

На правах рукописи

Дрометр Дмитрий Александрович

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ
ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ,
СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ СИНДРОМОМ
ТИРЕОТОКСИКОЗА**

14.00.36 - аллергология и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Тузанкина И.А.

Екатеринбург - 2009

Работа выполнена при лаборатории иммунопатофизиологии учреждения РАН
Институте иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Тузанкина Ирина Александровна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Чучкова Наталья Николаевна

доктор медицинских наук, доцент

Попов Артем Анатольевич

Ведущая организация:

ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Росздрава»

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2009 г. в _____ часов на
заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д
004.027.01 при учреждении РАН Институте иммунологии и физиологии УрО
РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО
РАН по адресу: 620041, г. Екатеринбург, ГСП-593, ул. Софьи
Ковалевской/Академическая, д. 22/20, с авторефератом – на сайте учреждения
РАН ИИФ УрО РАН – <http://www.iip.uran.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2009 г.

Ученый секретарь совета

по защите докторских и кандидатских диссертаций,

доктор медицинских наук, профессор

И.А. Тузанкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы определяется тем, что синдром тиреотоксикоза характеризуется тяжелым течением, приводящим к развитию патологических изменений во многих системах организма (сердечно-сосудистая, репродуктивная и др.). Кроме того, синдром тиреотоксикоза является распространенной патологией – по данным Третьего национального исследования, 1988-1994 гг. в США он встречался у 0,5% взрослой популяции, по данным Викгемского исследования, 1972-1995 гг. в Европе – у 2% взрослых женщин, по данным Фадеева В.В., 2004 в России синдром тиреотоксикоза выявлен у 1,2% взрослой популяции.

Известно, что развитие и течение аутоиммунной патологии с локализацией в щитовидной железе (ЩЖ), такой как болезнь Грейвса (БГ) и аутоиммунный тиреоидит (АИТ), сопровождается нарушениями как в гуморальном звене иммунитета (выработка органоспецифических аутоантител к щитовидной железе и к рецептору ТТГ (АТ-рТТГ), так и в клеточном. Однако, по мнению Фадеева В.В. (2003), нельзя исключить участие иммунных механизмов и в процессе злообразования щитовидной железы. Публикации, в которых освещается состояние клеточных и гуморальных параметров иммунитета у больных узловыми формами токсического зоба, встречаются крайне редко и носят противоречивый характер.

В настоящее время только начинается обсуждение роли апоптоза лимфоцитов в развитии патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза. Калинин А.П. с соавт., 1994 и Потапнев М.П., 2002 предполагают, что сама железа, а точнее ее гормоны, также могут влиять на процессы программированной гибели клеток и апоптоз-опосредованной регуляции клеточного гомеостаза. Между тем, патогенетические факторы и механизмы дисрегуляции апоптоза в условиях реализации аутоиммунитета остаются недостаточно исследованными.

Однако, сравнительный анализ состояния иммунной системы, включая оценку уровня апоптоза лимфоцитов, при патогенетически различных состояниях, протекающих с синдромом тиреотоксикоза, ранее не проводился.

Многообразие нозологических форм, приводящих к формированию синдрома тиреотоксикоза, схожесть клинических и лабораторных признаков зачастую не позволяют верифицировать диагноз, и осуществить патогенетически обоснованный выбор терапевтической тактики, что влечет за собой низкую эффективность лечения, увеличение его продолжительности и финансовых затрат, а также к снижению качества жизни самих пациентов.

Все вышесказанное определило необходимость проведения нашего исследования.

Цель работы: обоснование с иммунологических позиций критериев дифференциальной диагностики различных нозологических форм патологии щитовидной железы, протекающих с синдромом тиреотоксикоза.

Задачи исследования

1. Оценить клинико-генеалогические данные при патологических состояниях щитовидной железы, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.
2. Оценить лабораторно-инструментальные данные при патологических состояниях щитовидной железы, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.
3. Дать иммунологическую характеристику различным патологическим состояниям, проявляющимся синдромом тиреотоксикоза.
4. Оценить уровень апоптоза лимфоцитов при различных патологических состояниях ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза
5. Провести сравнительный анализ клинико-генеалогических, лабораторно-инструментальных, иммунологических данных в исследуемых группах и определить информационную ценность используемых методов диагностики патологии ЩЖ, проявляющейся синдромом тиреотоксикоза.

Научная новизна

Впервые при патологических состояниях ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза, у лиц, проживающих в регионе легкого йододефицита (г.

Екатеринбург), проведен комплексный анализ клинико-генеалогических, лабораторно-инструментальных и иммунологических данных, включавших характеристику апоптоза.

В результате сравнительного анализа параметров гемограммы, нейтрофильного фагоцитоза, клеточных и гуморальных параметров иммунитета, цитокинового профиля и уровня апоптоза лимфоцитов у лиц с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза и лиц без патологии щитовидной железы, выделены признаки, позволяющие дифференцировать эти состояния.

Впервые выделены признаки, позволяющие верифицировать болезнь Грейвса в структуре синдрома тиреотоксикоза, в качестве которых при данной патологии применен нами впервые:

$$\text{I. Индекс } E_0/M_0 * fT_3 = \frac{\text{количество эозинофилов, а/с}}{\text{количество моноцитов, а/с}} * \text{уровень свободного трийодтиронина}$$

и разработанный нами:

$$\text{II. Индекс } Apo/AT-pTTH = \frac{\text{Уровень апоптоза лимфоцитов, \%}}{\text{Уровень антител к рецептору TTH, ME/л}}$$

Впервые выявлены достоверные отличия всех групп лиц с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза, по уровню антитиреоидных аутоантител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе, традиционно определяемых при заболеваниях ЩЖ с тиреотоксикозом.

Подтверждена высокая диагностическая значимость определения антител к рецептору ТТГ при верификации болезни Грейвса, в отличие от других патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.

Определено значение уровня апоптоза лимфоцитов, при котором чувствительность и специфичность метода были наивысшими (88,8% и 75% соответственно), равное 6,25%. Выявлено, что уровень апоптоза лимфоцитов менее 6,25% наблюдался у преобладающего большинства пациентов с болезнью Грейвса (88,8% случаев). Уровень этого показателя более 6,25% был выявлен у большинства пациентов с деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза и

пациентов с функциональной автономией ЩЖ (75% случаев), что позволяет рассматривать показатель уровня апоптоза лимфоцитов, как диагностически значимый при дифференциально-диагностической верификации болезни Грейвса от других патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.

Впервые выявлены достоверные иммунологические изменения при функциональной автономии ЩЖ, в том числе клеточных и гуморальных параметров иммунитета, цитокинового профиля и уровня апоптоза лимфоцитов, а также сильная зависимость от них уровня тироксина, что позволяет отнести это состояние к иммунозависимой патологии.

Это дает основания для проведения дальнейших исследований, направленных на разработку новых методов иммуотропных вмешательств, позволяющих повысить эффективность терапевтических мероприятий.

Практическая значимость

Разработан алгоритм дифференциальной диагностики различных патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.

На основании полученных в результате исследования данных определены иммунологические критерии, позволяющие с высокой степенью чувствительности и специфичности верифицировать болезнь Грейвса в структуре патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в работе эндокринологических отделений ГКБ №40, Медицинского центра «Диагностика-2000» г. Екатеринбурга. Научные выводы и практические рекомендации включены в учебный процесс студентов, врачей-интернов, клинических ординаторов лечебно-профилактического факультета УГМА, а также эндокринологов из ЛПУ Свердловской области, проходящих обучение на кафедре внутренних болезней №1 с курсом эндокринологии УГМА.

Апробация работы

Основные положения, составляющие содержание диссертации, доложены и обсуждены на II Объединенном иммунологическом форуме (Санкт-Петербург,

2008), и на Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные проблемы современной эндокринологии» (Москва, 2008). Диссертационная работа апробирована и обсуждена на заседании проблемной комиссии по аллергологии и иммунологии ИИФ УрО РАН.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 4 печатных работы, все в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Положения, выносимые на защиту

1. Все исследованные патологические состояния ЩЖ, проявляющиеся синдромом тиреотоксикоза имеют иммунологические механизмы формирования и достоверно отличаются по ряду иммунологических параметров от относительно здоровых лиц.
2. Характер взаимосвязей иммунологических параметров, реализующих развитие синдрома тиреотоксикоза, определяется его нозологической формой.
3. В структуре патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза, болезнь Грейвса имеет особенные иммунологические механизмы формирования, что позволяет верифицировать ее по ряду иммунологических критериев среди других форм синдрома тиреотоксикоза.
4. Иммунологическим критерием верификации функциональной автономии щитовидной железы и деструктивных форм синдрома тиреотоксикоза является уровень аутоантител к тиреоглобулину.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 209 источников (81 отечественного и 128 зарубежных). Работа иллюстрирована 1 схемой, 13 таблицами, 37 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы.

Работа выполнена на базе лаборатории иммунопатофизиологии (иммунологии онтогенеза) учреждения РАН Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (директор – академик РАН и РАМН В.А. Черешнев), отдела клинической иммунологии Областной детской клинической больницы №1 (главный врач - к.м.н. С.Н. Боярский) и Медицинского центра «Диагностика-2000» (директор - М.А. Сведенцова).

В исследование было включено 107 человек, подписавших добровольное информированное согласие на его проведение, среди них 77 пациентов с впервые выявленным в МЦ «Диагностика-2000» в 2006-2008 гг. синдромом тиреотоксикоза (медиана возраста 42,87 (30-52) год, в том числе 9 мужчин (медиана возраста 51 (46-60) год и 68 женщин (медиана возраста 42,5 (29,5-51) года. Группу сравнения составили 30 человек без патологии ЩЖ, среди них 27 женщин репродуктивного возраста (медиана возраста 30,5 (25-35) лет и 3 мужчин (медиана возраста 52,66 (45-58) год.

Всем пациентам, обратившимся в клинику, был установлен диагноз, подтвержденный результатами комплексного клинико-диагностического исследования, что позволило обеспечить репрезентативность выборки пациентов с тиреотоксикозом, проживающих в регионе легкого йодного дефицита, к которому относится г. Екатеринбург.

Исследуемые пациенты с синдромом тиреотоксикоза были разделены на 3 группы:

- 1 группа – пациенты с БГ – 44 человека в возрасте от 21 до 69 лет (средний возраст 43 года), из них 38 женщин и 6 мужчин.
- 2 группа – пациенты с ДФСТ – 21 человек в возрасте от 20 до 61 года (средний возраст 30 лет), из них 20 женщин и 1 мужчина.
- 3 группа – пациенты с ФА – 12 человек в возрасте от 35 до 81 года (средний возраст 61 год), из них 10 женщин и 2 мужчин.

Всем пациентам проводился следующий объем клинического и лабораторно-инструментального обследования:

1. Определение наличия и степени тяжести ЭОП у пациентов по классификации ЭОП, рекомендованной Европейской группой по изучению офтальмопатии Грейвса (EUGOGO) в 2007 г.
2. Определение уровня тиреотропного гормона (ТТГ), свободных фракций трийодтиронина и тироксина (cT_3 , cT_4) иммунохемилюминесцентным методом на автоматических анализаторах «Ахум», «Architect» («Abbot Division», USA) с использованием стандартных наборов реактивов.
3. УЗИ щитовидной железы с помощью аппаратов «Акусон Секвойя 512» «Акусон/Аспен», «Акусон X300» с линейным датчиком 7-10 МГц. Увеличенным считали объем ЩЖ, превышающий 18 мл у женщин и 25 мл у мужчин, рассчитанный по формуле J. Brunn (1981).
4. Пациентам с наличием очаговых образований в ЩЖ по результатам эхографии тонкоигольная аспирационная биопсия ЩЖ под ультразвуковым контролем с последующим цитологическим исследованием по стандартной методике.
5. Радиоизотопное сканирование щитовидной железы на гамма-камере SMV DST XL с использованием элюата ^{99m}Tc по стандартной методике.

Оценка состояния иммунной системы исследуемых проводилась с помощью лабораторных тестов, включавших определение широкого спектра иммунологических параметров: абсолютного количества лейкоцитов с подсчетом лейкоцитарной формулы; популяций и субпопуляций лимфоцитов ($CD3+$, $CD4+$, $CD8+$, $CD16+$, $CD20+$, $TNK+$, $HLADR+$ лимфоцитов) методом мембранной иммуофлюоресценции с использованием панели ФИТЦ-меченых моноклональных антител к мембранным CD-рецепторам («Сорбент», г. Москва); уровня апоптоза лимфоцитов с помощью окрашивания ФИТЦ-меченым аннексином V и 7-AAD; показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в тестах спонтанного и стимулированного микробными полисахаридами (зимозаном) фагоцитоза на модели поглощения частиц латекса; концентрации иммуноглобулинов A, M, G методом радиальной иммунодиффузии по Mancini G. Et al, 1965, и иммуноглобулина E общего методом твердофазного ИФА («Хема-медика», г. Москва); цитокинового профиля (ИФН- γ , ИЛ- 1β , ФНО- α , ИЛ-4)

методом ИФА в микропланшетном формате с регистрацией результатов на ридере «Multiscan Plus» фирмы «Labsystems» (Финляндия) с применением реактивов фирмы ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург); концентрации циркулирующих иммунных комплексов по Digeon et al. (1977) с использованием реагентов фирмы «Синтэко», г. Москва; концентрации антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ), антител к тиреопероксидазе (АТ-ТРО), иммунохемилюминесцентным методом на автоматических анализаторах «Ахум», «Architect» («Abbot Division», USA) с использованием стандартных наборов реактивов фирмы «Abbot», USA; концентрации антител к рецептору ТТГ (Ат-рТТГ) методом ИФА на автоматическом анализаторе «Personal Lab», фирмы «Adaltis», с использованием реагентов Medizym T.R.A. MEDIPAN GmbH. Всего выполнено 4696 иммунологических тестов.

Статистический анализ данных проводили с помощью пакета STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001) и Microsoft Excel 2007. Для описания групп использовали квартильный анализ. При сравнении независимых выборок использовали критерий Манна-Уитни (показатель T), для сравнения нескольких групп количественных данных – тест Краскала-Уоллиса (критерий H). Для сравнения относительных показателей использовали критерий χ^2 . Данные в тексте и графике представлены в виде Me (P25%-P75%), где Me – медиана; P25%-P75% – 1-й и 3-й квартили. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе клинико-генеалогических данных достоверных различий между исследуемыми группами по частоте встречаемости клинических признаков синдрома тиреотоксикоза не выявлено, за исключением патогномоничного для болезни Грейвса (БГ) признака – эндокринной офтальмопатии (ЭОП), что позволяет верифицировать БГ в структуре синдрома тиреотоксикоза (чувствительность признака – 68%, специфичность признака – 100%).

В родословных пациентов с БГ (рисунок 1) выявлена достоверно большая частота встречаемости болезни Грейвса ($\chi^2 = 23,5$, $p=0,000$), чем у пациентов с

ДФСТ и ФА и лиц, не имеющих патологии щитовидной железы, что совпадает с данными Савостьянова К.В. и др., 2004.

У родственников пациентов с деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза наблюдалась более высокая частота встречаемости аутоиммунного тиреоидита ($\chi^2 = 8,07$, $p=0,0045$).

В группе лиц с функциональной автономией отмечалась достоверно повышенная частота встречаемости узлового токсического зоба у родственников ($\chi^2 = 4,67$, $p=0,03$). Это также согласуется с данными других исследователей (Лаурберг П., 2001, Сироткин В.М. и соавт., 1979).

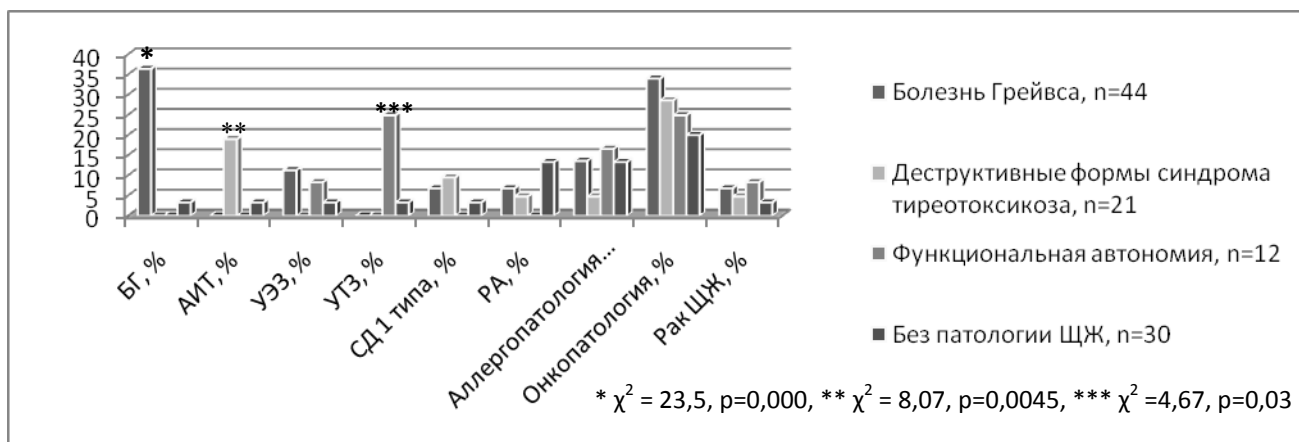


Рисунок 1 – Частота факторов, отягощающих наследственность в группах лиц с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза и лиц без патологии ЩЖ.

Примечания: по оси абсцисс – исследуемые заболевания: БГ – болезнь Грейвса, АИТ – аутоиммунный тиреоидит, УЭЗ – узловой эутиреоидный зоб, УТЗ – узловой токсический зоб, СД 1 типа – сахарный диабет 1 типа, ДФСТ – деструктивные формы синдрома тиреотоксикоза, ФА – функциональная автономия ЩЖ, по оси ординат – значения показателей в % от группы.

Лабораторно-инструментальное исследование выявило следующее.

Группы лиц с деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза и лиц с функциональной автономией ЩЖ не имели достоверных отличий друг от друга по лабораторно-инструментальным показателям, но достоверно отличались от группы лиц с БГ.

Группа лиц с болезнью Грейвса по всем показателям, кроме объема ЩЖ, достоверно отличалась от групп лиц с деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза, функциональной автономией ЩЖ и лиц без патологии ЩЖ. Объем ЩЖ у лиц с болезнью Грейвса был достоверно выше, чем у лиц с деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза и лиц без патологии ЩЖ,

но не имел достоверных отличий от соответствующего показателя лиц с функциональной автономией ЩЖ.

Эти данные свидетельствуют о более выраженном нарушении функции ЩЖ при БГ и меньшей выраженности синдрома тиреотоксикоза в группах с ДФСТ и ФА.

При сравнительном анализе параметров гемограммы выявлено, что абсолютное и относительное количество моноцитов у лиц с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза было достоверно более высоким, чем у лиц без патологии ЩЖ.

Выявлено достоверное снижение относительного количества фагоцитирующих нейтрофилов, как в тестах спонтанного, так и стимулированного фагоцитоза в группах лиц с БГ и ФА по сравнению с группой лиц с ДФСТ и лицами контрольной группы.

В группах лиц с БГ выявлено достоверное снижение относительного количества HLA DR+лимфоцитов по сравнению с пациентами с ФА и лицами контрольной группы, других достоверных отличий выявлено не было.

Достоверно более высоким был уровень Ig G в сыворотке крови у пациентов с БГ и ДФСТ, по сравнению с группой пациентов с ФА, что может быть связано с выраженной антителопродукцией антитиреоидных антител у лиц с БГ и лиц с ДФСТ.

Также выявлены достоверные отличия уровня антитиреоидных аутоантител (АТ-ТГ и АТ-ТПО) у пациентов с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза и лиц без патологии щитовидной железы. Наиболее высокий уровень этих параметров отмечен в сыворотке крови пациентов с БГ, которые достоверно отличались по соответствующим параметрам от пациентов с ДФСТ и ФА, также как и по уровню АТ-рТТГ, который был достоверно выше у группы лиц с БГ, чем в других группах. Уровень антител к тиреоглобулину у пациентов с ДФСТ был достоверно выше, чем у пациентов с ФА, а уровни АТ-ТПО и АТ-рТТГ у пациентов с ДФСТ и у пациентов с ФА не имели достоверных отличий (рисунок 2). При сравнительном анализе цитокинового профиля у лиц с патологическими

состояниями ЩЖ выявлено достоверное превышение уровня ИЛ-1 β у пациентов с БГ, по сравнению с группами лиц с ДФСТ и ФА, при этом и уровень ИЛ-4 у

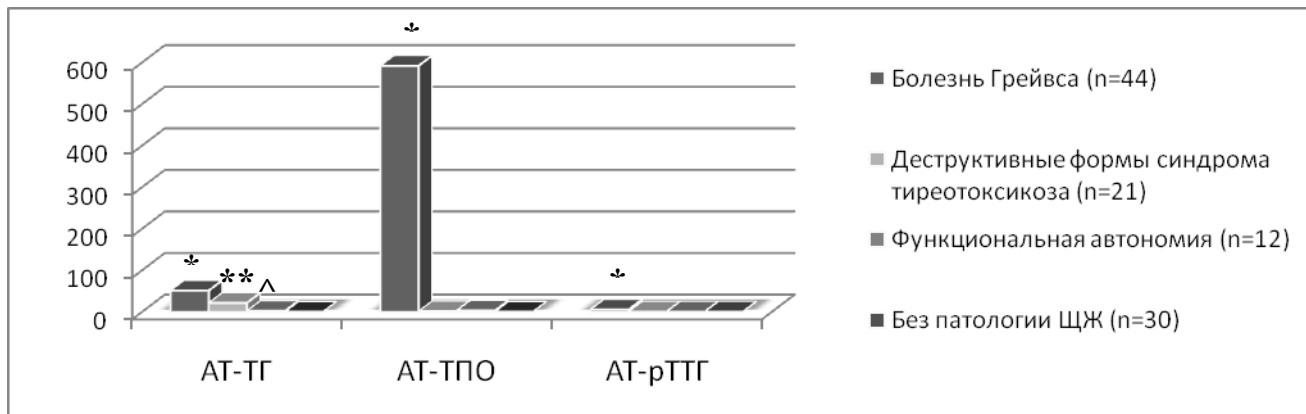


Рисунок 2 - Уровни антитиреоидных аутоантител у пациентов с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза и лиц без патологии ЩЖ.

Примечание: По оси абсцисс – показатели уровня антитиреоидных антител. По оси ординат – значения медиан показателей. AT-TG – антитела к тиреоглобулину, AT-TPO – антитела к тиреоидной пероксидазе, AT-rTTG – антитела к рецептору ТТГ, МЕ/л, * - достоверность отличия показателей группы пациентов с БГ от остальных групп пациентов с синдромом тиреотоксикоза ($p < 0,05$), ** - достоверность отличия показателей группы пациентов с ДФСТ от остальных групп пациентов с синдромом тиреотоксикоза ($p < 0,05$), ^ - достоверность отличия показателя группы пациентов с ФА от остальных групп пациентов с синдромом тиреотоксикоза ($p < 0,05$).

лиц с БГ был достоверно выше, чем у лиц с ДФСТ, что может свидетельствовать об иницировании и активации иммунного ответа Th2-типа у них.

Напротив, достоверно более низкий уровень ИЛ-1 β и ИЛ-4 у пациентов с ДФСТ по сравнению с лицами с БГ может свидетельствовать об отсутствии активного иммунного воспаления (рисунок 3), что согласуется с данными исследования Phenekos C. et al., 2004.

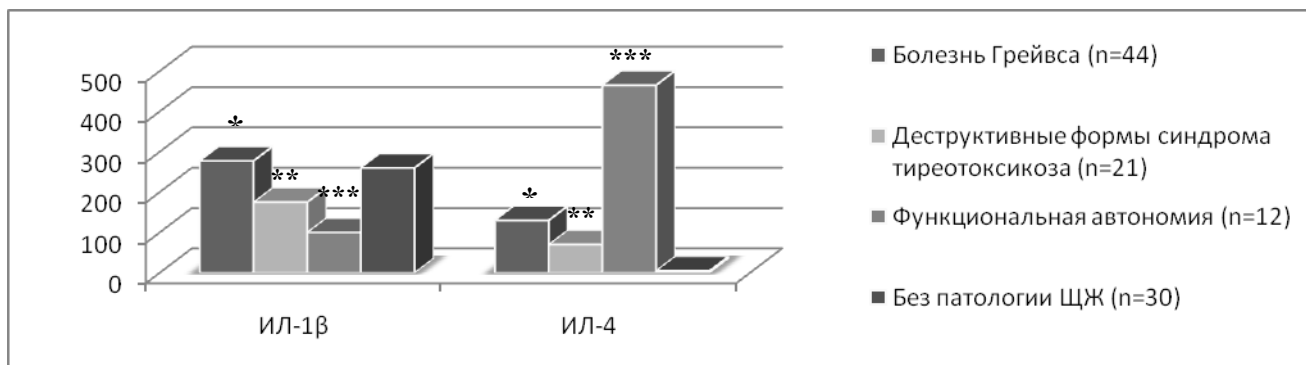


Рисунок 3 – Показатели цитокинового профиля пациентов с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза и лиц без патологии ЩЖ.

Примечание: по оси абсцисс – показатели цитокинового профиля. По оси ординат – значения медиан показателей, * - достоверность отличия показателей группы пациентов с БГ от остальных групп пациентов с синдромом тиреотоксикоза ($p < 0,05$), ** - достоверность отличия показателей группы пациентов с ДФСТ от остальных групп пациентов с синдромом тиреотоксикоза ($p < 0,05$), *** - достоверность отличия показателя группы пациентов с ФА от остальных групп пациентов с синдромом тиреотоксикоза ($p < 0,05$).

При ФА цитокиновый профиль характеризовался достоверно более низким уровнем ИЛ-1 β и более высоким уровнем ИЛ-4, чем при БГ и ДФСТ, что может свидетельствовать о дисрегуляции Т-хелперных функций при реализации иммунного ответа, который запущен по Th2 типу, возможно генетической детерминированностью его.

При проведении корреляционного анализа в группах пациентов с синдромом тиреотоксикоза выявлены множественные взаимосвязи, основными из которых являются следующие:

При БГ:

- сильная обратная зависимость уровня ИЛ-1 β и количества CD4+лимфоцитов ($r = -0,65$, $p = 0,006$),
- сильная прямая зависимость уровня ИЛ-1 β и концентрации Ig A в сыворотке крови ($r = 0,64$, $p = 0,006$),
- сильная прямая зависимость сывороточного уровня ИЛ-4 и индекса Eo/Mo*fT3 ($r = 0,97$, $p = 0,0004$),

что обосновывает активацию иммунного ответа по Th2 типу с выраженной антителопродукцией у данной категории больных;

При ДФСТ:

- сильная прямая зависимость уровня ТТГ в сыворотке крови и индекса Eo/Mo*fT3 ($r = 0,69$, $p = 0,0006$),
- сильная прямая зависимость объема ЩЖ и относительного количества CD3+CD56+лимфоцитов ($r = 0,58$, $p = 0,02$),
- сильная обратная зависимость сывороточной концентрации АТ-ТГ и общего количества лейкоцитов ($r = -0,54$, $p = 0,01$),
- сильная обратная зависимость уровня АТ-ТГ в сыворотке крови и стимулированного количества фагоцитирующих нейтрофилов ($r = -0,51$, $p = 0,02$),
- сильная обратная зависимость АТ-ТПО и CD4+лимфоцитов ($r = -0,57$, $p = 0,006$),

что свидетельствует о непосредственном влиянии иммунной системы на нарушение функции ЩЖ и увеличение ее объема, а также может косвенно свидетельствовать о направленности иммунного ответа по Th2 типу со слабо выраженной аутоантителопродукцией при ДФСТ;

При ФА выявлено самое большое количество сильных взаимосвязей иммунологических параметров и параметров, отражающих функционирование щитовидной железы, а именно:

- сильная прямая зависимость уровня ТТГ в сыворотке крови и индекса $E_0/M_0 \cdot fT_3$ ($r=0,94$, $p=0,000$),
- сильная прямая зависимость сывороточной концентрации свободного тироксина и относительного количества HLA-DR+лимфоцитов ($r=0,84$, $p=0,01$),
- сильная прямая зависимость уровня АТ-ТГ и объема ЩЖ ($r=0,81$, $p=0,001$);
- сильная обратная зависимость сывороточной концентрации ТТГ и количества CD20+лимфоцитов ($r=-0,67$, $p=0,02$),
- сильная обратная зависимость уровня сТЗ в сыворотке крови и абсолютного количества палочкоядерных гранулоцитов ($r=-0,58$, $p=0,04$),
- сильная обратная зависимость уровня сТ4 в сыворотке крови и индекса $E_0/M_0 \cdot fT_3$ ($r=-0,61$, $p=0,03$),
- сильная обратная зависимость объема ЩЖ и абсолютного количества палочкоядерных гранулоцитов ($r=-0,61$, $p=0,03$),
- сильная обратная зависимость уровня ИЛ-1 β и абсолютного количества эозинофильных гранулоцитов ($r=-0,97$, $p=0,004$),
- сильная обратная зависимость уровня ИЛ-1 β в сыворотке крови и спонтанного количества фагоцитирующих нейтрофилов ($r=-0,9$, $p=0,03$).

Эти данные являются свидетельством непосредственного влияния иммунных процессов на нарушение функции ЩЖ и увеличение ее объема у лиц с ФА, что позволяет впервые отнести данную патологию к иммунозависимой патологии.

Выявлено, что уровень апоптоза лимфоцитов у лиц без патологии щитовидной железы был невысок, медианное значение его составило 4,3% (3,6-5,6 в квартилях). Эти значения могут быть расценены как нормативные.

При сравнительном анализе уровня апоптоза лимфоцитов не выявлено отличий по этому параметру у пациентов с БГ и лиц без патологии ЩЖ. Это свидетельствует об отсутствии нарушений процессов апоптоза лимфоцитов при болезни Грейвса. У пациентов с ДФСТ и ФА, напротив, уровень апоптоза оказался в 1,8 раза выше, чем у пациентов с БГ и лиц контрольной группы. Однако не выявлено достоверных различий между группами пациентов с ДФСТ и ФА по этому параметру, что свидетельствует о высокой активности процессов апоптоза лимфоцитов при этих патологических состояниях.

Корреляционный анализ уровня апоптоза лимфоцитов в исследуемых группах выявил множественные прямые и обратные взаимосвязи с лабораторно-инструментальными показателями, параметрами гемограммы, клеточными параметрами иммунитета и факторами неспецифической защиты (рисунок 4).

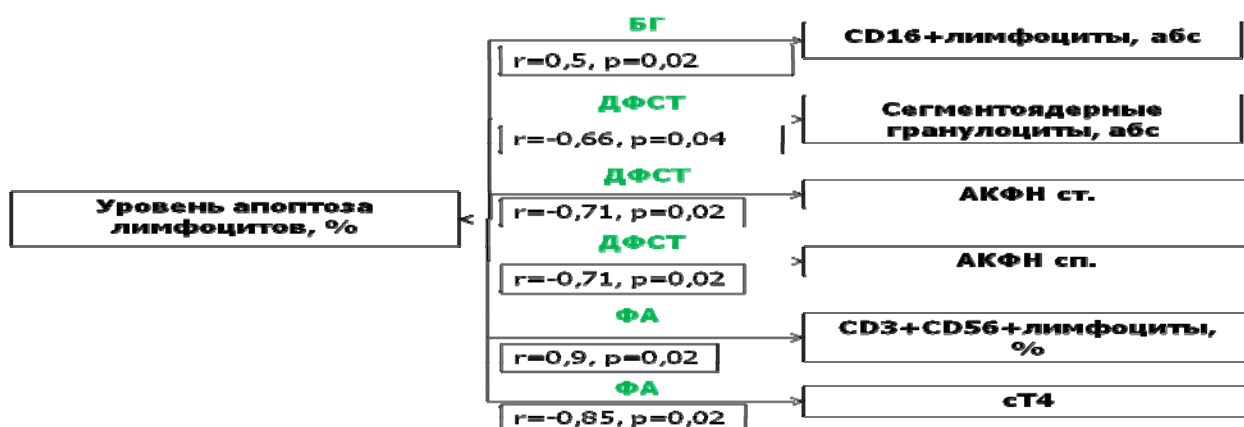


Рисунок 4 - Корреляционные связи уровня апоптоза лимфоцитов у лиц патологическими состояниями щитовидной железы, проявляющимся синдромом тиреотоксикоза.

Примечание: БГ - болезнь Грейвса, ДФСТ – деструктивные формы синдрома тиреотоксикоза, ФА – функциональная автономия, АКФН сп. – спонтанное абсолютное количество фагоцитирующих нейтрофилов, АКФН ст. – спонтанное абсолютное количество фагоцитирующих нейтрофилов, сТ4 – уровень свободного тироксина, абс. – абсолютные значения, % - относительные значения, r – коэффициент корреляции Спирмена.

При БГ:

- сильная прямая зависимость уровня апоптоза лимфоцитов от абсолютного количества CD16+лимфоцитов ($r=0,5, p=0,02$),

что может свидетельствовать о влиянии апоптоза лимфоцитов на клеточные параметры иммунитета, в том числе киллерную активность и наоборот.

При ДФСТ:

- сильная обратная зависимость уровня апоптоза лимфоцитов и абсолютного количества сегментоядерных гранулоцитов ($r=-0,66, p=0,04$),

- сильная обратная зависимость уровня апоптоза лимфоцитов и спонтанного количества фагоцитирующих нейтрофилов ($r=-0,71$, $p=0,02$),

- сильная обратная зависимость между стимулированным количеством фагоцитирующих нейтрофилов ($r=-0,71$, $p=0,02$),

то есть, чем выше был уровень апоптоза, тем меньшими были параметры нейтрофильного фагоцитоза, и наоборот.

При ФА ЩЖ:

- очень сильная прямая зависимость уровня апоптоза лимфоцитов и относительного количества CD3+CD56+лимфоцитов ($r=0,9$, $p=0,02$),

- сильная обратная зависимость уровня апоптоза лимфоцитов и концентрации сТ4 ($r=-0,85$, $p=0,02$),

что может свидетельствовать о взаимосвязи уровня апоптоза лимфоцитов и киллерной активностью Т-лимфоцитов, и о взаимосвязи уровня апоптоза лимфоцитов с уровнем продукции тиреоидных гормонов, что можно расценить как попытку со стороны иммунной системы предотвратить развитие тиреотоксикоза при утрате контроля за тиреоцитами со стороны гипофиза, что может объяснить наименьшую выраженность синдрома тиреотоксикоза у пациентов с функциональной автономией щитовидной железы.

Но при этом патологическом процессе уровень последних был в 1,5 раза ниже, чем при болезни Грейвса, а процессы апоптоза были более выражены, что и составляет принципиальное отличие этой исследуемой группы больных от пациентов с другими формами синдрома тиреотоксикоза.

Таким образом, полученные данные позволяют выделить иммунопатогенетические различия синдрома тиреотоксикоза при исследуемых нозологических формах патологии щитовидной железы.

Так, при БГ был ярко выражен синдром тиреотоксикоза, аутоиммунный процесс характеризовался продукцией стимулирующих продукцию гормонов в тиреоцитах антитиреоидных аутоантител (АТ-рТТГ) и значительным увеличением объема ЩЖ. При этом апоптоз лимфоцитов оставался на том же уровне, что и у лиц без патологии щитовидной железы. Это может свидетельствовать о пролиферативной направленности патологических

процессов при БГ на фоне выраженного аутоиммунного воспаления, реализуемого через механизмы аутоантителопродукции.

При менее выраженном синдроме тиреотоксикоза, нарушения аутоиммунитета у лиц с ДФСТ характеризовались продукцией деструктивных аутоантител (АТ-ТПО, АТ-ТГ), объем ЩЖ не был увеличен по сравнению с лицами без патологии ЩЖ. При этом уровень апоптоза лимфоцитов превышал в 1,8 раза значения соответствующего показателя у лиц без патологии щитовидной железы, что может свидетельствовать о деструктивной направленности иммунных процессов при этой патологии.

При ФА синдром тиреотоксикоза характеризуется слабой выраженностью, незначительной продукцией аутоантител (АТ-ТПО), выраженным увеличением объема ЩЖ и уровнем апоптоза лимфоцитов, превышающем в 1,8 раза таковой у лиц без патологии щитовидной железы, что может свидетельствовать о пролиферативной направленности иммунных процессов без выраженного воспаления при этой патологии.

Была проанализирована информационная ценность традиционно применяемых иммунологических методов диагностики патологических состояний щитовидной железы, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза с помощью определения уровней антитиреоидных аутоантител (АТ-ТГ, АТ-ТПО, АТ-рТТГ) в сыворотке крови (таблица 1).

Таблица 1 – Аутоантитела к тканям щитовидной железы у пациентов с синдромом тиреотоксикоза

Группа	Антитела к тиреоглобулину		Антитела к тиреопероксидазе		Антитела к рецептору ТТГ	
	выше нормы	норма	выше нормы	норма	выше нормы	норма
Болезнь Грейвса	40 – 95%	2 – 5%	37– 88,1%	5 –11,9%	39 – 92,8%	3 – 7,2%
Отличия болезни Грейвса от деструктивных форм синдрома тиреотоксикоза и функциональной автономии	$\chi^2=19,47, p=0,000$		$\chi^2=37,68, p=0,000$		$\chi^2=45,32, p=0,000$	
Деструктивные формы синдрома тиреотоксикоза	13 – 65%	7 – 35%	9 – 27,2%	24 –2,8%	3 – 9,4%	29 – 90,6%
Функциональная автономия	3 – 25%	9 – 75%				

Отличия функциональной автономии и деструктивных форм синдрома тиреотоксикоза	$\chi^2=4,8, p=0,02$				
---	----------------------	--	--	--	--

Примечание: цифры в таблице представляют количество человек, имеющих указанный признак и в % от группы.

Для этого была определена диагностическая чувствительность и специфичность каждого показателя следующим образом: чувствительность метода = $\text{ИП}/(\text{ИП}+\text{ЛО}) \times 100\%$; специфичность метода = $\text{ИО}/(\text{ИО}+\text{ЛП}) \times 100\%$; где ИП - истинно положительные, ИО - истинно отрицательные, ЛП - ложно положительные, ЛО - ложно отрицательные результаты.

Рассчитанная диагностическая чувствительность АТ-ТГ в диагностике БГ составила 95,2%, специфичность АТ-ТГ – 53,1%; диагностическая чувствительность АТ-ТПО – 88%, специфичность – 72,7%.

Диагностическая чувствительность метода определения АТ-ТГ в дифференциальной диагностике ДФСТ и ФА составила 65%, специфичность – 75%, что позволяет применять этот показатель в дифференциальной диагностике деструктивных форм синдрома тиреотоксикоза и функциональной автономии щитовидной железы.

Диагностическая чувствительность определения АТ-рТТГ в дифференциальной диагностике БГ составила 88,1%, специфичность – 90,6%.

Также оценивали значение индекса **Ео/Мо*fТЗ**, предложенного Izumi et al., 2002, где Ео – эозинофильные гранулоциты, Мо – моноциты, fТЗ – концентрация свободного трийодтиронина в сыворотке крови. Авторы индекса применили его с целью дифференциальной диагностики БГ от безболевого и подострого тиреоидитов, по данным этого исследования 85,7% пациентов с безболевым и подострым тиреоидитом имели значения индекса **Ео/Мо*fТЗ** <4,5.

В наших исследованиях индекс **Ео/Мо*fТЗ** впервые был применен для дифференциальной диагностики БГ, ДФСТ и ФА ЩЖ. Учитывая, что Izumi et al. определили диагностически значимый показатель индекса **Ео/Мо*fТЗ=4,5**, нами были выделены пациенты во всех группах лиц с патологическими состояниями, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза со значениями этого индекса больше 4,5 и меньше 4,5. Было выявлено, что значения индекса **Ео/Мо*fТЗ**

достоверно отличались у пациентов с патологическими состояниями ЩЖ, проявляющимися синдромом тиреотоксикоза друг от друга, причем у пациентов с БГ ($\chi^2=4,12$, $p<0,05$) этот показатель достоверно превышал его значения у пациентов с ДФСТ и ФА. При этом значения индекса $E_0/M_0 \cdot fT_3$ у пациентов с ДФСТ и ФА достоверно не отличались.

Таким образом, мы могли резюмировать, что индекс $E_0/M_0 \cdot fT_3$, значение которого $>4,5$ было характерно для пациентов с БГ (чувствительность – 76,5%, специфичность – 68,7%), может использоваться для верификации БГ в структуре других патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.

Также нами было рассчитано значение уровня апоптоза лимфоцитов, равное 6,25%, при котором чувствительность и специфичность были наивысшими. У пациентов с болезнью Грейвса значение этого показателя составило $<6,25\%$ в 88,8% случаев, а уровень этого показателя более 6,25% - был характерен для пациентов с деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза и функциональной автономией ЩЖ в 75% случаев. Это также позволяет рассматривать показатель уровня апоптоза лимфоцитов, как диагностически значимый при дифференциации болезни Грейвса от других патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза.

Учитывая выраженные отличия содержания аутоантител к тиреоглобулину в сыворотке крови у пациентов с БГ по сравнению с пациентами с ДФСТ и ФА, и достоверно отличающийся уровень апоптоза у этих пациентов, а также то, что ни один из описанных выше иммунологических методов диагностики не дает 100%-ной чувствительности и специфичности при дифференциальной диагностике патологических состояний ЩЖ, проявляющихся синдромом тиреотоксикоза, мы вывели индекс отношения уровня апоптоза к уровню АТ-рТТГ в сыворотке крови (Апо/АТ-рТТГ), значения которого были достоверно ниже у пациентов с БГ, чем у пациентов с ДФСТ и ФА ($H=22,5$, $p=0,000$). Выявлено, что значение этого индекса ниже 4,5 характерно только для пациентов с болезнью Грейвса, у пациентов с деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза и функциональной автономией значения этого показателя во всех случаях

превышали 4,5, что свидетельствует о 100%-ной чувствительности и специфичности предложенного нами индекса Апо/АТ-рТТГ для верификации БГ в структуре синдрома тиреотоксикоза. Выполненные исследования позволили нам усовершенствовать алгоритм дифференциальной диагностики синдрома тиреотоксикоза (рисунок 5).



Рисунок 5 – Алгоритм дифференциальной диагностики синдрома тиреотоксикоза

Таким образом, проведенные исследования позволили сделать следующие

ВЫВОДЫ:

1. При синдроме тиреотоксикоза отсутствуют достоверные клинические критерии, отражающие патогенез поражений щитовидной железы, за исключением случаев эндокринной офтальмопатии при болезни Грейвса
2. В родословной лиц с синдромом тиреотоксикоза прослеживается достоверно более высокая частота встречаемости случаев поражения щитовидной железы различными патологическими процессами, чем у лиц без патологии щитовидной железы.
3. Синдром тиреотоксикоза отличает достоверное снижение уровня ТТГ в сыворотке крови, с повышением уровня тиреоидных гормонов, наиболее значительными при болезни Грейвса, а также увеличение объема щитовидной железы, наименее выраженное при деструктивных формах синдрома тиреотоксикоза.

4. Иммунологические нарушения при болезни Грейвса характеризуются пролиферативной направленностью с выраженной аутоантителопродукцией как традиционно определяемых антитиреоидных аутоантител, в десятки раз превышающих таковую при других формах синдрома тиреотоксикоза, так и антител к рецептору ТТГ, параметры цитокинового профиля свидетельствуют об инициации и активации иммунного ответа Th2 типа, а уровень апоптоза лимфоцитов не отличается от относительно здоровых лиц.
5. Деструктивные формы синдрома тиреотоксикоза характеризует выраженная продукция аутоантител деструктивной направленности, отсутствие аутоантител, стимулирующих продукцию гормонов, активация апоптоза лимфоцитов, отсутствие активного воспаления и адекватного иммунного контроля за патологическим процессом в щитовидной железе.
6. Функциональная автономия щитовидной железы характеризуется такими же иммунологическими изменениями, как деструктивные формы синдрома тиреотоксикоза, достоверно отличаясь только более низким уровнем аутоантител к тиреоглобулину и наличием множества взаимосвязей иммунологических параметров и функцией щитовидной железы, что позволяет отнести данный вид патологии к иммунозависимой патологии.
7. Уровень апоптоза лимфоцитов при болезни Грейвса, достоверно меньший, чем при деструктивных формах синдрома тиреотоксикоза и функциональной автономии, свидетельствует об отличии иммунологических механизмов их формирования и позволяет рассматривать его как диагностически значимый в дифференциальной диагностике этих состояний;
 - при деструктивных формах синдрома тиреотоксикоза уровень апоптоза лимфоцитов сопровождается сильной обратной зависимостью с количеством гранулоцитов, в том числе фагоцитирующих, что сопровождается антителозависимой деструкцией тиреоцитов;
 - при функциональной автономии щитовидной железы высокий уровень апоптоза лимфоцитов имеет сильную прямую зависимость от Т-

лимфоцитов с киллерной активностью и обратную от уровня тиреоидных гормонов, свидетельствуя о непосредственном влиянии иммунных механизмов на развитие синдрома тиреотоксикоза.

8. Показатели уровня АТ-рТТГ, апоптоза лимфоцитов, индексов $E_0/M_0 * fT_3$ и $A_{po}/A_{T-рТТГ}$ являются диагностически значимыми и позволяют надежно верифицировать болезнь Грейвса в структуре синдрома тиреотоксикоза, а показатель уровня АТ-ТГ позволяет проводить дифференциальную диагностику между деструктивными формами синдрома тиреотоксикоза и функциональной автономией ЩЖ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с впервые выявленным синдромом тиреотоксикоза следует определять индексы $E_0/M_0 * fT_3$ и $A_{po}/A_{T-рТТГ}$, уровень антител к рецептору ТТГ в сыворотке крови и уровень апоптоза лимфоцитов с целью верификации болезни Грейвса в структуре синдрома тиреотоксикоза.
2. Дифференцировать деструктивные формы синдрома тиреотоксикоза и функциональную автономию щитовидной железы становится возможным при использовании для этого определение уровня АТ-ТГ.
3. Для оптимизации дифференциально-диагностического процесса целесообразно использовать разработанный нами алгоритм действий, что позволит в последующем повысить эффективность терапевтических мероприятий.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИТ – аутоиммунный тиреоидит

$A_{po}/A_{T-рТТГ}$ – индекс соотношения показателя уровня апоптоза лимфоцитов и показателя уровня антител к рецептору ТТГ в сыворотке крови

АТ-ТГ – антитела к тиреоглобулину

АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе

АТ- рТТГ – антитела к рецептору ТТГ

БГ – болезнь Грейвса

ДФСТ – деструктивные формы синдрома тиреотоксикоза

ИЛ-1 β – интерлейкин-1 β

ИЛ-4 – интерлейкин-4

ИФН- γ – интерферон- γ

КГ – контрольная группа

ПТ – подострый тиреоидит

сТ3 – свободный трийодтиронин

сТ4 – свободный тироксин

ТТГ – тиреотропный гормон

УТЗ с ФА – узловой токсический зоб с функциональной автономией

ФА ЩЖ – функциональная автономия щитовидной железы

ЩЖ – щитовидная железа

CD – cell differentiation antigens или cluster definition – антигены кластеров дифференцировки клеток

HLA-DR – общий маркер моноцитов, В-лимфоцитов и активированных Т-лимфоцитов

Ео/Мо* fT_3 – индекс соотношения количества эозинофильных гранулоцитов/количество моноцитов* концентрацию свободного трийодтиронина в периферической крови

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Дрометр Д.А. Иммунологические параметры в диагностике различных форм синдрома гипертиреоза / Д.А. Дрометр, И.А. Тузанкина, А.В. Кияев, В.Н. Шершнев // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2008. - № 1. – С. 28-30.

2. Дрометр Д.А. Апоптотическая активность лимфоцитов при патологических состояниях щитовидной железы, сопровождающихся синдромом тиреотоксикоза / Д.А. Дрометр, И.А. Пашнина, И.А. Тузанкина // Российский аллергологический журнал. – 2009. – № 3, вып.1. – С.343.

3. Дрометр Д.А. Уровень апоптоза лимфоцитов при некоторых заболеваниях щитовидной железы / Д.А. Дрометр, И.А. Тузанкина, И.А. Пашнина // Российский иммунологический журнал. - 2008. – Т.2(11), №2-3. – С.237.

4. Дрометр Д.А. Иммунологические аспекты дифференциальной диагностики синдрома тиреотоксикоза / Д.А. Дрометр, И.А. Тузанкина, А.В. Кияев // Клиническая и экспериментальная тиреодология. - 2007. – Т.3, № 1. – С. 18-23.

ДРОМЕТР
ДМИТРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ
ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ,
СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ СИНДРОМОМ ТИРЕОТОКСИКОЗА

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук