

ЗНАЧЕНИЯ CD4⁺ И CD8⁺ Т-ЛИМФОЦИТОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ПРОДВИНУТОГО ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

Комитет по здравоохранению Мингорисполкома

В статье исследовано значение определения уровней CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов как потенциальных маркеров продвинутого фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С. Выявлены оптимальные значения различных фенотипов Т-лимфоцитов, позволяющих наиболее точно дифференцировать цирроз печени и более ранние стадии фиброза.

Ключевые слова: *хронический вирусный гепатит С, цирроз, фиброз печени, биомаркеры, Т-лимфоциты.*

I. V. Yurkevich

VALUES OF CD4⁺ AND CD8⁺ T-LYMPHOCYTES AS POTENTIAL MARKERS OF ADVANCED LIVER FIBROSIS

The importance of determination of CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocyte counts as the potential markers of advanced liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis C has been studied. The optimal values of various phenotypes of T-lymphocytes have been identified that allow the most accurate differentiation of liver cirrhosis and earlier stages of fibrosis.

Keywords: *chronic viral hepatitis C, cirrhosis, liver fibrosis, biomarkers, T-lymphocytes.*

Точное определение стадии фиброза печени является крайне важной диагностической процедурой для пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГ С), влияя на выбор стратегии противовирусной терапии, а также подходов к ранней диагностике ХВГ С-ассоциированной гепатоцеллюлярной карциномы [1]. Несмотря на то, что золотым стандартом оценки выраженности фиброза остается биопсия печени, в настоящее время в реальных клинических

условиях у большинства пациентов с данной целью используются преимущественно неинвазивные методы, основанные на исследовании отдельных биомаркеров крови, а также фиброэластометрии [2].

Имеются отдельные работы, демонстрирующие, что уровень некоторых фенотипов Т-лимфоцитов может использоваться как показатель дифференциации между циррозом печени и менее продвинутыми стадиями фиброза [3, 4]. Это замечено и у ВИЧ-позитивных па-

циентов с часто некоррелирующими между собой абсолютными и процентными значениями CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов [5, 6].

В то же время до сих пор недостаточно ясно, какие именно фенотипы Т-лимфоцитов позволяют наилучшим образом дифференцировать стадии фиброза F0-F3 и F4 (цирроз) печени, оптимальное количественное значение различных фенотипов Т-лимфоцитов, используемое в различении цирроза и более ранних стадий фиброза печени, а также возможно ли их использование в клинических условиях в качестве дополнительного неинвазивного маркера продвинутого фиброза печени.

Цель исследования: оценить значения CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов у пациентов, страдающих хроническим вирусным гепатитом С, с различными стадиями фиброза печени для возможного использования данных показателей в последующем в качестве дополнительных маркеров продвинутого фиброза печени.

Материал и методы. В исследование включены 57 пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГ С). Диагноз ХВГ С у всех пациентов подтвержден методом ИФА (anti-HCV+ суммарные) и методом качественной и/или количественной ПЦР (РНК HCV+). Всем пациентам выполнено комплексное лабораторно-инструментальное обследование (биохимический анализ крови, коагулограмма, определение уровня альфа-фетопротейна, ультразвуковое исследование и фиброэластометрия печени, фиброгастродуоденоскопия). Стадия фиброза оценивалась на основании результатов фиброэластометрии печени. Из исследования исключались пациенты, страдающие алкогольной зависимостью, ко-инфицированные ВИЧ-инфекцией и/или хроническим вирусным гепатитом В, находящиеся на длительной медикаментозной иммуносупрессивной терапии, пациенты с гепатоцеллюлярной карциномой.

Оценка уровня CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов проводилась методом проточной цитометрии. Кровь для исследования отбиралась в стерильную вакуумную пробирку VACUTAINER с EDTA-K3. С целью определения процентных долей и абсолютных значений Т-хелперов и Т-супрессоров использовались моноклональные антитела MultiTEST CD3 FITC/CD8 PE/CD45 PerCP/CD4 APC и пробирки TruCOUNT (производство Becton Dickinson, США). Для выполнения исследования использовался проточный цитометр FACS Calibur (производство Becton Dickinson, США).

В зависимости от стадии фиброза печени пациенты разделены на 2 группы: 1-ю группу составили 27 пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и стадиями фиброза F0-F3, 2-ю группу – 30 пациентов с циррозом печени (фиброз F4).

Для статистической обработки данных использовался пакет R версия 3.3.2. Нормальность распределения количественных переменных оценивалась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения количественных переменных в двух группах использовался t-критерий Стьюдента или U-критерий Вилкоксона-Манна-Уитни при нормальном и отличном от нормального распределении, соответственно. С целью определения оптимальной границы значения уровня фенотипов Т-лимфоцитов, определения оптимальных диагностических характеристик исследования в двух группах пациентов выполнен ROC-анализ.

Результаты и обсуждение. Медиана возраста пациентов составила 45,7 лет (25–75 процентиля 34,5–58,3 года). Распределение по полу пациентов: 33 мужчины (57,9 %), 24 женщины (42,1 %). Распределение CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов существенно отличалось от нормального (при выполнении теста Шапиро-Уилка $p < 0,05$). Медиана CD4⁺ Т-лимфоцитов в группе 1 составила 1033/мкл, 25–75 процентиля – 791–1329/мкл, в группе 2 – 597/мкл, 25–75 процентиля – 502,5–799,5/мкл). Медиана CD8⁺ Т-лимфоцитов в группе 1 составила 623,0/мкл, 25–75 процентиля – 518,5–729,0/мкл, в группе 2 – 383,0/мкл, 25–75 процентиля – 179,2–503,0/мкл (рисунок 1).

Отмечалась статистически значимая разница в уровне как CD4⁺ Т-лимфоцитов, так и в уровне CD8⁺ Т-лимфоцитов при сравнении пациентов с фиброзом F0-F3 и фиброзом F4 ($W = 0,86$, $p < 0,001$ для CD4⁺ Т-лимфоцитов и $W = 0,84$, $p < 0,001$ для CD8⁺ Т-лимфоцитов, соответственно).

На рисунке 2 представлен результат выполнения ROC-анализа.

Определение уровня CD4⁺ Т-лимфоцитов обладало несколько лучшими диагностическими характеристиками по сравнению с определением уровня CD8⁺ Т-лимфоцитов (площади под характеристическими кривыми 0,805, (95 % ДИ 0,683–0,927) и 0,794 (95 % ДИ 0,670–0,917), соответственно). Оптимальная граница CD4⁺ Т-лимфоцитов для двух дифференцируемых групп составила 633,5/мкл, чувствительность исследования при этом значении CD4⁺ Т-лимфоцитов была равной

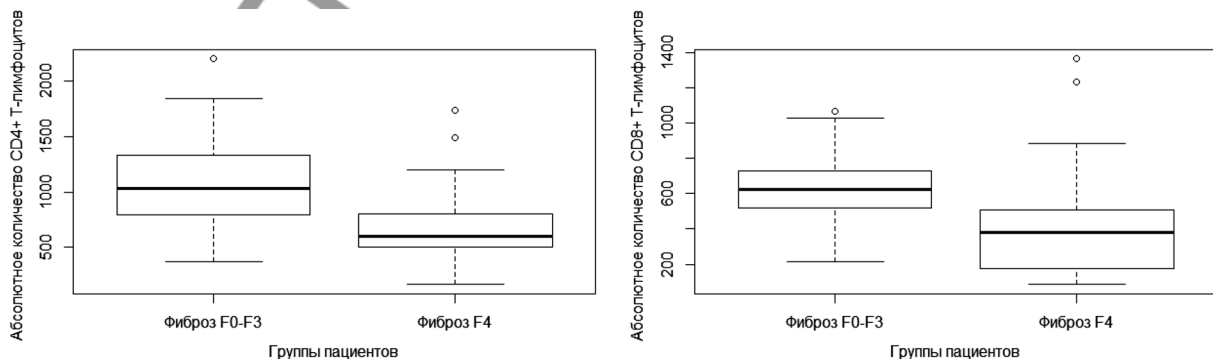


Рисунок 1. Распределение значений CD4⁺ (слева) и CD8⁺ Т-лимфоцитов (справа) в зависимости от степени выраженности фиброза печени

Оригинальные научные публикации

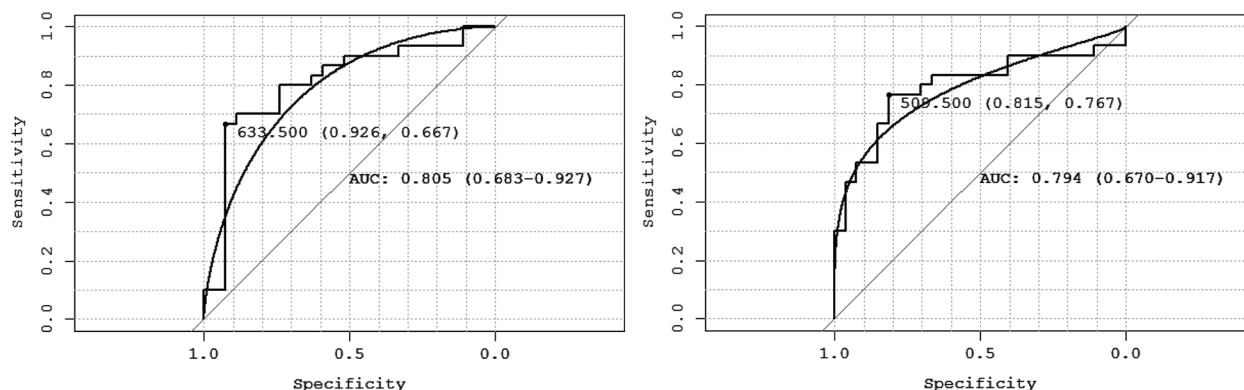


Рисунок 2. Характеристическая ROC-кривая для уровня CD4⁺ Т-лимфоцитов (слева) и CD8⁺ Т-лимфоцитов (справа)

0,667, специфичность 0,926). Оптимальная граница CD8⁺ Т-лимфоцитов для двух дифференцируемых групп составила 508,5/мкл, чувствительность исследования при этом значении CD8⁺ Т-лимфоцитов была равной 0,767, специфичность 0,815.

В исследовании McGovern B. et al. включены только пациенты с верифицированным ХВГ С-ассоциированным циррозом печени, при этом у 65 % пациентов отмечался низкий уровень CD4⁺ Т-лимфоцитов (< 550 клеток/мкл) [4]. Показано, что патологически низкие значения CD4⁺ Т-лимфоцитов коррелировали с наличием тромбоцитопении, спленомегалии и лейкопении. При сравнении пациентов с ХВГ С-ассоциированным циррозом печени и пациентов из группы исторического контроля без ко-инфекции ВИЧ и заболеваний печени, значений CD4⁺ Т-лимфоцитов в группе пациентов с циррозом также статистически значимо отличалось.

В работе Feuth T. et al. исследовалось соотношение CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов [7]. Авторы изучали данный показатель в когорте пациентов, инфицированных только ХВГ С, у пациентов, ко-инфицированных вирусом гепатита С и ВИЧ, у пациентов, инфицированных только ВИЧ и у 15 здоровых лиц, являвшихся группой контроля. Feuth T. et al. обнаружили, что у ко-инфицированных ВГС и ВИЧ пациентов соотношение CD4⁺/CD8⁺ было меньшим, чем у пациентов с моноинфекцией ВИЧ, в том числе на фоне адекватной антиретровирусной терапии, что также может свидетельствовать о закономерности снижения данных фенотипов Т-лимфоцитов у лиц вследствие фиброза печени различной степени выраженности. Наблюдалась выраженная отрицательная корреляция между соотношением CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов и жесткостью печени, измеренной методом транзитной эластографии ($R = -0,78$, $p = 0,0006$). Площадь под характеристической кривой в данном исследовании составила 0,8, что сопоставимо со значением ROC-кривых, полученных в нашей работе.

Таким образом, наше исследование и имеющиеся литературные данные показывают, что определение уровня CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов может являться перспективным маркером продвинутого фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С, в том числе при их включении в состав новых прогностических шкал, позволяющих в большей степени увеличить точность диагностики различных стадий фиброза печени.

Выводы

1. Уровни CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов статистически значимо ниже у пациентов с продвинутым фиброзом печени (F4) по сравнению с пациентами с менее выраженными стадиями фиброза и могут использоваться в качестве дополнительного неинвазивного маркера оценки фиброза печени.

2. Определение CD4⁺ Т-лимфоцитов обладает лучшими диагностическими характеристиками по сравнению с определением CD8⁺ Т-лимфоцитов у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С.

3. Оптимальные значения CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, позволяющие в клинических условиях дифференцировать сформировавшийся цирроз печени и менее выраженный фиброз печени, составляют 634/мкл и 509/мкл, соответственно.

Литература

1. Massard, J. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C / J. Massard [et al.] // Journal of Hepatology. – 2006. – Vol. 44, № 1 suppl. – P. S19–24.
2. Ahmad, W. A brief review on molecular, genetic and imaging techniques for HCV fibrosis evaluation / W. Ahmad [et al.] // Virology Journal. – 2011. – Vol. 8, – P. 53.
3. Bonacini, M. Intrahepatic lymphocyte phenotypes in hepatitis C virus infection: a comparison between cirrhotic and non-cirrhotic livers / M. Bonacini [et al.] // Minerva Gastroenterologica E Dietologica. – 2007. – Vol. 53, № 1. – P. 1–7.
4. McGovern, B. H. The impact of cirrhosis on CD4⁺ T cell counts in HIV-seronegative patients / B. H. McGovern [et al.] // Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2007. – Vol. 44, № 3. – P. 431–437.
5. Gandhi, R. T. Cirrhosis is associated with low CD4⁺ T cell counts: implications for HIV-infected patients with liver disease / R. T. Gandhi // Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2007. – Vol. 44, № 3. – P. 438–440.
6. Llopis, M. Discordance between Absolute and Percentage CD4 Count in Relation to the Degree of Liver Fibrosis in HIV Patients Coinfected with Hepatitis C / M. Llopis [et al.] // Clin. Res. HIV/AIDS. – 2015. – Vol. 2, № 1. – P. 1015.
7. Feuth, T. et al. CD4/CD8 ratio is a promising candidate for non-invasive measurement of liver fibrosis in chronic HCV-monoinfected patients / T. Feuth [et al.] // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology. – 2014. – Vol. 33, № 7. – P. 1113–1117.

Поступила 06.03.2017 г.