

» Korrelation von Plasma-Glutathion und Gesamt-IgE-Spiegeln: Hinweise für eine regulatorische Rolle von Antioxidantien In vivo

Zusammenfassung: Einleitung: Atopische Erkrankungen gehen mit erhöhten Serum-IgE-Spiegeln einher. Auch Patienten mit fortgeschrittener HIV-Infektion weisen erhöhte IgE-Spiegel auf, die zudem prognostische Signifikanz haben. In-vitro-Arbeiten belegen zudem eine Beziehung von Antioxidantien und Serum-IgE-Konzentration, die auf eine regulatorische Rolle von Thiolen wie Glutathion auf die IgE-Produktion schließen lassen. Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage nach In-vivo-Hinweisen für eine Korrelation von Glutathionkonzentration und Serum-IgE-Spiegeln. **Methodik:** Serum-IgE-Spiegel, CD4⁺-Lymphozytenzahlen und Plasma-Glutathionkonzentrationen wurden bei nicht-atopischen Patienten mit nachgewiesener HIV-Infektion bestimmt. **Ergebnisse:** 27 HIV-infizierte Patienten (mittleres Alter \pm SD: 43 \pm 11 Jahre, 85% männlich) mit einer mittleren CD4⁺-Lymphozytenzahl von 250 \pm 136/ μ l wurden in die Untersuchung eingeschlossen. Die mediane Serum-IgE-Konzentration betrug 85,3 U/ml (Spanne: 3 – 1298 U/ml). Die mittlere Glutathionkonzentration lag bei 2,08 \pm 0,7 μ mol. Glutathionspiegel korrelierten signifikant mit der CD4⁺-Lymphozytenzahl ($r = 0,37$; $p = 0,05$), und waren negativ mit Serum-IgE-Spiegeln korreliert ($r = -0,46$; $p = 0,01$). **Schlussfolgerung:** Plasma-Glutathionkonzentrationen korrelieren mit Serum-IgE-Spiegeln bei HIV-infizierten Patienten. Die vorliegende Untersuchung beschreibt erstmalig einen In-vivo-Zusammenhang von Plasma-Antioxidantien und IgE-Synthese. Es wird Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, ob Antioxidantien auch bei Atopikern eine regulatorische Bedeutung für die IgE-Produktion haben.

Correlation of Plasma Glutathione and Total Serum IgE Levels: Evidence for a Regulatory Role of Antioxidants In vivo: Background: Atopy is characterized by increased levels of circulating immunoglobulin E (IgE). Moreover, elevated IgE levels are frequently observed in HIV-infected individuals and are of prognostic significance in these patients. Several In vitro studies have established an association of intracellular antioxidants like glutathione with IgE production by B-lymphocytes, suggesting a regulatory role of these substances in IgE synthesis. However, in vivo data consistent with these findings have not been reported. **Methods:** Total IgE levels, CD4⁺-lymphocyte count and plasma glutathione were determined in non-atopic, HIV-positive individuals. **Results:** 27 HIV-positive subjects (mean age \pm SD: 43 \pm 11 years, 85% males) were studied. Mean CD4⁺-lymphocyte count was 250 \pm 136/ μ l. The median serum IgE level was 85.3 U/ml (Range: 3 – 1298 U/ml), and the

K.-M. Beeh, P. Micke, O. Kornmann, R. Buhl
Schwerpunkt Pneumologie, III. Medizinische Klinik,
Universitätsklinik Mainz

mean plasma glutathione concentration was 2.08 \pm 0.7 μ Mol. Plasma glutathione was significantly correlated with CD4⁺-lymphocyte count ($r = 0.37$; $p = 0.05$), and was inversely related to total IgE ($r = -0.46$; $p = 0.01$). **Conclusions:** Plasma glutathione and total IgE levels are negatively correlated in HIV-positive individuals. This observation supports the concept of a regulatory role of antioxidants and IgE synthesis in vivo. Further studies aiming at the possible significance of these mechanisms in atopic patients are clearly warranted.

Hintergrund

Seit der Entdeckung des Immunglobulin E (IgE) durch Ishizaka [1] haben Erkenntnisse über die Bedeutung von IgE für die Pathogenese allergischer Erkrankungen vom Soforttyp wie Asthma bronchiale oder allergische Rhinitis kontinuierlich zugenommen. Dabei stellt die Atopie im Sinne einer gesteigerten immunologischen Bereitschaft zur Produktion von antigenspezifischen IgE-Antikörpern einen wichtigen prädisponierenden Faktor für allergische Erkrankungen dar. Darüber hinaus scheint eine Korrelation zwischen der Höhe der Serum-IgE-Spiegel und dem klinischen Schweregrad allergischer Erkrankungen zu bestehen [2]. Es kann heute als gesichert gelten, dass bei Atopikern die T-Helfer(CD4⁺)-Zell-Antwort signifikant in Richtung einer sog. T_{H2}-Antwort verschoben ist, d.h. CD4⁺-Zellen dieser Patienten sezernieren nach Antigenkontakt vornehmlich Zytokine wie Interleukin(IL)-4, IL-5 und IL-13, die insbesondere die IgE-Synthese in Plasmazellen induzieren [3].

Die IgE-Konzentration ist im Serum gesunder Nicht-Allergiker im Vergleich zu anderen Immunglobulinen verschwindend gering, während sie bei Allergikern regelmäßig deutlich erhöht ist [4,5]. Auch im Verlauf der HIV-Infektion werden häufig zum Teil massiv erhöhte Serum IgE-Spiegel beobachtet. Diese gesteigerte IgE-Synthese kann bei einigen HIV-Patienten trotz der allgemeinen Abnahme der immunologischen Kompetenz zu einer gesteigerten Disposition für Allergien führen [6]. Es konnte in klinischen Studien zudem wiederholt belegt werden, dass erhöhte IgE-Spiegel bei HIV-Patienten eine prognostische Bedeutung haben, die den progredienten Abfall der CD4⁺-Zellen begleitet [7,8].

Parallel hierzu findet man bei diesen Patienten häufig einen Mangel an intrazellulären und plasmatischen Antioxidantien wie Glutathion [9]. In neuerer Zeit mehren sich In-vitro-Hinweise, die auf eine regulatorische Rolle von intrazellulären Antioxidantien für die IgE-Synthese in B-Lymphozyten schlie-

ßen lassen. So konnte im Tiermodell durch die therapeutische Gabe des Antioxidans N-Acetylcystein (NAC) sowohl die IL-4-Produktion als auch die durch IL-4-induzierte IgE-Produktion in B-Lymphozyten gehemmt werden [10]. Möglicherweise spielen hier hemmende Einflüsse von Antioxidantien auf Transkriptionsfaktoren eine Rolle [11]. Bislang wurde jedoch kein Zusammenhang zwischen IgE-Spiegeln und Antioxidantien beim Menschen beschrieben. Die vorliegende Untersuchung ging daher der Frage nach, ob sich Hinweise für eine Korrelation dieser Parameter *In vivo* finden lassen.

Methoden

Bei HIV-infizierten Patienten, die sich im Rahmen einer klinischen Studie regelmäßig in der Klinik vorstellten, wurden folgende Parameter bestimmt: (1) Plasmaglutathion, (2) Serum Gesamt-IgE und (3) CD4⁺-Zellzahl. Plasmaglutathionkonzentrationen wurden unmittelbar nach Probengewinnung nach einer enzymatischen Methode photospektrometrisch bestimmt [9,12]. Hierzu wurde Plasma zu gleichen Anteilen mit 10 mM 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoesäure) (DTNB) in 0,1 M Kaliumphosphatlösung (pH 7,5) mit 17,5 mM Ethylen-diaminetetraessigsäure (EDTA) gemischt. Anschließend wurden die Proben 10 Minuten bei 2000 g zentrifugiert, und Aliquots zu je 50 µl des Plasmaüberstandes in Küvetten mit 0,5 U Glutathionreduktase in 0,1 M Kaliumphosphatlösung (pH 7,5) mit 5 mM EDTA pipettiert. Nach Inkubation (1 Minute, Raumtemperatur) wurde die Indikatorreaktion durch Zugabe von 220 nM NADPH in 0,1 M Kaliumphosphatlösung (pH 7,5) mit 5 mM EDTA zu einem Gesamtvolumen von 1 ml gestartet. Das Ausmaß der Reduktion von DTNB wurde spektrophotometrisch bei einer Wellenlänge von 412 nm (Beckman DU-70 Spektrophotometer) gemessen. Plasmaglutathionkonzentrationen wurden anhand von Standardkurven (0,125–4 µM Glutathion) bestimmt.

Serum Gesamt-IgE-Spiegel wurden mit dem CAP/FEIA-System (Pharmacia, Freiburg), absolute CD4⁺-Lymphozytenzahl mittels FACS bestimmt. Da Glutathionspiegel intraindividuelle

Schwankungen aufweisen können [13], wurden alle Bestimmungen zu zwei Zeitpunkten im Abstand von 7 Tagen durchgeführt. Alle Patienten wurden über Inhalte der Untersuchung aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Zur Ermittlung von Normalwerten für Plasmaglutathion wurden Glutathionkonzentrationen bei 11 freiwilligen gesunden Nichtrauchern bestimmt.

Alle Resultate sind, sofern nicht anders erwähnt, als arithmetische Mittelwerte mit einfacher Standardabweichung bzw. Median (IgE) angegeben. Gruppenvergleiche zwischen Patienten wurden mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Korrelationskoeffizienten wurden durch einfache lineare Regression bestimmt. Da die IgE-Spiegel in dem untersuchten Patientenkollektiv log-normal verteilt waren, wurde log IgE für die Korrelationsanalyse verwendet. Das statistische Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

Ergebnisse

27 HIV-infizierte Patienten mit einem mittleren Alter (\pm SD) von 43 ± 11 Jahren wurden in die Untersuchung eingeschlossen. 85% der Patienten waren männlich. Keiner der Patienten gab eine atopische Erkrankung in der Anamnese an. Alle Patienten befanden sich im fortgeschrittenen Stadium der asymptomatischen HIV-Infektion und führten eine antiretrovirale Therapie durch. Die mittlere CD4⁺-Lymphozytenzahl an Tag 1 lag bei $234 \pm 135/\mu\text{l}$. Die mediane Serum IgE-Konzentration an Tag 1 betrug 86 U/ml (Spanne: 3–1298 U/ml), die mittlere Glutathionkonzentration lag bei $2,04 \pm 0,8 \mu\text{Mol}$. An Tag 7 betrug die mittlere CD4⁺-Lymphozytenzahl $250 \pm 136/\mu\text{l}$, die mediane Serum IgE-Konzentration 70 U/ml (Spanne: 2–1262 U/ml), und die mittlere Glutathionkonzentration $2,08 \pm 0,7 \mu\text{Mol}$. Die Glutathionkonzentrationen der HIV-Patienten lagen zu beiden Zeitpunkten im Mittel signifikant unter denen der gesunden Kontrollgruppe ($2,64 \pm 0,7 \mu\text{Mol}$; $p < 0,05$, beide Vergleiche). Glutathionspiegel korrelierten zu beiden Messzeitpunkten schwach, aber signifikant mit der CD4⁺-Lymphozytenzahl (Tag 1: $r = 0,37$; $p = 0,05$. Tag 7: $r = 0,39$; $p = 0,04$, Abb. 1), und waren negativ mit Serum IgE-Spiegeln korreliert (Tag 1: $r = -0,46$; $p = 0,01$. Tag 7: $r = -0,42$; $p = 0,03$, Abb. 2). Entsprechend hatten Patienten mit ernied-

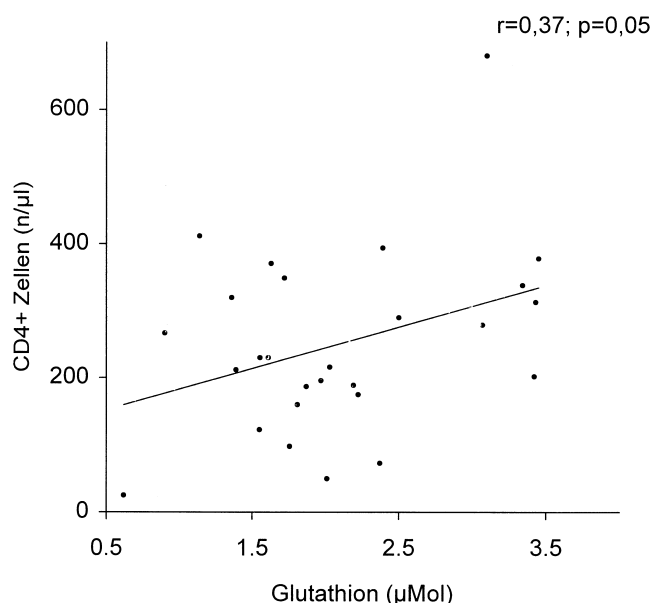


Abb. 1 Korrelation von Plasma-Glutathion und CD4⁺-Lymphozyten.

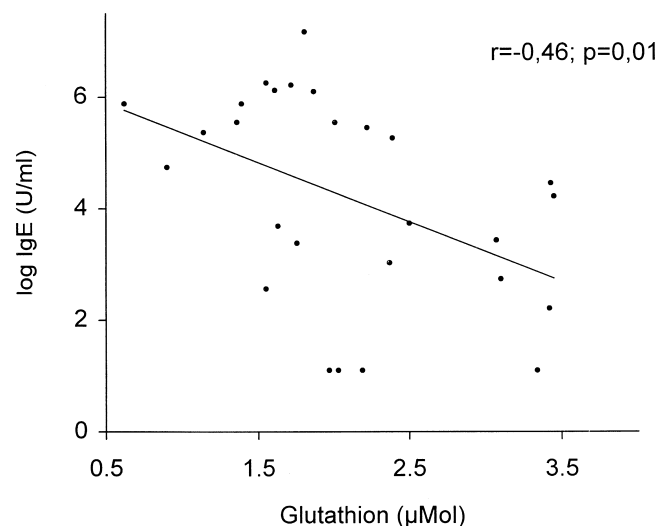


Abb. 2 Korrelation von Plasma-Glutathion und Serum IgE-Spiegeln.

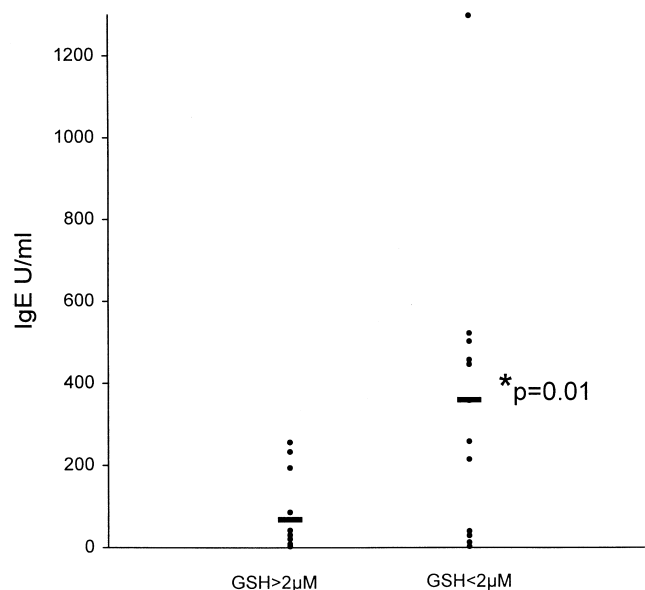


Abb. 3 Serum IgE-Spiegel bei HIV-infizierten mit normalen ($> 2 \mu\text{Mol}$) und erniedrigten ($< 2 \mu\text{Mol}$) Glutathionkonzentrationen im Plasma.

rigten Glutathionkonzentrationen ($< 2 \mu\text{Mol}$) signifikant höhere IgE-Spiegel als HIV-Patienten mit normaler Glutathionkonzentration ($p = 0,01$, Abb. 3).

Diskussion

Neben atopischen Erkrankungen geht auch die HIV-Infektion häufig mit erhöhten IgE-Spiegeln einher [7]. Diese Patienten weisen zudem ein Defizit an physiologischen Antioxidantien wie Glutathion auf [9]. Vor dem Hintergrund einer möglichen regulatorischen Rolle von Antioxidantien für die IgE-Synthese wurde daher untersucht, ob sich bei HIV-Patienten Hinweise für eine Korrelation von Glutathionkonzentrationen und Serum-IgE in vivo finden lassen. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung belegen eine negative Korrelation beider Parameter bei HIV-infizierten Individuen: Patienten mit niedrigen Glutathionkonzentrationen hatten signifikant höhere IgE-Spiegel als Patienten mit normalen Glutathionkonzentrationen. Diese Beobachtung konnte auch zum zweiten Untersuchungszeitpunkt nach 7 Tagen reproduziert werden. Darüber hinaus konnte in der vorliegenden Untersuchung eine Korrelation von Glutathionkonzentration und CD4^+ -Zellzahl beobachtet werden, wie sie bereits von anderen Autoren beschrieben worden ist [14, 15]. Aus den vorgestellten Beobachtungen ergibt sich zunächst die Frage, ob die Korrelation von IgE und Glutathion bei HIV-Patienten den im Tiermodell etablierten Mechanismen [10, 11] folgt, also Ausdruck einer kausalen Verknüpfung ist, oder ob die IgE-Erhöhung unspezifischer Ausdruck der fortgeschrittenen HIV-Erkrankung im Sinne eines Epiphänomenes ist. Darüber hinaus sollte in weiteren Untersuchungen geprüft werden, ob die hier beschriebenen Zusammenhänge zwischen IgE-Spiegeln und Glutathion auch bei atopischen Patienten zu finden sind. Falls sich in Zukunft ein Kausalzusammenhang beider Parameter in vivo bestätigen sollte, wäre es möglicherweise lohnenswert, in klinischen Untersuchungen zu prüfen, ob eine Substitution mit Antioxidantien Ausprägung und Verlauf atopischer Erkrankungen günstig zu beeinflussen vermag.

Literatur

- ¹ Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. Physico-chemical properties of reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J Immunol* 1966; 97: 75–85
- ² Brown WG, Halonen MJ, Kaltenborn WT, Barbee RA. The relationship of respiratory allergy, skin test reactivity, and serum IgE in a community population sample. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 63: 328–335
- ³ Anderson GP, Coyle AJ. TH2 and “TH2-like” cells in allergy and asthma: pharmacological perspectives. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 324–332
- ⁴ Haupt I, Jung HJ, Nuske M, Ringelmann R. Studies on normal range of serum IgE concentration. *Immun Infekt* 1979; 7: 97–102
- ⁵ Klink M, Cline MG, Halonen M, Burrows B. Problems in defining normal limits for serum IgE. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85: 440–444
- ⁶ Grieco MH. Immunoglobulins and hypersensitivity in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 1–4
- ⁷ Rancinan C, Morlat P, Chene G, Guez S, Baquey A, Beylot J, Salamon R. IgE serum level: A prognostic marker for AIDS in HIV-infected adults? *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 329–330
- ⁸ Onorato J, Esposito S, Scovena E, Morandi B, Morelli M, Pizzi M, Zisa G, Marchisio P, Principi N. Eosinophil involvement and serum IgE level in HIV-1-infected children. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 245–247
- ⁹ Buhl R, Jaffe HA, Holroyd KJ, Wells FB, Mastrangeli A, Saltini C, Cantin AM, Crystal RG. Systemic glutathione deficiency in symptom-free HIV-seropositive individuals. *Lancet* 1989; II (8675): 1294–1298
- ¹⁰ Jeannin P, Delneste Y, Lecoanet-Henchoz S, Gauchat JF, Life P, Holmes D, Bonnefoy JY. Thiols decrease human interleukin (IL) 4 production and IL-4-induced immunoglobulin synthesis. *J Exp Med* 1995; 182: 1785–1792
- ¹¹ Yanagihara Y, Basaki Y, Kajiwaru K, Ikizawa K. A thiol antioxidant regulates IgE isotype switching by inhibiting activation of nuclear factor- κB . *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: S33–S38
- ¹² Buhl R, Vogelmeier C, Crittenden M, Hubbard RC, Hoyt RF, Wilson EM, Cantin AM, Crystal RG. Augmentation of glutathione in the fluid lining the epithelium of the lower respiratory tract by directly administering glutathione aerosol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4603–4607
- ¹³ Micke P, Salem A, Beeh KM, Buhl R. Zirkadiane Schwankungen des Glutathionspiegels im Plasma. *Atemw.-Lungenkrkh* 1999; 25: 430–432
- ¹⁴ Herzenberg LH, De Rosa SC, Dubs JG, Roederer M, Anderson MT, Ela SW, Deresinski SC, Herzenberg LA. Glutathione deficiency is associated with impaired survival in HIV disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1967–1972
- ¹⁵ Staal FJT, Ela SW, Roederer M, Anderson MT, Herzenberg L, Herzenberg L. Glutathione deficiency and human immunodeficiency virus infection. *Lancet* 1992; 339: 909–912

Dr. med. K.-M. Beeh

Schwerpunkt Pneumologie
III. Medizinische Klinik
Langenbeckstr. 1
55131 Mainz

E-mail: k.beeh@3-med.klinik.uni-mainz.de