

Клиническое значение исследования концентрации IgE сыворотки крови больных различными формами вирусного гепатита с и микст-гепатитом В+С

В настоящее время о роли IgE в патогенезе вирусных гепатитов В и С известно мало. Целью нашего исследования явилось исследование концентрации общего IgE в сыворотке крови у больных вирусным гепатитом С (ВГС) и микст-гепатитами В+С (МГ), а также оценка его клинической значимости. Установлена клиническая и прогностическая значимость определения общего IgE при ВГС и МГ, как важного маркера нарушения иммунорегуляторных механизмов Т-системы иммунитета, обуславливающих прогрессию вирусной инфекции.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, микст-гепатит В+С, иммуноглобулин Е, Т-система иммунитета, диагностика, клиническая значимость, иммунопатологическое состояние

Имуноглобулин Е (IgE) – изотип иммуноглобулинов, играющий патогенетическую роль при atopических и анафилактических аллергических заболеваниях. Общеизвестна роль IgE в обеспечении противопаразитарного иммунитета. Имеются сведения о роли специфических IgE в регуляции иммунного ответа [2, 13], которая осуществляется посредством связывания с высокоаффинными рецепторами (FcεRI), представленными на базофилах, тучных клетках, клетках Лангерганса, моноцитах, или низкоаффинного FcεRII (CD23), экспрессированного на поверхности Т- и В-лимфоцитов, дендритных клеток, эозинофилов и тромбоцитов [12]. Отмечается возможная роль общего IgE в регуляции иммунного ответа при вакцинации [13].

О роли IgE в патогенезе вирусных заболеваний известно мало. Так, в частности при ВИЧ-инфекции, обнаружено значительное нарастание концентрации общего IgE в крови, ассоциирующееся с тяжестью заболевания [9]. Имеются единичные данные об увеличении уровня IgE при вирусных гепатитах (А, В, С и D)[10, 11]. Иммуноопосредованные механизмы воспаления играют главнейшую патогенетическую роль при вирусных гепатитах В и С. При данной патологии отмечается существенное угнетение функции CD4+Th1-клеток, что в свою очередь ассоциируется с гиперпродукцией ряда иммунорегуляторных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) CD4+Th2-типа, тучными клетками и базофилами [1, 5, 6, 7]. Спектр цитокинов CD4+Th2-клеток (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13) способствует переключению продукции классов иммуноглобулинов на IgE и IgG1, что сопровождается значительным повышением их уровня в сыворотке крови [1, 6].

В связи с этим целью нашего исследования являлось исследование концентрации общего IgE в сыворотке крови у больных вирусным гепатитом С (ВГС) и микст-гепатитами В+С (МГ), а также оценка его клинической (диагностической и прогностической) значимости.

Материал и методы

Характеристика групп исследования. Обследовано 42 больных ВГС и МГ, проходивших курс лечения в городской инфекционной клинической больнице г. Минска. Из них: 10 больных острым гепатитом С (ОГС), 21 – хроническим гепатитом С (ХГС) и 11 – микст-гепатитом В+С (МГ). Диагноз подтверждался серологически

(определение anti-HCV и anti-HBV антител) и в ПЦР (выявление ДНК HBV и РНК HCV). Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц без атопии.

Определение концентрации общего IgE осуществляли в сыворотке больных ВГС и МГ твердофазным ИФА с помощью коммерческих тест-систем «IgE – ИФА – БЕСТ – стрип» фирмы «Вектор-Бест» (Россия) согласно инструкции производителя. Чувствительность анализа для данного набора составляет 2,0 МЕ/мл IgE. Результаты анализа регистрировали фотометрически при длине волны 450 нм с помощью ИФА-анализатора ELISA Processor II (Behring GmbH, Германия).

Иммунофенотипирование. Содержание основных популяций лимфоцитов периферической крови, а также экспрессию на их поверхности молекул активации, адгезии и апоптоза определяли иммунофенотипированием мононуклеаров периферической крови (МПК) с помощью проточной цитометрии с моноклональными антителами к CD-антигенам лимфоцитов (CD 3, 4, 8, 11b, 16, 20, 25, 95 и HLA-DR-антигенов), согласно инструкции производителя («МедБиоСпектр», Москва). МПК выделяли из гепаринизированной венозной крови путем градиентного центрифугирования по методу Boyum (1968) [3]. Учет результатов фенотипирования клеток проводили с помощью проточного цитофлуориметра FACSCalibur («Becton Dickinson», США). Для обработки полученных данных использовали программное обеспечение CellQuest и WinMDI, v. 2.8 для обработки файлов данных стандарта FCS 2.0.

Статистика. Статистическую обработку данных выполняли при помощи компьютерного пакета программ STATISTICA 5.0 for WINDOWS 97 (StatSoft Inc, USA). Достоверность различий оценивали по критерию t Стьюдента.

Оценку клинической (диагностической и прогностической) значимости определения уровня общего IgE проводили с помощью построения четырехпольной таблицы и последующим расчетом диагностических характеристик (чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результата) [8].

Результаты исследования

Концентрация общего IgE у больных ВГС и МГ существенно варьировала и была повышенной. Так, значительное увеличение уровня общего IgE (>200 МЕ/мл), превышающий контрольные значения его концентрации, было установлено у 7 (70%) больных с ОГС и 8 (38,1%) больных с ХГС. Различие в группах по частоте встречаемости повышенного уровня общего IgE было статистически не достоверным ($P < 0,1$). Однако, средние значения концентраций общего IgE в данных группах больных достоверно увеличены по сравнению с контрольной группой (рис. 1). При этом у больных ОГС отмечалась наиболее высокая концентрация общего IgE – $526,8 \pm 119,4$ МЕ/мл в среднем, что в 5,5 раза превышало контрольные значения – $95,3 \pm 10,3$ МЕ/мл ($P < 0,05$).

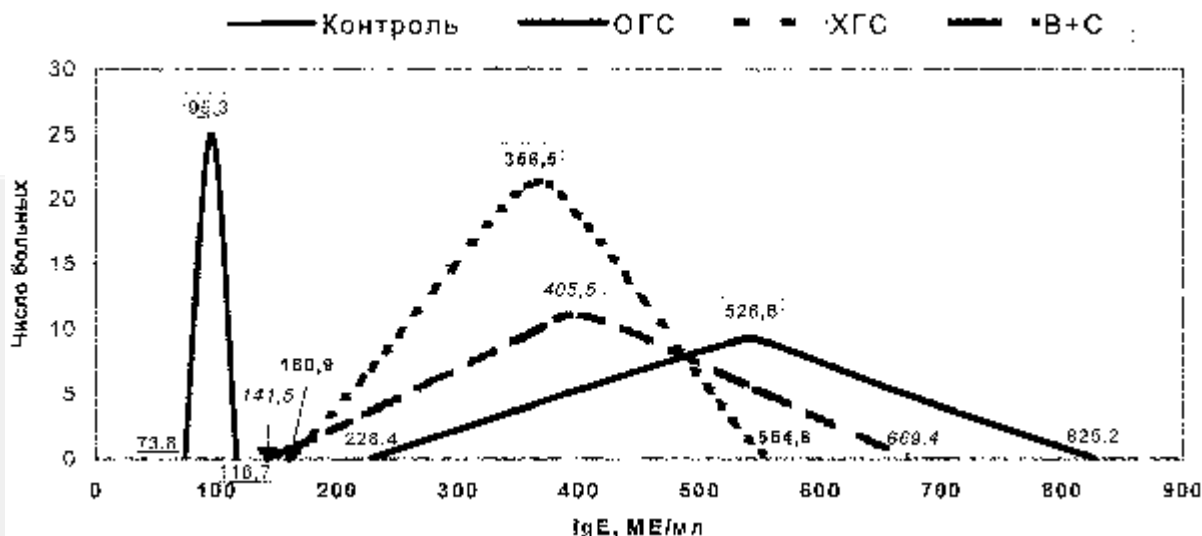


Рис. 1. Частотное распределение здоровых лиц (контроль) и больных ВГС и МГ в зависимости от концентрации общего IgE сыворотки крови

Примечания:

- 1) *-достоверность различий по сравнению с контролем ($P < 0,05$)
- 2) числа, расположенные в прямоугольниках, соответствуют средним значениям концентрации общего IgE для каждой из исследуемых групп
- 3) числа, расположенные по концам кривых, соответствуют значениям доверительного интервала концентрации IgE для каждой из исследуемых групп

Концентрация общего IgE в сыворотке крови у больных МГ также значительно увеличена по сравнению с контрольной группой и составила $405,5 \pm 118,5$ МЕ/мл. У 9 (81,8%) больных МГ выявлено повышение уровня общего IgE свыше 200 МЕ/мл. Повышенный уровень общего IgE при МГ встречался чаще по сравнению с другими исследуемыми группами и достоверно отличался от частоты встречаемости при ХГС ($P < 0,05$). Таким образом, повышенный уровень общего IgE при ОГС и МГ выявлялся в среднем 75,9 процентов случаев.

При анализе иммунофенотипических характеристик клеток иммунной системы и их количественного содержания у больных ВГС и МГ в зависимости от концентрации общего IgE было установлено, что повышение уровня общего IgE ассоциировалось с дисбалансом иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Поскольку внутри каждой группы уровень общего IgE значительно варьировал, то для проведения анализа иммунофенотипа ИКК больные ВГС и МГ были разделены на 2 группы: I группа (низкий уровень) – 0-200 МЕ/мл; II группа (высокий уровень) – >200 МЕ/мл.

У больных вирусными гепатитами наблюдались значительные изменения субпопуляционного состава МПК в группе больных с высоким уровнем общего IgE по сравнению с контрольной группой. Более выраженные изменения иммунофенотипа Т-лимфоцитов выявлены при ОГС и МГ (табл. 1 и 2).

При ОГС наблюдался значительный дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций (снижение $CD4^+$ Т-клеток и иммунорегуляторного индекса ($CD4^+/CD8^+$)) по сравнению с группой контроля ($P < 0,05$). При этом более выраженные изменения выявлены в группе с повышенным уровнем общего IgE ($P < 0,05$).

Таблица 1

Экспрессия CD-антигенов мононуклеарами больных ОГС в зависимости от уровня IgE сыворотки крови

CD-антигены	Контрольная группа n=25	Общий IgE	
		< 200 МЕ/мл n=3	> 200 МЕ/мл n=7
CD3	70,13±1,21	70,27±8,25	66,19±4,77
CD4	42,25±1,53	40,14±10,42	38,03±1,65
CD8	29,04±1,45	37,76±5,93	36,01±3,56
CD4/CD8	1,56±0,11	1,18±0,40	1,09±0,07*
CD11b	8,29±0,22	18,73±3,83*	21,98±6,17*
CD16	16,73±1,30	17,60±5,19	22,81±3,82
CD20	12,61±0,94	8,71±2,46	14,14±1,75
CD25	8,0±0,15	11,10±4,80	12,35±2,41
CD95	17,14±0,71	52,39±13,13*	47,81±6,45*
HLA-DR	8,86±0,77	10,40±3,31	12,34±1,65

Примечание: *-достоверность различий по сравнению с значением контрольной группы (P<0,05)

Экспрессия на поверхности лимфоцитов маркеров адгезии (CD11b+), активации (CD25+, HLA-DR+) и апоптоза (CD95+) была повышена в группах больных, как с низким, так и с высоким уровнями общего IgE. В тоже время у больных с высоким уровнем общего IgE выявлено повышенное содержание CD16+-клеток (P<0,05) и CD20+-клеток (B-лимфоцитов).

Значительное снижение содержания CD3+Т-лимфоцитов, CD4+Т-клеток и иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+) наблюдалось при МГ при сравнении с группой контроля (независимо от уровня общего IgE), а также между выделенными группами. При этом максимальное снижение содержания CD3+Т-лимфоцитов отмечалось в группе с низким уровнем общего IgE (P0,05).

Полученные данные подтверждают, что повышение уровня общего IgE (>200 МЕ/мл) ассоциируется с наличием дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Таблица 2

Экспрессия CD-антигенов мононуклеарами больных микст-гепатитами с разным уровнем IgE сыворотки крови

CD-антигены	Контрольная группа n=25	Общий IgE	
		< 200 МЕ/мл n=2	> 200 МЕ/мл n=9
CD3	70,13±1,21	50,10±0,10*	60,10±2,03*,**
CD4	42,25±1,53	33,43±2,88*	33,87±2,31*
CD8	29,04±1,45	23,98±1,12*	34,22±2,19*,**
CD4/CD8	1,56±0,11	1,41±0,03	1,02±0,09*,**
CD11b	8,29±0,22	17,49±2,09*	18,58±4,30
CD16	16,73±1,30	14,72±1,59	14,06±3,42
CD20	12,61±0,94	14,20±0,81	15,14±1,54
CD25	8,0±0,15	9,84±1,17*	10,36±0,64*
CD95	17,14±0,71	29,87±3,33*	48,87±9,54*
HLA-DR	8,86±0,77	7,02±0,78	13,65±2,49*,**

Примечание:

*-достоверность различий по сравнению с контролем (P<0,05);

** -достоверность различий по сравнению с низким уровнем общего IgE (P<0,05).

Клиническая значимость определения IgE при ВГС и МГ

Нами установлено, что среднее значение уровня общего IgE у практически здоровых лиц составило $95,3 \pm 51,96$ МЕ/мл (среднее \pm SD, где SD – стандартное отклонение). Статистическим анализом доказано, что точкой диагностически значимого уровня общего IgE («cut-off point») для постановки диагноза дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов при ВГС и МГ, рассчитанного по формуле: средняя концентрация общего IgE + 2SD, равна 199,2 МЕ/мл при чувствительности – 0,78, специфичности – 0,68. Следует отметить, что прогностическая ценность положительного результата, т.е. наличия IgE в сыворотке крови > 199,2 МЕ/мл, составила 75%, а прогностическая ценность отрицательного результата, т.е. наличия IgE в сыворотке крови < 199,2 МЕ/мл, – только 28%.

Диагностическая значимость определения уровня общего IgE («cut-off point») для выявления дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов при ОГС, найденная по тому же принципу, составила 207,8 МЕ/мл, при чувствительности – 0,86 и специфичности – 0,67. При этом прогностическая ценность положительного результата равна 86%, а прогностическая ценность отрицательного результата – 33%.

Средний уровень общего IgE у больных ХГС без нарушения иммунорегуляторных механизмов равен $54,17 \pm 49,02$ МЕ/мл. Исходя из расчета критерия «cut-off point», уровень общего IgE равный 152,2 МЕ/мл, оказался наиболее точным для диагностики дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов у больных ХГС (чувствительность – 0,50, специфичность – 0,69). Прогностическая ценность повышенного уровня общего IgE составила 50%, а прогностическая ценность уровня общего IgE < 152,2 МЕ/мл – 31%.

При МГ средний уровень общего IgE с нормальными значениями иммунорегуляторного индекса равен $73,50 \pm 13,44$ МЕ/мл, а наиболее точный диагностический уровень общего IgE для диагностики дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов у больных МГ был 100,38 МЕ/мл (чувствительность – 0,86, специфичность – 0,67). Прогностическая ценность повышенного уровня общего IgE составила 89%, а прогностическая ценность уровня общего IgE < 100,4 МЕ/мл – 0,5%.

Таким образом, сравнивая диагностическую и прогностическую значимость у различных групп исследования, следует указать, что повышение общего IgE в сыворотке крови больных вирусными гепатитами, в особенности при ОГС и МГ, является маркером дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций и наличием нарушения иммунорегуляторных механизмов Т-системы иммунитета.

Обсуждение

Т-система иммунитета больных ВГС и МГ характеризуется значительным дисбалансом иммунорегуляторных субпопуляций и нарушением иммунологических механизмов регуляции, о чем свидетельствует повышенное содержание CD8+Т-лимфоцитов на фоне сниженного количества CD3+Т-клеток и CD4+Т-хелперов. Кроме этого, выявлены значительные изменения в продукции основных иммунорегуляторных цитокинов CD4+Th1 и CD4+Th2 типа, которые характеризуются смещением их баланса в пользу цитокинов CD4+Th2 типа (ИЛ-4, ИЛ-10) [6, 7]. В связи с этим, дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов с соответствующим цитокиновым профилем (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13) ассоциируется с гиперпродукцией общего, а возможно, и специфического IgE в организме больных ВГС и МГ.

Антигенспецифические IgE антитела взаимодействуют с высокоаффинными (FcεRI) и низкоаффинными (CD23) рецепторами, представленными на базофилах, тучных клетках, клетках Лангерганса, моноцитах, а также на поверхности некоторых Т-и В-лимфоцитов, дендритных клетках, эозинофилах и тромбоцитах, инициируя иммунозависимое воспаление в печени. Кроме того, IgE антитела способны взаимодействовать с вирусными антигенами, фиксированными на лимфоцитах или гепатоцитах. В результате образуются фиксированные иммунные комплексы, играющие патогенетическое значение. Образованные иммунные комплексы также способны активировать клетки иммунной системы (нейтрофилы, моноциты, макрофаги, ЕК, Т-и В-лимфоциты) и инициировать антителозависимый клеточно-опосредованный цитолиз клеток-мишеней [4]. Таким образом, происходит запуск механизма гиперчувствительности II типа, или цитотоксической, что указывает на регуляторную роль IgE в воспалении печени и участие IgE-зависимых иммуновоспалительных процессов в патогенезе ВГС и МГ, которое проявляется манифестацией определенных клинических синдромов (утяжеление течения заболевания, формирование аутоиммунных процессов).

Из вышеизложенного следует, что существенное повышение уровня общего IgE при ОГС и МГ в значительной мере отражает нарушение процессов иммунорегуляции и соотношения иммунорегуляторных субпопуляций, обусловленных вирусной инфекцией. Это, в свою очередь, приводит к ускользанию вирусов гепатита от воздействия факторов иммунной системы и утяжелению течения инфекции с последующей хронизацией инфекционного процесса и развитием неблагоприятного исхода заболевания (цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома).

Таким образом, нами показана клиническая и прогностическая значимость определения общего IgE при ВГС и МГ, как важного маркера прогрессии вирусной инфекции и нарушения иммунорегуляторных механизмов Т-системы иммунитета.

Выводы

1. При ВГС и МГ уровень общего IgE достоверно выше, чем в контрольной группе ($P < 0,05$). Повышенный уровень общего IgE при ОГС и МГ выявляется в среднем в 76% случаев. Доверительные границы значения общего IgE у практически здоровых составили 73,5-116,7 МЕ/мл; у больных ОГС – 228,4-825,2 МЕ/мл; у больных ХГС – 160,9-554,6 МЕ/мл и у больных МГ – 141,5-669,4 МЕ/мл.
2. Повышение уровня общего IgE больных ВГ ассоциируется с дисбалансом иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, снижением CD4+Т-клеток, увеличением содержания В-и ЕК-клеток.
3. Повышенный уровень общего IgE является маркером нарушения иммунорегуляторных механизмов Т-системы иммунитета при ВГС и МГ. Клинически значимый уровень общего IgE для диагностики дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов при ВГС и МГ равен 199,2 МЕ/мл (чувствительность – 0,78, специфичность – 0,68). Прогностическая ценность положительного результата, т.е. наличия IgE в крови $> 199,2$ МЕ/мл, составляет 75%, а прогностическая ценность отрицательного результата, т.е. наличия IgE в крови $< 199,2$ МЕ/мл, – 28%.

Литература

1. Абдукадырова М.А. Прогностические маркеры хронизации вирусного гепатита С // Иммунология. – 2002.-№ 1. – Т. 23. – С. 47-50.
2. Гущин И.С. Физиология иммуноглобулина Е (IgE). // Аллергол. Иммунол. 2000, 1(1): 76-78.

3. Иммунологические методы / Х. Амброзиус, Х. Фибих, З. Вихнер и др. под ред. Г. Фримеля, перевод с нем. А.П. Тарасова. – М.: Медицина. – 1987. – 472 с.
4. Иммунология: терминологический словарь / Титов Л.П. – Мн.: Бел. наука, -2004. – 351 с.
5. Курамшин Д.Х., Сенников С.В., Козлов В.А. Иммуотропные свойства возбудителя вирусного гепатита С // Журн. микробиологии. -2004.-№2.-С. 110-114.
6. Семененко Т.А. Клеточный иммунный ответ при гепатите С. // Информ. бюллетень. Вирусные гепатиты. -2000.-№1.-С. 3-9.
7. Титов Л.П. Регуляция антигенспецифических CD4+ клеток Th1-типа-ключевое направление терапии хронических гепатитов // Вирусные гепатиты и ВИЧ инфекция: Материалы второй международной конф. – Минск, 1999. – С. 47-48.
8. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. – М.: Медиа Сфера, 1998. – 352 с.
9. De Martino M., Rossi M., Azzari C. et al. IL-6 synthesis and IgE overproduction in children with perinatal human immunodeficiency virus-type I infection. // Ann. Allergy Asthma Immunol. 1999., 82: 212-216.
10. Gutierrez D et al. Increased serum IgE in acute type A, B and delta hepatitis // J Invest Allergol Clin Immunol 1997 Mar-Apr;7(2):119-21.
11. Gonzalez-Quintela A et al Total serum IgE levels in chronic hepatitis C: influence of interferon alpha therapy // Int Arch Allergy Immunol – 2001 Jun;125(2):176-81.
12. Turner H., Kinet J. Signalling through the high-affinity IgE receptor FcεRI. // Nature. 1999, 402: 24-30.
13. Vercelli D. Regulation of IgE synthesis in humans. // J. Biol. Regulators Homeostatic Agents. 1995, 9: 1-6