

Иммуногенетическая характеристика неходжкинских лимфом у детей

БГМУ

Проанализирована частота встречаемости HLA параметров I класса у 37 детей (26М и 11Д) в возрасте 1-17 лет с неходжкинскими лимфомами (НХЛ). Дана клиническая характеристика детей с НХЛ в зависимости от линейной принадлежности и стадии заболевания. Установлены различия в частоте распределения параметров HLA по отношению к контролю: антигенов А3, В35, В61; фенотипов А1,3; А3,25; В8,13; В35,61; гаплотипов А1В35; А2В61; А3В35 и А3, В61(все позитивно ассоциированы). Выявлены различия частоты встречаемости антигенов и фенотипов в зависимости от линейной принадлежности. Для В клеточного типа НХЛ характерно увеличение частоты антигенов В35 и В61; фенотипов А1,3; А3,25. Для Т клеточного типа НХЛ – антигена В61. Не определено ассоциативных связей между общей выживаемостью детей с НХЛ и параметрами HLA. Показана специфичность иммуногенетических параметров HLA в развитии НХЛ у детей.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, дети, HLA I класса, антигены, фенотипы, гаплотипы, общая выживаемость.

Неходжкинские лимфомы (НХЛ)-опухолевые заболевания иммунной системы, субстратом которых являются лимфоидные клетки различной гистогенетической принадлежности, что и определяет клиническое течение, прогноз и исход болезни. Внедрение достижений молекулярной биологии в исследование антигенов HLA системы внесло существенный вклад в расширение представлений о ней и её роли в формировании заболеваний. В литературе имеется достаточное количество сообщений, посвященных исследованию HLA системы в различных популяциях и при различных заболеваниях [2, 11, 8]. В последние годы появились работы, свидетельствующие об участии иммуногенетических маркеров предрасположенности к развитию лимфопролиферативных заболеваний (лимфогранулематоз, хронический лимфобластный лейкоз, лимфомы кожи, лимфома Беркитта) [5, 1, 13]. На сегодня проблема «HLA и болезни» является актуальной и значимой с позиций установления ассоциативных связей между этими двумя характеристиками [3, 9]. По-прежнему дискуссионными являются вопросы, касающиеся механизмов ассоциации. Так, некоторые авторы попытались объяснить механизмы взаимоотношения функционирования параметров HLA системы с заболеваниями иммунной системы [18, 15]. До сих пор остаются недостаточно изученными патогенетические аспекты при этих заболеваниях. Имеющиеся сведения о распределении показателей HLA системы при НХЛ у детей единичны и представлены фрагментированными исследованиями [12, 14]. В то же время патофизиологические характеристики маркеров HLA системы и заболевания окончательно не уточнены и остаются предметом многих исследований. В отечественной литературе отсутствуют публикации по изучению параметров HLA у детей с НХЛ. Проведенные исследования в этом направлении позволят выяснить их роль в генезе данной патологии, прогнозировать характер течения и исход болезни. Кроме того, установление связи HLA с данным заболеванием даст возможность использовать антигены

гистосовместимости в качестве маркеров наследственной предрасположенности к развитию НХЛ.

Цель исследования: выявление особенностей частоты встречаемости и закономерностей распределения показателей HLA I класса и установление иммуногенетических маркеров предрасположенности к НХЛ у детей.

Материал и методы

Обследовано 37 (11 девочек и 26 мальчиков) детей с НХЛ в возрасте от 1 года до 17 лет (медиана возраста 7,9 лет), находящихся на лечении в ГУ «Республиканский научно – практический центр детской онкологии и гематологии». Диагноз верифицирован на основании общепринятых критериев. Согласно Кильской классификации [7] у 16 (43,2 %) больных выявлен беркиттоподобный вариант НХЛ, у 17 (46 %) – лимфобластный и у 4 (10,8 %) – крупноклеточный. На основании линейной принадлежности 15 (40,5 %) детей с НХЛ имели Т – клеточный тип и 22 (59,5 %) – В-клеточный тип. У большинства больных (72,8 %) диагностирована III стадия болезни по Murphy [17]. С одинаковой частотой (13,6 %) установлены II и IV стадии болезни. Летальность составила 10,8 %, рецидивы – 18,9 %. Материалом исследования явилась кровь детей с НХЛ. Исследования проводились в лаборатории иммунологического типирования органов и тканей ГУ «Республиканского научно-практического центра гематологии и трансфузиологии» (РНПЦГиТ). Типирование антигенов HLA I класса осуществлялось постановкой двухступенчатого теста комплемент-зависимой микролимфотоксичности по методу Terasaki [16]. Типирующая панель позволила идентифицировать 16 антигенов локуса А, 31 антиген локуса В и 10 антигенов локуса С. Для сравнения и суждения о различиях частот встречаемости HLA параметров использованы в качестве контрольной группы данные HLA типирования 200 доноров крови, полученные в данной лаборатории. Для оценки ассоциации иммуногенетических параметров применены статистические показатели: критерий Стьюдента и критерий относительного риска RR. Биологический смысл RR-риск развития заболевания у носителей антигена по сравнению с индивидами, не несущими данный антиген. RR при положительной (позитивной) ассоциации с параметром HLA считается значимым при значении >2 , а при отрицательной (негативной) – $< 0,5$. Статистическая обработка проведена на персональном компьютере с использованием программ Microsoft Exel и Biostat [4]. Авторы выражают благодарность за помощь в проведении исследований сотрудникам Г

У РНПЦГиТ к.м.н. Левину В.И., к.м.н. Калмыковой А.Е., врачу ГУ РНПЦДОГ Алешкевич С.Н.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов типирования HLA системы у детей с НХЛ позволили определить основные биологические характеристики её иммуногенетического профиля. В работе мы рассматривали те отклонения в частоте встречаемости параметров HLA, которые значимо отличались от контрольной группы (табл. 1). Так, сравнительный анализ показателей HLA I класса выявил статистически достоверные различия в частоте встречаемости антигенов локусов А и В. Отмечено увеличение частоты встречаемости антигенов А3 (45,9%, $P<0,05$), В35 (40,5%, $P0,05$, $RR=0,18$) в исследуемой группе не встречался, а его частота в контроле составила 6,5%. Оценка частоты встречаемости антигенов локуса С в изучаемой группе по отношению к контролю не выявила различий в распределении.

Сопоставление частот встречаемости фенотипов у детей с контрольными данными показало статистически достоверные различия для некоторых из них (табл.1). Установлено увеличение частоты встречаемости фенотипов А1,3 (13,5%, $P < 0,05$, $RR = 4,3$), А3,25 (2,7%, $P < 0,05$, $RR = 16,5$), В8,13 (2,7%, $P < 0,05$, $RR = 16,5$), В35,61 (2,7%, $P < 0,05$, $RR = 16,5$), В18,35 (8,1%, $P < 0,01$, $RR = 8,7$) по отношению к контролю (3,5%, 0%, 0%, 0%, 1% соответственно), все – позитивно ассоциированы. Повышение частоты встречаемости последних указывает на возможность предрасположенности к развитию болезни. Кроме того, отмечено повышение частоты встречаемости фенотипов В0,35 (5,4%, $RR = 5,6$) и В8,35 (5,4%, $RR = 5,6$) в группе детей с НХЛ по сравнению со значениями контроля (1%, 1% соответственно), которое однако не достигло уровня статистической значимости.

Таблица 1

Характеристика антигенов и фенотипов HLA I класса у детей с неходжкинскими лимфомами

Параметры HLA	Частота (%)		RR	P
	Контроль n=200	Больные НХЛ n=37		
Антигены				
А3	28,5	45,9	2,1	< 0,05
А11	13	2,7	0,18	> 0,05
А23	6,5	0	0,18	> 0,05
В35	17,0	40,5	3,33	< 0,01
В61	2,0	13,5	11,3	< 0,01
Фенотипы				
А1,3	3,5	13,5	4,3	< 0,05
А3,25	0	2,7	16,5	< 0,05
В0,35	1,0	5,4	5,6	> 0,05
В8,13	0	2,7	16,5	< 0,05
В8,35	1,0	5,4	5,65	> 0,05
В18,35	1,0	8,1	8,73	< 0,01
В35,61	0	2,7	16,5	< 0,05

Примечание: RR – показатель относительного риска; P – достоверность различий по отношению к контролю.

В табл. 2 представлена характеристика гаплотипов HLA у детей с НХЛ. Результаты исследований частоты встречаемости гаплотипов у детей с НХЛ по отношению к частоте встречаемости их в популяции здоровых доноров указывают на особенности их распределения. Установлены статистически значимые показатели частоты сочетания аллелей между локусами А1В35, А2В61, А3В35 и А3В61.

Таблица 2

Характеристика гаплотипов HLA I класса у детей с неходжкинскими лимфомами

Гаплотип	RR	P
А1В35	4,72	< 0,05
А2В61	17,5	< 0,01
А3В0	2,90	> 0,05
А3В35	3,74	< 0,01
А3В61	17,6	< 0,01

Примечание: RR – показатель относительного риска; P – достоверность различий по отношению к контролю.

Для гаплотипа A3B0 получен значимый показатель относительного риска, однако статистической достоверности он не имел. Все вышеперечисленное, касающееся характеристик гаплотипов свидетельствует, что для НХЛ характерна специфичность представленных иммуногенетических параметров. Это указывает на их возможную роль в формировании данной патологии.

Для сопоставления частоты встречаемости иммуногенетических параметров HLA больные были распределены на две подгруппы в зависимости от линейной принадлежности заболевания.

Для В-клеточного типа НХЛ выявлено увеличение частоты встречаемости антигенов В35 (45,5%, RR=4,1, p 0,05), фенотипов А1,3 и А3,25. Кроме того, характерно то, что антигены В27 и А23 не встречались по отношению к контрольной группе и были негативно ассоциированы, а частота встречаемости антигена А11 имела тенденцию к снижению по отношению к контролю (табл. 3).

Таблица 3

Характеристика параметров (антигенов, фенотипов) HLA I класса у детей с В-клеточным иммунофенотипом НХЛ

Параметры HLA	Частота (%)		RR	P
	Контроль n=200	Больные НХЛ n=22		
Антигены				
А11	13,0	4,5	0,32	> 0,05
А23	6,5	0	0,3	> 0,05
В27	9,0	0	0,22	> 0,05
В35	17,0	45,5	4,1	< 0,01
В61	2,0	9,0	4,9	< 0,05
Фенотипы				
А1,3	3,5	22,7	8,1	< 0,01
А3,25	0	4,5	28	< 0,01

Примечание: RR – показатель относительного риска; P – достоверность различий по отношению к контролю.

Для Т-клеточного типа заболевания установлено увеличение частоты встречаемости антигена В61 (13,3%, RR=7,5, p 0,05) по сравнению с контролем. Отмечена тенденция к снижению частоты встречаемости антигена В7 (6,7 %, RR=0,2, p >0,05) по отношению к контролю и наличие негативно ассоциированной взаимосвязи. Антиген А11 (0%, RR=0,21, p >0,05) в данной группе не встречался (табл. 4). Полученные данные указывают на особенности распределения антигенов HLA в зависимости от линейной принадлежности НХЛ и, возможно, на различие механизмов их развития, что без сомнения определяет особенности клинического течения и прогноза.

Таблица 4

Характеристика антигенов HLA I класса у детей с Т-клеточным иммунофенотипом НХЛ

Антигены HLA	Частота антигена (%)		RR	P
	Контроль n=200	Больные НХЛ n=15		
Антигены				
A11	13,0	0	0,21	> 0,05
B7	26,0	6,7	0,2	> 0,05
B8	12,0	26,6	2,6	> 0,05
B61	2,0	13,3	7,5	< 0,05

Примечание: RR – показатель относительного риска; P – достоверность различий по отношению к контролю.

Для выяснения роли некоторых значимых HLA параметров, для прогноза течения НХЛ составлены кривые выживаемости (по лонгранговому критерию) и проведено их сравнение. При наличии антигена HLA-B35 (n=15) общая выживаемость детей с НХЛ составила 69,2 %, а при его отсутствии – 82,5 % (n=22), p=0,803. При наличии антигена HLA-A3 (n=17) общая выживаемость детей с НХЛ составила 75,3 %, а при его отсутствии – 88,9 % (n=20), p=0,694. При наличии HLA – гаплотипа A3B35 (n=10) общая выживаемость детей с НХЛ составила 67,5 %, а при его отсутствии – 92,0 % (n=27), p=0,228. Полученные данные сравнения кривых общей выживаемости по представленным иммуногенетическим показателям указывают, что общая выживаемость детей с НХЛ не ассоциируется с анализируемыми выше параметрами.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об особенностях распределения антигенов, фенотипов, гаплотипов у детей с НХЛ. Это позволило сделать ряд Выводы

1. У детей с НХЛ обнаружены достоверные различия в частоте встречаемости параметров HLA I класса по отношению к контролю: антигенов A3, B35, B61; фенотипов A1,3; A3,25; B8,13; B18,35; B35,61; гаплотипов A1B35; A2B61; A3B35; A3B61 (все позитивно ассоциированы).

2. Не установлено различий в частоте встречаемости антигенов локуса C по отношению к контролю.

3. Выявлены закономерности частоты встречаемости параметров HLA в зависимости от линейной принадлежности заболевания.

4. Общая выживаемость детей с НХЛ не ассоциируется с иммуногенетическими параметрами HLA-антигенами A3, B35, и гаплотипом A3B35.

Литература

1. Абдуллаев О.М. Клинико-диагностическое значение иммуногенетических показателей у больных с болезнью Ходжкина // Гематология и трансфузиология.-2005, №2, т. 50.-с. 17-20.

2. Алексеев Л.П., Хаитов Р.М. Ассоциированная с HLA предрасположенность к заболеванию и некоторые механизмы ее реализации.// Вестник АМН СССР.-1988, №5.-с. 30-38.

3. Бондаренко А.П. HLA и болезни. М. – 1999. – 105 с.

4. Гланц С. Медико – биологическая статистика.-М.:Практика.-1999.-459 с.

5. Зарецкая Ю.М., Пивник А.В., Клинова Э.Г., Расстригин Н.А., Хамаганова Е.Г., Алещенко С.М., Марголин О.В. Факторы наследственной предрасположенности к лимфогранулематозу. // Терапевтический архив. – 1998, №7. – с. 53-57.

6. Максимов О.Д., Зайцева Г.А., Бутина Е.В., Загоскина Т, П., Федоровская Н.А., Копанева Т.Г. Распределение HLA маркеров при хроническом лимфолейкозе // Гематология и трансфузиология.-2003, № 1, т. 48.-с. 19-22.

7. Неходжинские лимфомы у детей: диагностика, клиника, лечение // Практическое руководство.-М., 1994.-с. 5-30.

8. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ.-М.: Мир, 2000. – с. 118-128.
9. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П. Физиологическая роль главного комплекса гистосовместимости человека // Иммунология. – 2001, №3. – с. 4-12.
10. Шабалин В.Н., Серова Л.Д. Клиническая иммуногематология. М.,-1988. – 312 с.
11. Яздовский В.В. Генетическая регуляция иммунного статуса как механизм связи HLA и болезни. Автореф. дисс.... канд. мед. наук.-М.,-1995.-24 с.
12. Abdelrasik N., Al-Tonbary Y., Zaghlol H., Metvaly S., El-Shawaf R. HLA – class II polymorphism in children with lymphomas // Abstr. 8th Annul Congress European Hematology Association. Hematology Journal. – 2003, № 4.-p. 25.
13. Bateman A., Howell W. Human leukocyte antigens and cancer: is it in our genes? // J. Pathology. – 1999, Vol. 188, № 3. – p. 231 – 236.
14. Juszczynski P. J., Kalinka E., Salles G. Woszczek G., Borowiec M. Human leukocyte antigens and tumor necrosis factor genetic polymorphism influence non – Hodgkin, s lymphoma outcome // Abstr. 8th Annul Congress European Hematology Association. Hematology Journal. – 2003, № 4.-p. 142.
15. Magniez N., Roucard C., Sotto JJ. Leroux D., Garban F. Biochemical pathway of antigen processing by HLA – class II molecules in B – cell lymphomas // Leukemia. – 2004, Vol. 18,-p. 1448-1450.
16. Mittal K., Mickey M., Signal D., Terasaki P. Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. // Transplantation. – 1968, Vol. 6.-p. 913.
17. Murphy S. B. Classification, staging and end results of treatment of childhood non-Hodgkin's lymphomas: Dissimilarities from lymphomas in adults // Semin. Oncol,-1980, Vol. 7.-p. 332-339.
18. Riemersma S. A., Jordanova E. S., Schop R. F., Philippo K., Looijenga L.H., Schuurin E. Extensive genetic alterations of the HLA region including homozygous deletions of HLA class II genes in B – cell lymphomas arising in immune – privileged sites // Blood. – 2000, – Vol.. 96. – p. 3569-3577