

Исследование концентрации иммунорегуляторных цитокинов сыворотки при аутоиммунных тиреопатиях

И.В.Иоффе, Е.П.Храброва, Е.А.Ляшенко

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»
Луганск, Украина

Произведено исследование концентрации гамма-интерферона, альфа-интерферона, интерлейкина-1 β , интерлейкина-6, интерлейкина-8, фактора некроза опухоли-альфа сыворотки крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы – хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом. Отмечено снижение концентрации интерлейкина-1 β , повышение концентрации всех остальных указанных цитокинов в сыворотке крови исследуемых пациентов, более выраженное у больных с хроническим аутоиммунным тиреоидитом. Повышение концентрации альфа-интерферона было более выражено у больных с диффузным токсическим зобом.

Ключевые слова: цитокины, сыворотка, хронический аутоиммунный тиреоидит, диффузный токсический зоб.

ВВЕДЕНИЕ

Тема аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (АЗЩЖ) является одной из актуальных проблем современной эндокринологии. К классическим АЗЩЖ относят тиреоидит Хашимото (хронический аутоиммунный тиреоидит – ХАИТ) и диффузный токсический зоб (ДТЗ). Патогенез данных заболеваний тесно связан с нарушениями иммунной системы [4, 5, 8].

Одна из ключевых, в том числе и регуляторных, ролей в иммунном ответе отводится системе цитокинов [6, 12]. Участие цитокинов в аутоиммунных реакциях несомненно, так как презентация антигена антиген-презентирующей клеткой, функции Т- и В-лимфоци-

тов обязательно сопровождаются продукцией различных цитокинов, определенным образом влияющих на окружение клетки-мишени [1, 2, 3, 9, 10, 14, 15]. Однако роль и место цитокинов в развитии аутоиммунной патологии щитовидной железы (ЩЖ) полностью не выяснены [1, 6, 7, 11, 13].

Целью было явилось исследование содержания гамма-интерферона (γ -ИНФ), альфа-интерферона (α -ИНФ), интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) сыворотки крови у больных с ХАИТ и ДТЗ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу работы положен анализ результатов исследования концентрации цитокинов сыворотки периферической крови 86 пациентов с АЗЩЖ, которые проходили лечение в эндокринологическом отделении Луганской городской больницы №5 и терапевтическом отделении городской больницы г. Счастье Луганской области в период с 2008 по 2010 г. Из числа данных пациентов 48 больных (6 мужчин и 42 женщины) в возрасте от 31 до 76 лет ($55,1 \pm 2,2$) имели диагноз: ХАИТ, манифестный гипотиреоз; 38 больных (5 мужчин и 33 женщин) в возрасте от 17 до 56 лет ($33,8 \pm 2,7$) имели диагноз: ДТЗ, манифестный тиреотоксикоз. Диагноз ДТЗ устанавливался на основании симптомов тиреотоксикоза, высокой концентрации тиреоидных гормонов (T_3 и T_4), снижения ТТГ, диффузного увеличения ЩЖ, наличия в сыворотке крови антитиреоидных аутоантител. Продолжительность заболевания ДТЗ составляла 2-5 мес., все пациенты с ДТЗ были обследованы в начале заболевания до назначения тиреостатической терапии. Диагноз ХАИТ, ма-

нифестного гипотиреоза устанавливался на основании повышенного уровня ТТГ, снижения уровня свободного T_4 , повышения титра антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО), ультразвукового исследования и пункционной биопсии ЩЖ, которая выявляла ее лимфоидную и плазмноклеточную инфильтрацию. Средняя продолжительность заболевания ХАИТ составила $6,1 \pm 2,6$ года. Пациенты были обследованы до начала заместительной терапии. Критериями исключения больных из исследования служили: наличие других аутоиммунных заболеваний, а также сопутствующих заболеваний, требующих параллельного лечения, беременность, лактация, узловые образования в ЩЖ по данным сонографии.

С целью создания собственных нормативных показателей обследовано 38 практически здоровых доноров (5 мужчин, 33 женщины) в возрасте от 20 до 50 лет (средний возраст $32,4 \pm 1,2$ года), которые составили контрольную группу — референтная норма. У них отсутствовала патология ЩЖ, которая исключалась на основании анамнестических и клинических данных, а также лабораторных показателей ее функционального состояния (концентрация ТТГ, свободного T_3 , свободного T_4 в сыворотке крови в пределах нормативных значений) и ультразвукового исследования ЩЖ (патологии не выявлено). Кроме того, они не имели хронических или рецидивирующих заболеваний, в том числе инфекционного, аутоиммунного, аллергического, опухолевого генеза; частота ОРЗ, по данным анамнеза, составляла не более двух раз в году, причем последнее заболевание — не позднее чем за 3 месяца до исследования. Отклонений в функции других органов и систем у здоровых доноров выявлено не было, проживали они в том же регионе — город Луганск и Луганская область, что и обследуемые пациенты.

Определение концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФ- γ , ИНФ- α , ФНО- α проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа наборами реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, РФ). Основными реагентами наборов являлись моноклональные антитела к ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФ- γ , ИНФ- α , ФНО- α , сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета. Концентрацию цитокинов выражали в пг/мл.

Для обработки полученных данных использовались методы статистической обработки вариационной статистики (С.Гланц, 1988). Определялись средние величины (M), ошибки средних арифметических (m). Так как боль-

шинство исследуемых показателей имеют несимметричное распределение, проводился интерквартильный анализ с вычислением медиан (Med), квартилей (25-75%), минимального и максимального значений. Различия иммунологических показателей в сравниваемых независимых группах определялись по непараметрическому критерию Краскала-Уоллеса, который позволяет использовать при необходимости процедуры множественного сравнения. Другой непараметрический критерий — Уилкоксона — применяли для связанных выборок. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Все математические операции и графические построения проведены на IBM/PC с использованием программ «Excell», «Word», «Access». Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью пакета прикладных программ «Statistica for Windows и Microsoft Excel».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У больных с АЗЩЖ отмечалось значительное повышение уровня γ -ИНФ сыворотки, данный цитокин предлагается нами как маркер активности иммунопатологического процесса в ЩЖ. У больных с ДТЗ γ -ИНФ сыворотки составил $4,13 (0,35-24,68)$ пг/мл, что почти в 10 раз больше γ -ИНФ в контрольной группе — $0,42 (0,29-0,49)$ пг/мл ($p=0,03$). У больных с ХАИТ γ -ИНФ еще выше, составил $15,06 (11,66-18,67)$ пг/мл, что в 35,9 раза выше значения в контрольной группе ($p=0,004$). γ -ИНФ является одним из основных провоспалительных цитокинов, который активизирует макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, естественные киллеры (НК-клетки). Это воздействие вызывает фагоцитарные и цитотоксические реакции в зоне воспалительного очага. Образующийся в результате взаимодействия Т-лимфоцитов и НК-клеток γ -ИНФ способствует экспрессии генов I и II класса HLA-системы на поверхности тироцитов, создавая «порочный круг» или постоянно действующий и самоподдерживающийся аутоиммунный процесс [3, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

Также отмечалось значительное повышение уровня α -ИНФ. У больных с ДТЗ уровень α -ИНФ сыворотки был в 7,4 раза выше, чем в контрольной группе ($p=0,005$): у больных с ДТЗ — $9,66 (6,18-17,21)$ пг/мл, в контрольной группе — $1,31 (0,00-2,64)$ пг/мл. У больных с ХАИТ α -ИНФ был повышен в 5,6 раза ($p=0,004$) и составил $7,35 (0,08-12,04)$ пг/мл.

ТАБЛИЦА 1

Содержание цитокинов сыворотки у больных с АЗЩЖ Ме (25%-75%)

Показатели	Контрольная группа, n=38	Больные с ХАИТ, n=48	Больные с ДТЗ, n=38
γ-ИНФ, пг/мл	0,42 (0,29-0,49)	15,06 (11,66-18,67) p<0,001	4,13 (0,35-24,68) p=0,003
α-ИНФ, пг/мл	1,31 (0,00-2,64)	7,35 (0,08-12,04) p=0,004	9,66 (6,18-17,21) p=0,005
ИЛ-1β, пг/мл	43,48 (39,25-45,54)	12,79 (10,62-17,34) p<0,001	25,58 (19,50-41,44) p=0,04
ИЛ-6, пг/мл	0,94 (0,32-1,60)	1,45 (1,06-2,04) p=0,025	1,44 (0,39-2,06) p=0,044
ИЛ-8, пг/мл	17,95 (16,64-35,15)	78,98 (19,89-124,30) p=0,004	33,45 (27,98-58,62) p=0,036
ФНО-α, пг/мл	1,35 (1,11-1,59)	6,63 (5,51-7,75) p=0,001	10,83 (10,33-11,48) p<0,001

Примечание: p – достоверность различий с контрольной группой.

α-ИНФ представляет собой смесь нескольких белков, которые активируют НК-клетки, усиливают пролиферацию В-клеток, а также обладают другими провоспалительными эффектами [4, 9, 12].

Интерлейкин-1β (ИЛ-1β, катаболин, лимфоцит-активирующий фактор) – важный многофункциональный медиатор воспаления, у больных с ДТЗ был снижен в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой (p=0,04), составил 25,58 (19,50-41,45) пг/мл у больных с ДТЗ при 43,48 (39,25-45,54) пг/мл в контрольной группе. У больных с ХАИТ сывороточный ИЛ-1β был понижен в 3,4 раза (p<0,001) по сравнению с контрольной группой до величины 12,79 (10,62-17,34) пг/мл, что было в 2 раза меньше, чем у больных с ДТЗ (p<0,001).

Интерлейкин-6 (ИЛ-6) секретируется Т-лимфоцитами и макрофагами, предшествует другим цитокинам при повреждении тканей, является одновременно про- и противовоспалительным цитокином [3, 12]. У больных с АЗЩЖ ИЛ-6 также был повышен приблизительно в 1,5 раза и составил 1,45 (1,06-2,04) пг/мл у больных с ХАИТ, 1,44 (0,39-2,06) пг/мл – у больных с ДТЗ, 0,94 (0,32-1,60) пг/мл в контрольной группе.

Интерлейкин-8 (ИЛ-8) является хемокином, который секретируется макрофагами, эндотелием сосудов, эпителиальными клетками и, возможно, тироцитами. ИЛ-8 обеспечивает хемотаксис к клетке-мишени нейтрофильных и других гранулоцитов, индуцирует фагоцитоз [4, 9, 10, 12]. У больных с ДТЗ отмечалось повышение концентрации ИЛ-8 сыворотки в 1,86 раза по сравнению с контрольной группой (p=0,036), у больных с ХАИТ – в 4,4 раза по сравнению с контрольной группой (p=0,004)

(табл. 1).

Концентрация ФНО-α в сыворотке крови была выше контрольных значений показателя у больных с ДТЗ приблизительно в 5 раз (p<0,01), при ХАИТ – в 8 раз (p<0,001) относительно нормы. Причем у больных с ХАИТ концентрация ФНО-α сыворотки была на 63,7% выше, чем у пациентов с ДТЗ (p<0,05) (табл. 1).

ВЫВОДЫ

1. Концентрация ИЛ-1β у больных с диффузным токсическим зобом была снижена в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой, у больных с хроническим аутоиммунным тиреоидитом – в 3,4 раза (p<0,001) по сравнению с контрольной группой.

2. Концентрация остальных исследуемых цитокинов сыворотки (γ-ИНФ, α-ИНФ, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α) была статистически достоверно повышена у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы, что отражало наличие аутоиммунного воспалительного процесса.

3. Повышение всех названных цитокинов, кроме α-ИНФ, было более выражено у больных с хроническим аутоиммунным тиреоидитом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Благосклонная Я.В. Туморнекротизирующий фактор-альфа в сыворотке крови и его связь с возрастными особенностями клинического течения болезни Грейвса / Я.В.Благосклонная, А.Ю.Бабенко, С.А.Кетлинский [и др.] // Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2, №3. – С. 345-350.
2. Благосклонная Я.В. Содержание фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина-1 в сыворотке крови пациентов при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы // Украинский журнал клинической та лабораторной медицины. – 2013, том 8, №2

- товидной железы / Я.В.Благосклонная, С.А.Кетлинский, Е.И.Красильникова [и др.] // Проблемы эндокринологии. — 1998. — №3. — С. 22-24.
3. Глазанова Т.В. Продукция некоторых цитокинов у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы / Т.В.Глазанова, Л.Н.Бубнова, Е.М.Трунин // Проблемы эндокринологии. — 2005. — №3. — С. 29-32.
 4. Зуева А.А. Особенности клеточного и гуморально-го иммунитета у больных диффузным токсическим зобом / А.А.Зуева, Н.Н.Цыбиков, Е.Б.Жигжитова // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: мат. Всерос. науч.-практ. конф., посвященной 55-летию ЧГМА (1-2окт., 2008 г.). — Чита, 2008. — С. 15-16.
 5. Зуева А.А. Применение иммуномодулятора полиоксидония у больных диффузным токсическим зобом / А.А.Зуева, Н.Н.Цыбиков, Е.Б.Жигжитова // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири: мат. VII науч.-практ. конф. молодых ученых. — Красноярск, 2009. — С. 21-22.
 6. Исаева М.А. Аутоантитела различных уровней специфичности и функциональности в патогенезе и диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / М.А.Исаева, З.И.Богатырева // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2007. — Т. 3, №4. — С. 27-34.
 7. Кадричева С.Г. Показатели иммунного статуса у женщин, больных аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы / С.Г.Кадричева, В.П.Мацынина, С.В.Белоусова [и др.] // Медицинская иммунология. — 2005. — Т. 7, №2-3. — С. 140-141.
 8. Лазанович В.В. Показатели цитокинового статуса, тиреоидных аутоантител и их динамические изменения на фоне лечения болезни Грейвса / В.В.Лазанович, Е.В.Маркелова // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2008. — Т. 4, №3. — С. 28-35.
 9. Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы / И.С.Фрейдлин, А.А.Тогоян. — СПб.: Наука, 2001. — 390 с.
 10. Уразова О.И. Апоптоз нейтрофилов и иммунорегуляторные цитокины при аутоиммунных тиреопатиях // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2007. — Т. 3, №4. — С. 49-53.
 11. Hamilton F. Spatial correlation between thyroid epithelial cells expressing class II MHC molecules and interferon-gamma-containing lymphocytes in human thyroid autoimmune disease / F.Hamilton, M.Black, M.A.Farquharson et al. // Clin. Exp. Immunol. — 1991. — Vol. 83, №1. — P. 64-68.
 12. Hidaka Y. Organ-specific autoimmune diseases and cytokines / Y.Hidaka, N.Amino // Rinsho. Byori. — 1999. — Vol. 47. — P. 335-339.
 13. Kocjan T. Changes in Th1/Th2 cytokine balance in Graves' disease / T.Kocjan, B.Wraber, U.Repnik, S.Hojker // Pflugers. Arch. — 2000. — Vol. 440 (Suppl.15). — P. 94-95.
 14. Volpe R. Autoimmune diseases of the endocrine system / R.Volpe // CRC. Boca Raton. — 1990. — 364 p.
 15. Volpe R. Evidence that the immunosuppressive effects of antithyroid drugs are mediated through actions on the thyroid cell, modulating thyrocyte-immunocyte signaling: a review / R.Volpe // Thyroid. — 1994. — Vol. 4. — P. 217-223.
- І.В.Іоффе, О.П.Храброва, Є.О.Ляшенко.**
Дослідження концентрації імунорегуляторних цитокінів сироватки при аутоімунних тиреопатіях. Луганськ, Україна.
- Ключові слова:** цитокіни, сироватка, хронічний аутоімунний тиреоїдит, дифузний токсичний зоб.
- Досліджено концентрацію гамма-інтерферону, альфа-інтерферону, інтерлейкіну-1 β , інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-8, фактора некрозу пухлини-альфа сироватки крові хворих з аутоімунними захворюваннями щитовидної залози — хронічним аутоімунним тиреоїдитом і дифузним токсичним зобом. Відзначено зниження концентрації інтерлейкіну-1 β , підвищення концентрації всіх інших зазначених цитокінів у сироватці крові досліджуваних пацієнтів, більш виражене у хворих на хронічний аутоімунний тиреоїдит. Підвищення концентрації альфа-інтерферону було більш виражене у хворих з дифузним токсичним зобом.
- I.V.Ioffe, E.P.Hrabrova, Ye.A.Lyashenko.**
The investigation of immunoregulatory cytokines serum concentration in autoimmune thyropathies. Lugansk, Ukraine.
- Key words:** cytokines, serum, chronic autoimmune thyroiditis, diffuse toxic goiter.
- The serum concentration of gamma-interferon, interferon-alpha, interleukin-1 β , interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor-alpha of patients with autoimmune thyroid diseases: chronic autoimmune thyroiditis and diffuse toxic goiter was investigated. Decreased concentration of interleukin-1 β , increased concentrations of all these other cytokines in the serum of patients were studied, more pronounced in patients with chronic autoimmune thyroiditis. A higher concentration of interferon-alpha was recorded in patients with diffuse toxic goiter.

Надійшла до редакції 21.01.2013 р.