

На правах рукописи

Зуева Анна Анатольевна

**ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ СДВИГИ И УРОВЕНЬ
ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ АУТОИММУННОГО
ТИРЕОИДИТА И ДИФФУЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО
ЗОБА**

14.00.16-Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Чита 2009

Работа выполнена в ГОУ ВПО "Читинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию".

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Цыбиков Намжил Нанзатович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Патеюк Андрей Владимирович

кандидат медицинских наук

Ключерева Наталья Николаевна

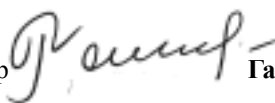
Ведущая организация: ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН
(г. Новосибирск)

Защита диссертации состоится "___" декабря 2009 года в часов на заседании диссертационного совета Д 208.118.01 при ГОУ ВПО "Читинская государственная академия Росздрава"

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО "Читинская государственная академия Росздрава"

Автореферат разослан "___" ноября 2009г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Гаймоленко И.Н.

Актуальность проблемы. В настоящее время тиреоидная патология является наиболее частой в структуре эндокринных заболеваний. Вероятно, такая тенденция сохранится и в последующие годы, так как за последнее десятилетие отмечается неуклонное увеличение распространенности заболеваний щитовидной железы (Валдина Е.А., 2001; Велданова М.В., 2005; Балаболкин, М.И., 2007). В Забайкальском крае заболеваемость ДТЗ составляет 1,17 человека, а ХАИТ 1,9 человека на 1000 населения. Применение новых методов исследования позволяет уточнить и переосмыслить этиологию и механизмы развития заболеваний щитовидной железы. Следовательно, необходимо совершенствование терапевтических мероприятий, применяемых в повседневной клинической практике (Дедов И.И. и др., 2000).

В связи с научными достижениями последних лет становится возможным более детальное и глубокое изучение этиопатогенеза аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (АЗЩЖ). На сегодняшний день общепринятой концепцией развития АЗЩЖ является теория R. Volpe (1977), согласно которой в их патогенезе основная роль отводится первичным нарушениям иммунорегуляции - дефекту регуляторных Т-лимфоцитов, в результате которого нарушена элиминация "запрещенного" клона Т-клеток. Помимо дефекта в клеточном звене иммунитета в патогенезе АЗЩЖ немаловажную роль играет гиперпродукция провоспалительных цитокинов. Изучению особенностей развития данных заболеваний посвящено много работ (Болотская С.А., 2002; Жигжитова Е.Б., 2002; Гусова З.Л., 2002; Маркелова Е.В., 2002; Зинкевич О.И., 2006; Гвоздева О.В., 2008), но все они, к сожалению, противоречивы.

В клинической картине АЗЩЖ довольно часто присутствуют симптомы поражения как центральной, так и периферической нервной системы. В литературе эти проявления расцениваются как "функциональные", носящие временный характер нарушения, связанные с дефицитом или же избытком тиреоидных гормонов. Вместе с тем, клиницисты описывают такие поражения центральной нервной системы, как "энцефалопатия Хашимото" и дегенерация мозжечка, сопровождающиеся появлением белка в ликворе, что не укладывается в общепринятые представления и требует дальнейшего изучения.

В настоящее время лечение тиреопатий сводится к устранению основных симптомов заболеваний. При ДТЗ, в основном, проводится длительная терапия тиреостатиками (препараты группы тионамидов), а при ХАИТ - восполнение недостатка тиреоидных гормонов (препараты группы левотироксина). Но, к сожалению, традиционные методы лечения не приводят к развитию полной клинико-иммунологической ремиссии (Абрамова Н.А., 2005). При всех применяющихся методах лечения ДТЗ развиваются рецидивы заболевания,

что увеличивает риск возникновения осложнений с последующей инвалидизацией лиц трудоспособного возраста.

Поэтому возникает необходимость уточнения патогенетических механизмов развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

Цель исследования: изучение состояния иммунитета, цитокинового профиля, маркеров поражения нервной системы и эндотелиальной дисфункции у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом с различным функциональным состоянием щитовидной железы и диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом.

Задачи:

1. изучить особенности изменений показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом в зависимости от функционального состояния щитовидной железы и диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом;
2. оценить уровень ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФ- γ , ИНФ- α и аутоантител к ИЛ-8 у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом в сыворотке крови;
3. исследовать содержание нейроспецифической енолазы и аутоантител к ней у пациентов с хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом в сыворотке крови;
4. определить концентрацию эндотелина-1 и аутоантител к нему у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом в сыворотке крови;
5. оценить влияние традиционного медикаментозного лечения и терапии с использованием иммуномодулятора полиоксидония на показатели тиреоидного статуса, клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом.

Научная новизна. Впервые установлено, что у больных ХАИТ с различным функциональным состоянием щитовидной железы наблюдается увеличение концентрации NSE и аАт к ней в сыворотке крови, а у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом повышается уровень NSE без изменения содержания аАт.

Показано, что у больных ХАИТ с субклиническим гипотиреозом увеличивается содержание эндотелина-1 и уменьшается уровень аАт к нему. В то же время у пациентов с ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом изолированно снижается содержание аАт к эндотелину-1.

У всех пациентов с ХАИТ и ДТЗ увеличивается концентрация ИЛ-8 в сыворотке крови, сопровождающаяся уменьшением уровня аАт к нему в группах больных с субклиническим и манифестным гипотиреозом, и ростом аАт к

ИЛ-8 у лиц с ДТЗ.

В работе уточнены изменения клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных АЗЩЖ. У пациентов с ХАИТ увеличивается число CD3+,CD16+,CD56+ и уменьшается содержание CD3+,HLA-DR+ в крови. Также у больных ХАИТ с эутиреоидной функцией щитовидной железы увеличивается число CD3-,CD19+, уменьшается содержание CD3+CD8+ и концентрация IgA, IgM и IgG. В группе с субклиническим гипотиреозом снижается содержание CD3+,CD4+ и IgM, а у больных с манифестным гипотиреозом - CD3+CD8+. У пациентов с ДТЗ увеличивается число CD3-,CD19+ и уменьшается содержание CD3+,CD19-, CD3+,CD16+,CD56+, CD3+,HLA-DR+ и концентрация IgM.

Доказано, что включение в комплексное медикаментозное лечение иммуномодулятора полиоксидония сопровождается улучшением иммунологических показателей у больных АЗЩЖ. У больных ХАИТ независимо от функционального состояния щитовидной железы снижается концентрация IgG и аАт к ТПО, а в группе с манифестным гипотиреозом и аАт к ТГ. Также использование полиоксидония приводит к уменьшению содержания CD3-,CD19+ у больных ХАИТ с эутиреозом и субклиническим гипотиреозом и к снижению числа CD3+,CD16+,CD56+ во всех группах больных ХАИТ. У больных ХАИТ с субклиническим и манифестным гипотиреозом увеличивается число CD3+,HLA-DR+, а у пациентов с манифестным гипотиреозом CD3+CD8+. У больных ДТЗ увеличивается содержание CD3+,CD16+,CD56+, уменьшается число CD3-,CD19+ и концентрация IgG.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенное исследование аАт к NSE, эндотелину-1 и ИЛ-8 демонстрирует защитно-приспособительный характер аАт направленный на снижение концентрации активных соединений у больных ХАИТ и ДТЗ.

Обнаруженные изменения в содержании NSE и аАт к ней расширили представления о патогенезе поражения нервной системы при этих заболеваниях.

У больных ХАИТ и ДТЗ показано изменение уровня эндотелина-1 и аАт к нему, что указывает на дисфункцию эндотелия при этих патологических состояниях.

В процессе исследования было выявлено, что традиционное медикаментозное лечение больных ХАИТ и ДТЗ корректирует изменения в содержании тиреоидных гормонов, но не влияет на иммунологические сдвиги. Включение же в комплексное лечение ХАИТ и ДТЗ иммуномодулятора полиоксидония приводит к улучшению иммунологических показателей.

У больных ХАИТ и ДТЗ, для коррекции иммунологических нарушений, рекомендуется использовать иммуномодулятор полиоксидоний (в дозе 6 мг

в/м через день в течение 5 дней, затем в той же дозе 1 раз в 3 дня), что позволит предотвратить прогрессирование заболеваний и возникновение осложнений.

Полученные результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедр патологической физиологии, госпитальной терапии, кафедры терапии ФПК и ППС, ГОУ ВПО "Читинская государственная медицинская академия Росздрава".

Положения выносимые на защиту.

1. хронический аутоиммунный тиреоидит с различным функциональным состоянием щитовидной железы характеризуется увеличением числа CD3+,CD16+,CD56+ и уменьшением содержания CD3+,HLA-DR+. У больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом с эутиреоидной функцией щитовидной железы увеличено число CD3-,CD19+, снижено содержание CD3+CD8+ и концентрация IgA, IgM и IgG. В группе больных с субклиническим гипотиреозом увеличено содержание CD3-,CD19+, снижено число CD3+,CD4+ и концентрация IgM, а у больных с манифестным гипотиреозом - CD3+CD8+. При этом увеличен уровень нейроспецифической енолазы, провоспалительных цитокинов и эндотелина-1. Концентрация аутоантител к нейроспецифической енолазе повышена, а к эндотелину-1 и ИЛ-8 снижена.
2. диффузный токсический зоб с манифестным тиреотоксикозом характеризуется увеличением содержания CD3-,CD19+ и уменьшением числа CD3+,CD19-; CD3+,CD16+,CD56+; CD3+,HLA-DR+ и концентрации IgM. У больных диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом увеличен уровень нейроспецифической енолазы, провоспалительных цитокинов. Концентрация аутоантител к эндотелину-1 уменьшается, а к ИЛ-8 возрастает.
3. включение в медикаментозное лечение иммуномодулятора полиоксидония приводит к уменьшению числа CD3-,CD19+; CD3+,CD16+,CD56+; концентрации IgG; аутоантител к ТГ и ТПО у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом, а у пациентов с диффузным токсическим зобом - к уменьшению числа CD3-,CD19+; уровня IgG и увеличению CD3+,CD16+,CD56+.

Апробация работы. Основные результаты исследования доложены на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 55-летию Читинской государственной медицинской академии "Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины" (Чита, 2008); VII научно-практической конференции молодых ученых "Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири" (Красноярск, 2009); Съезде терапевтов Юга России "Врач XXI века: сегодня и завтра" (Ростов-на-Дону, 2009); совместном заседании кафедр патофизиологии, гистологии с основами цитологии и

эмбриологии, госпитальной терапии, кафедры терапии ФПК и ППС (Чита, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 2 - в ведущих научных рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК Министерства образования и науки РФ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста и состоит из введения, глав обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций; иллюстрирована 22 таблицами. Указатель литературы включает 133 работ отечественных и 61 - зарубежных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика обследованных групп. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (1964, 2000 ред).

Исследование проводилось в следующих группах:

1. **контрольная** включала 20 здоровых жителей Забайкалья в возрасте от 18 до 60 года ($43,65 \pm 2,34$).

2. **исследуемые группы** - 54 больных ХАИТ (6 мужчин и 48 женщины), в возрасте от 28 до 60 лет ($47,42 \pm 1,29$) и 20 больных ДТЗ (4 мужчины и 16 женщин) в возрасте от 28 до 58 лет ($44,45 \pm 1,63$). Больные ХАИТ с манифестным гипотиреозом и ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом находились на стационарном лечении в эндокринологическом отделении ГУЗ "Краевая клиническая больница" г. Читы. Пациенты с ХАИТ эутиреозом и субклиническим гипотиреозом наблюдались в амбулаторных условиях.

Среди больных ХАИТ было 14 человек в состоянии эутиреоза, 20 - с субклиническим гипотиреозом и 20 - с манифестным гипотиреозом. Диагноз ХАИТ был установлен на основании высокого содержания антитиреоидных аАт (Ат к ТПО, Ат к ТГ) в сыворотке крови и ультразвуковых изменений в щитовидной железе.

Все пациенты с ХАИТ были разделены на 2 группы:

1-я группа - больные, принимавшие традиционное медикаментозное лечение ($n=20$);

2-я группа - больные, принимавшие комплексное медикаментозное лечение ($n=34$) иммуномодулятором полиоксидонием.

Исключение составили больные с эутиреоидной функцией щитовидной железы, которым лечение L-Тироксином не проводилось.

Традиционное медикаментозное лечение больных гипотиреозом включало L-Тироксин, который назначался утром за 30 мин до еды в дозе 50-150 мкг.

Пациентам с комплексным лечением дополнительно назначался полиоксидоний (6 мг в/м по схеме: 5 инъекций через день, затем 5 инъекций - 1 раз в три дня) (Ларина В.Н., 1999).

Диагноз ДТЗ устанавливался на основании симптомов тиреотоксикоза, высокой концентрации тиреоидных гормонов (свТ3 и свТ4), наличия в сыворотке крови антитиреоидных аАт и диффузного увеличения щитовидной железы. Данную группу составили 20 пациентов - 10 из них принимали традиционное медикаментозное лечение (мерказолил 30 мг/сут, анаприлин - 40 мг/сут), 10 - комплексное лечение с применением полиоксидония (6 мг в/м по схеме: 5 инъекций через день, затем 5 инъекций - 1 раз в три дня) (Ларина В.Н., 1999).

Критериями исключения из исследования являлись:

1. тяжелые соматические заболевания;
2. сопутствующая патология щитовидной железы;
3. дегенеративные заболевания центральной и периферической нервной системы;
4. беременность;
5. лица младше 18 лет и старше 60 лет.

Лабораторные методы исследования. Забор венозной крови проводили натощак в утренние часы.

Основные показатели иммунограммы определялись на проточном цитометре EpicsXL-MCL с определением в двухпараметрическом анализе поверхностных маркеров лейкоцитов В-cells (CD3-,CD19+); Т-cells (CD3+,CD19-); Т-helpers (CD3+,CD4+); Т-cytotox. (CD3+,CD8+); NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+); Т-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+); Т-cell ACTIV (CD3+,HLA-DR+); ИРИ - (CD4+/CD8+); Т-cells (CD3+)/В-cells (CD19+). Концентрация иммуноглобулинов классов А, М, G определялась методом турбодиметрии; показатели тиреоидной панели, цитокинового профиля, NSE, эндотелина-1 изучались методом твердофазного иммуноферментного анализа. Уровень аАт к ИЛ-8, NSE, эндотелину-1 определяли оригинальным методом.

Статистическая обработка проводилась при помощи пакета программ BIOSTAT 3.03. Так как распределение изучаемого признака в группах отличалось от нормального, сравнение групп по признаку проводилось непараметрическим методом. Данные представлены в виде: Ме - медиана, интерквартильного (процентильного) интервала (указан в скобках). При сравнении групп использовался критерий Манна-Уитни (U), различия считали значимыми при $p < 0,05$ (Реброва О.Ю., 2006).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Состояние иммунитета, цитокинового профиля, нейроспецифической енолазы, эндотелина-1 и аАт к ним у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом

1.1. Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом с различным функциональным состоянием щитовидной железы

Согласно полученным результатам нашего исследования у всех обследуемых больных увеличивалось относительное и абсолютное число T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56) и уменьшалось содержание T-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+). При этом относительное содержание T-helpers (CD3+,CD4+) было сниженным в группе пациентов с субклиническим гипотиреозом ($p=0,014$), по сравнению с показателями здоровых лиц, и не менялось в группах с эутиреозом и манифестным гипотиреозом. В группах больных ХАИТ с эутиреоидной функцией и манифестным гипотиреозом наблюдалось уменьшение относительного числа T-cytotox. (CD3+,CD8+). По нашим данным при ХАИТ с эутиреоидной функцией щитовидной железы повышалось абсолютное содержание, а при субклиническом гипотиреозе абсолютное и относительное число B-cells (CD3-,CD19+). В то же время у пациентов с субклиническим гипотиреозом наблюдалось уменьшение соотношения CD4+/CD8+ как в абсолютном, так и в относительном эквиваленте, а в группах с эутиреозом и субклиническим гипотиреозом и абсолютное соотношение T-cells (CD3+)/B-cells (CD19+). У больных ХАИТ не зависимо от функционального состояния щитовидной железы не менялось относительное и абсолютное общее содержание лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3+,CD19-) и NK-cells (CD3-,CD16+,CD56+).

Также было выявлено снижение концентрации IgA, IgM и IgG ($p<0,05$) у больных ХАИТ с эутиреозом, а в группе с субклиническим гипотиреозом наблюдалось уменьшение содержания IgM ($p<0,05$).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют в пользу дисрегуляции клеточного иммунитета у больных ХАИТ с различным функциональным состоянием щитовидной железы. При этом следует отметить, что у всех больных увеличивалось количество T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+) и снижалось число T-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+). Увеличение числа T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+) приводит к усилению аутоиммунного процесса, что способствует развитию деструктивных изменений в щитовидной железе и прогрессирующему снижению продукции тиреоидных гормонов. Уменьшение содержания T-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+), возможно связано с перераспределением их из свободного кровотока в зону аутоиммунного процесса

в щитовидной железе. Снижение относительного числа T-cytotox. (CD3+,CD8+) у больных с эутиреоидной функцией и субклиническим гипотиреозом совпадает с основной концепцией развития ХАИТ, выдвинутой R. Volpe (2001). В противовес литературным данным, нами выявлено уменьшение концентрации IgG у больных ХАИТ с эутиреозом и отсутствие его увеличения в остальных группах больных. Как известно, IgG представлен 4 подклассами: IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄. В публикациях описано, что аАт к ТПО с различными формами гипотиреоза представлены в основном IgG₁ и IgG₄. Однако по мере прогрессирования гипотиреоза доля IgG₁ возрастает по сравнению с остальными подклассами. В нашем исследовании определялась общая концентрация IgG, поэтому судить об уменьшении или увеличении содержания подклассов IgG₁ и IgG₄ мы не можем.

1.2. Содержание цитокинов в сыворотке крови у больных хроническим аутоиммунным тиреодитом с различным функциональным состоянием щитовидной железы

В нашей работе обращает на себя внимание увеличение концентрации ИНФ- γ у больных ХАИТ с эутиреоидной функцией в 14 раз ($p=0,035$), субклиническим гипотиреозом в 7 раз ($p=0,005$) и манифестным гипотиреозом в 36,7 раза ($p=0,004$). Одновременно с этим наблюдалось значительное повышение содержания ИНФ- α у больных ХАИТ с субклиническим гипотиреозом ($p=0,022$) и манифестным гипотиреозом ($p=0,043$). Кроме этого во всех группах регистрировалось увеличение уровня ИЛ-8 и ИЛ-6. Несмотря на увеличение содержания ИЛ-8, концентрация аАт к ИЛ-8 у пациентов с ХАИТ с субклиническим и манифестным гипотиреозом уменьшалась ($p=0,004$), а у больных ХАИТ с эутиреозом не менялась (таблица 1).

Полученные данные свидетельствуют о значительном изменении цитокинового профиля у больных ХАИТ, что не может не свидетельствовать в пользу участия этих пептидов в патогенезе данного заболевания.

1.3. Уровень нейроспецифической енолазы и аАт к ней у больных хроническим аутоиммунным тиреодитом с различным функциональным состоянием щитовидной железы

У больных ХАИТ независимо от функционального состояния щитовидной железы концентрация NSE увеличилась практически в 5 раз по сравнению с группой контроля. При этом уровень аАт к NSE увеличился в 2 раза в группе больных с эутиреоидной функцией ($p=0,024$). У пациентов с манифестным гипотиреозом также наблюдался рост аАт, не выявленный в группе больных с субклиническим гипотиреозом (таблица 2).

Таблица 1

Содержание цитокинов в сыворотке крови у больных ХАИТ
(Ме (25-й;75-й))

Параметры	Здоровые n=20	ХАИТ эутиреоидная функция n=14	ХАИТ субклинический гипотиреоз n=20	ХАИТ манифестный гипотиреоз n=20
ИНФ- γ (пг/мл)	0,41 (0,28; 0,42)	5,77 (5,57; 5,98) p=0,035*	2,89 (2,06; 4,12) p=0,005* p ₁ =0,048*	15,05 (11,65; 18,66) p=0,004* p ₂ =0,004* p ₃ =0,044*
ИНФ- α (пг/мл)	1,32 (0,00; 2,63)	1,1 (0,0; 11,51) p=0,842	7,90 (7,90; 22,81) p=0,022* p ₁ =0,042*	7,34 (0,09; 11,85) p=0,004* p ₂ =0,294 p ₃ =0,733
ИЛ-8 (пг/мл)	17,96 (16,62; 35,50)	42,19 (16,24; 84,72) p=0,004*	61,54 (14,69; 102,54) p=0,032* p ₁ =0,298	78,97 (19,93; 125,05) p=0,004* p ₂ =0,481 p ₃ =0,791
aАг к ИЛ-8 (ext.)	0,20 (0,16; 0,24)	0,14 (0,11; 0,18) p=0,714	0,09 (0,09; 0,10) p=0,004* p ₁ =0,077	0,16 (0,15; 0,16) p=0,004* p ₂ =0,743 p ₃ =0,007*
ИЛ-6 (пг/мл)	0,93 (0,31; 1,58)	5,83 (1,61; 13,52) p=0,008*	3,16 (1,57; 6,55) p=0,033* p ₁ =0,450	1,44 (1,05; 2,03) p=0,025* p ₂ =0,046* p ₃ =0,241

Примечание: p - значение различий по отношению к здоровым; p₁ - значение различий между больными ХАИТ с эутиреоидной функцией и больными ХАИТ с субклиническим гипотиреозом; p₂ - значение различий между больными ХАИТ с эутиреоидной функцией и больными ХАИТ с манифестным гипотиреозом; p₃ - значение различий между больными ХАИТ с субклиническим гипотиреозом и больными ХАИТ с манифестным гипотиреозом; * - указаны случаи значимых различий.

Полученные нами данные, вероятно, свидетельствуют о структурном повреждении клеток нервной системы, что вносит новые представления о патогенезе поражения нервной системы при данной патологии.

Таблица 2

Уровень NSE и аАт к ней у больных ХАИТ
(Ме (25-й;75-й))

Параметры	Здоровые n=20	ХАИТ эутиреоидная функция n=14	ХАИТ субклинический гипотиреоз n=20	ХАИТ манифестный гипотиреоз n=20
NSE (мг/мл)	4,51 (2,23; 5,45)	23,52 (11,50; 38,00) p=0,034*	22,52 (5,65; 35,75) p=0,009* p ₁ =0,857	23,64 (9,22; 39,88) p<0,001* p ₂ =0,814 p ₃ =0,563
аАт к NSE (ext.)	0,12 (0,10; 0,15)	0,25 (0,20; 0,27) p=0,024*	0,12 (0,10; 0,13) p=0,632 p ₁ =0,449	0,19 (0,15; 0,26) p=0,043* p ₂ =0,780 p ₃ =0,160

Примечание: p - значение различий по отношению к здоровым; p₁ - значение различий между больными ХАИТ с эутиреоидной функцией и больными ХАИТ с субклиническим гипотиреозом; p₂ - значение различий между больными ХАИТ с эутиреоидной функцией и больными ХАИТ с манифестным гипотиреозом; p₃ - значение различий между больными ХАИТ с субклиническим гипотиреозом и больными ХАИТ с манифестным гипотиреозом; * - указаны случаи значимых различий.

1.4. Концентрация эндотелина-1 и аАт к нему у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом с различным функциональным состоянием щитовидной железы

Было выявлено, что уровень эндотелина-1 (таблица 3) увеличивался у больных ХАИТ с субклиническим гипотиреозом (p=0,034), а у больных ХАИТ с эутиреозом и манифестным гипотиреозом не изменялся. Концентрация аАт к эндотелину-1 уменьшалась в группах пациентов с ХАИТ с манифестным (p=0,004) и субклиническим гипотиреозом (p=0,035), а у больных с эутиреоидной функцией не изменялась.

Увеличение содержания эндотелина-1 у больных ХАИТ с субклиническим гипотиреозом, вероятно, свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции у пациентов данной группы. Уменьшение концентрации аАт к эндотелину-1, возможно, связано с образованием иммунных комплексов и элиминацией активного пептида из свободного кровотока.

Таблица 3

Концентрация эндотелина-1 и аАт к нему у больных ХАИТ
(Ме (25-й;75-й))

Параметры	Здоровые n=20	ХАИТ эутиреоидная функция n=14	АИТ субклинический гипотиреоз n=20	ХАИТ манифестный гипотиреоз n=20
эндотелин-1 (фмоль/мл)	0,53 (0,16; 1,74)	0,39 (0,3; 1,39) p=0,744	1,84 (1,43; 2,01) p=0,034* p ₁ =0,020*	0,70 (0,00; 0,79) p=0,127 p ₂ =0,822 p ₃ =0,791
аАт к эндотелину-1 (ext.)	0,2 (0,18; 0,31)	0,19 (0,19; 0,2) p=0,714	0,10 (0,09; 0,10) p=0,035* p ₁ =0,044*	0,15 (0,15; 0,15) p=0,004* p ₂ =0,543 p ₃ =0,007*

Примечание: p - значение различий по отношению к здоровым; p₁ - значение различий между больными ХАИТ с эутиреоидной функцией и больными ХАИТ с субклиническим гипотиреозом; p₂ - значение различий между больными ХАИТ с эутиреоидной функцией и больными ХАИТ с манифестным гипотиреозом; p₃ - значение различий между больными ХАИТ с субклиническим гипотиреозом и больными ХАИТ с манифестным гипотиреозом; * - указаны случаи значимых различий.

2. Состояние иммунитета, цитокинового профиля, уровня нейроспецифической енолазы, эндотелина-1 и аАт к ним у больных диффузным токсическим зобом

2.1. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом

Нами выявлено умеренное уменьшение абсолютного числа лимфоцитов в крови больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом, сопровождающееся снижением количества Т-лимфоцитов в сравнении с показателями здоровых лиц. Также у пациентов в этой группе наблюдалось незначительное уменьшение содержания как относительного, так и абсолютного числа Т-cells АСТIV (CD3+,HLA-DR+), возможно связанное с их дислокацией в цитовидную железу.

Кроме этого, у пациентов с ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом отмечалось снижение относительного и абсолютного количества Т-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+) в 2 раза (p<0,05), обнаруженное и другими исследователями при данной патологии (Гвоздева О.В., 2008).

Мы установили, что у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом

наблюдается повышение относительного и абсолютного числа В-cells (CD3-, CD19+) в 1,5 раза, и умеренное уменьшение относительного и абсолютного соотношения Т-cells (CD3+)/В-cells (CD19+) в сравнении с показателями, зарегистрированными у группы контроля. Также было выявлено незначительное уменьшение концентрации IgM. Содержание же IgG в сравнении с его уровнем у здоровых лиц не изменялось.

Полученные нами данные свидетельствуют о дисбалансе в иммунном статусе при данной патологии. Выявленное нами увеличение относительного и абсолютного числа В-лимфоцитов не противоречит общепринятым представлениям о патогенезе ДТЗ и говорит об активации гуморального звена иммунитета у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом. По результатам нашего исследования концентрация IgG не претерпевала изменений, но мы определяли общую концентрацию IgG. Поэтому достоверно говорить о динамике содержания подклассов IgG при этой патологии мы не можем.

2.2. Содержание цитокинов в сыворотке крови у больных диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом

У больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом наблюдалось повышение концентрации ИНФ- γ (таблица 4) в 6 раз ($p=0,003$) и ИНФ- α в 7 раз ($p=0,005$). Также у больных данной группы выявлено значительное увеличение содержания ИЛ-8 ($p=0,036$) и ИЛ-6 ($p=0,044$), а уровень аАт к нему не менялся.

Таблица 4

Содержание цитокинов в сыворотке крови у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом (Ме (25-й;75-й))

Параметры	Здоровые n=20	ДТЗ манифестный тиреотоксикоз n=20
ИНФ- γ (пг/мл)	0,41(0,28; 0,42)	4,12 (0,34; 24,70) $p=0,003^*$
ИНФ- α (пг/мл)	1,32 (0,00; 2,63)	9,65 (6,14; 16,84) $p=0,005^*$
ИЛ-8 (пг/мл)	17,96 (16,62; 35,50)	33,38 (27,77; 58,44) $p=0,036^*$
аАт к ИЛ-8 (ext.)	0,20 (0,16; 0,24)	0,18 (0,16; 0,19) $p=0,340$
ИЛ-6 (пг/мл)	0,93 (0,31; 1,58)	1,44 (0,39; 2,08) $p=0,044^*$

p - значение различий по сравнению с контролем;

* - указаны случаи значимых различий;

Выявленное нами увеличение содержания ИНФ- γ , ИНФ- α и ИЛ-8 указывают на активацию гуморального иммунитета, с последующим усилением продукции тиреостимулирующих аАт, что не противоречит результатам других исследований.

2.3. Уровень нейроспецифической енолазы и аАт к ней у больных диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом

Для ДТЗ характерны нарушения функции нервной системы. Эти изменения проявляются повышенной раздражительностью, эмоциональной неустойчивостью, психозами. Исходя из этого, нами предпринята попытка определения содержания нейроспецифического белка NSE у пациентов с ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом.

В результате проведенного исследования выявлено, что у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом (таблица 5) наблюдалось умеренное увеличение NSE в 2,2 раза ($p=0,013$), в сравнении с показателями доноров, а содержание аАт к ней при этом не менялось.

Таблица 5

Уровень NSE и аАт к ней у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом (Me (25-й;75-й))

Параметры	Здоровые n=20	ДТЗ манифестный тиреотоксикоз n=20
Енолаза (мг/мл)	4,51 (2,23; 5,45)	10,34 (4,98; 25,50) $p=0,013^*$
аАт к NSE (ext.)	0,12 (0,10; 0,15)	0,13 (0,10; 0,22) $p=0,847$

p - значение различий по сравнению с контролем;

* - указаны случаи значимых различий;

Повышение концентрации NSE, возможно, свидетельствует о деструкции элементов нервной системы.

2.4. Концентрация эндотелина-1 и аАт к нему у больных диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом

Ранее было выявлено уменьшение содержания оксида азота у больных ДТЗ с тиреотоксикозом (Hermenegildo C., 2002). Поэтому было бы логично ожидать у данной группы больных увеличения антагониста оксида азота - эндотелина-1. Но по результатам нашей работы концентрация эндотелина-1 не менялась у больных ДТЗ с манифестным гипотиреозом в сравнении показате-

Таблица 6

Концентрация эндотелина-1 и аАт к нему у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом (Ме (25-й;75-й))

Параметры	Здоровые n=20	ДТЗ манифестный тиреотоксикоз n=20
Эндотелин (фмоль/мл)	0,53 (0,16; 1,74)	0,54 (0,14; 0,54) p=0,847
аАт к эндотелину (ext.)	0,2 (0,18; 0,31)	0,16 (0,15; 0,19) p=0,008*

p - значение различий по сравнению с контролем;

* - указаны случаи значимых различий;

лями группы здоровых (таблица 6). Возможно, это связано с меньшей степенью выраженности эндотелиальной дисфункции у больных ДТЗ в сравнении с больными ХАИТ. Но в тоже время нами выявлено снижение уровня аАт к эндотелину-1, что скорее всего связано с формированием иммунных комплексов, приводящих к уменьшению концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови.

3. Влияние комплексного лечения с использованием полиоксидония на показатели тиреоидного статуса и состояние иммунитета у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом

В результате нашего исследования выявлено, что у больных ХАИТ с различным функциональным состоянием щитовидной железы стандартная медикаментозная терапия, несмотря на улучшение клинического состояния и нормализацию концентрации тиреоидных гормонов, не приводила к изменению содержания показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

3.1. Изменения показателей тиреоидной панели после комплексного лечения с использованием полиоксидония у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом

После лечения с применением полиоксидония во всех группах больных с ХАИТ нами обнаружено уменьшение концентрации аАт к ТПО ($p < 0,05$), а в группе ХАИТ с манифестным гипотиреозом также снижался уровень аАт к ТГ в 1,3 раза ($p = 0,050$). Полученные результаты, однозначно, свидетельствуют о положительном влиянии иммуномодулятора на патогенез заболевания. Стандартная медикаментозная терапия не влияла на уровень аАт к тиреоидным компонентам.

Снижение концентрации аАт к ТПО свидетельствует о положительном эффекте иммуномодулятора и, возможно, связано с действием этого препарата на выраженность аутоагрессии.

3.2. Динамика показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом с различным функциональным состоянием щитовидной железы после терапии полиоксидонием

У больных ХАИТ с эутиреоидной функцией после применения полиоксидония наблюдалось уменьшение содержания абсолютного и относительного содержания T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+), относительного числа B-cells (CD3-,CD19+) и соотношения T-cells (CD3+)/B-cells (CD19+), приближающее их значение к показателям здоровых лиц. Также в данной группе пациентов было выявлено уменьшение концентрации IgG.

У пациентов с ХАИТ с субклиническим гипотиреозом при использовании в терапии иммуномодулятора полиоксидония наблюдалось уменьшение относительного и абсолютного числа T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+); B-cells (CD3-,CD19+) и увеличение количества T-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+). Также у пациентов этой группы было выявлено уменьшение концентрации IgG, в сравнении с показателями лиц, получавших стандартную терапию.

Использование в терапии иммуномодулятора полиоксидония у больных ХАИТ с манифестным гипотиреозом приводило к увеличению относительного числа T-cytotox. (CD3+,CD8+) ($p=0,035$) и T-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+) ($p=0,05$). Также наблюдалось уменьшение содержания относительного и абсолютного числа T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56) и концентрации IgG.

Полученные результаты указывают на уменьшение активности патологического процесса в результате влияния иммуномодулятора.

3.3. Изменение показателей тиреоидной панели у больных диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом до и после комбинированного лечения.

Стандартная медикаментозная терапия приводила к нормализации уровня ТТГ, тиреоидных гормонов, но при этом наблюдался рост аАт к ТПО. Комплексное лечение с применением иммуномодулятора полиоксидония приводило к аналогичным изменениям в содержании ТТГ и тиреоидных гормонов. Концентрация аАт к антигенам щитовидной железы при этом не менялась.

3.4. Динамика показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом до и после комбинированного лечения

Нами выявлено, что после стандартной медикаментозной терапии прослеживалось увеличение абсолютного числа лимфоцитов в 1,6 раза ($p < 0,05^*$), при этом остальные показатели клеточного иммунитета изменений не претерпевали. Применение иммуномодулятора полиоксидония приводило к уменьшению относительного и абсолютного числа В-cells (CD3-,CD19+) ($p < 0,05$), абсолютного числа лимфоцитов и к увеличению абсолютного содержания Т-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+). Также наблюдалось снижение концентрации IgG ($p = 0,024$).

Уменьшение числа В-cells (CD3-,CD19+) и IgG после лечения полиоксидонием у больных ДТЗ с манифестным тиреотоксикозом указывает на снижение активности заболевания.

Иммуномодулирующий эффект полиоксидония сложен и многогранен. Полиоксидоний способен воздействовать практически на все звенья иммунного ответа, интенсивность костномозгового кроветворения иммунокомпетентных клеток, активность антигенпрезентирующих клеток, количество и активность Т- и В-лимфоцитов и тем самым регулировать эффективность иммунных реакций, т.е. выступает в качестве клеточного иммуномодулирующего препарата (Пинегин Б.В., 2004; Дьяконова В.А., 2002). Поэтому, полученные результаты в ходе нашего исследования, ожидаемые, могут быть рекомендованы для клинического использования.

ВЫВОДЫ

1. У больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом независимо от функционального состояния щитовидной железы увеличено количество Т-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+) и снижено число Т-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+). У пациентов с хроническим аутоиммунным тиреоидитом с эутиреозом и субклиническим гипотиреозом повышено содержание В-cells (CD3-,CD19+) и уменьшена концентрация IgA, IgM и IgG.
2. При диффузном токсическом зобе с манифестным тиреотоксикозом уменьшено число Т-cells (CD3+,CD19-), Т-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+), Т-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+), увеличено содержание В-cells (CD3-,CD19+) и снижена концентрация IgM.
3. Уровень ИНФ- γ , ИНФ- α , ИЛ-8 и ИЛ-6 увеличен при хроническом аутоиммунном тиреоидите с различным функциональным состоянием щитовидной железы и диффузном токсическом зобе с манифестным тиреотоксикозом. Содержание аутоантител к ИЛ-8 при хроническом аутоиммунном

- тиреоидите уменьшено, а при диффузном токсическом зобе не изменено.
4. При всех клинических формах у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом увеличено содержание нейроспецифической енолазы, а при хроническом аутоиммунном тиреоидите с эутиреоидной функцией щитовидной железы и манифестным гипотиреозом также повышен уровень аутоантител к нейроспецифической енолазе.
 5. У больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом с субклиническим гипотиреозом увеличен уровень эндотелина-1 и уменьшена концентрация аутоантител к нему. У больных диффузным токсическим зобом с манифестным тиреотоксикозом концентрация эндотелина-1 не изменена, а уровень аутоантител к этому антигену снижен.
 6. Включение в традиционную медикаментозную терапию иммуномодулятора полиоксидония сопровождается уменьшением концентрации IgG, аАт к ТПО и содержания T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+) у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом независимо от функционального состояния щитовидной железы. У больных с субклиническим и манифестным гипотиреозом увеличивается число T-cells ACTIV (CD3+,HLA-DR+). Комплексное лечение больных диффузным токсическим зобом приводит к уменьшению B-cells (CD3-,CD19+) и концентрации IgG, а также к увеличению T-NK-cells (CD3+,CD16+,CD56+).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется использовать определение уровня нейроспецифической енолазы и аАт к ней при поражении нервной системы у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом, для оценки динамики патологического процесса.
2. Наряду с традиционной медикаментозной терапией для коррекции клинико-иммунологических изменений у больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом рекомендуется использовать иммуномодулятор полиоксидоний 6 мг в/м по схеме: 5 инъекций через день, затем 5 инъекций - 1 раз в три дня.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Зуева А.А. Состояние клеточного и гуморального иммунитета у больных аутоиммунным тиреодитом / А.А. Зуева, Н.Н. Цыбиков, Е.Б. Жигжитова // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : мат. Всерос. науч.-практ. конф., посвященной 55-летию ЧГМА (1-2 окт., 2008 г.). - Чита, 2008. - С. 14-15.
2. Зуева А.А. Особенности клеточного и гуморального 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 (1-2 окт., 2008 г.). - Чита, 2008. - С. 15-16.
3. Уровень эндотелина-1 и аутоантител к нему при тиреопатиях / Н.Н. Цыбиков Н.Н., А.А. Зуева, Е.Б. Жигжитова, Е.В.Пруткина // Кубанский научный медицинский вестник. - 2009. - №4 (109). - С. 153-155.
4. 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. 7-й науч.-практ. конф. молодых ученых. - Красноярск, 2009. - С. 21-22.
5. Содержание провоспалительных цитокинов, эндотелина-1 и аутоантител к ним при аутоиммунном тиреодите / Н.Н. Цыбиков, А.А. Зуева, Е.Б. Жигжитова, Е.В. Пруткина // Дальневосточный медицинский журнал. - 2009. - №3. - С. 17-19.
6. Содержание нейроспецифической енолазы, эндотелина-1, и аутоантител к ним в сыворотке крови больных аутоиммунным тиреодитом / Н.Н. Цыбиков, А.А. Зуева, Е.Б. Жигжитова, Е.В. Пруткина // Врач XXI века: сегодня и завтра : мат. съезда терапевтов Юга России. - Ростов-на-Дону, 2009. - С. 48-49.
7. Исследование уровня эндотелина-1, нейроспецифической енолазы и аутоантител к ним в сыворотке крови больных диффузным токсическим зобом / Н.Н. Цыбиков, А.А. Зуева, Е.Б. Жигжитова, Е.В. Пруткина // Врач XXI века: сегодня и завтра : мат. съезда терапевтов Юга России. - Ростов-на-Дону, 2009. - С. 48-49.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Аг	- антитело
аАг	- аутоантитело
АЗЩЖ	- аутоиммунные заболевания щитовидной железы
ХАИТ	- хронический аутоиммунный тиреоидит
ДТЗ	- токсический зоб
ИЛ	- интерлейкин
ИНФ	- интерферон
свТ3	- свободный трийодтиронин
свТ4	- свободный тироксин
ТГ	- тиреоглобулин
ТПО	- тиреоидная пероксидаза
ТТГ	- тиреотропный гормон
ФНО	- фактор некроза опухолей
CD	- маркеры дифференцировки
Ig	- иммуноглобулин
NSE	- нейроспецифическая енолаза
T-cytotox.	- цитотоксические Т-лимфоциты

Лицензия ИД №03077 от 23.10.00.
Подписано в печать 27.10.09. Бумага офсетная.
Формат 60 x 84 $\frac{1}{16}$. Усл.печ.л-1,0 Тираж 100. Заказ № 1432009.

Отпечатано в информационно-издательском центре ЧГМА
672090, Чита, ул. Горького, 39а.