

Содержание иммунорегуляторных белков и цитокинов в крови при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы

Д.м.н. Т.П. МАКЛАКОВА, д.б.н. В.Н. ЗОРИНА*, Т.Т. ШЕПЕЛЬ, О.Н. БОЙКО, д.б.н. Р.М. ЗОРИНА, проф., д.б.н. Н.А. ЗОРИН

ГБОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей» Минздрава России

Исследовано содержание ТТГ, свободного Т4 (свТ4), иммунорегуляторных белков [альфа-2-макроглобулин (α 2-МГ), лактоферрин (ЛФ), альфа-1-антитрипсин (α 1-АТ)] и цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6, ИФН- γ) в крови 50 женщин с диффузным токсическим зобом (ДТЗ) и 35 женщин с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) до и через 4—6 мес после лечения, а также у 30 здоровых женщин. При гипотиреозе в исходе АИТ выявлена гиперцитокинемия с повышенным содержанием α 2-МГ, ЛФ, но не α 1-АТ. Лечение не влияло на эти показатели, но нормализовало содержание ТТГ, Т4. При манифестном ДТЗ были повышены уровни ИФН- γ и ИЛ-6, α 2-МГ, ЛФ и α 1-АТ. Лечение в течение 4—6 мес снижало уровень ИЛ-6, α 2-МГ и нормализовало гормональный фон. Сохранение ряда нарушений свидетельствует о сохранении дисфункции иммунной системы после нормализации гормонального статуса и может рассматриваться как фактор риска рецидива заболеваний щитовидной железы.

Ключевые слова: болезнь Грейвса, аутоиммунный тиреоидит, альфа-2-макроглобулин, лактоферрин, цитокины.

The levels of immunoreactive proteins and cytokines in the blood of the patients presenting with autoimmune thyroid diseases

T.P. MAKLAKOVA, V.N. ZORINA, T.T. SHAPEL', O.N. BOIKO, R.M. ZORINA, N.A. ZORIN

State educational institution of additional professional education «Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Training», Russian Ministry of Health

We determined the levels of TSH, free T4 (fT4), immunoregulatory proteins (alpha-2-macroglobulin (α 2-MG), lactoferrin (LF), alpha-1-antitrypsin (α 1-AT), and cytokines (TNF-alpha, IL-6, IFN-gamma) in the blood of 50 women presenting with diffuse toxic goiter (DTG) and 35 women with autoimmune thyroiditis (AIT) before and 4—6 months after the treatment. Thirty healthy women served as controls. Hypothyroidism in the outcome of AIT was associated with hypercytokinemia and the enhanced levels of α 2-MG and LF, but not α 1-AT. The treatment had no effect on these parameters but normalized the TSH and T4 levels. Manifest DTG was associated with the increased IFN-gamma, IL-6, α 2-MG, LF, and α 1-AT levels. The treatment during 4—6 months resulted in the reduction of the IL-6 and α 2-MG levels whereas the hormonal status of the patients became normal. The persistence of certain disturbances suggested that dysfunction of the immune system was not totally corrected despite the normalization of the hormonal status and could be interpreted as the risk factor of a relapse of thyroid pathology.

Key words: Graves' disease, autoimmune thyroiditis, alpha-2-macroglobulin, lactoferrin, cytokine.

Аутоиммунные заболевания щитовидной железы широко распространены в популяции (до 5%). Среди них чаще всего встречаются аутоиммунный тиреоидит (АИТ) и диффузный токсический зоб (ДТЗ) [1]. ДТЗ и АИТ имеют общую аутоиммунную основу, но их клиническое течение существенно различается и зависит от спектра аутоиммунных реакций. Например, у пациентов с ДТЗ преобладают антитела, стимулирующие рецептор ТТГ (рТТГ), а при АИТ — блокирующие рТТГ и цитотоксичные [2]. Деструкция клеток железы при аутоиммунной патологии обусловлена взаимодействием генетических и средовых факторов [3]. Важным триггерным фактором считается дисфункция иммунорегуляторных механизмов и дисбаланс синтеза цитокинов [1]. В этой связи интерес представляет изучение имму-

норегуляторных белков в физиологических, а также в воспалительных процессах, контролирующих клеточную пролиферацию и апоптоз. К ним относятся альфа-2-макроглобулин (α 2-МГ), лактоферрин (ЛФ) и (в несколько меньшей степени) альфа-1-антитрипсин (α 1-АТ) [4, 5]. Кроме того, α 2-МГ и ЛФ потенциально иммуногенны; концентрация их комплексов с IgG повышается при воспалительных и особенно аутоиммунных заболеваниях [6]. В литературе практически отсутствуют данные о роли таких белков в формировании аутоиммунных тиреопатий, а также о взаимосвязи их уровней с содержанием различных цитокинов при данной патологии.

Цель настоящей работы — изучение содержания цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6 и ИФН- γ , а также α 2-МГ, α 1-АТ и ЛФ в крови больных ДТЗ и АИТ в ста-

дии декомпенсации и после достижения компенсации.

Материал и методы

Содержание $\alpha 2$ -МГ, ЛФ, $\alpha 1$ -АТ, ФНО- α , ИЛ-6, ИФН- γ , а также ТТГ и свТ4 определяли в сыворотке практически здоровых женщин (контроль) и женщин с ДТЗ и АИТ.

Группа ДТЗ состояла из 50 пациенток (в возрасте $42,7 \pm 2,8$ года) эндокринологического отделения. У 60% женщин ДТЗ был выявлен впервые и у 40% имел место рецидив заболевания. Диагноз основывался на характерной клинической картине, лабораторных показателях и данных УЗИ. Из исследования исключались женщины с подострым, амиодарониндуцированным тиреоидитом и узловыми новообразованиями в щитовидной железе. Исследование проводилось на этапе манифестного заболевания и через 4–6 мес — на фоне достижения эутиреоидного состояния тиреостатическими препаратами. Терапия начиналась с назначения тиамазола в дозе 20–30 мг/сут с постепенным снижением дозы до поддерживающей — 10 мг/сут.

Группа АИТ включала 35 женщин (возраст $39,8 \pm 3,6$ года). Диагноз устанавливался на основании «больших симптомов» заболевания в соответствии с клиническими рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению аутоиммунного тиреоидита взрослых (2002). Из исследования исключались женщины с послеоперационным гипотиреозом, сопутствующими острыми и обострением хронических воспали-

тельных заболеваний, аллергическими состояниями. Пациенток с АИТ обследовали на фоне гипотиреоза (до назначения левотироксина натрия) и через 4–6 мес на фоне компенсации гипотиреоза.

Контрольная группа состояла из 30 здоровых женщин сопоставимого возраста, отобранных во время плановых профосмотров. Все участницы исследования подписывали информированное согласие. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ГБОУ ДПО НГИУВ МЗ РФ.

Концентрацию $\alpha 2$ -МГ и $\alpha 1$ -АТ определяли методом количественного низковольтного иммуноэлектрофореза в пластинах агарозного геля [7], с использованием моноспецифических поликлональных антител к белкам, полученных на базе НИЛ иммунологии. Уровень ЛФ, а также ФНО- α , ИЛ-6, ИФН- γ и гормонов ТТГ и свТ4 исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи тест-систем ЗАО «Вектор-Бест».

Для статистической обработки полученных данных применяли программу InStat 2.0 («Graph Pad», США).

Результаты и обсуждение

При первичном обследовании пациенток с аутоиммунными тиреопатиями клинические проявления гормональных нарушений регистрировались на фоне изменений уровня ТТГ и свТ4 (см. таблицу). Через 4–6 мес после начала лечения у пациенток как с ДТЗ, так и с гипотиреозом (АИТ) уровень ТТГ и свТ4 нормализовался.

Концентрации иммунорегуляторных белков, про- и противовоспалительных цитокинов в крови больных ДТЗ и АИТ

Показатель	Контроль	ДТЗ		АИТ	
		декомпенсация	компенсация	декомпенсированный гипотиреоз	компенсированный гипотиреоз
ТТГ, мЕд/л	$1,37 \pm 0,16$	$0,03 \pm 0,01$ $p_1 < 0,0001$	$2,67 \pm 0,71$ $p_2 = 0,0002$	$15,73 \pm 2,15$ $p_1 < 0,0001; p_3 < 0,0001$	$1,74 \pm 0,26$ $p_2 < 0,0001$
свТ4, нмоль/л	$16,38 \pm 0,71$	$59,08 \pm 6,18$ $p_1 < 0,0001$	$14,67 \pm 1,40$ $p_2 < 0,0001$	$8,48 \pm 1,50$ $p_1 < 0,0001; p_3 < 0,0001$	$17,82 \pm 0,76$ $p_2 < 0,0001; p_3 = 0,0426$
$\alpha 2$ -МГ, г/л	$1,89 \pm 0,06$	$2,85 \pm 0,10$ $p_1 < 0,0001$	$2,37 \pm 0,10$ $p_1 < 0,0001; p_2 = 0,0015$	$2,81 \pm 0,19$ $p_1 < 0,0001$	$2,57 \pm 0,10$ $p_1 < 0,0001$
ЛФ, мг/л	$1,06 \pm 0,07$	$1,71 \pm 0,12$ $p_1 < 0,0001$	$1,88 \pm 0,15$ $p_1 < 0,0001$	$1,44 \pm 0,17$ $p_1 = 0,0286$	$1,49 \pm 0,10$ $p_1 = 0,0011; p_3 = 0,0315$
$\alpha 1$ -АТ, мг/л	$2,13 \pm 0,06$	$2,57 \pm 0,15$ $p_1 = 0,0034$	$2,51 \pm 0,23$ $p_1 = 0,0235$	$2,44 \pm 0,19$	$2,26 \pm 0,10$
ФНО- α , пг/мл	$0,9 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,2$ $p_1 = 0,0004; p_2 = 0,0009$	$2,5 \pm 0,4$ $p_1 < 0,0001; p_3 = 0,0001$	$2,2 \pm 0,3$ $p_1 = 0,0002$
ИЛ-6, пг/мл	$0,5 \pm 0,1$	$9,4 \pm 0,9$ $p_1 < 0,0001$	$3,0 \pm 0,8$ $p_1 = 0,0015; p_2 < 0,0001$	$11,0 \pm 1,1$ $p_1 < 0,0001$	$8,9 \pm 1,5$ $p_1 < 0,0001; p_3 = 0,0010$
ИФН- γ , пг/мл	$1,8 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,7$ $p_1 < 0,0012$	$3,4 \pm 0,8$ $p_1 = 0,0394$	$14,7 \pm 2,4$ $p_1 < 0,0001; p_3 < 0,0001$	$11,8 \pm 1,7$ $p_1 < 0,0001; p_3 < 0,0001$

Примечание. p_1 — достоверность различий от контроля; p_2 — разница показателей до и после лечения, p_3 — разница между АИТ и ДТЗ в соответствующей стадии.

Концентрации $\alpha 2$ -МГ в сыворотке до лечения в стадии декомпенсации были повышены как при ДТЗ, так и при АИТ (в среднем в 1,5 раза). На фоне лечения его уровни статистически значимо снижались при ДТЗ и были несколько ниже, чем до лечения при АИТ, хотя оставались значимо выше, чем в контроле. Содержание ЛФ было достоверно повышено при АИТ (в 1,3 раза), при ДТЗ (в 1,6 раза); лечение не оказывало существенного влияния на его уровень в крови. Концентрации $\alpha 1$ -АТ достоверно не различались от контроля при АИТ и были повышены при ДТЗ как до, так и после лечения.

Уровень провоспалительного цитокина ФНО- α был несколько выше, чем в контрольной группе, при ДТЗ и АИТ в стадии декомпенсации, хотя не выходил за пределы референсных значений (5 мкг/л) и практически не изменялся после лечения. Концентрации ИЛ-6 были значительно повышены при ДТЗ и АИТ до лечения (в 18–22 раза). После лечения при ДТЗ они снижались почти в 3 раза, а при АИТ — только на 20%. Содержание ИФН- γ при ДТЗ было повышенным в 2,5 раза и имело тенденцию к снижению после лечения. Напротив, при АИТ в стадии декомпенсации уровни ИФН- γ были выше контроля в среднем в 8 раз и практически не снижались на фоне лечения.

Аутоиммунные заболевания щитовидной железы сопровождаются ее инфильтрацией лимфоцитами и другими клетками, синтезом различных аутоантител, деструкцией и апоптозом тимоцитов [1]. Цитотоксический эффект в щитовидной железе в значительной степени опосредован Тх-1 лимфоцитами, активно продуцирующими ФНО- α и особенно ИФН- γ [3]. Избыток ИФН- γ индуцирует экспрессию МНС-II, синтез хемокинов и экспрессию молекул адгезии, способствует экспансии Т- и В-лимфоцитов и макрофагов в тимус, поддерживает развитие воспалительной реакции, развитие аутоиммунных процессов и стимулирует апоптоз тимоцитов [1]. Несколько меньший вклад в патогенез вносят такие индукторы воспаления и аутоиммунных процессов, как ФНО- α и ИЛ-6. Предполагают, что именно гиперсинтез провоспалительных цитокинов в ответ на инфекционные агенты является одним из триггерных механизмов аутоиммунной патологии щитовидной железы [1]. В этой связи крайне показателен тот факт, что мы не наблюдали полной нормализации уровней ИФН- γ , ФНО- α и ИЛ-6 в крови ни при ДТЗ, ни при АИТ, несмотря на клинический эффект лечения. Иными словами, лечение в течение 4–6 мес не оказывает выраженного воздействия на причины патологических процессов, лишь купируя их последствия.

Одной из причин этого может быть дисрегуляция синтеза и функционирования полифункциональных иммунорегуляторных белков. В частности, $\alpha 2$ -МГ является ингибитором протеиназы, высво-

бождающихся при воспалении, транспортером гормонов и цитокинов, участвует в распознавании и презентации инфекционных антигенов, регуляции пролиферации и апоптоза, ремоделировании тканей [4]. ЛФ также обладает выраженными антибактериальными и противовирусными свойствами, регулирует синтез цитокинов, является высокочувствительным маркером воспаления [5]. Избыток цитокинов (особенно ИЛ-6 для $\alpha 2$ -МГ и хемокина ИЛ-8 для ЛФ) активирует синтез этих белков. При этом выраженное воспаление приводит к окислению молекул $\alpha 2$ -МГ и их накоплению в циркуляции, что наблюдалось в рамках нашего исследования. Подобные дефектные формы обладают измененным сродством к рецепторам и транспортируемым цитокинам [8]. На эти молекулы синтезируется аутоантитела [6], и не подлежит сомнению, что накопление $\alpha 2$ -МГ при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы (в норме $\alpha 2$ -МГ — негативный реактант воспаления) за счет дефектных форм крайне негативным образом сказывается на всех физиологических и патологических процессах, контролируемых данным белком, включая стимуляцию синтеза цитокинов. Можно предположить, что чем выше содержание $\alpha 2$ -МГ при АИТ и ДТЗ и чем медленнее их нормализация при лечении, тем выше вероятность рецидивирования процессов. Аналогичная ситуация с ЛФ: направленность его воздействия на синтез цитокинов регулируется балансом свободных и связанных с железом форм ЛФ [5]. Поскольку при аутоиммунной патологии щитовидной железы наблюдается дефицит железа [9], избыток ЛФ в крови не способствует улучшению ситуации, а напротив, поддерживает развитие воспалительных и аутоиммунных процессов. Соответственно отсутствие снижения его концентраций в сыворотке на фоне лечения, особенно при повышенном содержании цитокинов, свидетельствует о негативном прогнозе и высоком риске рецидивирования в ближайшей перспективе. В отличие от $\alpha 2$ -МГ $\alpha 1$ -АТ при ДТЗ и АИТ ведут себя как классический поздний позитивный реактант воспаления, медленно выводящийся из циркуляции, поэтому отсутствие нормализации данного показателя в крови после лечения неинформативно.

В целом при АИТ и ДТЗ наблюдаются сходные по направленности, но несколько различающиеся по выраженности изменения содержания иммунорегуляторных белков и цитокинов в крови, что способствует прогрессии заболевания и обуславливает его хроническое течение, несмотря на купирование симптомов и гормональных сдвигов.

Выводы

1. При гипотиреозе в исходе АИТ выявлена выраженная гиперцитокинемия, сопровождаемая по-

вышенным содержанием иммунорегуляторных $\alpha 2$ -МГ, ЛФ, но не $\alpha 1$ -АТ в крови. Лечение в течение 4–6 мес практически не влияет на данные показатели, несмотря на нормализацию содержания ТТГ и свТ4, а также купирование клинических проявлений.

2. При манифестации ДТЗ содержание в крови ФНО- α не отличается от нормы, при этом повышение уровня ИФН- γ и ИЛ-6 выражено несколько меньше, чем при АИТ, также повышен уровень $\alpha 2$ -МГ, отмечается более высокий уровень ЛФ, повышено содержание $\alpha 1$ -АТ. Лечение снижает уровень ИЛ-6, $\alpha 2$ -МГ и нормализует гормональный фон.

3. Высокий уровень $\alpha 2$ -МГ и ЛФ на фоне повышенного содержания ИФН- γ , ИЛ-6 и ФНО- α до лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и особенно на его фоне (после достижения эутиреоидного состояния) свидетельствует о сохранении

дисфункции иммунной системы и может рассцениваться как фактор риска рецидивирования этих заболеваний.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Т.П. Маклакова, Н.А. Зорин

Сбор и обработка материала — Т.Т. Шепель, О.Н. Бойко

Статистическая обработка данных — В.Н. Зорина, Р.М. Зорина

Написание текста — Т.П. Маклакова, В.Н. Зорина, Р.М. Зорина

Редактирование — Н.А. Зорин

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ganesh BB, Bhattacharya P, Gopisetty A, Prabhakar BS. Role of Cytokines in the Pathogenesis and Suppression of Thyroid Autoimmunity. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 2011;31(10):721–731. doi: 10.1089/jir.2011.0049.
2. Свириденко Н.Ю., Беловалова И.М., Шеремета М.С., Табеева К.И., Ремизов О.В. Болезнь Грейвса и эндокринная офтальмопатия. / Под ред. Дедова И.И., Мельниченко Г.А. — М.: МАИ-ПРИНТ; 2012. — 144 с. [Sviridenko NY, Belovalova IM, Sheremeta MS, Tabeeva KI, Remizov OV. Graves' disease and endocrine ophthalmopathy. / Ed. by Dedov I.I., Mel'nicenko G.A. Moscow: MAI-PRINT; 2012.].
3. Кандрор В.И. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы и апоптоз. // Проблемы эндокринологии. — 2002. — Т. 48. — №1. — С. 45–48. [Kandror VI. Autoimmunnye zabolovaniya shchitovidnoy zhelezy i apoptoz. Problemy endokrinologii 2002;48(1):45–48.].
4. Зорин НА, Зорина ВН. Сигнальная система макроглобулинов. Обзор литературы. // Биомедицинская химия. — 2012. — Т. 58. — №4. — С. 400–410. [Zorin NA, Zorina VN. Macroglobulin signaling system. Biomeditsinskaya khimiia. 2012;58(4): 400–410.]
5. Legrand D, Ellass E, Carpentier M, Mazurier J. Lactoferrin. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2005;62(22):2549–559. doi: 10.1007/s00018-005-5370-2.
6. Зорина В.Н., Трофименко Н.А., Архипова С.В., Зорина Р.М., Зорин Н.А. Комплексы альфа-2-макроглобулина с антителами класса G, плазмином и их взаимосвязь с другими факторами гуморального иммунитета при развитии ревматоидного артрита. // Медицинская иммунология. — 2005. — Т. 7. — №5–6. — С. 557–562. [Zorina VN, Trofimenko NA, Arkhipova SV, Zorina RM, Zorin NA. Complexes of alpha-2-macroglobulin antibody class G, plasmin and their relationship with other factors of humoral immunity in the development of rheumatoid arthritis. Meditsinskaya immunologiya 2005;7(5–6):557–562.]
7. Аксельсен Н., Крелль Й., Веке Б. Руководство по количественному иммуноэлектрофорезу. М.: МИР; 1977. — 216 с. [Aksel'sen N, Krell' Y, Veke B. Guidance on quantitative immunoelectrophoresis. Moscow: MIR; 1977.]
8. Wu SM, Patel DD, Pizzo SV. Oxidized $\alpha 2$ -Macroglobulin ($\alpha 2$ M) Differentially Regulates Receptor Binding by Cytokines/Growth Factors: Implications for Tissue Injury and Repair Mechanisms in Inflammation. *The Journal of Immunology*. 1998 October 15, 1998;161(8):4356–4365.
9. Шарипова З.Ф., Фархутдинова Л.М. Взаимосвязь иммунологического статуса и микроэлементного профиля организма при тиреопатиях. // Врач. — 2007. — №5. — С. 51–52. [Sharipova ZF, Farkhutdinova LM. Vzaimosvyaz' immunologicheskogo statusa i mikroelementnogo profilya organizma pri tireopatiyakh. Vrach 2007;(5):51–52.]