

Т.И. Кузнецова

Л.Н. Уразова

С.А. Коломиец

В.В. Карасева

Научно-исследовательский
институт онкологии
СО РАМН, Томск, Россия

Ключевые слова: вирус
Эпштейна—Барр, антитела,
хронические заболевания желудка
и легких, группы риска.

УРОВЕНЬ АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА—БАРР КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ КРИТЕРИЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕЛУДКА ИЛИ ЛЕГКИХ

Резюме. Изучены возможности использования иммунного ответа на антигены вируса Эпштейна—Барр (ВЭБ) у лиц с хроническими заболеваниями желудка (ХЗЖ) и хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ) при проведении ранней диагностики неоплазий. С помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции сыворотки крови обследованы 254 пациента с ХЗЖ, 256 — с ХНЗЛ. При сравнительном анализе ВЭБ-специфического иммунитета пациентов с хроническими заболеваниями и здоровых лиц было установлено, что среднегеометрические титры антител к антигенам ВЭБ у больных достоверно превышали аналогичные показатели у здоровых лиц. В течение 3 лет наблюдения у 9 пациентов с ХНЗЛ и у 3 — с ХЗЖ с аномально высоким уровнем ВЭБ-специфических антител диагностированы злокачественные новообразования соответствующих локализаций. На основании полученных данных сформулированы критерии для формирования групп повышенного риска по изученным локализациям.

ВВЕДЕНИЕ

Имеются многочисленные наблюдения, свидетельствующие о высокой вероятности перехода хронических заболеваний в злокачественные. Для выявления ранней стадии онкологических заболеваний у пациентов с хроническими процессами могут найти применение, наряду с традиционными, иммуновирусологические методы исследования, в частности, выявление маркером инфекции вируса Эпштейна—Барр (ВЭБ). Этот вирус — представитель семейства герпесвирусов, тесно ассоциированный со злокачественными лимфомами В-клеточного происхождения и недифференцированным раком носоглотки [1, 2]. Кроме того, в литературе имеются данные о повышении уровня антител к антигенам ВЭБ у больных с такими злокачественными новообразованиями, как рак слюнных желез, небных миндалин, легких, желудка [3–6]. Появились также сообщения о выявлении ВЭБ-инфекции в железах желудка, не пораженного опухолью [7].

Исходя из анализа данных литературы и собственных наблюдений, мы сочли целесообразным изучить возможности применения иммуновирусологических маркеров ВЭБ в выявлении ранних стадий рака у пациентов с хроническими заболеваниями желудка (ХЗЖ) и хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ).

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали сыворотку крови 254 больных с ХЗЖ (гастрит, язвенная болезнь) и 256 — с ХНЗЛ (хронический бронхит, остаточные явления пневмонии) на наличие антител к антигенам ВЭБ. В качестве контроля использовали сыворотку крови 210 практически здоровых лиц. Тестирование сыворотки крови проводили методом непрямой иммунофлюоресценции [8]. Исходным материалом служила сыворотка крови в разведении 1:10. В дальнейшем при титровании использовали 2-кратные разведения. Антигенсодержащие препараты готовили из клеточных линий P₃HR-1 и Raji. Клетки выращивали в среде RPMI-1640 (НПО «Вектор», Новосибирск) с добавлением фетальной телячьей сыворотки (ИКИ СО РАМН, Новосибирск) и антибиотиков.

Статистическую обработку полученных данных проводили, используя характеристики логарифмически нормального закона распределения. Достоверность различий между группами вычисляли с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех обследованных выявлены антитела к антигенам показателей ВЭБ, тогда как среди здоровых лиц инфицированность отмечена в 90% случаев.

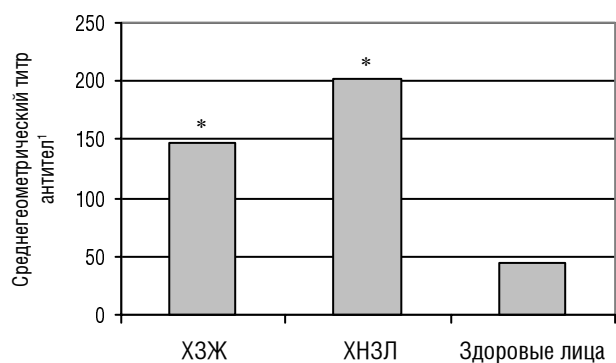


Рис. 1. СГТ Ig класса G к ВКА ВЭБ у больных с ХЗЖ и ХНЗЛ и здоровых лиц

Здесь и на рис. 2: * различия достоверны ($p < 0,01$) при сравнении с показателями у здоровых лиц; ¹ титры указаны в обратных единицах.

При сравнительном анализе показателей ВЭБ-специфического иммунитета пациентов с хроническими заболеваниями и здоровых лиц установлено, что среднегеометрические титры (СГТ) антител к антигенам ВЭБ у больных достоверно ($p < 0,001$) превышали аналогичные показатели у здоровых лиц. СГТ антител класса G к вирусному капсидному антигену (ВКА) ВЭБ у больных с ХЗЖ в 3,8, а у больных с ХНЗЛ — в 5,4 раза превышал данный показатель у здоровых лиц (рис. 1). Средние титры IgA к ВКА и IgG — к комплексу ранних антигенов (РА) ВЭБ у пациентов с хроническими заболеваниями также более чем в 4 раза превышали таковые у здоровых лиц (рис. 2). Анализ чувствительности и специфичности выявления ВЭБ-специфических антител у больных с ХЗЖ и ХНЗЛ был проведен по методу T. Nadar [3]. Установлено, что у пациентов с ХЗЖ показатели специфичности и чувствительности были сопоставимы с аналогичными параметрами у больных с ХНЗЛ (табл. 1, 2). Так, специфичность при уровне IgG к ВКА $\geq 1:160$ была равна 73,3% для пациентов с ХЗЖ и ХНЗЛ в случае выявления их более чем в 50% случаев. Частота высоких ($\geq 1:320$) титров IgG к ВКА составляла свыше 40% для больных обеих групп (с ХЗЖ и ХНЗЛ). Специфичность метода — 97,2%. При уровне IgG $\geq 1:640$ специфичность достигала 100%. Наличие в сыворотке крови IgA к ВКА и IgG к РА ВЭБ зарегистрированы у 60% пациентов как с ХЗЖ, так и с ХНЗЛ. Специфичность метода при уровне этих классов антител $\geq 1:10$ составляла 95,7% для пациентов с ХЗЖ и 96,2% — ХНЗЛ, а при титрах антител $\geq 1:20$ достигала 100% в обеих группах. Таким образом, получены достаточно высокие значения чувствительности и специфичности использованного метода в группах больных, особенно при исследовании позитивных по классам G-антител к РА и A-антител к ВКА ВЭБ.

Анализ частоты определения IgA к ВКА и/или IgG к РА ВЭБ в зависимости от уровня IgG к ВКА ВЭБ в сыворотке крови обследованных разных групп показал, что при уровне IgG к ВКА 1:160 у 76% здоровых лиц не выявлены ни антитела класса A к

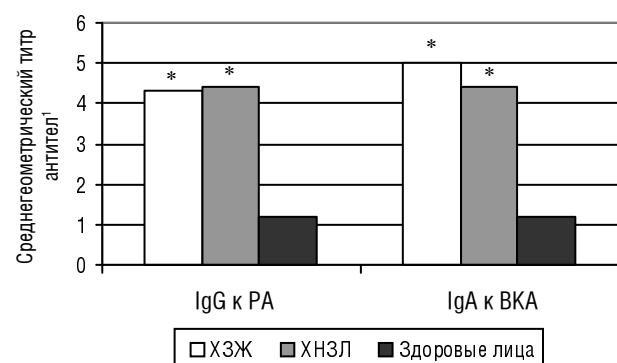


Рис. 2. СГТ Ig класса G к РА и Ig класса A к ВКА ВЭБ у больных с ХЗЖ и ХНЗЛ и у здоровых лиц

ВКА, ни антитела класса G к РА ВЭБ (табл. 3); среди пациентов с ХЗЖ — у 69,7%, с ХНЗЛ — у 26,1%. Антитела только к РА ВЭБ выявлены у 13% пациентов с ХЗЖ, у 17,4% — с ХНЗЛ и у 8% здоровых лиц; антитела класса A к ВКА — у 13, 17,4 и 10% соответственно. Одновременное присутствие антител этих классов отмечено у 4,4% пациентов с ХЗЖ, 39,1% — с ХНЗЛ и у 6% здоровых лиц (табл. 3). При титре IgG к ВКА 1:320 только у 9,4% пациентов с ХЗЖ и у 16,3% — с ХНЗЛ отсутствовали IgA к ВКА и IgG к РА, в то время как у здоровых лиц этот показатель составил 66,6%. Одновременное наличие иммуноглобулинов данных классов было отмечено у 61,2% пациентов с ХЗЖ и 20% — с ХНЗЛ при отсутствии таких случаев в группе здоровых лиц.

Сопоставив особенности иммунного ответа к ВЭБ у пациентов с ХЗЖ, ХНЗЛ и здоровых лиц, при формировании групп динамического наблюдения мы предложили основываться на данных о наличии в сыворотке крови больных: а) антител класса A или G к РА в титрах $\geq 1:20$ при титре антител класса G к ВКА $\geq 1:160$; б) IgA к ВКА и IgG к РА в титрах $\geq 1:10$ при титре G-антител к ВКА $\geq 1:320$.

Руководствуясь этими критериями, 44 пациента с ХЗЖ и 97 — с ХНЗЛ (17,3 и 37,9% от общего количества обследованных соответственно) вошли в группы повышенного риска по выявлению онкопатологии изученных локализаций. В течение 3 лет наблюдения у 3 (6,8%) пациентов в группе с ХЗЖ и у 9 (9,3%) — с ХНЗЛ (рис. 3) были диагностированы и гистологически подтверждены неоплазии. Среди пациентов с хроническими заболеваниями, не вошедших в данные группы, рак не верифицирован. Медицинская эффективность предложенной методики определяется более высокими показателями выявляемости рака легкого — 1,18% и рака желудка — 3,5% по сравнению с общероссийским показателем — 0,035%.

В доступной литературе мы не нашли сведений об использовании иммуновирусологических маркеров ВЭБ при формировании групп повышенного риска по изученным локализациям, но есть сообщения о том, что аномально высокие уровни IgA к ВКА можно выявить за 16–41 мес до появления первых клинических признаков рака носоглотки и лимфо-

Чувствительность и специфичность выявления антител к ВЭБ у пациентов с ХЗЖ

Тип антител	Категория обследованных	Число обследованных	Число лиц с титрами антител									
			Негативные	≥ 1:10	≥ 1:20	≥ 1:40	≥ 1:80	≥ 1:160	≥ 1:320	≥ 1:640	≥ 1:1280	≥ 1:2560
IgG к ВКА	Пациенты с ХЗЖ	254	0	0	254	235	231	134	110	25	7	1
	Здоровые	210	19	0	191	117	100	56	6	0	0	0
	Чувствительность метода, %				100	92,5	90,9	52,7	43,3	9,8	2,8	0,4
	Специфичность метода, %				9,1	44,3	52,4	73,3	97,2	100	100	100
IgA к ВКА	Пациенты с ХЗЖ	254	98	156	10	2	0	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Здоровые	210	201	9	0	0	0	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Чувствительность метода, %			61,4	4,0	0,8						
	Специфичность метода, %			95,7	100	100						
IgG к РА	Пациенты с ХЗЖ	254	84	170	13	4	0	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Здоровые	210	202	8	0	0	0	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Чувствительность метода, %			66,9	5,1	1,6						
	Специфичность метода, %			96,2	100	100						

Таблица 2

Чувствительность и специфичность выявления антител к ВЭБ у пациентов с ХНЗЛ

Тип антител	Категория обследованных	Число обследованных	Число лиц с титрами антител										
			Негативные	≥ 1:10	≥ 1:20	≥ 1:40	≥ 1:80	≥ 1:160	≥ 1:320	≥ 1:640	≥ 1:1280	≥ 1:2560	≥ 1:5120
IgG к ВКА	Пациенты с ХНЗЛ	256	0	0	256	234	233	164	141	61	23	7	1
	Здоровые	210	19	-	191	117	100	56	6	0	0	0	0
	Чувствительность метода, %				100	91,4	91,0	64,1	55,8	23,8	9,0	2,7	0,4
	Специфичность метода, %				9,1	44,3	52,4	73,3	97,2	100	100	100	100
IgA к ВКА	Пациенты с ХНЗЛ	256	101	155	17	6	2	0	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Здоровые	210	201	9	0	0	0	0	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Чувствительность метода, %			60,5	6,6	2,3	0,8						
	Специфичность метода, %			95,7	100	100	100						
IgG к РА	Пациенты с ХНЗЛ	256	109	147	32	12	7	1	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Здоровые	210	202	8	0	0	0	0	0	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.	Не иссл.
	Чувствительность метода, %			54,4	12,5	4,7	2,7	0,4					
	Специфичность метода, %			3,8	96,2	100	100	100	100				

Таблица 3

Выявляемость IgG к РА и/или IgA к ВКА ВЭБ при наличии в сыворотке крови пациентов с хроническими заболеваниями и здоровых лиц IgG к ВКА ВЭБ в титрах 1:160 и 1:320

Обследованные группы	Титры IgG к ВКА ВЭБ	Число обследованных	Частота выявления IgG к РА (А) и/или IgA к ВКА (Б)								
			-А; -Б		+А; -Б		-А; +Б		+А; +Б		
			Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%	
Пациенты с хроническими заболеваниями	желудка легкого	1:160	23	16	69,7	3	13,0	3	13,0	1	4,4
			23	6	26,1	4	17,4	4	17,4	9	39,1
			50	38	76,0	4	8,0	5	10,0	3	6,0
Пациенты с хроническими заболеваниями	желудка легкого	1:320	85	8	9,4	8	9,4	17	20,0	52	61,2
			80	13	16,3	25	31,3	26	32,5	16	20,0
			Здоровые	6	4	66,6	1	16,6	1	16,6	0

Примечание: + — наличие исследуемых антител; - — отсутствие исследуемых антител.

мы Беркитта [9, 2]. Что касается других ВЭБ-ассоциированных новообразований, то существуют данные о высокой частоте выявления рака гортани и гортаноглотки при динамическом наблюдении за пациентами с заболеваниями ЛОР-органов, имеющими повышенные титры антител к антигенам ВЭБ [10]. Известно также, что при некоторых состояниях иммунной системы происходит поликлональная активация В-лимфоцитов, которая сопровождается выработкой антител к целому ряду антигенов [11]. Этот феномен может наблюдаться и при опухолевых заболеваниях, поэтому мы сочли целесообразным про-

тестировать на наличие антител к антигенам другого представителя семейства герпесвирусов — вирусу простого герпеса (ВПГ-1) — 49 сывороток крови с низкими ($\leq 1:80$) и 46 с высокими ($\geq 1:320$) уровнями IgG к ВКА ВЭБ. Показано полное отсутствие корреляционной зависимости между изученными показателями ВЭБ и ВПГ-1. Иными словами, выявленные особенности противовирусного иммунитета специфичны именно для ВЭБ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов с ХЗЖ и ХНЗЛ, имеющих высокие уровни специфических антител к антигенам ВЭБ, риск

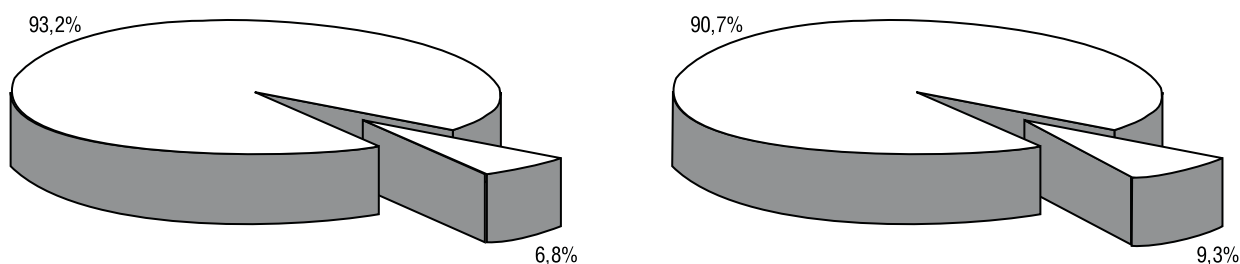


Рис. 3. Выявление рака в группах динамического наблюдения среди пациентов с ХЗЖ (А) и ХНЗЛ (Б)

развития злокачественных заболеваний соответствующих локализаций значительно выше, чем у пациентов с низкими титрами. Учитывая высокую эффективность предложенной методики, которая определяется более высокими показателями выявляемости случаев ВЭБ-ассоциированного рака, целесообразно, на наш взгляд, рассмотреть вопрос о возможности использования изученных иммуновирусологических маркеров в качестве дополнительного критерия при формировании групп повышенного риска возникновения ВЭБ-ассоциированной онкопатологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klein E. The complexity of the Epstein—Barr virus infection in humans. *Pathol Oncol Res* 1998; **4**: 3—7.
2. Okano M. Epstein—Barr virus infection and its role in the expanding spectrum of human diseases. *Acta Paediatr* 1998; **87**: 11—8.
3. Hadar T, Rahima M, Kahan E. Significance of specific Epstein—Barr virus IgA and elevated IgG antibodies to viral capsid antigens in nasopharyngeal carcinoma patients. *J Med Virol* 1986; **20**: 329—39.
4. Itoh T, Tokunaga M. Clinicopathology of Epstein—Barr virus-related gastric carcinoma. *Neppon Rinsho* 1997; **55**: 363—7.
5. Chan JK, Hui PK, Tsang WY, et al. Primary lymphoepithelioma-like carcinoma of the lung. A clinicopathologic study of 11 cases. *Cancer* 1995; **76**: 413—22.
6. Zhang L, Liu H, Wang Z. Detection of EB virus in pulmonary carcinoma by in situ hybridization. *Chung Hua Ping Li Hsueh Tsa Chih* 1996; **25**: 1—3.
7. Sasaki Y, Hayashi K, Suzuki T, et al. In situ detection of Epstein—Barr virus in the non-neoplastic gastric glands and infiltrated lymphocytes. *Rinsho Byori* 1996; **44**: 1196—2000.
8. Henle W, Henle G. Seroepidemiology of the virus. In: The Epstein—Barr virus. Epstein MA, and Achong BG (eds). 1979; 62—78.
9. Rearson GR. Immunobiology of EBV-Associated Cancers. *Herpesviruses* 1985; **4**: 183—99.
10. Исаева ТМ, Подоплекин ВД. Серологические маркеры вируса Эпштейна—Барр — дополнительный критерий при формировании групп повышенного риска развития рака гортани и гортаноглотки. *Эксперим онкол* 1992; **14**: 49—51.

11. Киселев ФЛ, Павлиш ОА, Татосян АГ. Молекулярные основы канцерогенеза у человека. Москва: Медицина, 1990. 315 с.

THE LEVEL OF ANTIBODIES TO EPSTEIN—BARR VIRUS ANTIGENS AS A SUPPLEMENTARY CRITERION IN ASSESSING THE ONCOLOGICAL RISK IN PATIENTS WITH CHRONIC DISORDERS OF THE STOMACH AND LUNG

T.I. Kuznetsova, L.N. Urazova,
S.A. Kolomiets, V.V. Karasyeva

Summary. *The aim of this research was to study the feasibility of using immune responses to Epstein—Barr virus (EBV) antigens in patients with chronic gastric and pulmonary diseases in early cancer detection. Samples of blood sera from 254 patients with chronic gastric diseases (CGD) and 256 patients with chronic non-specific pulmonary diseases (CNPД) were tested for the presence of specific antibodies to EBV antigens (capsid and early antigen complexes) using the method of indirect immunofluorescence. As a result, it was shown that all the patients examined were infected with EBV. A comparative analysis of EBV-specific immunity showed that the mean geometric titers (MGT) of antibodies to this virus in patients with chronic diseases were significantly higher than those observed in healthy subjects ($p < 0.001$). Cancer was detected within a 3-year follow-up period in 9 patients with CNPD and in 3 patients with CGD. All these patients were found to have abnormally high levels of EBV-specific antibodies. Thus, it can be assumed that testing for the presence of immunovirological markers can be used as a helpful additional test in the formation of the groups at risk for EBV-associated malignant tumors.*

Key Words: Epstein—Barr virus, antibodies, chronic gastric and pulmonary diseases, groups at risk.