

На правах рукописи



Недосекова Юлия Васильевна

**ОСОБЕННОСТИ ЭТИОЛОГИИ И ИММУНОПАТОГЕНЕЗА
АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА И ДИФФУЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО
ЗОБА**

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

**Уразова
Ольга Ивановна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

**Агафонов
Владимир Иванович**

кандидат медицинских наук

**Саприна
Татьяна Владимировна**

Ведущая организация:

Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ терапии СО РАМН (630089, Новосибирская обл., г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1)

Защита состоится «___» _____ 2011 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (634050, г. Томск, Московский тр., 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России.

Автореферат разослан «___» мая 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Петрова И.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Среди широкого спектра заболеваний эндокринной системы в последние годы наблюдается значительный рост выявления и первичной регистрации заболеваний щитовидной железы. До 70% больных, попадающих на амбулаторный прием эндокринолога, обращаются в связи с необходимостью обследования щитовидной железы [Фадеев В.В., 2009].

В структуре тиреоидной патологии одно из ведущих мест принадлежит аутоиммунным тиреопатиям (аутоиммунному тиреоидиту и диффузному токсическому зобу). Аутоиммунные тиреопатии (АИТП) относятся к группе сложных полигенных болезней, развитие которых определяется множеством эндогенных (в том числе генетических) и экзогенных факторов, провоцирующих возникновение аутоиммунного повреждения щитовидной железы. АИТП представляют значимую медико-социальную проблему, требующую радикальных мер устранения. В этой связи своевременная диагностика и лечение АИТП является одной из важнейших и актуальных проблем современной эндокринологии [Герасимов Г.А., 2007; Сальменбаева С.К., 2009].

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) является одним из наиболее распространенных заболеваний щитовидной железы. 3-4% населения земного шара страдают АИТ [Bednarczyk T. et al., 2007; Douglas R.S. et al., 2007]. Согласно литературным данным, АИТ чаще встречается у женщин в возрасте 40-50 лет (соотношение женщин и мужчин составляет 10-15:1), но может отмечаться и в более молодом возрасте [Балаболкин М.И., 2007; Александров А.А., 2008; Greenstein B., Wood D.F., 2008]. Диффузным токсическим зобом (ДТЗ) ежегодно заболевают 15-20 человек взрослого населения из 100 тыс. представителей «белой» расы. Женщины болеют в 5-7 раз чаще, чем мужчины [Дрометр Д.А. и соавт., 2007; Фадеев В.В., 2010].

Реализация генетической предрасположенности к АИТП зависит от наличия и действия многих факторов окружающей среды. При этом предполагается, что состояние иммунитета занимает одну из ключевых позиций в индукции, определении характера течения и исходов АИТП [Кандрор В.И., 2004; Khoo T.K. et al., 2007; Wen W.B. et al., 2007]. Реакции клеточного иммунитета играют главную роль в развитии и поддержании аутоиммунной реакции при АИТП. Факт участия цитотоксических Т-лимфоцитов, макрофагов и дендритных клеток в патогенезе АИТП является абсолютно доказанным, однако факторы их аккумуляции в щитовидной железе и функциональной дезорганизации остаются неустановленными [Субхангулов З.М. и соавт., 2007; Генделека Г.Ф., 2010].

На данный момент расширяются сведения о триггерных факторах аутоиммунной агрессии, инициирующих срыв естественной толерантности и развитие анти-тиреоидных иммунных реакций. Считается, что одним из наиболее вероятных этиологических факторов, способных инициировать развитие АИТП, могут служить инфекционные агенты. Показана возможность развития АИТП на фоне ряда вирусных инфекций (вызванных вирусами Коксаки, ЕСНО, Эпштейна-Барр, кори, краснухи и др.) [Кандрор

В.И., 2005; Балаболкин М.И., 2007; Александров А.А. и соавт., 2008; Галян Е.В. и соавт., 2009]. В то же время вклад конкретных видов вирусов в развитие АИТП до сих пор четко не определен.

В последнее десятилетие стало очевидным, что возникновение аутоагрессивных клонов лимфоцитов при АИТП в значительной степени обусловлено нарушением процессов пролиферации и «выбраковки» дефектных лимфоидных клеток по механизму запрограммированной гибели – апоптоза [Космачева С.М. и соавт., 2005]. Помимо разнообразных нарушений регуляции апоптоза иммунокомпетентных клеток в патогенезе АИТП значение придается также механизмам апоптоза собственно тиреоцитов, активно изучается способность самой щитовидной железы (а точнее, ее продуктов – гормонов) модулировать процессы апоптоза. В настоящее время сформулированы несколько гипотез, в которых основополагающая роль в процессах тиреоидной деструкции при АИТ и болезни Грейвса отводится Fas- и TRAIL-индуцированному апоптозу тиреоцитов. Известно также, что процесс индукции цитокинами Fas-апоптоза тиреоидных клеток может блокироваться тиреотропным гормоном [Пивень Н.В. и соавт., 2001; Трошина Е.А., 2007]. Однако в мировой научной литературе четко не определены провоцирующие факторы запуска либо торможения апоптоза как иммунокомпетентных, так и тиреоидных клеток при АИТП, не освещены вопросы динамики изменений цитокинового профиля и характера влияния цитокинов на процессы апоптоза аутореактивных иммуноцитов на этапах эволюции АИТП. Очевидно, что провоспалительные цитокины могут также принимать участие в регуляции иммунозависимого апоптоза клеток щитовидной железы [Зуева А.А. и соавт., 2009]. Выявление конкретных патогенетических факторов и механизмов дизрегуляции апоптоза иммунокомпетентных клеток крови (лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов) и тиреоцитов при АИТП позволит определить причины их формирования и, следовательно, сформулировать патогенетически обоснованные методологические подходы к коррекции иммунопатологических изменений, составляющих основу их развития.

Понимание интимных механизмов дизрегуляции иммунитета в развитии АИТП представляется весьма важным еще и с тех позиций, что изменения в иммунной системе при данной патологии могут выявляться задолго до клинической манифестации заболевания и определять характер и тяжесть течения болезни [Кадричева С.Г., 2005; Кветной И.М., 2006]. Это позволяет полагать, что уточнение молекулярных механизмов иммунного дисбаланса при АИТП, их взаимосвязи с активностью аутоиммунного повреждения щитовидной железы и выраженностью клинических проявлений заболевания может оказаться основой для разработки новых подходов к диагностике, прогнозированию исходов и, что особенно важно, патогенетически обоснованной иммунотерапии АИТП. Полученные данные позволят создать теоретическую базу и обосновать комплексный подход к лечению аутоиммунного тиреоидита и диффузного токсического зоба.

Цель исследования: охарактеризовать особенности Th1-цитокинового профиля крови, рецептор-экспрессирующей, пролиферативной и апоптотической активности лимфоцитов крови при аутоиммунном тиреоидите и диффузном токсическом зобе; определить связь аутоиммунных тиреопатий с инфекцией, вызванной вирусами группы герпеса.

Задачи исследования:

1. Установить общие закономерности и особенности спонтанной, митоген- и цитокинстимулированной пролиферации и Fas-опосредованного апоптоза лимфоцитов периферической крови у женщин с аутоиммунным тиреоидитом (в зависимости от функциональной активности щитовидной железы) и диффузным токсическим зобом.
2. Исследовать содержание цитокинов (IL-2, IFN- γ , TNF- α) в крови и уровень экспрессии на лимфоцитах комплементарных цитокинам рецепторов (CD25, CD119, CD120 α) у женщин с аутоиммунным тиреоидитом (в состоянии эу- и гипотиреоза) и диффузным токсическим зобом.
3. Изучить взаимосвязь показателей структурно-функционального состояния щитовидной железы, антитиреоидного гуморального иммунитета, Th1-цитокинового профиля крови, рецептор-экспрессирующей функции, пролиферации и апоптоза лимфоцитов при аутоиммунных тиреопатиях.
4. Оценить связь аутоиммунного тиреоидита и диффузного токсического зоба с вирусной инфекцией (герпетической, Эпштейна-Барр-вирусной, цитомегаловирусной).

Научная новизна. Проведена комплексная оценка пролиферативного ответа и Fas-опосредованного апоптоза лимфоцитов крови при аутоиммунных тиреопатиях (АИТП) с анализом ассоциации аутоиммунного тиреоидита (АИТ) в состоянии эу- и гипотиреоза и диффузного токсического зоба (ДТЗ) с герпесвирусными (герпетической, цитомегаловирусной, Эпштейна-Барр-вирусной) инфекциями. Установлено, что изменения пролиферативной реакции и резерва пролиферации лимфоцитов крови при различных формах АИТП являются однонаправленными и характеризуются повышением пролиферативной активности клеток, индуцированной митогенами (липополисахарид, фитогемагглютинин) и рекомбинантными цитокинами (IL-2, TNF- α) как при ДТЗ, так и АИТ. Показано, что у женщин с АИТ и ДТЗ количество лимфоцитов, презентующих высокоаффинные цитокиновые рецепторы CD25, CD120 α , напрямую взаимосвязано с увеличением концентрации IL-2 и TNF- α в крови в условиях дефицита IFN- γ , особенно выраженного (в совокупности с гипоэкспрессией CD119) при АИТ в состоянии гипотиреоза. Выявлено, что повышенная концентрация IL-2 в сыворотке крови сопряжена с увеличением объема щитовидной железы при АИТ и ДТЗ. Продемонстрировано также, что при АИТП увеличение содержания CD95⁺- и CD120 α ⁺-лимфоцитов в периферической крови сочетаются с уменьшением числа апоптотических (annexin V-презентирующих) клеток, наиболее выраженным при ДТЗ и АИТ с гипотиреозом, что свидетельствует об угнетении Fas- и TNF-R1-зависимого апоптоза

лимфоцитов. Выявлено также, что у женщин с АИТ повышенная предрасположенность лимфоцитарных клеток к апоптозу сопряжена с повышением концентрации в сыворотке крови TNF- α (при гипотиреозе), IL-2 и антител к тиреопероксидазе (при эутиреозе). В особенности актуальны данные о том, что острая (первичная или реактивация латентной) цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция, диагностируемая по сочетанному обнаружению антител ЦМВ-IEA-IgG и ЦМВ-IgG в сыворотке крови, ассоциирована с развитием гипотиреоза при АИТ, а наличие в крови ДНК вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) и антител ВЭБ-ЕА-IgG, являющихся в комплексе с ВЭБ-НА-IgG маркерами поздней первичной ВЭБ-инфекции или ее реактивации, – с гипертиреозом. При этом статистически значимой связи АИТ с ПЦР- и серологическими маркерами герпетической инфекции не обнаружено.

Практическая значимость. Получены новые данные фундаментального характера о роли цитомегаловирусной и Эпштейна-Барр-вирусной инфекций в развитии аутоиммунных тиреопатий и патогенетических факторах нарушений пролиферации и апоптоза лимфоцитов крови, сопряженных с аутоиммунной патологией щитовидной железы, которые расширяют существующие представления об этиологии и иммунопатогенезе аутоиммунного тиреоидита и диффузного токсического зоба. Результаты исследования служат теоретической базой для поиска путей коррекции выявленных нарушений, что может существенно изменить тяжесть функциональных нарушений щитовидной железы и исход тиреоидной патологии аутоиммунного генеза.

Положения, выносимые на защиту:

1. У женщин течение диффузного токсического зоба и аутоиммунного тиреоидита с эу- и гипотиреозом сопровождается активацией спонтанной и митоген-, IL-2- и TNF- α -индуцированной пролиферации с одновременным угнетением Fas- и TNF-R1-зависимого апоптоза лимфоцитов крови.
2. При аутоиммунных тиреопатиях увеличение концентрации IL-2, TNF- α и дефицит IFN- γ в крови сопряжены с однонаправленными изменениями экспрессии высокоаффинных цитокиновых рецепторов (соответственно CD25, CD120 α , CD119) на лимфоцитах крови.
3. Развитие гипертрофической формы аутоиммунного тиреоидита и увеличение объема щитовидной железы при диффузном токсическом зобе сочетаются с увеличением концентрации IL-2 в крови.
4. Гиперэкспрессия предрасполагающего к апоптозу CD95-антигена на лимфоцитах крови при аутоиммунном тиреоидите коррелирует с высоким уровнем TNF- α (при гипотиреозе), IL-2 и антител к тиреопероксидазе (при эутиреозе) в сыворотке крови.
5. Аутоиммунные тиреопатии ассоциированы с герпесвирусными инфекциями: аутоиммунный тиреоидит в состоянии гипотиреоза – с острой цитомегаловирусной инфекцией (первичной или реактивацией латентной), диффузный токсический зоб – с Эпштейна-Барр-вирусной инфекцией (реактивацией или поздней первичной).

Реализация и апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2006), Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2006), 65-й Итоговой студенческой научной конференции им Н.И. Пирогова (Томск, 2006), Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2007), IV Всероссийском тиреоидологическом конгрессе (Москва, 2007), заседаниях Областного общества эндокринологов, научных семинарах кафедр патофизиологии, эндокринологии и диабетологии ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России (Томск, 2006–2009). Основные положения и выводы диссертации используются в учебном процессе на кафедре патофизиологии СибГМУ (в тематических разделах «Патофизиология иммунитета», «Патофизиология эндокринной системы») и на кафедре эндокринологии и диабетологии СибГМУ (лекционные и практические занятия по теме «Аутоиммунные тиреопатии»).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 4 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 9 рисунками и 7 таблицами. Библиографический указатель включает 188 источников, из них 97 отечественных и 91 зарубежный.

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу исследования положены результаты обследования 92 женщин, проходивших амбулаторное обследование и лечение в Областном эндокринологическом диспансере и муниципальных лечебно-профилактических учреждениях - МЛПУ «Поликлиника №8» г. Томска и поликлиническом отделении МКЛПМУ «Городская больница №3».

На этапе включения в исследование всем пациенткам проводился стандартный блок обследования, который включал сбор анамнеза, сбор данных физикального обследования, ультрасонографическое обследование (УЗИ щитовидной железы и шейных лимфоузлов), определение показателей гормонального статуса (тиреотропного гормона – ТТГ, свободных фракций трийодтиронина - свТ₃ и тироксина - свТ₄), определение титра антитиреоидных антител (антител к тиреоидной пероксидазе – АТ-ТПО, тиреоглобулину – АТ-ТГ, к рецептору ТТГ - АТ-рТТГ при ДТЗ). Диагноз в каждом конкретном случае верифицировался с учетом характерных признаков клинической картины и параклинических параметров согласно общепринятым критериям («Эндокринология: национальное руководство», 2009).

В первую группу были включены 25 пациенток с верифицированным диагнозом АИТ в состоянии эутиреоза (показатели гормонального статуса находились в пределах референтной нормы, средний уровень АТ-ТПО соответствовал $421,53 \pm 59,15$ МЕд/л, АТ-

ТТГ – $242,91 \pm 128,26$ МЕд/л), средний возраст по группе составил $40,4 \pm 2,7$ года, средняя продолжительность заболевания АИТ (с момента выявления) – $4,3 \pm 1,3$ года. Для поддержания эутиреоза пациенты получали заместительную терапию L-тироксином. Пациенты находились в состоянии эутиреоза не менее 6 мес. до включения в исследование (использовались данные предыдущих анализов).

Во вторую группу были включены 25 пациенток с верифицированным диагнозом АИТ в состоянии гипотиреоза, средний возраст по группе соответствовал $43,1 \pm 4,3$ года, средняя продолжительность заболевания АИТ (с момента выявления) – $2,2 \pm 1,8$ года (у 9 пациентов данной группы АИТ был выявлен впервые, гипотиреоз был зафиксирован в дебюте заболевания). Средний уровень ТТГ равнялся $10,59 \pm 4,25$ мМЕд/л, концентрация свТ₄ соответствовала $6,49 \pm 1,44$ нмоль/л, свТ₃ – $1,03 \pm 0,52$ нмоль/л, АТ-ТПО – $505,17 \pm 89,16$ МЕд/л, АТ-ТГ – $144,5 \pm 78,36$ МЕд/л.

Третью группу составили 20 пациенток с ДТЗ (с тиреотоксикозом различной степени тяжести, снижением уровня ТТГ до $0,07 \pm 0,03$ мМЕд/л, повышенным содержанием свТ₄ ($54,67 \pm 10,41$ нмоль/л) и свТ₃ ($22,4 \pm 8,92$ нмоль/л), АТ-ТПО ($649,47 \pm 89,00$ МЕд/л), АТ-ТГ ($315,31 \pm 155,17$ МЕд/л), АТ-рТТГ ($12,7 \pm 8,13$ МЕ/л). Пациенты с ДТЗ были обследованы на фоне тиреотоксикоза в начале заболевания (средняя продолжительность заболевания составила 3-5 месяцев) до назначения тиреостатической терапии.

В контрольную группу вошли практически здоровые доноры (с доказанным отсутствием тиреоидной патологии при аналогичном обследовании) – 22 женщины, сопоставимые по возрасту с больными АИТ (средний возраст по группе равнялся $41,9 \pm 5,2$ года).

Материалом исследования служили лимфоциты гепаринизированной (25 Ед/мл) периферической крови, взятой утром натощак из локтевой вены в количестве 10 мл. Выделение лимфоцитов проводили на градиенте плотности фиколл-урографина ($1,077$ г/см³) [Новиков А.К., Новикова В.И., 1979]. Концентрацию жизнеспособных клеток определяли в счетной камере Горяева с использованием 0,5% раствора трипанового синего [Гольдберг Е.Д. и соавт., 1992]. Идентификацию CD25⁺- и CD95⁺-лимфоцитов периферической крови проводили с помощью лимфоцитотоксического теста [Р.В. Петров и соавт., 1992]; оценку экспрессии поверхностных антигенов CD120 α (TNF-R1) и CD119 (IFN γ -R1) на мембране лимфоцитов периферической крови - методом иммунофлуоресцентной микроскопии [Хаитов Р.М., 1995]. Уровень апоптоза лимфоцитов устанавливали по экспрессии на наружном монослое плазматической мембраны молекул фосфатидилсерина методом иммунофлуоресцентной микроскопии с использованием FITC-меченного annexin V [Beckman Coulter, Франция]. Титр специфических антител к антигенам вируса простого герпеса (ВПГ-IgG), цитомегаловируса (ЦМВ-IgG и ЦМВ-ЕА-IgG) и вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ-ЕА-IgG и ВЭБ-NA-IgG) определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа; детекция ДНК ВПГ, ЦМВ и ВЭБ в крови проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Также проводилось культивирование лимфоцитов периферической крови *in vitro* и оценка их пролиферативной активности: спонтанной и под влиянием митогенов

(фитогемагглютини́на (ФГА) и липополисахари́да (ЛПС) и рекомбинантных цитокинов (фактора некроза опухолей - TNF- α , интерлейкина 2 - IL-2) (МТТ – тест) [Carmichael J., 1987]. Полученные в ходе исследования данные обрабатывали с использованием стандартного пакета программ Statistica for Windows (2000, версия 6.0) фирмы «Statsoft Inc.». Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с использованием критерия Shapiro-Wilk's W test. Для оценки достоверности различий выборок, не подчиняющихся закону нормального распределения, использовали Mann-Whitney U test (несвязанные выборки). Различия считали достоверными при p -уровне $<0,05$. Зависимость параметров в группах оценивали с помощью ранговой корреляции Спирмена. Корреляцию считали значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что ведущее значение в патогенезе АИТП имеет развитие тиреоидспецифического гуморального иммунитета. Аутоиммунная патология щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит – АИТ, диффузный токсический зоб – ДТЗ) сопровождается выработкой тиреоидспецифических иммуноглобулинов (аутоантител к различным структурным компонентам щитовидной железы), взаимодействующих с аутоантигенами мембраны тиреоцитов и оказывающих повреждающее действие на тиреоидный эпителий [Зорин Н.А. и соавт., 2006; Балаболкин М.И., 2007]. Кроме того, становится неконтролируемым процесс выбраковки аутоагрессивных клонов лимфоцитов, нарушается баланс между пролиферативной и апоптотической активностью клеток иммунной системы. Нарушение способности клеток иммунной системы к апоптозу приводит к изменению субпопуляционных взаимоотношений Т-лимфоцитов, что в свою очередь является патогенетическим механизмом в прогрессировании АИТП [Гончарова Н.В. и соавт., 2003; Космачева С.М. и соавт., 2005].

Проведенный анализ показал, что уровень базальной, митоген- и цитокинстимулированной пролиферации лимфоцитов у пациентов с АИТП всех исследуемых групп был достоверно выше аналогичных показателей в группе здоровых доноров, что указывает на гиперергию лимфоцитарных клеток и может свидетельствовать о высокой активности иммунопатологического процесса. При этом уровень цитокинстимулированной (рекомбинантными IL-2 и TNF- α) пролиферации лимфоцитов крови значительно (примерно в 2 раза, $p < 0,01$) превышал уровень пролиферативного ответа лимфоцитов, стимулированных митогенами (ФГА и ЛПС), что также является признаком повышенной чувствительности лимфоцитов к индуцирующему пролиферацию действию данных цитокинов в случае увеличения их концентрации в микроокружении.

Кроме того, у пациентов с АИТ и ДТЗ индекс стимуляции (ИС), вычисляемый как соотношение показателей стимулированной и базальной пролиферации лимфоцитов, был повышенным во всех группах вне зависимости от вида стимулятора. Наиболее

значимое увеличение ИС регистрировалось при цитокинопосредованной индукции пролиферации лимфоцитов, достигавшее максимальных значений в группе пациентов с АИТ с эутиреозом при культивировании клеток в присутствии TNF- α .

Таким образом, можно предположить, что в патогенезе АИТП одно из ведущих мест занимает именно цитокинстимулированная пролиферация антигенспецифических Т- и В-лимфоцитов, образующих клоны к различным антигенным эпитопам тиреоцитов, с постоянным пополнением пула активно пролиферирующих клеток, что связано с накоплением в крови высокого уровня ростовых факторов – цитокинов, активирующих процессы митогенеза лимфоцитов.

Ключевым цитокином, регулирующим пролиферативную активность клеток крови, признан IL-2, проявляющий множественное иммуностимулирующее действие. Прежде всего, IL-2 является основным Т-клеточным фактором роста, определяющим пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов. Показано, что взаимодействие IL-2 со специфическим рецептором CD25 на Т-лимфоцитах приводит к пролиферации и дифференцировке последних в Т-хелперы, Т-лимфоциты с супрессорной или цитотоксической функциями. В свою очередь, активированные Т-лимфоциты через продукцию определенных цитокинов способны индуцировать конечную пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки, а также НК-клетки и макрофаги, которые определяют характер тканевых повреждений при АИТП [Мойсюк Я.Г., Горбунов В.В., 2003].

При оценке уровня IL-2 в сыворотке крови у больных ДТЗ было отмечено достоверное его повышение – практически в 3 раза относительно такового у здоровых доноров (табл. 1), а также значимое (сравнительно с нормой) увеличение количества лимфоцитов, презентующих комплементарный IL-2 рецептор CD25 (табл. 2).

Таблица 1

Уровень цитокинов в сыворотке крови у здоровых доноров и у пациентов с аутоиммунными тиреопатиями, $\bar{X} \pm m$

Группы обследованных лиц		Концентрация интерлейкинов, пг/мл		
		IL-2	TNF- α	IFN- γ
Здоровые доноры (n=22)		62,43 \pm 3,12	1,71 \pm 0,08	83,26 \pm 17,58
Пациенты с аутоиммунным тиреозитом	Эутиреоз (1 группа, n=25)	85,78 \pm 4,29 $p_1 < 0,01$	7,21 \pm 0,36 $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,01$	54,71 \pm 4,85 $p_1 < 0,05$
	Гипотиреоз (2 группа, n=25)	72,68 \pm 3,63 $p_1 < 0,01$	6,86 \pm 0,34 $p_1 < 0,01$	28,26 \pm 0,72 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$
Пациенты с диффузным токсическим зобом	Гипертиреоз (3 группа, n=20)	185,45 \pm 9,28 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	9,20 \pm 0,50 $p_1 < 0,01$ $p_4 < 0,01$	64,47 \pm 12,60 $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,01$

Здесь и в последующих таблицах: p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – у больных первой и второй группы; p_3 – у больных первой и третьей группы; p_4 – у больных второй и третьей группы.

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у здоровых доноров и у пациентов с аутоиммунными тиреопатиями, $\bar{X} \pm m$

Группы обследованных лиц		Исследуемые показатели, %			
		CD25 ⁺ - лимфоциты	CD95 ⁺ - лимфоциты	CD119 ⁺ - лимфоциты	CD120α ⁺ - лимфоциты
Здоровые доноры (n=22)		13,55±0,68	12,56±0,69	4,52±0,60	6,25±0,31
Пациенты с аутоиммунным тиреоидитом	Эутиреоз (1 группа, n=25)	16,86±0,84 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	13,88±2,11 p ₂ <0,05	4,66±0,50 p ₂ <0,05	11,32±0,57 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01
	Гипотиреоз (2 группа, n=25)	12,31±0,62	23,89±5,03 p ₁ <0,05	1,43±0,80 p ₁ <0,01 p ₄ <0,01	9,30±0,47 p ₁ <0,01 p ₄ <0,01
Пациенты с диффузным токсическим зобом	Гипертиреоз (3 группа, n=20)	15,55±0,78 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	24,44±2,91 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	4,69±0,80	11,78±0,59 p ₁ <0,01

У пациентов с АИТ в состоянии эутиреоза также выявлялось достоверное ($p < 0,01$) увеличение содержания CD25-позитивных лимфоцитов в периферической крови (табл. 2), т.е. имела место повышенная готовность клеток к реакции IL-2-зависимой пролиферации. При проведении корреляционного анализа между указанными показателями была установлена положительная связь умеренной силы ($r = 0,66$, $p < 0,05$). Количество CD25-презентирующих лимфоцитов в крови у больных АИТ с гипотиреозом достоверно не отличалось от нормы. Содержание IL-2 в крови у пациентов с АИТ, как при эутиреозе, так и при гипотиреозе, регистрировалось выше контрольного уровня, но в 2,2-2,6 раза ниже, чем у пациентов с ДТЗ (табл. 1).

Выявленное нами при АИТП значительное повышение числа CD25-презентирующих лимфоцитов, сочетающееся с увеличением концентрации IL-2 в крови, может рассматриваться как фактор поддержания пролиферативной активности лимфоцитов на высоком уровне. Под действием аутоантигена происходит активация иммунокомпетентных клеток, что ведет к лавинообразной продукции IL-2 и TNF-α, увеличение концентрации которых стимулирует экспрессию соответствующих высокоаффинных рецепторов и запуск каскада реакций, приводящих, в конечном счете, к повышению пролиферативной активности тропных к ним клеток [Зорин Н.А. и соавт., 2006].

Необходимо также отметить влияние IL-2 на процессы пролиферации клеток щитовидной железы. Массивная интратиреоидная продукция данного цитокина (с последующим закономерным повышением его уровня в крови) при ДТЗ может обуславливать увеличение объема щитовидной железы, наблюдаемое при данном заболевании. У пациентов с ДТЗ нами была обнаружена положительная взаимосвязь ($r = 0,32$, $p < 0,05$) между сывороточной концентрацией IL-2 и объемом щитовидной железы, определяемым методом ультразвукографии. Аналогичная взаимосвязь между уровнем IL-2 и объемом щитовидной железы была зафиксирована также в группе

больных АИТ ($r=0,75$, $p<0,05$).

В зависимости от полученных ультразвуковых данных общая группа больных АИТ была дополнительно разделена на подгруппы: А ($n=10$) – с диагностированной атрофической формой, В ($n=22$) – с фиброзной и фиброзно-узловой формой, С ($n=18$) – с гипертрофической формой АИТ. При сравнении уровней ИЛ-2 в сыворотке крови в подгруппах было выявлено, что в подгруппе А данный показатель не отличался от показателя у здоровых доноров ($58,14\pm 9,13$ пг/мл у больных АИТ и $62,43\pm 3,12$ пг/мл в группе здоровых лиц), в подгруппе В – фиксировалось достоверно более высокое значение показателя, чем в группе здоровых доноров ($72,17\pm 8,22$ пг/мл; $p<0,05$), в подгруппе С уровень ИЛ-2 был существенно выше нормы и составлял $80,59\pm 10,68$ пг/мл ($p<0,05$). Данные результаты позволяют предположить стимулирующее влияние ИЛ-2 на процессы пролиферации клеток щитовидной железы также и при АИТ. Кроме того, при АИТ не исключена повышенная интратиреоидная продукция данного цитокина активированными Т-клетками в результате обширной лимфоцитарной инфильтрации железы с последующим повышением концентрации ИЛ-2 в периферической крови и развитием так называемого «порочного круга», когда повышенный уровень ИЛ-2 обуславливает гипертрофию щитовидной железы и ее инфильтрацию лимфоцитами.

В настоящее время патогенез большинства аутоиммунных расстройств интерпретируется в контексте нарушений апоптотической регуляции иммунокомпетентных клеток. Показано существование взаимосвязи между нарушениями регуляции апоптоза и развитием заболеваний, сопровождающихся снижением эффективности иммунологического надзора, а именно развитием аутоиммунной патологии [Krammer P., 2000]. По результатам оценки уровня экспрессии Fas-рецептора лимфоцитарными клетками периферической крови было обнаружено достоверное увеличение количества CD95⁺-лимфоцитов у больных АИТ с гипотиреозом и у пациентов с ДТЗ (табл. 2), в то время как при АИТ с эутиреозом содержание CD95-презентирующих лимфоцитов существенно не отличалось от такового в контрольной группе. Это, вероятно, обусловлено тем, что в присутствии физиологических концентраций тиреоидных гормонов (т.е. при эутиреозе) аутоагрессия менее выражена, что также можно расценить как эффект от проводимой заместительной терапии.

Повышение числа лимфоцитов, экспрессирующих CD95, является закономерным проявлением активации иммунной системы, характерным в том числе, как показали результаты, и для аутоиммунных расстройств. Об этом свидетельствует установленная взаимосвязь между содержанием CD95⁺-лимфоцитов и уровнем антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) в крови ($r=0,79$; $p=0,01$) у больных АИТ с эутиреоидным статусом.

Наряду с этим, увеличение уровня экспрессии CD95 при АИТ и ДТЗ у больных зрелого возраста может быть фактором CD-субпопуляционных нарушений [Жукова О.Б. и соавт., 2006], поскольку чрезмерное накопление апоптотических клеток вследствие нарушения их утилизации фагоцитами ведет к тому, что собственные антигены клеток распознаются как чужеродные, изменяется спектр доминирующих гуморальных

факторов с увеличением доли противовоспалительных цитокинов, обладающих способностью к длительному поддержанию иммунного ответа по Th2-пути. Так, в исследованиях Е.Ю. Гусевой и соавт. [2009] у больных с АИТП выявлено повышение относительного количества В-лимфоцитов (CD20⁺-клеток), а также снижение числа CD8⁺ и возрастание относительной доли CD4⁺ Т-лимфоцитов/хелперов в периферической крови, что свидетельствует о преобладании Th2-типа иммунного реагирования. Полученные данные указывают на усиление гуморальной реакции иммунной системы, что, как правило, сопровождается избыточной продукцией антител к антигенам щитовидной железы и способствует прогрессированию болезни.

При определении экспрессии рецептора CD120 α на лимфоцитах периферической крови нами установлено, что во всех исследуемых группах больных с АИТП количество CD120 α -презентирующих лимфоцитов было достоверно выше аналогичного показателя в группе здоровых доноров, что, возможно, связано с тем, что при АИТП количество TNF- α и его средство к соответствующим рецепторам, экспрессирующимся на Т-лимфоцитах, значительно повышается [Burtisc C. et al., 2006].

В нашем исследовании также было зафиксировано значительное увеличение содержания TNF- α в крови, особенно выраженное у больных ДТЗ и АИТ с эутиреозом. Здесь, вероятно, имеет место модулирующее влияние трийодтиронина (Т₃) и тироксина (Т₄) [Fernandez V. et al., 2006]. TNF- α способствует запуску аутоиммунного процесса в щитовидной железе, так как обладает способностью усиливать и (или) вызывать aberrантную экспрессию молекул адгезии и антигенов гистосовместимости (HLA) класса II на поверхности тиреоцитов, что может приводить к нарушению процессов антигенного распознавания [Глазанова Т.В. и соавт., 2004]. К тому же данный провоспалительный цитокин оказывает активирующее действие на цитотоксическую активность лимфоцитов, инфильтрирующих щитовидную железу, и участвует в процессах апоптозопосредованной гибели этих клеток, то есть представляет собой некий компонент защитной реакции макроорганизма, контролирующей «силу» аутоиммунного процесса [Климович В.Б. и соавт., 2000]. Высвобождение TNF- α из тиреоидстимулированных лимфоцитов при АИТ играет важную роль в прогрессировании заболевания.

При анализе содержания IFN- γ в крови у больных АИТП было выявлено достоверное снижение данного показателя во всех обследованных группах (табл. 1), наиболее выраженное у больных АИТ в состоянии гипотиреоза. Как известно, IFN- γ является эффективным механизмом отрицательной обратной связи, контролирующим силу иммунопатологической реакции. В частности, IFN- γ нормализует количество предуготовленных к апоптозу CD95⁺-клеток. Помимо этого, IFN- γ усиливает ДНК-репаративные процессы. При снижении его концентрации в крови происходит активация апоптоза (в основе которого, в частности, лежит повреждение ДНК). Обнаруженное нами при гипотиреозе снижение уровня IFN- γ в крови, возможно, является фактором благоприятного прогноза, поскольку IFN- γ обладает способностью индуцировать экспрессию HLA класса II на поверхности тиреоцитов, активировать

образование провоспалительных медиаторов (IL-12, TNF- α и др.), макрофаги, дендритные клетки, Т-лимфоциты [Благосклонная Я.В. и соавт., 1998]. С другой стороны, IFN- γ обладает антипролиферативными свойствами, ингибирует транскрипцию гена тиреоглобулина, модулирует функции и пролиферацию фолликулярных клеток щитовидной железы [Глазанова Т. В. и соавт., 2004].

Что касается экспрессии IFN γ -R1 (рецептора CD119 к IFN- γ) на лимфоцитах периферической крови, то, по нашим данным, при АИТ в эутиреоидном состоянии и при ДТЗ данный показатель существенно не изменялся, однако при АИТ с гипотиреозом мы обнаружили его снижение, практически пропорциональное снижению уровня самого IFN- γ в сыворотке крови, что подтверждалось наличием положительной корреляционной взаимосвязи умеренной силы ($r=0,57$, $p<0,05$).

Общеизвестно, что наличие на поверхности Fas- и других апоптозсвязанных рецепторов (в частности, TNF-R1) вовсе не означает обязательную реализацию клеткой заложенной программы гибели. Для этого необходимо связывание рецепторов со специфическими лигандами, в качестве которых (в случае Fas-зависимого апоптоза) могут выступать FasL цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток [Фильченков А.А. и соавт., 2002], но которое может быть нарушено при различного рода дизрегуляторных влияниях. Ведущая роль в этом, по мнению А.В. Рогалевой [2009], может принадлежать интенсификации перекисного окисления липидов, происходящей при аутоиммунной патологии щитовидной железы, и, как следствие, приводящей к изменению упорядоченности и микровязкости липидного бислоя цитоплазматической мембраны, модификации ее структурных свойств. В результате деструктивных процессов в мембране происходит шеддинг белков (в том числе Fas, FasL и TNF-R1) с поверхности клеток [Fernandez-Botran R. et al., 2002]. Показано, что растворимая форма рецептора может препятствовать связыванию цитокина с мембранным рецептором и таким образом нарушать проведение сигнала, что в свою очередь приводит к ингибированию Fas- и TNF-R1-зависимого апоптоза [Barash J. et al, 2003].

Вероятно, по указанным причинам, несмотря на увеличение количества CD95⁺- и CD120 α ⁺-лимфоцитов в крови, при АИТ и ДТЗ усиления апоптоза лимфоцитов обнаружено не было. Напротив, при оценке реализации программируемой клеточной смерти с помощью аннексинового теста у пациентов с АИТ и ДТЗ было зарегистрировано достоверное снижение содержания annexin V-положительных лимфоцитов в крови, наиболее выраженное при ДТЗ (при котором количество CD95⁺-, CD120 α ⁺-лимфоцитов и концентрация TNF- α в крови были максимальными, табл. 1, 2). При сопоставлении полученных результатов аннексинового теста с результатами оценки содержания CD95⁺- и CD120 α ⁺-лимфоцитов становится ясно, что реализация Fas- и TNF- α -опосредованной апоптотической гибели лимфоцитарных клеток при аутоиммунной патологии щитовидной железы оказывается заблокированной. В частности это подтверждается сильной отрицательной корреляционной зависимостью между количеством CD95⁺- и annexin V⁺-лимфоцитов ($r=-0,92$; $p=0,02$) в группе больных ДТЗ.

Снижение уровня annexin V-положительных клеток (схема 1), т.е. отсутствие ожидаемой активации апоптоза лимфоцитов у пациентов с АИТП может быть обусловлено несколькими причинами: характерной для аутоиммунных заболеваний мутацией гена *FAS* с образованием неактивного белкового продукта (дефектного CD95), а также, как обсуждалось выше, циркуляцией в крови растворимых форм апоптогенных рецепторов - sFas, sFasL, sTNF-R1. Кроме того, передача сигнала через рецепторы смерти может быть заблокирована на уровне взаимодействия рецептора с лигандом посредством связывания лиганда с «рецептором-приманкой» (decoy receptor), лишённым полноценного домена смерти [Nabeikom O. et al., 2001]. С другой стороны, снижение численности annexin V-положительных клеток при АИТ и ДТЗ может быть связано также с нарушением процесса экстернализации фосфатидилсерина (маркера обратимой стадии апоптоза) [Скулачев В.П., 2001]. Снижение эффективности апоптоза может быть обусловлено еще и тем, что высокие концентрации TNF- α активируют индуцибельную форму NO-синтазы, которая отвечает за образование и длительное выделение большого количества оксида азота (NO \cdot). Мишенями для него служат мембранные рецепторы, ферменты и белки, участвующие в проведении сигналов (протеинкиназа C, транскрипционные факторы). Активация факторов транскрипции под действием оксида азота стимулирует факторы антиокислительной защиты, кроме того, NO \cdot меняет экспрессию белков семейства Bcl-2 [Стариков Ю.В., 2010]. Это может объяснять угнетение апоптоза лимфоцитов при тиреопатиях, несмотря на высокий уровень TNF- α в сыворотке крови у больных с данной аутоиммунной патологией.

Таким образом, можно заключить, что факторами иммунопатогенеза АИТП являются повышенная пролиферативная активность и нарушение апоптоза лимфоцитов, несмотря на их повышенную апоптотическую «предуготовленность», которые создаются в условиях дисбаланса цитокиновой продукции, нарушений межклеточной кооперации и при модифицирующем влиянии тиреоидных гормонов.

Показатели инфицированности больных аутоиммунными тиреопатиями вирусами группы герпеса

Как известно, вирусы группы герпеса являются ubiquitous для человеческой популяции, в развитых странах показатели инфицированности данными вирусами колеблются в пределах 86-98% для взрослого населения. Значительная часть герпесвирусов способна вызывать острые и латентные инфекции. После перенесенной острой инфекции герпесвирусы способны оставаться (персистировать) в организме в скрытой (латентной, неинфекционной) форме, модулировать функционирование иммунной системы и в определенный момент реактивироваться с образованием новых вирусных частиц [De Groot L.J., 1999; Хаитов Р.М., 2000; Гончарова О.А., 2008].

Особый интерес представляет участие вирусов в модуляции программированной клеточной гибели. Установлено, что персистирующие вирусы для обеспечения собственного выживания способны изменять соотношение между ростовым и апоптозным потенциалом иммунокомпетентных клеток. При формировании

хронической инфекции вирусы для обеспечения собственного выживания используют пути, позволяющие им избежать действия защитных реакций организма. В интересах инфектогена подавить апоптоз и тем самым сохранить клетке жизнеспособность. Исход вирусной инфекции, с одной стороны, связан со способностью возбудителя блокировать апоптотический потенциал инфицированной клетки, а с другой – с интенсивностью активации процесса физиологической гибели инфицированной клетки как составной части защитного механизма организма [Жукова О.Б. и соавт., 2006; Наследникова И.О. и соавт., 2006].

Проведенное нами исследование подтвердило данные литературы о широкой распространенности вируса простого герпеса (ВПГ) среди взрослого населения - в группе здоровых индивидуумов положительный результат анализа на ВПГ-IgG выявлялся в 95,45%, в группе больных АИТ «положительными» были признаны 95,7% пациентов. Однако не у всех пациентов устанавливался факт виремии по результатам ПЦР – вирусные частицы обнаруживались у 5 (22,7%) здоровых доноров, 8 (32%) пациентов АИТ с эутиреозом, 7 (28%) больных АИТ с гипотиреозом и 3 (15%) больных ДТЗ, что не имело статистически значимых межгрупповых различий. Следует отметить, что метод ПЦР не имеет корреляции с активностью инфекционного процесса и иммунного ответа и свидетельствует лишь о наличии вирусных частиц в крови у данного пациента, независимо от давности заражения.

По данным ИФА, иммуноглобулины класса G к цитомегаловирусу (ЦМВ) обнаруживались у 90,9% клинически здоровых доноров (20 человек), что согласуется с литературными данными: к возрасту 35-40 лет присутствие в сыворотке ЦМВ-IgG может быть зафиксировано у 80-98% населения, антитела к поздним (структурным) белкам ЦМВ выявляются в сыворотке крови также после окончания острой стадии инфекции при переходе вируса в латентное состояние. Аналогичная ситуация была нами зафиксирована в группе больных АИТ: 92% больных с эутиреозом и гипотиреозом (по 23 человека в каждой) имели в крови иммуноглобулины класса G к поздним (структурным) белкам ЦМВ, а в группе с ДТЗ инфицированность ЦМВ составила 80% (у 16 человек). Однако у 11 (44%) обследованных нами пациентов с диагнозом АИТ в состоянии гипотиреоза наряду с IgG к ЦМВ были обнаружены иммуноглобулины классов G и M к предраннему белку цитомегаловируса (ЦМВ-IEA), причем 8 из 11 данных пациентов – это лица с впервые выявленным АИТ и манифестным гипотиреозом. Сочетанное обнаружение ЦМВ-IgG и ЦМВ-IEA свидетельствуют об активной репликации вируса и соответствуют острой стадии инфекции (первичной или реактивации). Аналогичные антитела у здоровых доноров были выявлены только в 1 (4,5%) случае. При АИТ в эутиреозе, а также в группе с ДТЗ ни у одного пациента антитела ЦМВ-IEA обнаружены не были. При оценке полученных нами данных тестом Фишера с использованием поправки Йетса была установлена положительная взаимосвязь между наличием антител класса G к предраннему антигену (IEA) ЦМВ и наличием гипотиреоза. Кроме того, у 7 пациентов с АИТ в гипотиреозидном состоянии (6 – с впервые выявленным АИТ), а также у 1

пациента с ДТЗ был зафиксирован факт виремии по результатам исследования методом ПЦР, тогда как у здоровых доноров и больных АИТ с эутиреозом присутствие ДНК вируса цитомегалии в крови не было установлено.

Таким образом, полученные данные позволяют полагать, что существует взаимосвязь острой стадии ЦМВ-инфекции с развитием АИТ, а точнее, гипотиреоза при АИТ. Затруднительно определить, что явилось первичным звеном – реактивация имевшейся ЦМВ-инфекции на фоне развития закономерно наступающей в течении АИТ стадии гипотиреоза, либо ЦМВ явился причиной развития гипотиреоза при длительно предшествовавшем носительстве антител АТ-ТПО (без АИТ) у лиц с эутиреоидным состоянием (доказано, что 10-15% здоровых лиц имеют носительство данных антител, не проявляющееся дальнейшим исходом в АИТ [Браверманн Л.И., 2000; Герасимов Г.А., 2001]), либо даже попадание ЦМВ в организм иммунологически здорового человека служит пусковым фактором развития АИТ с исходом в гипотиреоз.

Что касается инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), то в обследованных группах обнаруживалась серологическая картина паст-инфекции (латентной инфекции у клинически здоровых лиц) – обнаруживались только иммуноглобулины класса G к ядерному антигену ВЭБ (ВЭБ-НА-IgG): у 18 здоровых доноров, у 19 пациентов с АИТ с эутиреозом и у 21 больного АИТ с гипотиреозом. У 2 (8%) пациентов с АИТ с эутиреозом были выявлены ВЭБ-ЕА-IgG в крови при отрицательном результате на наличие антител к ядерному ВЭБ-антигену (ВЭБ-НА-IgG), что соответствует ранней первичной инфекции либо (что чаще) ее хронической форме. У данных лиц виремии по результатам ПЦР обнаружено не было, в связи с чем вариант первичной инфекции можно исключить. При гипотиреозе у 3 (12%) человек в сыворотке обнаруживались IgG обоих видов (что соответствует реактивации либо поздней первичной инфекции), однако вирусная ДНК была выявлена лишь в 1 случае.

В крови у 90% (18) пациентов с ДТЗ также присутствовали ВЭБ-НА-IgG, однако в 25% случаев (у 5 больных) обнаруживались еще и положительные результаты определения ВЭБ-ЕА-IgG, и у 1 пациента (5%) результат был расценен как сомнительный. Это может свидетельствовать о реактивации ВЭБ-инфекции, либо (что, безусловно, реже для пациентов данной возрастной группы) поздней первичной инфекции. По результатам ПЦР, виремия была диагностирована у 4 пациентов с ДТЗ. При этом статистически устанавливалась положительная взаимосвязь между наличием ВЭБ-ЕА-IgG в сыворотке крови, а также положительным результатом обнаружения ВЭБ методом ПЦР и заболеванием ДТЗ.

По существующим данным литературы, ВЭБ, как и другие возможные триггеры ДТЗ, может включаться в патогенез данного заболевания еще на этапе первичного попадания в организм, однако реализуется программа запуска аутоиммунитета только у узкого круга лиц, имеющих соответствующую генетическую предрасположенность. В данном случае может иметь место феномен «антигенной мимикрии» ВЭБ – наличие родственных тиреоидным антигенам эпитопов в структуре вируса, которые в ходе нормального иммунного ответа провоцируют образование клонов аутореактивных к

тиреоидной ткани лимфоцитов) [Parish N.M. et al., 2004]. «Запрещенный» клон аутореактивных Т-лимфоцитов инфильтрирует паренхиму щитовидной железы, где распознает ряд антигенов, презентруемых дендритными клетками, макрофагами, HLA-DR-экспрессирующими фолликулярными клетками [Dayan C.M., 1991; Weetman A.P., 2001], что обуславливает реакцию лимфоцитарной бласттрансформации с последующим делением клеток и выделением медиаторов – цитокинов. ВЭБ непосредственно оказывает влияние на В-лимфоциты, для него доказан факт кодирования гомологов Bcl-2, ингибирующих апоптоз В-лимфоцитов (белок BHRF-1).

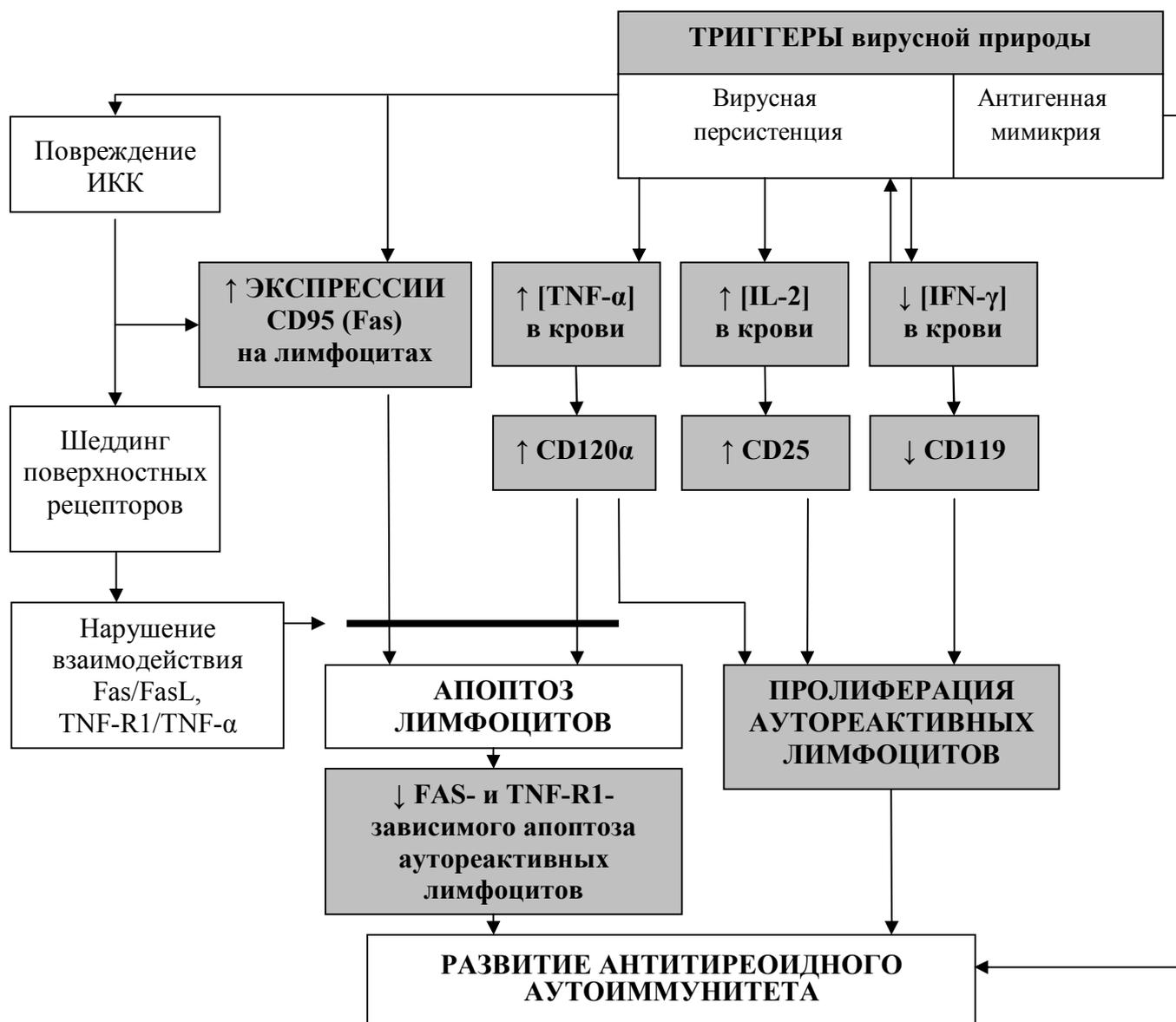


Рис. 1. Факторы иммунопатогенеза аутоиммунных тиреопатий (результаты собственных исследований залиты серым цветом)
Примечание. ИКК – иммунокомпетентные клетки

В то же время ВЭБ (и его поверхностный гликопротеин gp350) вызывает усиление экспрессии Fas (CD95) на CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах (что также было зафиксировано в нашем исследовании) и Fas-лиганда (FasL) на В-лимфоцитах и моноцитах-макрофагах, что ведет к Fas-опосредованному апоптозу Т-клеток. Таким образом, усиливается

поляризация иммунного ответа в сторону Th2-пути и преимущественное формирование гуморальных реакций иммунитета. Весь вышеописанный комплекс биологически активных веществ оказывает разнообразное повреждающее действие на клетки-мишени и индуцирует тем самым иммунный процесс (рис. 1).

ВЫВОДЫ

1. Течение аутоиммунного тиреоидита и диффузного токсического зоба у женщин сопровождается активацией спонтанной, митоген- и цитокининдуцированной пролиферации лимфоцитов крови *in vitro* при сохранении резерва пролиферативной реактивности клеток, что наиболее выражено в условиях их индукции рекомбинантными цитокинами (IL-2, TNF- α) при аутоиммунном тиреоидите с эутиреозом.
2. Гиперпролиферативная реакция лимфоцитов у женщин с аутоиммунными тиреопатиями сочетается с увеличением концентрации IL-2, TNF- α в крови и повышением экспрессии на лимфоцитах комплементарных цитокинам рецепторов CD25 (IL-2R), CD120 α (TNF-R1). При этом дефицит IFN- γ в крови, особенно выраженный при гипотиреозе, сопровождается угнетением экспрессии CD119 (IFN γ -R1) на лимфоцитах крови.
3. Цитокиностимулированная активация лимфопролиферативного ответа при аутоиммунных тиреопатиях сопряжена с нарушением реализации Fas- и TNF-R1-зависимого апоптоза лимфоцитов, признаками которого является увеличение содержания CD95⁻- и CD120 α ⁺-клеток при одновременном уменьшении числа апоптозных annexin V⁺-клеток в крови.
4. Гиперэкспрессия CD95-антигена на лимфоцитах крови, характеризующая повышенную предуготованность клеток к апоптозу, в большей степени выражена при диффузном токсическом зобе. У женщин с аутоиммунным тиреоидитом она ассоциирована с высоким уровнем TNF- α (при гипотиреозе), IL-2 и антител к тиреопероксидазе (при эутиреозе) в сыворотке крови.
5. Повышение концентрации IL-2 в сыворотке крови при диффузном токсическом зобе и аутоиммунном тиреоидите положительно коррелирует с увеличением объема щитовидной железы.
6. Связь аутоиммунных тиреопатий с герпесвирусной инфекцией подтверждается статистически значимой ассоциацией между диффузным токсическим зобом и наличием в крови ДНК вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) и антител к раннему ВЭБ-антигену (EA-IgG), а также сопряженностью аутоиммунного тиреоидита при гипофункции щитовидной железы с присутствием антител к предраннему антигену цитомегаловируса (ЦМВ-IEA-IgG) в сыворотке крови.
7. Статистически значимой ассоциации аутоиммунных тиреопатий с ПЦР- и серологическими маркерами герпетической инфекции не выявлено.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Популяционный состав лимфоцитов и уровень инфицированности вирусами группы герпеса у больных аутоиммунным тиреоидитом / Е.Б. Кравец, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, А.В. Рогалева, Ю.В. Недосекова и др. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2006. – Т. 2, №4. – С. 43-46.
2. Особенности фенотипического профиля лимфоцитов при аутоиммунном тиреоидите / А.В. Рогалева, О. А. Старикова, Е.А. Мифтофутдинова, Ю.В. Недосекова // Материалы межвузовской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 19-20 апреля 2006 г.). – СПб., 2006. – С. 108-109.
3. Недосекова, Ю.В. Степень инфицированности вирусами группы герпеса больных с аутоиммунным тиреоидитом / Ю.В. Недосекова, А.В. Рогалева, О.И. Уразова, О.А. Старикова // Материалы межвузовской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 19-20 апреля 2006 г.). – СПб., 2006. – С. 80-82.
4. Недосекова, Ю.В. Роль вирусов семейства herpesviridae в патогенезе аутоиммунного тиреоидита / Ю.В. Недосекова // Материалы XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов». Том IV. – М.: Изд-во МГУ, 2006. – С. 509-510.
5. Уровень инфицированности вирусами семейства herpesviridae среди пациентов с аутоиммунными тиреоидитами / Е.А. Мифтофутдинова, О.А. Старикова, Ю.В. Недосекова и др. // Материалы всероссийской 65-й Итоговой студенческой научной конференции им Н.И. Пирогова (Томск, 26-28 апреля 2006 г.) / Под ред. В.В. Новицкого, Л.М. Огородовой. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2006. – С. 352-353.
6. Фенотипический профиль и факторы индукции апоптоза лимфоцитов крови у больных диффузным токсическим зобом / О.И. Уразова, Е.Б. Кравец, В.В. Новицкий, А.В. Рогалева, О.А. Васильева, Ю.В. Недосекова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – Т. 6, №1. – С. 57-61.
7. Оценка уровня ИЛ-2 у пациентов с различными формами аутоиммунного тиреоидита / Ю.В. Недосекова, А.В. Рогалева, В.Н. Кузнецова и др. // Материалы межвузовской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 24-25 апреля 2007 г.). – СПб., 2007. – С. 102-103.
8. Недосекова, Ю.В. Связь герпесвирусной инфекции с развитием аутоиммунного тиреоидита / Ю.В. Недосекова, Е.Б. Кравец, О.И. Уразова и др. // Материалы IV Всероссийского тиреоидологического конгресса (Москва, 9-11 декабря 2007 г.). – М., 2007. – С. 111.
9. Реакция пролиферации лимфоцитов крови при аутоиммунных тиреопатиях / О.И. Уразова, Е.Б. Кравец, Ю.В. Недосекова и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, №9. – С. 257-260.

10. Апоптоз лимфоцитов крови у больных аутоиммунными тиреопатиями / О.И. Уразова, Е.Б. Кравец, В.В. Новицкий, А.В. Рогалева, Т.Е. Будкина, О.А. Синюкова, Ю.В. Недосекова // **Медицинская иммунология**. – 2008. – Т. 10, №2-3. – С. 187-192.
11. Роль апоптоза в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / Ю.В. Недосекова, О.И. Уразова, Е.Б. Кравец и др. // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2009. – Т. 8, №1. – С. 64-70.
12. Об апоптозе лимфоцитов крови при аутоиммунных тиреопатиях / Е.Б. Кравец, О.И. Уразова, Ю.В. Недосекова и др. // **Проблемы эндокринологии**. – 2010. – Т. 56, №3. – С. 16-20.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АИТ – аутоиммунный тиреодит
 АИТП – аутоиммунные тиреопатии
 АТ-ТГ - антитела к тиреоглобулину
 АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе
 АТ-рТТГ – антитела к рецептору ТТГ
 ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр
 ДТЗ – диффузный токсический зоб
 ИКК – иммунокомпетентные клетки
 ИФА – иммуноферментный анализ
 ЛПС – липополисахарид
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 свТ3 – трийодтиронин
 свТ4 – тироксин, тетраiodтиронин
 ТТГ – тиреотропный гормон
 ФГА – фитогемагглютинин
 ЦМВ - цитомегаловирус
 ИЛ - интерлейкин
 IFN- γ – интерферон γ
 TNF- α - фактор некроза опухолей
 FasL – Fas-лиганд
 sFas – растворимая форма Fas-рецептора
 sFasL – растворимая форма Fas-лиганда
 Th (T-helper) – Т-хелпер

Отпечатано в ООО «Компания «Милон»
г. Томск, пр. Фрунзе, 7, тел.: 58-50-53
заказ № 2017, тираж 110 экз.