. Chem.*, **247**, 6082–6091.
199. Kaufman, S. (1967) *J. Biol. Chem.*, **242**, 3934–3943.
200. Snady, H., Musacchio, J. (1978) *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 1947–1953.
201. Archer, M., Scrimgeour, K. (1970) *Can. J. Biochem.*, **48**, 526–527.
202. Vasquez-Vivar, J., Duquaine, D., Whitsett, J., Kalyanaraman, B., Rajagopalan, S. (2002) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **22**, 1655–1661.
203. Blau, N., Bonafe, L., Thony, B. (2001) *Mol. Genetics Metabol.*, **74**, 172–185.
204. Webber, S., Whiteley, J. (1985) *Arch. Biochem. Biophys.*, **236**, 681–690.
205. Smith, G., Banks, S., Bigham, E., Nichol, C. (1987) *Arch. Biochem. Biophys.*, **254**, 416–420.
206. Schnell, J., Dyson, H., Wright, P. (2004) *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **33**, 119–140.
207. Adler, C., Chisla, S., Rebrin, I., Haavik, J., Heizmann, C., Blau, N., Kuster, T., Curtius, H.-C. (1992) *Eur. J. Biochem.*, **208**, 139–144.
208. Shen, R. (1994) *Arch. Biochem. Biophys.*, **310**, 60–63.
209. Oettl, K., Greilberger, J., Dikalov, S., Reibnegger, G. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **321**, 379–385.
210. Gieseg, S.P., Reibnegger, G., Wachter, H., Esterbauer, H. (1995) *Free Radic. Res.*, **23**, 123–136.
211. Greilberger, J., Oettl, K., Cvirn, G., Reibnegger, G., Jurgens, G. (2004) *Free Radic. Res.*, **38**, 9–17.
212. Duggan, S., Rait, C., Platt, A., Gieseg, S. (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1591**, 139–145.
213. Gieseg, S., Cato, S. (2003) *Redox Rep.*, **8**, 113–119.
214. Oettl, K., Wirleitner, B., Baier-Bitterlich, G., Grammer, T., Fuchs, D., Reibnegger, G. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **264**, 262–267.
215. Horejsi, R., Jung, C., Moller, R., Tafeit, E., Reibnegger, G. (2002) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1571**, 124–130.
216. Gutteridge, J., Quinlan, G. (1992) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1159**, 248–254.
217. Buettner, G., Jurkiewicz, B. (1996) *Radiat. Res.*, **145**, 532–541.
218. Baggott, J., Robinson, C., Eto, I., Johannig, G., Cornwell, P. (1998) *J. Inorg. Biochem.*, **71**, 181–187.
219. Hausen, A., Fuchs, D., Reibnegger, G., Werner, E.R., Werner-Felmayer, G., Wachter, H. (1990) *Pteridines*, **2**, 83–85.
220. Gieseg, S.P., Maghzal, G., Glubb, D. (2000) *Redox Rep.*, **5**, 98–100.
221. Fisher, D.B., Kaufman, S. (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 4300–4304.
222. Armarego, W., Randles, D. (1983) *Eur. J. Biochem.*, **135**, 393–403.
223. Davis, M., Kaufman, S. (1988) *Eur. J. Biochem.*, **173**, 345–351.
224. Адо А.Д. Патологическая физиология, М.: Триада-Х, 2000. 576 с.
225. Сапун А.Н., Калинина Е.В. (1999) *Успехи биологической химии*, **39**, 289–326.
226. Widner, B., Mayr, C., Wirleitner, B., Fuchs, D. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **275**, 307–311.

227. Witko-Sarsat, V., Rieu, P., Descamps-Latscha, B., Lesavre, P., Halbwachs-Mecarelli, L. (2000) *Lab. Invest.*, **80**, 617–653.
228. Koide, Y., Ina, Y., Nezu, N., Yoshida, T.O. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 3120–3124.
229. Buchmuller-Rouiller, Y., Mauel, J. (1991) *J. Immunol.*, **146**, 217–223.
230. Woll, E., Weiss, G., Fuchs, D., Lang, F., Wachter, H. (1993) *FEBS Lett.*, **318**, 249–252.
231. Гордеева А.В., Звягильская Р.А., Лабас Ю.А. (2003) *Биохимия*, **68**, 1318–1322.
232. Kamata, H., Hirata, H. (1999) *Cell Signal.*, **11**, 1–14.
233. Chosh, S., May, M., Kopp, E. (1998) *Annu. Rev. Immunol.*, **16**, 225–260.
234. Droge, W. (2002) *Physiol. Rev.*, **82**, 47–95.
235. Uberall, F., Werner-Felmayer, G., Schubert, C., Grunicke, h., Wachter, H., Fuchs, D. (1994) *FEBS Lett.*, **352**, 11–14.
236. Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D., Zangerle, R., Baeuerle, P.A., Werner, E.R., Fresser, F., Uberall, F., Baier, G., Wachter, H. (1997) *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*, **13**, 173–178.
237. Hoffmann, G., Schobersberger, W., Frede, S., Pelzer, L., Fandrey, J., Wachter, H., Fuchs, D., Grote, J. (1996) *FEBS Lett.*, **391**, 181–184.
238. Karin, M., Ben-Neriah, Y. (2000) *Annu. Rev. Immunol.*, **18**, 621–663.
239. Togari, A., Arai, M., Mogi, M., Kondo, A., Nagatsu, T. (1998) *FEBS Lett.*, **428**, 212–216.
240. Schobersberger, W., Hoffmann, G., Grote, J., Wachter, H., Fuchs, D. (1995) *FEBS Lett.*, **377**, 461–464.
241. Hoffmann, G., Rieder, J., Smolny, M., Seibel, M., Wirleitner, B., Fuchs, D., Schobersberger, W. (1999) *Clin. Exp. Immunol.*, **118**, 435–440.
242. Pagel, H., Fandrey, J., Schobersberger, W., Fuchs, D., Jellemann, W. (1999) *Eur. J. Haematol.*, **62**, 341–345.
243. Grisham, M., Jourdeheuil, D., Wink, D. (1999) *Am. J. Physiol.*, **276**, G315–G321.
244. Akaike, T., Maeda, H. (2000) *Immunology*, **101**, 300–308.
245. Laroux, F., Parlick, K., Hines, I., Kawachi, S., Harada, H., Bharwani, S., Hoffmann, J., Grisham, M. (2001) *Acta Physiol. Scand.*, **173**, 113–118.
246. Guzik, T., Korbut, R., Adamek-Guzik, T. (2003) *J. Physiol. Pharmacol.*, **54**, 469–487.
247. Rao, K.M.K. (2000) *J. Toxicol. Envir. Health, Part B*, **3**, 27–58.
248. Alderton, W.K., Cooper, C.E., Knowles, R.G. (2001) *Biochem. J.*, **357** (Pt. 3), 593–615.
249. Elfering, S., Sarkela, T., Giulivi, C. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 38079–38086.
250. Aktan, F. (2004) *Life Sci.*, **75**, 639–653.
251. Padgett, E.L., Pruett, S.B. (1992) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **186**, 775–781.
252. Schneemann, M., Schoedon, G., Hofer, S., Blau, N., Guerrero, L., Schaffner, A. (1993) *J. Infect. Dis.*, **167**, 1358–1363.
253. Reiling, N., Ulmer, A., Duchrow, M., Ernst, M., Flad, H.-D., Hauschildt, S. (1994) *Eur. J. Immunol.*, **24**, 1941–1944.
254. Weinberg, J., Misukonis, M., Shami, P., Mason, S., Sauls, D., Dittman, W., Wood, E., Smith, G., McDonald, B., Bachus, K., Haney, A., Granger, D. (1995) *Blood*, **86**, 1184–1195.
255. Schneemann, M., Schoedon, G. (2002) *Nature Immunology*, **3**, 102.
256. Sakai, N., Milstien, S. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **193**, 378–383.
257. Bertholet, S., Tzeng, E., Felley-Bosco, E., Mauel, J. (1999) *J. Leukoc. Biol.*, **65**, 50–58.
258. Zhang, X., Laubach, V., Alley, E.W., Edwards, K., Sherman, P., Russell, S., Murphy, W. (1996) *J. Leukoc. Biol.*, **59**, 575–585.
259. Kun, J., Mordmuller, B., Perkins, D., May, J., Mercereau-Puijalon, O., Alpers, M., Weinberg, J., Kremsner, P. (2001) *J. Infect. Dis.*, **184**, 330–336.
260. Dugas, B., Mossalayi, M., Damais, C., Kolb, J. (1995) *Immunol. Today*, **16**, 574–580.
261. Chen, F., Kuhn, D., Gaydos, L., Demers, L. (1996) *APMIS*, **104**, 176–182.
262. Snell, J., Chernyshev, O., Gilbert, D.L., Colton, C. (1997) *J. Leukoc. Biol.*, **62**, 369–373.
263. Gross, A., Dugas, N., Spiesser, S., Vouldoukis, I., Damais, C., Kolb, J., Dugas, B., Dornand, J. (1998) *Free Radic. Res.*, **28**, 179–191.
264. Panaro, M., Brandonisio, O., Acquafredda, A., Sisto, M., Mitolo, V. (2003) *Curr. Drug. Targets Immune. Endocr. Metabol. Disord.*, **3**, 210–221.
265. Murr, C., Fuiith, L.C., Widner, B., Wirleitner, B., Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D. (1999) *Anticancer Res.*, **19**, 1721–1728.
266. Widner, B., Wirleitner, B., Baier-Bitterlich, G., Weiss, G., Fuchs, D. (2000) *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, **48**, 251–258.
267. Aziz, N., Nishanian, P., Mitsuyasu, R., Detels, R., Fahey, J. (1999) *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **6**, 89–95.
268. Sullivan, K., Cutilli, J., Pipiero, L., Ghavimi-Alagha, D., Starr, S., Campbell, D., Douglas, S. (2000) *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **7**, 920–924.
269. Jason, J., Archibald, L., Nwyanwu, O., Byrd, M., Kazembe, P., Dobbie, H., Jarvis, W. (2001) *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **8**, 1097–1103.
270. Fuchs, D., Malkovsky, M., Reibnegger, G., Werner, E.R., Forni, G., Wachter, H. (1989) *Immunol. Lett.*, **23**, 103–108.
271. Fuchs, D., Weiss, G., Wachter, H. (1993) *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **101**, 1–6.
272. Clerici, M., Hakim, F.T., Venzon, D., Blatt, S., Hendrix, C.W., Wynn, T.A., Shearer, G.M. (1993) *J. Clin. Invest.*, **91**, 759–765.
273. Klein, S., Dobbmeyer, J., Dobbmeyer, T., Pape, M., Ottmann, O., Helm, E., Hoelzer, D., Rossol, R. (1997) *AIDS*, **11**, 1111–1118.
274. Altfeld, M., Addo, M., Kreuzer, K., Rockstroh, J., Dumoulin, F., Schliefer, K., Leifeld, L., Sauerbruch, T., Spengler, U. (2000) *JAIDS*, **23**, 287–294.
275. Lienhardt, C., Azzurri, A., Amedei, A., Fielding, K., Sillah, J., Sow, O., Bah, B., Benagiano, M., Diallo, A., Manetti, R., Manneh, K., Gustafson, P., Bennett, S., D'Elis, M., McAdam, K., Del Prete, G. (2002) *Eur. J. Immunol.*, **32**, 1605–1613.
276. Becker, Y. (2004) *Virus Genes*, **28**, 5–18.
277. Tanaka, M., Hirabayashi, Y., Gatanaga, H., Aizawa, S., Hachiya, A., Takahashi, Y., Tashiro, E., Kohsaka, T., Oyamada, M., Ida, S., Oka, S. (1999) *Scand. J. Immunol.*, **50**, 550–554.
278. Ostrowski, S., Gerstoft, J., Pedersen, B., Ullum, H. (2003) *AIDS*, **17**, 521–530.
279. Douglas, S., Durako, S., Sullivan, K., Camarca, M., Moscicki, A.-B., Wilson, C. (2003) *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **10**, 399–404.
280. Bahbouhi, B., Landay, A., Al-Harhi, L. (2004) *Blood*, prepublished online February 5, DOI 10.1182/blood-2003-12-4172.
281. Dukes, C., Matthews, T., Rivadeneira, E., Weinberg, B. (1994) *J. Leukoc. Biol.*, **56**, 650–653.
282. Bier-Bitterlich, G., Wachter, H., Fuchs, D. (1996) *J. Acquir. Immun. Def. Syndr. Hum. Retrovirol.*, **13**, 184–193.
283. Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D., Wachter, H. (1997) *Biochem. Pharmacol.*, **53**, 755–763.
284. Wirleitner, B., Schroecksnadel, K., Winkler, C., Fuchs, D. (2005) *Mol. Immunol.*, **42**, 183–194.
285. Mildvan, D., Spritzler, J., Grossberg, S.E., Fahey, J.L., Johnston, D.M., Schock, B.R., Kagan, J. (2005) *Clin Infect Dis.*, **40**, 853–858.

286. *Ledochowski, M., Murr, C., Widner, B., Fuchs, D.* (2001) *Clin. Immunol.*, **98**, 104–108.
287. *Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Орлова О.В.* Неоптерин. – М.: Реафарм, 2003. 64 стр.
288. *Andert, S., Muller, M.* (1995) *JIFSS*, **7**, 70–76.
289. *Berdowska, A., Zwirska-Korczyńska, K.* (2001) *J. Clin. Pharm. Ther.*, **26**, 319–329.
290. *Aziz, N., Nishanian, P., Fahey, J.* (1998) *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **5**, 755–761.
291. *Aziz, N., Nishanian, P., Taylor, J., Mitsuyasu, R., Jacobson, J., Dezube, B., Leberman, M., Detels, R., Fahey, J.* (1999) *J. Infect. Dis.*, **179**, 843–848.
292. *Howells, D., Smith, I., Hyland, K.* (1986) *J. Chromatogr.*, **381**, 285–294.
293. *Werner, E.R., Bichler, A., Daxanbichler, G., Fuchs, D., Fuith, L.C., Hausen, A., Heltzel, H., Reibnegger, G., Wachter, H.* (1987) *Clin. Chem.*, **33**, 62–66.
294. *Montalvo, B.C., Villar, C.I., Hornillos, R.C., Diez, L.P.* (1988) *J. Chromatogr.*, **458**, 217–223.
295. *Yoshida, K., Kitauchi, T., Kimura, S., Yoneda, T., Uemura, H., Ozono, S., Hirao, Y.* (2002) *Artif. Organs*, **26**, 54–57.
296. *de Castro, M.R., Di Marco, G.S., Arita, D.Y., Teixeira, L.C., Pereira, A.B., Casarini, D.E.* (2004) *J. Biochem. Biophys. Methods*, **59**, 275–283.