

МОНИТОРИНГ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ГЕТЕРОЗИГОТНОЙ β -ТАЛАССЕМИИ.

Касумова С.М.

Азербайджанский Медицинский Университет

Выполнены исследования по изучению ряда иммунофункциональных показателей у гетерозиготных носителей β -талассемии, не имеющих каких либо других изменений со стороны общепринятых лабораторных клинических показателей.

Выявленные изменения иммунологических показателей у гетерозигот β -талассемии могут быть следствием самостоятельной иммунопатии с относительно сниженными показателями основных иммунофункциональных тестов.

Талассемия и его различные формы является одной из важнейших проблем для здравоохранения Азербайджана /1,5,7,8/. Ежегодно в республике рождается более тысячи больных талассемией, число гетерозиготных носителей не подлежит достоверной статистике. В настоящее время талассемию нельзя вылечить, но можно предупреждать и успешно лечить осложнения, обеспечивая больному продление жизни. К сожалению, высокая стоимость трансплантации костного мозга не позволяет развиваться этому направлению в Азербайджане. То же самое относится и к другим дорогостоящим программам лечения больных, особенно детей. Высокая распространенность и смертность делает эту проблему одной из первоочередных социальных программ в Азербайджане.

Исходя из вышеизложенного, вытекает необходимость неотложных мероприятий для раннего выявления и лечения осложнений у детей с талассемией.

Ключевые слова: *гемаглобинопатии, β -талассемия, клеточный иммунитет, дети.*

Ранняя диагностика позволила бы начать своевременное проведение мер общего характера, направленное на профилактику респираторных, кишечных и других инфекций.

Повышенная инфекционная заболеваемость при наследственных гемоглинопатиях, в частности β -талассемии, ряд авторов связывает с нарушениями в иммунном гомеостазе /2,3,4,6,9/. Для изучения особенностей иммунной системы при гетерозиготной β -талассемии был выполнен комплекс иммунофункциональных исследований у этой категории детей.

Целью исследования явилась изучение особенностей клеточного иммунитета у гетерозиготных носителей β -талассемии.

Материал и методы исследования

Мониторинг β -талассемии проводили на основании данных общеклинического обследования с учетом уровня гемоглоби-

на (Hb) электрофареза Hb. Алгоритм наблюдения был разделен на 3 направления:

1. проведение направляющего, просеивающего метода-скрининг тестостическая резистентность и лицевневидность эритроцитов, семейный анамнез;

2. достоверный, утожняющий метод-электрофарез гемоглобина;

3. иммунофункциональные методы исследования.

Исследованию подвергались также родители и другие дети в семье.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты исследования обобщены, статические обработаны и представлены в таблицах 1-4.

По средним значениям большинства из исследованных субпопуляций РОЛ у носителей генов β -талассемии по сравнению с соответствующей контрольной группой выявлены существенные изменения. Так, уровень процентного содержания T_A -, T_P - и T_T -РОЛ у гетерозиготных носителей β -талассемии статистически достоверно ниже, чем в контроле (Таблица 1).

Таблица 1

Розеткообразующая способность лимфоцитов детей гетерозиготных по β -талассемии

Группа обс.	Ст. Показ.	Розеткообразующие лимфоциты							
		ТА	ТТ	ТП	Т _{ФР}	Т _{ФЧ}	В _М	В _{ЕА}	В _{ЕАС}
Гетерози β -талас. (n=18)	%	40,3	57,6	51,1	29,4	12,4	11,4	26,8	24,8
	абс $\times 10^9$ /л	(38,9-41,6) ^A	(55,8-59,3)	(48,4-54,1)	(26,5-32,2)	(11,3-13,4) ^A	(10,6-12,1) ^A	(24,4-29,1)	(23,5-26,0)
Здоровые	%	n=34	n=32	n=32	n=28	n=28	n=30	n=26	n=32
	абс $\times 10^9$ /л	48,4 (46,6-50,1) 2,46 (1,74-3,18)	60,2 (58,6-61,8) 3,06 (2,46-3,66)	56,4 (54,5-58,2) 2,86 (2,04-3,68)	30,9 (28,1-33,6) 1,57 (0,86-2,33)	29,3 (26,6-31,9) 1,49 (0,81-2,17)	8,9 (8,2-9,5) 0,45 (0,58-0,51)	26,3 (25,0-27,5) 1,34 (1,13-1,55)	23,6 (22,0-25,1) 1,20 (0,61-1,79)

Примечание: $P < 0,05-0,001$; A-по сравнению с группой здоровых

Лимфоциты, обладающие наиболее активными рецепторами к эритроцитам барана (Т_А-РОЛ), представляют собой совокупность регуляторов и эффекторов иммунитета, а также предшественников Т-киллеров /4,5,6/. Лимфоциты, образующие спонтанные розетки при часовой инкубации с эритроцитами барана, т. е. Т_Т-РОЛ, ответственны за основные механизмы тканевого иммунитета и выполняют антиген-распознающую функцию. По абсолютному и процентному содержанию Т_А- и Т_Т-РОЛ субпопуляций судят о наиболее выраженных изменениях в клеточном звене иммунной системы. Если при инкубации в течение часа выявляются практически все лимфоциты, имеющие рецепторы к эритроцитам барана, то проведение реакции розеткообразования в течение 22-24 часов (Т_П-РОЛ) в сравнении с данными Т_А- и Т_Т-РОЛ позволяет косвенно оценить силу средства рецепторов к индикатору.

Количество Т_{ФЧ} (супрессоры) и Т_{ФР} (хелперы) клеток у гетерозигот β -талассемии имеет тенденцию к снижению. При этом, если соотношение Т_{ФР} /Т_{ФЧ} здоровых детей составило 2,84, то у гетерозигот по β -талассемии - 4,02. Судя по коэффициенту Т_{ФР}/Т_{ФЧ}, уровень хелперов у носителей гена β -талассемии снижается в меньшей степени, чем уровень супрессоров. Возможно, что это и является одной из основных причин высокого уровня и иммуноглобулин синтезирующих субпопуляций лимфоцитов, а именно В_М- В_{ЕА}- В_{ЕАС}-РОЛ. Очевидно, при снижении функциональной активности Т-клеточного звена иммунной системы (или одной из ее субпопуляций) с целью сохранения иммунологического гомеостаза, происходит компенсаторное увеличение субпопуляций клеток, синтезирующих антитела В-лимфоцитов. Если В_{ЕАС}-РОЛ после контакта с антигеном и получения стимулирующего

сигнала от Т-клеток-хелперов в кооперации с макрофагами синтезируют высокоавидные антитела, то, как полагают, В_м-РОЛ, являясь самой молодой субпопуляцией В-лимфоцитов, обладает наиболее примитивной системой синтеза антител (дотимусной), не требующей участия Т-клеток и макрофагов.

При гетерозиготной β-талассемии выявлено повышение абсолютного и процентного количества 0-клеток. Считают, что по крайней мере часть 0-лимфоцитов является НК-клетками-киллерами, способными разрушать клетки-мишени, покрытые антителами. Очевидно, что частые инфекционные осложнения сенсибилизируют носителей гена β-талассемии по отношению к многим антигенам. В этих условиях активированные НК-клетки, при участии антител, могут выступать как дополнительный фактор, инициирующий повторы заболеваний. Возможно, что у обследованных детей определенное количество “нулевых” клеток на самом деле являются Т-лимфоцитами, маркерные рецепторы которых экранированы какими-то субстанциями (например, иммуноглобулиновой природы).

Значение и роль Д-клеток в организме до конца не выяснено. Одни авторы полагают, что Д-РОЛ являются переходной формой между Т- и В-лимфоцитами, другие склонны считать Д-лимфоциты отдельной, самостоятельной субпопуляцией лимфоцитов. Увеличение Д-РОЛ у носителей гена β-талассемии, по-видимому, следствие постоянного раздражения предшественников лимфоидного ростка кроветворения.

Несмотря на стабильно низкое процентное содержание Т- и повышенное В-субпопуляций, абсолютные значения РОЛ колебались в широких пределах: от близких к нормальным до повышенных или резко сниженных. Очевидно, это обусловлено тем, что у гетерозигот по β-талассемии в зависимости от возраста, ранее проводимой терапии, особенностей течения заболеваний, частоты инфекционных осложнений и пр., показатели крови, в частности уровень лейкоцитов и лимфоцитов подвержены значительным колебаниям. В среднем у них отмечалось состояние умеренного лейкоцитоза, а количество лимфоцитов колебалось от 25% до 65%. У 20-25% обследованных гетерозигот по β-талассемии снижение процентного количества Т-лимфоцитов и увеличение В-, Д- и О-клеток происходило на фоне лейкопении и (или) лимфопении. Интересно, что лейко- и лимфопения отмечается у 25-30% детей в раннем возрасте, когда, как известно, еще не полностью происходит переключение цепей гемоглобина F на гемоглобин А. Одновременно для таких детей характерна диспропорция в процентном соотношении РОЛ. Низкий уровень процентного содержания Т-РОЛ сопровождается и изменением авидности рецепторов к эритроцитам барана. Так, при одинаковом распределении Т_р<Т_т>Т_п в обследованных случаях отношение Т_т/Т_р и Т_т/Т_п составило 1,02 и 0,95 против 1,38 и 1,15 у здоровых.

На снижение функциональной активности клеточного звена иммунитета, в особенности Т-клеток у носителей генов β-талассемии указывают и результаты РБТЛ в присутствии митогена ФГА (таблица 2).

Таблица 2

Бласттрансформирующая активность лимфоцитов носителей гена гетерозиготной β-талассемии

Имунофункциональные показатели	Гетерозиготные носители гена β-талассемии (n=18)	Здоровые (контроль) (n=19)
Неизмененные лимфоциты	20,4(18,9-21,8) ^А	8,1(6,4-9,7)
Переходные лимфоциты	23,3(21,7-24,8)	22,3(20,3-24,2)
Бластные лимфоциты	56,3(54,6-57,9)	69,6(66,8-72,3)

Примечание: а-Р<0,05-0,001 по отношению к контрольной группе

Отмечается статистически достоверное снижение активности реакции бласттрансформации по отношению к контрольной группе. При анализе результатов РБТЛ в присутствии с ФГА в группе детей от 8 месяцев до 3 лет, предварительно разделенных на две

группы в зависимости от частоты инфекционных заболеваний, было выявлено снижение бласттрансформирующей активности не только по отношению к контрольной группе, но и к детям с частыми инфекционными осложнениями (Таблица 3).

Таблица 3

Иммунофункциональные показатели гетерозигот по гену β-талассемии в зависимости от частоты инфекционных осложнений

Иммунофункциональные показатели	Контрольная группа	Больные гетерозиготы β-талассемии	
		Частые инфекционные заболевания (бактериальные)	Частые вирусные наслоения
Лейкоциты	(n=18)	(n=13)	(n=13)
X10 ⁹	9,7 (9,4-9,9)	8,3(7,7-8,8) ^A	18,5(17,5-19,5) ^{DA}
Лимфоциты	(n=18)	(n=13)	(n=13)
Отн.(%) x10 ⁹	40,6(39,6-41,5) 3,94(3,84-4,0)	35,2(34,2-36,1) ^C 2,92(2,84-2,99) ^D	46,4(45,1-47,6) ^{BD} 8,58(8,36-8,8) ^D
T-РОЛ	(n=12)	(n=12)	(n=12)
Отн.(%) x10 ⁹	68,0(64,9-71,0) 2,68(2,56-2,79)	34,9(31,7-38,0) ^D 1,02(0,92-1,11) ^D	33,1(29,9-36,2) ^D 2,68(2,42-2,68) ^D
В _{ЕАС} -РОЛ	(n=12)	(n=12)	(n=12)
Отн.(%) x10 ⁹	26,4(23,2-29,5) 1,04(0,92-1,16)	28,4(24,6-32,1) 0,83(0,72-0,93)	3,33(30,7-35,8) 2,86(2,54-3,17) ^D
В _{еа} -РОЛ	(n=10)	(n=8)	(n=8)
Отн. (%)	16,4(13,0-19,8)	31,4(2,78-34,9) ^A	40,4(36,9-43,8) ^C
РБТЛ с ФГА	(n=7)	(n=8)	(n=9)
Отн. (%)	70,3(67,8-71,7)	40,4(37,8-42,9) ^D	48,9(46,6-51,1) ^{Da}
Частота осложнений одного больного в год	Инфекционн х (n=18) 0,9 (0,69-1,11)	(n=13) 4,5(3,29-5,7) ^A	(N=13) 2,1 (1,5-2,6) ^A
	Вирусных 0	2,0(1,29-2,71)	4,3(3,6-4,9) ^A

Примечание: 1. Возраст обследованных детей 3 месяца – 3 года; 2. A- P < 0,05; B-P < 0,02; C- P < 0,01; D- P < 0,001 по сравнению с контрольной группой; 3. Инфекционные заболевания – сальмонеллез шигеллез, стафилококковые инфекции.

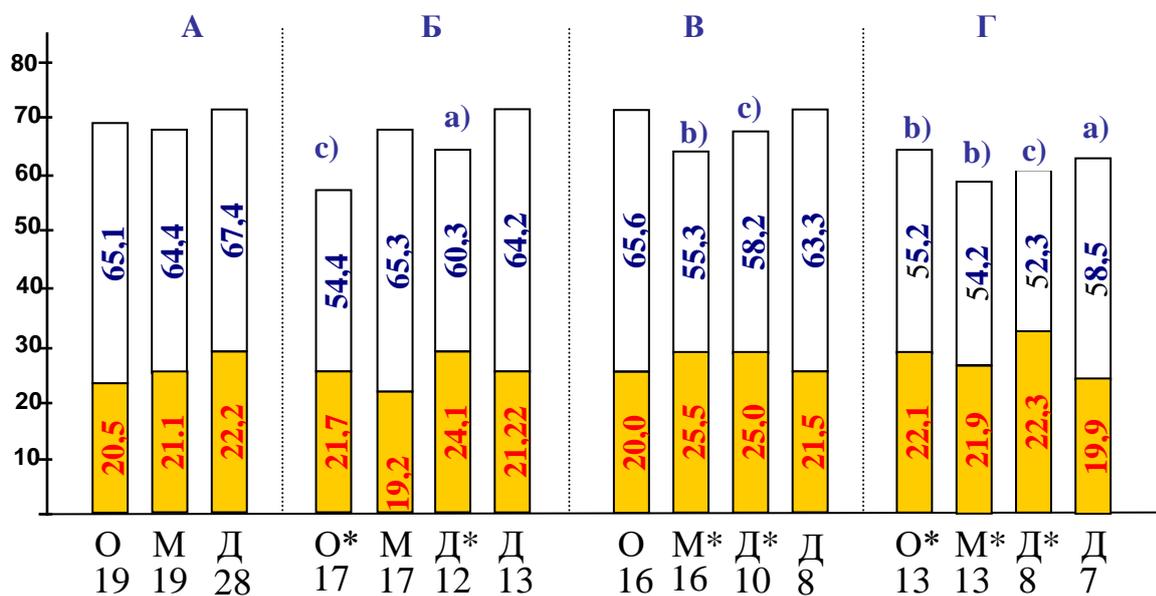
Учитывая то обстоятельство, что иммунофункциональные изменения выявлены у гетерозиготных носителей β-талассемии в раннем возрасте, эти сдвиги в показателях, отражающих состояние иммунной системы, следует рассматривать не только как следствие осложнения основного заболевания, т.е. состояние вторичного иммунодефицита, а как сопутствующую самостоятельную патологию (по крайней

мере у части обследованных) – врожденную иммунопатию. С целью анализа этого предположения были выполнены исследования по определению розеткообразующей и бласттрансформирующей способности лимфоцитов периферической крови, у членов семей, в которых имелись носители генов β-талассемии (Таблица 4; Рис. 1).

Основные иммунофункциональные показатели у детей с гетерозиготной β -талассемией в зависимости от характера наследования мутантных генов

Обследованные	Количество РОЛ (в %)			
	О-кЛ	T _A РОЛ	В _{EA}	РБТЛ-ФГА
1. Здоровые дети	n=28 9,3 (7,2-11,3)	n=28 67,4 (65,2- 69,6)	n=28 23,3 (21,1-25,4)	n=16 69,6 (68,1-71,0)
2. Дети гетерозиготы	n=28 20,3 (19,1-21,4)	n=18 40,3 (38,9-41,6)	n=18 24,8 (23,5-26,0)	n=18 56,3 (54,6-57,9)
3. Оба родители гетерозиготы	n=8 17,5 (15,0-19,9)	n=8 52,3 (49,6-54,9)	n=8 26,2 (22,9-29,4)	n=8 59,4 (57,9-60,8)
4. Мать гетерозигота	n=10 16,5 (14,2-18,7)	n=10 58,2 (55,7-60,6)	n=10 26,3 (22,2-28,3)	n=9 64,6 (63,0-66,1)
5. Отец гетерозигота	n=12 15,4 (13,2-17,5)	n=12 60,3 (57,9-62,6)	n=12 24,3 (21,1-27,4)	n=10 63,8 (62,4-65,1)
	0,05	0,01	н.д	0,001
	0,05	0,02	н.д	0,05
	н.д	0,05	н.д	0,02
	н.д	н.д	н.д	0,05
	н.д	н.д	н.д	0,05
	н.д	н.д	н.д	н.д

Примечание : 1. У обследованных уровень Hb > 120 г/л.
2. Возраст обследованных детей 1-3 года



Примечание: 1. О - отцы, М - матери, Д - дети; 2. * - гетерозиготные носители гена β -талассемии; 3. А - контрольная группа, в обследованных семьях нет носителей генов β -талассемии; Б, В, Г - семьи, в которых один или несколько членов семьи являются носителями генов β -талассемии; а) - $p < 0,05$; б) - $p < 0,02$; в) - $p < 0,01$ - по сравнению с соответствующей группой обследованных (О, М или Д) в семьях, где нет носителей генов β -талассемии (А), - В_{EA}-РОЛ - Т-РОЛ

Рис. 1. Показатели Т- и В_{EA}-РОЛ у детей с отягощенным талассемией семейным анамнезом

У детей гетерозиготных носителей генов β -талассемии, у которых оба родителя были гетерозиготными по β -талассемии, уровень Т-РОЛ статистически достоверно ниже, а О-лимфоцитов выше, чем у детей контрольной группы, родители которых не имели наследственной аномалии. Наибольший интерес вызывает то обстоятельство, что у здоровых детей, не имеющих гена β -талассемии, из семей, где один или оба родителя являлись гетерозиготами по β -талассемии, уровень Т-РОЛ статистически достоверно ниже, чем в контрольной группе, и в среднем ниже по сравнению с гетерозиготными детьми из семей, где только один из родителей гетерозиготен по β -талассемии.

Статистически достоверные различия наблюдаются и в бласттрансформирующей активности лимфоцитов детей, гетерозиготных по β -талассемии по сравнению со здоровыми детьми. Интересно, что у гетерозиготных по β -талассемии детей, бласттрансформирующая активность в группе, в которой оба родителя являлись гетерозиготами по мутантному гемоглобину, достоверно ниже, чем детей, у которых

носителем гена β -талассемии являлся один из родителей.

Анализ полученных результатов указывает на наличие по крайней мере у части носителей мутантных генов гемоглобина иммунодефицитного состояния, которое, очевидно, имеет врожденный характер, и, по-видимому, наследуется независимо от мутантного или нормального гемоглобина.

По-видимому, изменение иммунологических показателей у гетерозигот по β -талассемии может быть следствием самостоятельной иммунопатии с относительно сниженными показателями основных иммунофункциональных тестов.

Полученные результаты дают основание рассматривать носителей наследственных аномалий - условно здоровых лиц, имеющих нарушения в иммунофункциональных показателях, как группы повышенного риска к заболеваниям, в основе которых лежит иммунная недостаточность-повышенная предрасположенность к различным инфекционным заболеваниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kərimov A.Ə. Alimetov S.N., Məmmədova T.Ə. Qanyaradıcı sistem xəstəlikləri. Bakı, 2010, 374 s.
2. Canatan D. Talasemi ve Transfuzion // Türkiye klinikleri, 2005, № 1, s.28-32. Canatan D., Aydınov Y. Talasemi hakkında her şey, Antalya, 2005, s.22-35.
3. Бочков Н.П. Генетика в педиатрии // Педиатрия, 2004, №5, ч.13-18.
4. Вельтишев Ю.Э. Эдлин В.В. Развитие иммунной системы у детей М., 2005, 78 с.
5. Касумова С.М. Кишечные заболевания у детей раннего возраста с наследственными аномалиями крови: Автореферат диссертанта доктора медицинских наук. Баку, 2010, 46с.
6. Петров Р.в., Чердив А.Н., Ковальчук Л.В. Проблема клинической иммунологии на современном этапе // Иммунология, 1984, №6, с 9-12.
7. Рагимов А.А. Комплексная оценка иммунного статуса лиц с наследственными аномалиями крови (гемоглобинопатиями и дефицитом фермента-Г-6-ФДГ): Автореферат диссертанта доктора медицинских наук. М., 1988,42с.
8. Chazi O., Tadmuori A. β -Talasemia in Turkey. A review in Turkey of the clinical epidemiological molecular and evolutionary aspects // Hemoqlobin 2001, № 25, p.227-229.
9. Zeung T.N., Lau T.K., Chung T., Kh.Thalassemia screening in pregnancy // Curr opin Obstet Gynecol, 2005, p.129-134.

XÜLASƏ

**B-TALASSEMIYALI HETEROZİQOTLARDA HÜCEYRƏ IMMUNITETİNİN
MONİTORİNQİ**

Qasımova S.M.

Azərbaycan Tibb Universiteti

Açar sözlər : *hemoqlobinopatiyalar, β -talassemiya, hüceyrə immuniteti, uşaqlar.*

Ümumi qəbul olunmuş laborator və klinik göstəricilərdə hansısa dəyişikliyi olmayan β -talassemiyanın heteroziqotlarında hüceyrə immunitetinin əsas immunofunksional testlərinin təşviqi aparılmışdır. β -talassemiya heteroziqotlarda aşkarlanan immunofunksional göstəricilərinin zəifləməsi müstəqil immunopatiya nəticəsində olması ehtimal oluna bilər.

SUMMARY

Monitoring of cellular immunity in β thalassemia heterozygotes.

Kasimova S.M.

Azerbaijan Medical University

Keywords: *hemoglobinopathies, β -thalassemia, cell immunity, children.*

The major immunofunksional cell immunity tests have been encouraging in non generally laboratory and clinical indicators changes in the β -thalassemia heterozygotes. The weakening of immunofunksional indicators found in β -thalassemia heterozygotes can be assumed to be a result of the independent immunopathology.