

УДК 616.441 – 008.61: 577.144:616-097

© Ю. Ю. Кулагина, Н.И. Козлова, М.Э. Малиенко, 2013.

ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ, ОСЛОЖНЁННЫМ ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИЕЙ

Ю. Ю. Кулагина, Н.И. Козлова, М.Э. Малиенко

Кафедра внутренней медицины №2 (зав. кафедрой - проф. В.А. Белоглазов), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

HUMORAL ANTIENDOTOXIN IMMUNITY IN THE PATIENTS WITH GRAVES' DISEASE COMPLICATED BY THYROID EYE DISEASE

U.U. Kulagina, N.I. Kozlova., M.E. Malienko

SUMMARY

The aim of this work is to analyze humoral AEI features in patients with GD complicated with TED. We have investigated 87 patients with GD. The levels of antiendotoxin antibodies were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. We used the monoclonal antibodies to ET of Escherichia coli K235. All patients with GD were divided into two groups. In the 1st group – 54 GD patients without TED; in the 2nd group – 33 GD patients complicated by TED. 32 healthy donors were investigated too. The levels of anti-ET-IgA, anti-ET-IgM and anti-ET-IgG in patients with TED were increased in comparison with the 1st group, but they did not above normal. All the GD patients have decreased level of anti-ET-IgM and anti-ET-IgG in comparison with the norm. The level of anti-ET-IgA in the patients of 2nd group was lower than in the 1st group. Analyzing levels of serum anti-ET-IgA and mucosal anti-ET-sIgA can be observed that patients with GD and TED are hyposecretors while patients with GD without TED are normosecretors. Taking into account the obtained data we came to the conclusion that lowered mucosal barrier may cause the development of TED. Weakening of antiendotoxin mucosal barrier can increase ET translocation in portal blood and stimulate of humoral AEI. As show our researches, in reality increase of ET translocation leads to the weakening of humoral response on it.

ГУМОРАЛЬНИЙ АНТИЕНДОТОКСИНОВИЙ ІМУНІТЕТ У ХВОРИХ НА ДИФУЗНИЙ ТОКСИЧНИЙ ЗОБ, УСКЛАДНЕННИЙ ЕНДОКРИННОЮ ОФТАЛЬМОПАТІЄЮ

Ю.Ю. Кулагіна, Н.І. Козлова, М.Е. Малієнко

РЕЗЮМЕ

Метою роботи було вивчення стану гуморального антиендотоксинного імунітету у хворих на дифузний токсичний зіб (ДТЗ) без та з ендокринної офтальмопатії (ЕОП). Кількість антиендотоксинних антитіл класу А, М і G визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу. У якості антигену використовували препарат ендотоксину грамотрицательної Ентеробактерії Escherichia coli K235. Рівні анти-ЕТ-антитіл отображали в умовних одиницях оптичної щільності. Всі хворі були розподілені на 2 клінічні групи. У першу групу увійшло 54 хворих ДТЗ без ЕОП; до другої групи - 33 хворих на ДТЗ з ЕОП. Контрольну групу склали 32 практично здорових осіб. Встановлено, що у всіх хворих на ДТЗ з ЕОП рівень анти-ЕТ-IgA, анти-ЕТ-IgM та анти-ЕТ-IgG був вірогідно вище, ніж у хворих без ЕОП (p<0,01). Крім того, у хворих 1 групи має місце зниження рівня анти-ЕТ-IgM та анти-ЕТ-IgG у порівнянні з нормою. Рівень анти-ЕТ-sIgA у другій групі вірогідно нижче, ніж у першій. Такий дисбаланс антиендотоксинних антитіл у хворих на ДТЗ з ЕОП може сприяти підсиленому впливу ендотоксину на аутоімунне запалення.

Ключевые слова: диффузный токсический зоб, эндокринная офтальмопатия, эндотоксин, антитела.

Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) - аутоиммунное заболевание, характеризующееся отеком и лимфоцитарной инфильтрацией, а в дальнейшем фиброзными изменениями ретробульбарной клетчатки и глазодвигательных мышц. ЭОП является наиболее частой (50-87% случаев) и тяжелой патологией, осложняющей течение болезни Грейвса (БГ) [1,2]. В тяжелых случаях ЭОП является инвалидизирующим заболеванием, снижающим качество жизни пациентов [1].

В связи с высокой значимостью симптомов ЭОП в клинической практике особый интерес приобретает исследование этиопатогенетических механизмов её формирования, среди которых ведущее мес-

то, по мнению ряда исследователей, занимают аутоиммунные нарушения [7, 13]. Между тем, иммунопатологические процессы, протекающие в организме больных ЭОП, остаются недостаточно изученными. Это определяет необходимость их анализа с современных позиций, что позволит оптимизировать терапевтический процесс.

В настоящее время существуют две теории патогенеза ЭОП. Согласно одной из них, в качестве возможного механизма рассматривают перекрестное реагирование антител к щитовидной железе с тканями орбиты глаза, наиболее часто встречающееся при диффузном токсическом зобе (ДТЗ). У больных с ДТЗ и ЭОП отмечается высокий титр антител к

рецептору тиреотропного гормона (ТТГ), который снижается на фоне тиреостатической терапии [3,9]. По мнению других авторов, ЭОП – самостоятельное аутоиммунное заболевание с преимущественным поражением ретробульбарных тканей [10]. При ЭОП выявляются антитела к мембранам глазодвигательных мышц (антитела, стимулирующие рост миобластов) [11, 12], фибробластам и орбитальной клетчатке. Причем антитела к орбитальной клетчатке можно считать маркером ЭОП [3, 13].

Экспрессия аутоантител в мягких тканях орбиты у генетически предрасположенных лиц происходит под влиянием различных триггерных факторов, таких как ретровирусы, бактерии, их токсины, курение, радиация, стресс. По нашему мнению в патогенезе ЭОП при ДТЗ может принимать участие как триггерный фактор эндотоксин (ЭТ) грамотрицательных бактерий кишечника на фоне дисбаланса антиэндотоксинового иммунитета.

ЭТ представляет из себя липополисахарид (ЛПС), который обладает чрезвычайно широким спектром биологических свойств, вектор действия которых (адаптивный или патогенный) определяется концентрацией ЛПС в общей гемодиализации и активностью антиэндотоксинового иммунитета (АЭИ) [12]. Источниками поступления ЭТ в общую гемодиализацию могут быть: сапрофитные и патогенные аэробные и анаэробные грамотрицательные микроорганизмы (бактерии и кокки) кишечника и/или очага воспаления, ингаляционный ЭТ из окружающей среды, домашней пыли [11].

Известно, что ДТЗ сопровождается формированием кишечного дисбактериоза и дисбиоза 4-ой степени у 75% больных [5]. Т.о., создаются условия для усиленной транслокации ЭТ во внутренние среды организма. Под воздействием избытка ЛПС в общем кровотоке активизируется макрофагальная система, которая обуславливает гиперпродукцию цитокинов (в первую очередь TNF- β , IL-1, IL-6), что может быть причиной возникновения «медиаторного хаоса». Цитокины индуцируют образование молекул основного комплекса гистосовместимости II класса, белков теплового шока и адгезивных молекул [11]. Также цитокины стимулируют пролиферацию ретробульбарных фибробластов, выработку коллагена и гликозаминогликанов (ГАГ). ГАГ с белками образуют протеогликаны, способные связывать воду и вызывать отек мягких тканей орбиты. Также ЭТ является классическим поликлональным активатором В-лимфоцитов, что приводит к стимуляции синтеза различных антител, с тем числом и аутоантител при аутоиммунных заболеваниях [13].

Изменения активности гуморальных факторов АЭИ у больных ДТЗ, по нашему мнению, также может способствовать формированию ЭОП и усугублению течения этой болезни. В связи с этим, целью настоящей работы было изучение состояния

гуморального антиэндотоксинового иммунитета у больных ДТЗ, осложненным ЭОП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 87 пациентов ДТЗ (51 женщины и 36 мужчин) в возрасте от 22 до 68 лет и длительностью заболевания от 1 месяца до 10 лет. Все пациенты находились на стационарном лечении в эндокринологическом отделении КРУ клинической больницы им. Н. А. Семашко. Диагноз ДТЗ устанавливали согласно классификации, принятой в Украине [6].

Все пациенты в зависимости от наличия или отсутствия у них ЭОП были разделены на 2 группы: 1 группу составили больные ДТЗ без ЭОП (n=54), 2 группу – больные ДТЗ с ЭОП (n=33). Обследование больных проводили на 2 день пребывания в стационаре.

Материалом исследования служила плазма периферической крови, которую получали при поступлении больного на стационарный этап лечения. Содержание антиэндотоксиновых антител классов А, М и G (соответственно анти-Эт-IgA, анти-Эт-IgM и анти-Эт-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа [4]. В качестве антигена использовали коммерческий препарат эндотоксина грамотрицательной энтеробактерии *Escherichia coli* K235. Уровни анти-Эт-антител выражали в условных единицах оптической плотности конечного продукта ферментативной реакции для разведения тестируемой плазмы крови 1:50.

Для сравнительного анализа полученных результатов изучено состояние антиэндотоксинового иммунитета в группе здоровых доноров (контрольная группа - 32 здоровых донора), соотносимых с больными ДТЗ по полу и возрасту.

Полученные результаты подвергнуты статистической обработке с использованием параметрических и непараметрических критериев программы Medstat (серийный №MS000051) ДНПП ООО «Альфа», г. Донецк.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о влиянии ЭОП на состояние гуморального антиэндотоксинового иммунитета у больных ДТЗ представлены в таблице 1.

Из результатов исследования видно, что у больных ДТЗ с ЭОП уровень Анти-Эт-IgA, Анти-Эт-IgM и Анти-Эт-IgG достоверно выше, чем у больных ДТЗ без ЭОП. Уровень же Анти-Эт-sIgA во 2-ой группе исследуемых достоверно ниже, чем в 1-ой. Также мы видим, что показатели Анти-Эт-IgM и Анти-Эт-IgG у больных без ЭОП достоверно снижены по сравнению с нормой.

Из таблицы видно, что при ЭОП имеет место снижение мукозального АЭИ, что выражается в достоверном снижении секреторного анти-Эт-sIgA. Анализируя уровни сывороточного Анти-Эт-IgA и

мукозального анти-ЭТ-sIgA можно констатировать, что больные ДТЗ с ЭОП являются гипосекретора-

ми, в то время как больные ДТЗ без ЭОП являются нормосекреторами.

Таблица 1.

Содержание антиэндотоксиновых антител в сыворотке крови больных ДТЗ при ЭОП

Показатель	Статистический показатель	Норма n=32	1-ая группа (БГ без ЭОП) n=54	2-ая группа (БГ с ЭОП) n=33
Анти-ЭТ-IgA ед. опт. пл	Me ±m p p ₁	0,127 ±0,046	0,093 ±0,037 =0,07	0,166 ±0,029 =0,07 =0,04 ^w
Анти-ЭТ-IgM ед. опт. пл.	Me ±m p p ₁	0,221 ±0,05	0,08 ±0,02 <0,01	0,221 ±0,05 >0,05 <0,01
Анти-ЭТ-IgG ед. опт. пл	Me ±m p p ₁	0,63 0,14	0,34 0,05 <0,01	0,46 0,03 >0,05 <0,001 ^w
Анти-ЭТ-sIgA ед. опт. пл.	Me ±m p p ₁	0,03 0,009	0,05 0,006 >0,05	0,018 0,001 >0,05 <0,001

Примечание: p- достоверность различий с уровнем здоровых доноров.

p₁- достоверность различий с уровнем больных 2-ой группы.

^w – критерий Вилкоксона для двух несвязанных выборок.

Мы видим, что ЭОП развивается при ДТЗ на фоне сниженного мукозального барьера на пути ЭТ во внутреннюю среду организма. Ослабление анти-эндотоксинового мукозального барьера при ЭОП потенциально может приводить к усилению транслокации ЭТ в портальную кровь и стимуляции гуморального АЭИ. В реальности, как показали наши исследования, усиление транслокации ЭТ при ЭОП приводит к слабому гуморальному ответу, что выражается в «нормальности» уровней Анти-ЭТ-IgA, Анти-ЭТ-IgM и Анти-ЭТ-IgG у данной категории больных.

Таким образом, неадекватность гуморального АЭИ при ЭОП потенцировать его чрезмерное воздействие на клеточные структуры с усилением продукции провоспалительных цитокинов и аутоантител.

ВЫВОДЫ

1. У больных ДТЗ с ЭОП уровень Анти-ЭТ-IgA, Анти-ЭТ-IgM и Анти-ЭТ-IgG достоверно выше, чем у больных ДТЗ без ЭОП, но не выходит за пределы нормы.

2. Уровень Анти-ЭТ-sIgA у больных ДТЗ с ЭОП достоверно ниже, чем у больных без ЭОП.

3. Снижение специфического мукозального антиэндотоксинового иммунитета у больных ДТЗ, осложнённым ЭОП, может способствовать усилению влияния ЭТ на аутоиммунное воспаление и должно

приниматься во внимание для разработки новых подходов к вторичной профилактике этого заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

- Бровкина А.Ф., Павлова Т.Л. /Эндокринная офтальмопатия с позиции офтальмолога и эндокринолога //-2011.
- Гринченко Т. С. // Здоровье Украины. – 2003. - №74. – С. 9 -12.
- Гордиенко А. И. /Новый подход к повышению специфичности определения антител к липополисахаридам грамотрицательных бактерий методом твердофазного иммуноферментного анализа // Укр. біохім. журн.- 2004.-76, №6.-С.130-135.
- Маковійчук А.А. Видовий склад та популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки у хворих на дифузний токсичний зоб // Буковинський медичний вісник.-2002.-Т.6, №3.-С.61-65.
- Мостовой Ю.М. / Современные классификации и стандарты лечения распространённых заболеваний внутренних органов.- Винница. 2008- 451.
- Олійник В. А. /Патологія щитовидної залози в Україні (епідеміологія та регіональні особливості) Журнал практичного лікаря. 2001, №2, 5-7.
- Рябиченко Е.В., Веткова Л.Г. /Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных эндотоксинов // Журнал микробиологии.- 2004.- №3.- С.98-101.

8. Фадеев В.В., Мельниченко Г. А. К обсуждению классификации заболеваний щитовидной железы // Клин. тиреоидология. – 2003. – Т. 1, №4. – С.52-58.

9. Яковлев М.Ю. /Кишечный липополисахарид: системная эндотоксинемия – эндотоксиновая агрессия – SIR – синдром и полиорганная недостаточность, как звенья одной цепи // Бюлл. ВНЦ РАМН. –

2005. –№ 1. – С. 15-18.

10. Яковлев М.Ю. /Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека // Физиология человека. – 2003. – Т. 29. – № 4. – С. 98-109.

11. Advances in Thyroid Eye Disease. International Satellite Symposium of 25 Annual Meeting of the Thyroid Association. Thyroid 1998; 8: 40771