

УДК 616.441-089.11-092:612.112

РОЛЬ Т- І В-ЛІМФОЦИТІВ У ПАТОГЕНЕЗІ РОЗВИТКУ ХІРУРГІЧНОЇ ПАТОЛОГІЇ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

*Д-р мед. наук І. Ю. Багмут, О. О. Гальмиз, С. М. Граматюк,
канд. мед. наук А. В. Тіткова*

Харківська медична академія післядипломної освіти

Була вивчена кров 94 ($N = 94$) пацієнтів з хірургічною патологією щитоподібної залози за показниками Т-регуляторних (Treg) і Т-хелперних (Th) (особливо Th17) лімфоцитів, а також В-лімфоцитів у патогенезі аутоімунних порушень. Хворі з хірургічною патологією щитоподібної залози були розподілені на 3 групи: до I групи увійшли 41 ($n = 41$) — хворі з еутиреозом; до II групи — 32 ($n = 32$) — пацієнти з гіпертиреозом; III групу склали 21 ($n = 21$) — хворі з діагнозом гіпотиреоз. Контроль — 27 пацієнтів без патології щитоподібної залози. Вивчена аутоімунна патологія, яка зміщує баланс Th1/Th2 і T17/Treg до Th1 і Th17, відповідно, і відіграє імунорегуляторну роль. Th1 клітини сприяють клітинно-опосередкованій імунній відповіді, яка може відігравати захисну роль, знижує кількість післяопераційних інфекцій та метаболічних порушень. Th2, які продукують IL-4 та IL-10, керують В-клітинами для продукування імуноглобулінів і сприяють гуморальному або опосередкованому антитілом імунітету, що призводить до пригнічення клітинно-опосередкованих імунних відповідей. Припущено, що інфузія антиоксидантними препаратами під час операції сприяє імуномодуляції організму хворого. Спостерігалися корелятивні зв'язки антитіло-залежної клітинно-опосередкованої цитотоксичності, як значущого чинника апоптозу фолікулярних клітин щитоподібної залози. Лікування аутоімунної дисфункції щитоподібної залози має бути спрямоване на відновлення імунної толерантності.

Ключові слова: аутоімунні порушення, баланс Th1/Th2 і T17/Treg до Th1 і Th17, хірургічна патологія щитоподібної залози.

Аутоімунні порушення посідають провідне місце в хірургічній патології щитоподібної залози та є найпоширенішими причинами дисфункцій щитоподібної залози [6]. Ці розлади розвиваються внаслідок складних взаємодій між екологічними та генетичними чинниками і характеризуються реактивністю до самотиреоїдних антигенів через автореактивну відповідь лімфоцитів. Обидві відповіді клітинна і гуморальна призводять до пошкодження тканин при аутоімунному ураженні щитоподібної залози [1, 5].

Диференціювання клітин CD4+ у специфічних умовах імунних медіаторів (наприклад, цитокінів, хемокинів) призводить до диференціації різних підгруп Т-клітин [3, 11, 14]. За результатами багатьох досліджень, ідентифікація Т-клітин показує змішану картину продукції цитокінів, що вказує на те, що обидва підтипи Т-хелперів, Th1 і Th2, беруть участь у всіх типах аутоімунної відповіді при хірургічній патології щитоподібної залози [2, 7, 12].

У низці експериментальних робіт було описано, що підтипи Т-клітин Th17 і Treg також відіграють істотну роль у патогенезі аутоімунної

відповіді щитоподібної залози при її хірургічній патології [4, 10, 13].

З огляду на зазначене, а також на результати попередніх досліджень ми вважали за доцільне вивчення Т-регуляторних (Treg) і Т-хелперних (Th) (особливо Th17) лімфоцитів, а також В-лімфоцитів у патогенезі аутоімунних порушень у хворих з хірургічною патологією щитоподібної залози.

Мета роботи — вивчення Т-регуляторних (Treg) і Т-хелперних (Th) (особливо Th17) лімфоцитів, а також В-лімфоцитів у патогенезі аутоімунних порушень у хворих з хірургічною патологією щитоподібної залози.

Наукове дослідження виконано згідно з планом науково-дослідних робіт Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Програма дослідження передбачала вивчення клітинного та гуморального імунітету в хворих з хірургічною патологією щитоподібної залози (ХПЩЗ).

У дослідженні брали участь 94 ($N = 94$) пацієнти, хворі з ХПЩЗ. Пацієнтів було поділено на 3 групи: до I групи увійшли 41 ($n = 41$) — хворі з еутиреозом; до II групи — 32 ($n = 32$) — пацієнти з гіпертиреозом; III групу склали 21 ($n = 21$) — хворі з діагнозом гіпотиреоз. Контрольну групу склали 27 пацієнтів без патології щитоподібної залози.

Дослідження загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3+), субпопуляції Т-лімфоцитів — Т-хелперів (CD4+) проводили імунофлуоресцентним методом на імуноферментному аналізаторі STAT-FAX303 (США).

Для визначення рівня цитокінів IFN-гамма, IL-4, IL-17 та IL-10 як показники Th1, Th2, Th-17 і Treg, відповідно, здійснювали за допомогою звичайного імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням кількісних тест-наборів для імуноферментного тесту. Мінімально виявляються рівні IFN-гамма, IL-4, IL-17 та IL-10 становили 0,01, 0,05, 0,01 і 0,05 пг/мл, відповідно. Кожен зразок крові аналізували двічі, і середнє значення використовували для інтерпретації. Тиреоїдні імуноглобуліни анти-TSH-рецептор (TRAK), антитіла до тиреоїдної пероксидази (анти-TPO) та анти-тиреоглобулінові (анти-TG) антитіла вимірювали у всіх зразках з використанням імуноферментного аналізу «ELISakit» з аналізатором DynexsystemInc (DynexInc, USA).

Для визначення динаміки показників клітинного та гуморального імунітету дослідження проводили до та після оперативного втручання з подальшою оцінкою тяжкості запальних реакцій.

Статистичний аналіз результатів проводився за допомогою комп'ютерного пакета прикладних програм для обробки статистичної інформації Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3+), субпопуляції Т-лімфоцитів — Т-хелперів (CD4+), не виявили достовірних змін при еутиреозі. Однак встановлено достовірну ($p \leq 0,05$) різницю у процесі дослідження хворих із ХПЩЗ з її гіперфункцією, що відзначалося у зниженні природних кілерів (CD16). Також встановлено корелятивну пряму залежність між CD16 та IFN-гамма, які підвищувалися на 15,5 % і 12,8 %, відповідно.

У групі з гіпотиреозом рівень IFN-гамма, цитокіну Th1, був достовірно ($p \leq 0,05$) нижчий.

Рівень IL-4, Th2 цитокіну, знижувався під час і після операції в усіх групах хворих з хірургічною патологією щитоподібної залози. Проте він не змінювався протягом періоду дослідження в групі хворих на еутиреоз.

У хворих з еутиреозом співвідношення IFN-гамма/IL-4 було нижчим порівняно з групою контролю, однак достовірної різниці не виявили. У хворих з гіпо- та гіперфункцією щитоподібної залози було встановлено достовірне підвищення співвідношення IFN-гамма/IL-4 порівняно з групою контролю та при еутиреоїдній функції залози, що вказує на зсув балансу IFN-гамма/IL-4 до IFN-гамма (табл. 1).

Концентрація IL-17, цитокіну T17, збільшувалася у всіх досліджуваних груп, але не мала статистичної значущості, однак у групі хворих на еутиреоз така зміна не була очевидною. Рівень IL-10, регуляторного цитокіну, був значно знижений у всіх групах, однак найменше значення спостерігалось у хворих на гіпотиреоз і мав достовірну різницю $p < 0,05$.

Визначення співвідношення IL-17/IL-10 встановило у хворих на гіпертиреоз зниження рівнів досліджуваних показників порівняно з даними контрольної групи пацієнтів. У хворих на гіпотиреоз цей показник зазнавав протилежної динаміки та збільшувався в післяопераційний період і зазнавав зсуву балансу IL-17/IL-10 до IL-17 (табл. 2).

Аналізуючи результати дослідження можна припустити наявність нестабільності імунної відповіді: саме на це вказує відсутність ознак проліферації, продукування ефекторних цитокінів, таких як: IL-2, TNF- α , IFN γ та IL-4 через TCR.

У хворих з хірургічною патологією щитоподібної залози В-клітини відіграють життєво важливу роль, оскільки вони є джерелом патогномонічних активуючих аутоантитіл (TRAb) проти рецепторів тиреотропного гормону (TSHR), TRAb, зв'язуючись з рецептором і безперервно стимулюючи його.

Втім, TSHR експресується у фолікулярних клітинах щитоподібної залози; а відтак, наслідком цієї хронічної стимуляції є збільшення продукції та секреції тиреоїдних гормонів T4 і T3, саме це збільшення і спостерігається у хворих на гіпертиреоз.

Відома мала роль В-клітин у розвитку тиреоїдиту порівняно з Т-лімфоцитами, втім, вони продукують аутоантитіла до тиреоглобуліну (Tg) і тиреоїдної пероксидази (TPO), які є, власне, тиреоантигенами.

Таблиця 1

Показники імунітету в хворих із хірургічною патологією щитоподібної залози

| Показники (пкг/мл) | Хворі | | | Контрольна група |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|------------------|
| | Еутиреоз | Гіпертиреоз | Гіпотиреоз | |
| Т-лімфоцити (CD3+) | 885,6 ± 30,8 | 769,4 ± 42,5* | 553,6 ± 28,4* | 928,4 ± 26,3 |
| Т-хелпери (CD4) | 302,4 ± 15,6* | 226,7 ± 13,4* | 165,3 ± 9,4* | 330,20 ± 12,6 |
| В-лімфоцити (CD19) | 220,6 ± 13,7* | 184,3 ± 9,6* | 158,5 ± 6,7* | 232,6 ± 19,8 |
| IFN-гамма (pg/ml) | 74,2 ± 1,2 | 126,0 ± 2,5* | 203,5 ± 2,7* | 87,6 ± 0,8 |
| IL-4 (pg/ml) | 81,6 ± 0,6 | 30,1 ± 1,3* | 67,2 ± 1,5* | 91,6 ± 1,1 |
| IFN-gamma/IL-4 | 0,9 ± 0,04 | 4,1 ± 0,05* | 1,9 ± 0,03* | 1,0 ± 0,01 |

Примітка. * — вірогідність достовірна $p < 0,05$.

Таблиця 2

Показники IL-17, IL-10 та їх співвідношення у хворих із хірургічною патологією щитоподібної залози

| Показники (пкг/мл) | Хворі | | | Контрольна група |
|--------------------|-------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| | Еутиреоз | Гіпертиреоз | Гіпотиреоз | |
| IL-17 (pg/ml) | 71.5 (9.8, 211.5) | 80.6 (38.1, 108.1)* | 116 (11.6, 280.4) * | 58.4 (21.8, 104.6) |
| IL-10 (pg/ml) | 106 (4.9, 221.7) | 75.3 (1.2, 210.2)* | 97.6 (7.1, 210.6) * | 128 (21.6, 288.4) |
| IL-17/IL-10 | 0.7 (0.2, 2.1) | 0.3 (0.1, 0.5)* | 1.8 (0.2, 5.8)* | 0.5 (0.1, 0.7) |

Примітка. * — значення медіани з кватертилями (25, 75 %), $p < 0,05$.

Отже, антитіло-залежна клітинно-опосередкована цитотоксичність є значущим чинником, відповідальним за апоптоз фолікулярних клітин щитоподібної залози, що спостерігаємо при вивченні корелятивних зв'язків (рис. 1).

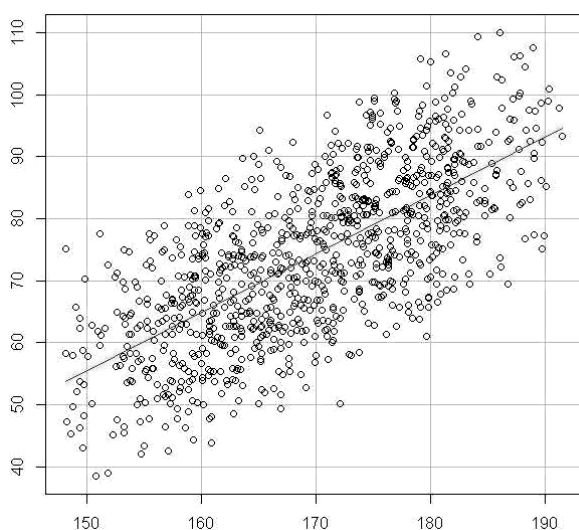


Рис. 1. Прямий кореляційний зв'язок між рівнем В-лімфоцитів та аутоантитілами до тиреоглобуліну і тиреоїдної пероксидази

На нашу думку, майбутнє лікування аутоімунної дисфункції щитоподібної залози має бути спрямоване на відновлення імунної толерантності.

У подальших дослідженнях планується провести експерименти, які дадуть змогу краще зрозуміти патогенез аутоімунного ураження щитоподібної залози при її хірургічній патології, включаючи вимірювання функціональності IL-10, який продукований клітинами Брег, або характеристику фенотипу цих клітин у тканині щитоподібної залози. Уточнення більш детальної інформації про регуляцію імунних відповідей клітинами Breg може забезпечити основу для розвитку нових В-клітинних терапевтичних стратегій в цих пацієнтів.

ВИСНОВКИ

Найважливішим висновком цього дослідження є те, що вивчена аутоімунна патологія щитоподібної залози у хворих з хірургічною патологією значно підвищувала співвідношення IFN-гамма/IL-4 та IL-17/IL-10 в пацієнтів, які перебували під хірургічним та анестетичним стресом. Ці результати показують, що у хворих

з еутиреоїдною функцією щитоподібної залози агоніст альфа-2, ймовірно, зміщує баланс Th1/Th2 і T17/Treg до Th1 і Th17, відповідно, та відіграє імунорегуляторну роль.

Початкові клітини Т-хелперів продукують різні види цитокінів. Залежно від сигналів, отриманих в напруженому стані, вони продукують більш специфічний вид цитокіну [8, 9]. У зв'язку з цим Т-хелперні клітини підрозділяються на ті, що секретують цитокіни. Th1 клітини продукують IFN-гамма, за допомогою якої активуються макрофаги та цитотоксичні Т-лімфоцити. Важливо, що Th1 клітини сприяють клітинно-опосередкованим імунним відповідям, які можуть відігравати захисну роль і призвести до меншої кількості післяопераційної інфекції та метаболічних порушень у післяопераційному періоді. З іншого боку, клітини Th2, які продукують IL-4

та IL-10, керують В-клітинами для продукування імунoglobulinів. Як наслідок, клітини Th2 сприяють гуморальному або опосередкованому антитілом імунітету, що призводить до пригнічення клітинно-опосередкованих імунних відповідей [5, 13].

Отже, перехід на клітини Th1 або Th2 може істотно впливати на подальший стан і напрямок імунних відповідей. Враховуючи, що сама операція зменшує співвідношення Th1/Th2, інфузія антиоксидантних препаратів під час операції сприятиме імуномодуляції організму хворого.

Перспективність роботи полягає у поглибленому вивченні антитіло-залежної клітинно-опосередкованої цитотоксичності як значущого чинника апоптозу фолікулярних клітин щитоподібної залози.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *Cardinale F.* Perioperative period: immunological modifications / F. Cardinale, I. Chinellato, S. Caimmi, D. G. Peroni // *Int. J. Immunopathol Pharmacol.* — 2017. — Т. 24:S3. — P 9–12. — DOI: 10.1177/03946320110240S302.
2. *Elenkov I. J.* Stress hormones, proinflammatory and anti-inflammatory cytokines, and autoimmunity / I. J. Elenkov, G. P. Chrousos // *J. Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2012. — Т. 966. — P. 290–303. — DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04229.x.
3. *Gala F.* Postoperative pulmonary complications, pulmonary and systemic inflammatory responses after lung resection surgery with prolonged one-lung ventilation. Randomized controlled trial comparing intravenous and inhalational anaesthesia / F. Gala, P. Piñeiro, A. Reyes // *Br. J. Anaesth.* — 2017. — Т. 119. — P. 655–663. — DOI: 10.1093/bja/aex230.
4. *Guo N. H.* Expression of regulatory T cells and Th17 cells in idiopathic thrombocytopenic purpura and its significance / N. H. Guo, Q. Z. Shi // *Br. J. Anaesth.* — 2018. — Т. 102. — P. 610–612.
5. *Kurosawa S.* Anesthetics, immune cells, and immune responses / S. Kurosawa, M. Kato // *J. Anesth.* — 2008. — Т. 22. — P. 263–277. — DOI: 10.1007/s00540-008-0626-2.
6. *Ledue T. B.* Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid a, and mannose-binding protein in human serum / T. B. Ledue, D. L. Weiner, J. D. Sipe // *J. Ann. Clin. Biochem.* — 1998. — Т. 35. — P. 745–753. — DOI: 10.1177/000456329803500607.
7. *Ng C. S.* Surgical trauma and immune functional changes following major lung resection / C. S. Ng, K. K. Lau // *Indian. J. Surg.* — 2015. — Т. 77. — P. 49–54. — DOI: 10.1007/s12262-013-0957-6.
8. *Singh R.* Th1/Th17 cytokine profiles in patients with reactive arthritis/undifferentiated spondyloarthropathy / R. Singh, A. Aggarwal, R. Misra // *J. Rheumatol.* — 2007. — Т. 34. — P. 2285–2290.
9. The imbalance of Th17/Treg in patients with uterine cervical cancer. / Y. Zhang, D. Ma, Y. Tian, X. Wang // *J. Clin. Chim. Acta.* — 2016. — Т. 412. — P. 894–900. — DOI: 10.1016/j.cca.2011.01.015.
10. Transplantation and inflammation: implications for the modification of chemokine function / C. E. Barker, S. Ali, G. O'Boyle, J. A. Kirby // *J. Immunology.* — 2014. — №. 143. — P. 138–145. — DOI: 10.1111/imm.12332.
11. *Ueki M.* The effects of dexmedetomidine on inflammatory mediators after cardiopulmonary bypass. / M. Ueki, T. Kawasaki, K. Habe, K. Hamada // *J. Anaesthesia.* — 2014. — Т. 69. — P. 693–700. — DOI: 10.1111/anae.12636.
12. *Wang H.* Dexmedetomidine premedication attenuates concanavalin A-induced hepatitis in mice. / H. Wang, B. Hu, Y. Zou, L. Bo // *J. Toxicol. Sci.* — 2014. — Т. 39. — P. 755–764. — DOI: 10.2131/jts.39.755.
13. *Webster N. R.* Immunomodulation in the critically ill / N. R. Webster, H. F. Galley // *Br. J. Anaesth.* — 2009. — Т. 103. — P. 70–81. — DOI: 10.1093/bja/aep128.
14. *Weatherby K. E.* Resistance of macrophages to *Mycobacterium avium* is induced by alpha2-adrenergic stimulation / K. E. Weatherby, B. S. Zwilling, W. P. Lafuse // *J. Infect. Immun.* — 2003. — Т. 71. — P. 22–29. — DOI: 10.1128/IAI.71.1.22-29.2003.

РОЛЬ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Д-р мед. наук І. Ю. Багмут, А. А. Гальмиз, С. Н. Граматюк,
канд. мед. наук А. В. Титкова*

Была изучена кровь 94 (N = 94) пациентов с хирургической патологией щитовидной железы по показателям Т-регуляторных (Treg) и Т-хелперных (Th) (особенно Th17) лимфоцитов, а также В-лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных нарушений. Больные с хирургической патологией щитовидной железы были разделены на 3 группы: в I группу вошли 41 (n = 41) — больные с эутиреозом; во II группу — 32 (n = 32) — пациенты с гипертиреозом; III группу составили 21 (n = 21) — больные с диагнозом гипотиреоз. Контроль — 27 пациентов без патологии щитовидной железы. Изучена аутоиммунная патология, которая смещает баланс Th1/Th2 и T17/Treg к Th1 и Th17, соответственно, и играет иммунорегуляторную роль. Th1 клетки способствуют клеточно-опосредованному иммунному ответу, который может играть защитную роль, снижает количество послеоперационных инфекций и метаболических нарушений. Th2, продуцирующие IL-4 и IL-10, руководят В-клетками для выработки иммуноглобулинов и способствуют гуморальному или опосредованному антителом иммунитету, что приводит к подавлению клеточно-опосредованных иммунных ответов. Предположено, что инфузия антиоксидантными препаратами во время операции способствует иммуномодуляции организма больного. Наблюдались коррелятивные связи антитело-зависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности, как значимого фактора апоптоза фолликулярных клеток щитовидной железы. Лечение аутоиммунной дисфункции щитовидной железы должно быть направлено на восстановление иммунной толерантности.

Ключевые слова: аутоиммунные нарушения, баланс Th1/Th2 и T17/Treg к Th1 и Th17, хирургическая патология щитовидной железы.

ROLE OF T- AND B- LYMPHOCYTES IN THE PATHOGENESIS OF DEVELOPMENT OF SURGICAL PATHOLOGY THYROID GLAND

I. Yu. Bagmut, O. O. Galmiz, S. N. Gramatyuk, A. V. Titkova

Blood 94 (N = 94) patients was studied with surgical pathology of the thyroid gland in terms of Treg and T-helper (Th) (especially Th17) lymphocytes, as well as B-lymphocytes in pathogenesis autoimmune disorders. Patients (SPTG) were divided into 3 groups: in the I-group included 41 (n = 41) — patients with euthyroidism; II group — 32 (n = 32) patients with hyperthyroidism; The third group was 21 (n = 21) — patients with a diagnosis of hypothyroidism. Control — 27 patients without pathology of the thyroid gland. The autoimmune pathology that shifts the balance of Th1/Th2 and T17/Treg to Th1 and Th17, respectively, has been studied and plays an immunoregulatory role. Th1 cells promote cell-mediated immune responses that can play a protective role and reduce the number of post-operative infections and metabolic disorders. Th2 producing IL-4 and IL-10 controls the B cells for the production of immunoglobulins and promote the humoral or mediated immunity of the antibody, which leads to inhibition of cell-mediated immune responses, to suggest infusion of antioxidant drugs during the operation to promote the immune modulation of the patient's body. Correlated signs were observed lung antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity as a significant factor in apoptosis of thyroid follicular cells. Treatment of autoimmune dysfunction of the thyroid gland should be aimed at restoring immune tolerance.

Keywords: autoimmune disorders, Th1/Th2 and T17/Treg balance to Th1 and Th17, thyroid gland pathology.