

1. Балаболкин М. И. Сахарный диабет. — М., 1994.
2. Балашова Т. С., Голега Е. Н., Рудько И. А. и др. // Тер. арх. — 1993. — № 10. — С. 23—25.
3. Болдырев А. А. Введение в мембранологию. — М., 1990.
4. Бышевский А. Ш., Галян С. Л., Вакулин А. А. и др. // Науч. вестн. ТГУ. — 1997. — № 2. — С. 42—47.
5. Горелышева В. А. ПОЛ и состояние антиоксидантных ферментов у больных с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 1994.
6. Демидова И. Ю. // Диабетогрфия. — 1996. — № 8. — С. 18.
7. Ержанова Ш. А. Клинико-биохимическая оценка антиоксидантной терапии у больных сахарным диабетом I типа: Дис. ... канд. мед. наук. — Караганда, 1994.
8. Нефропатии (Аспекты мембранологии) / Жмуров В. А., Крылов В. И., Кашуба Э. А., Чимаров В. М. — Тюмень, 1993.
9. Лисарская И. В. // Пробл. эндокринол. — 1987. — № 3. — С. 37—40.
10. Greene S. // Diabet. Young. — 1993. — Vol. 29, N 8. — P. 90—92.
11. Mortenseh H., Bentson J. // Ibid. — N 9. — P. 3—8.
12. Shade D. S., Eaton P. // Clin. Endocrinol. Metab. — 1983. — Vol. 12, N 2. — P. 916—924.

Поступила 20.08.97

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.441-092:612.017.11-078.33

Я. В. Благосклонная, С. А. Кетлинский, Е. И. Красильникова, А. Ю. Котов, А. Ю. Бабенко

## СОДЕРЖАНИЕ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ $\alpha$ И ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ПРИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кафедра факультетской терапии (зав. — акад. РАМН В. А. Алмазов) Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова

Приведены результаты исследования уровня тиреоидных гормонов, антител к тиреоглобулину, а также уровня цитокинов (фактора некроза опухоли  $\alpha$  — TNF- $\alpha$ ) и интерлейкина-1 (IL-1) у 14 больных с диффузным токсическим зобом (ДТЗ) и 6 больных с аутоиммунным тиреоидитом Хашимото (АИТ). Пациентов с ДТЗ обследовали на фоне гипертиреоза, а пациентов с АИТ — на фоне эутиреоза. Полученные данные свидетельствуют о наличии взаимосвязи между содержанием TNF- $\alpha$  и уровнем тиреоидных гормонов крови, причем при гипертиреозе отмечается отрицательная корреляция, а при эутиреозе — положительная. Кроме того, у больных с АИТ отмечается прямая корреляция между уровнем TNF- $\alpha$  и титром антител к тиреоглобулину в сыворотке крови. Повышения сывороточного уровня IL-1 не обнаружено. Подчеркивается необходимость учитывать уровень тиреоидных гормонов в крови при изучении иммунного статуса больных. Представленные результаты подтверждают имеющиеся предположения о важной роли цитокинов в иммунопатогенезе таких аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, как ДТЗ и АИТ.

*Thyroid hormones, antibodies to thyroglobulin, and cytokines tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 1 (IL-1) were measured in 14 patients with diffuse toxic goiter (DTG) and 6 patients with Hashimoto's autoimmune thyroiditis (AIT). Patients with DTG were examined in the presence of hyperthyrosis and those with AIT in the presence of euthyrosis. The data indicate a relationship between the levels of TNF- $\alpha$  and thyroid hormones: negative correlation in hyperthyrosis and positive in euthyrosis. In addition, patients with AIT develop a direct correlation between TNF- $\alpha$  and serum titer of anti-thyroglobulin antibodies. Serum level of IL-1 do not increase. The results of this study confirm the hypothesis about important role of cytokines in pathogenesis of autoimmune diseases of the thyroid, namely, DTG and AIT.*

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) и аутоиммунный тиреоидит Хашимото (АИТ) относятся к аутоиммунным заболеваниям щитовидной железы. Иммунопатологические механизмы этих заболеваний в последние годы интенсивно изучаются. Не вызывает сомнения роль антител к компонентам мембраны тироцитов, влияние экзогенных агентов (вирусы, Yersinia enterocolica, токсины), значение генетической предрасположенности. Установлено, что генетический дефект состоит в нарушении антигенраспознающей функции иммунокомпетентных клеток (АРС) и, возможно, в изменении свойств клеток тиреоидного эпителия, которые при этих заболеваниях проявляют способность к экспрессии на поверхности антигенов II класса HLA (а при АИТ — и антигенов I класса) и присутствию в комплексе с ними собственных антигенов тироцита (рецептора тиреотропного гормона — ТТГ, тиреоглобулина, пероксидазы). Экзогенный агент индуцирует иммунный ответ, но наличие в его составе перекрестных антигенов с компонентами мембраны тироцита и на-

рушение антигенраспознающих свойств АРС приводит к выработке иммунного ответа на тиреоидные антигены (продукция антител). Эти антитела при ДТЗ стимулируют рецептор ТТГ, индуцируя гиперфункцию тироцитов, а при АИТ оказывают в основном цитолитическое действие.

В настоящее время получены данные о том, что при контакте с антигеном происходит активация АРС (Т-лимфоцитов и макрофагов/моноцитов (Мф/Мн)) с последующей выработкой ими биологически активных веществ — цитокинов ( $\gamma$ -интерферона —  $\gamma$ -IFN), интерлейкина-2 (IL-2) и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Эти цитокины играют важную роль в стимуляции аутоиммунного процесса в щитовидной железе. Так,  $\gamma$ -IFN индуцирует экспрессию II класса HLA на мембранах тироцитов [5—7, 12] с наличием собственных антигенов тироцита и активацией внутриклеточных CD4+Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, с последующей выработкой антител к представленным антигенам [5]. IL-2 отводится важная роль в преодолении иммунологической аутоотолерантно-

сти неактивных Т-лимфоцитов к собственным антигенам [8]. Интерлейкин-1 (IL-1) активирует внутрищитовидные Т-лимфоциты, являющиеся хелперами В-лимфоцитов, и индуцирует развитие лимфоидной инфильтрации щитовидной железы. Он вырабатывается в щитовидной железе Мн/Мф, эндотелиальными клетками и тироцитами [11]. IL-1, а также TNF- $\alpha$  влияют на тиреоидный метаболизм, являясь его ингибиторами [4, 11]. TNF- $\alpha$  также участвует в индукции аутоиммунного процесса и клетки, продуцирующие этот цитокин (CD4+, макрофаги), существенно активированы как при ДТЗ, так и при АИТ [9, 13, 15]. In vitro он оказывает синергическое действие на экспрессию антигенов II класса HLA и цитотоксическую активность лимфоцитов, инфильтрирующих щитовидную железу [10]. Данные, полученные в клинических условиях, относительно роли TNF- $\alpha$  и IL-1 при этих заболеваниях весьма противоречивы [2, 3, 11, 14]. Вероятно, это объясняется тем, что их продукция связана как с выраженностью иммунного процесса, так и с уровнем тиреоидных гормонов.

Противоречивость имеющихся в литературе данных и отсутствие работ такого направления в отечественной литературе привлекли наше внимание к данной проблеме.

Целью настоящего исследования явилось уточнение роли TNF- $\alpha$  и IL-1 в патогенезе аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и их взаимосвязи с уровнем тиреоидных гормонов.

## Материалы и методы

Обследовано 20 пациентов с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. Из них 14 человек (12 женщин и 2 мужчины; средний возраст  $32,8 \pm 3,17$  года) страдали ДТЗ и 6 женщин (средний возраст  $36,6 \pm 1,32$  года) — АИТ. Диагноз в каждом случае был верифицирован на основании клинических и лабораторных данных (для пациентов с ДТЗ — высокий уровень тиреоидных гормонов, повышенное поглощение радиоактивного йода щитовидной железой, а для больных с АИТ — данные тонкоигольной аспирационной биопсии щитовидной железы, титр антител к тиреоглобулину). Большинство пациентов с ДТЗ (12 человек) были обследованы в начале заболевания (длительность заболевания 3—5 мес) до начала лечения, чтобы исключить иммуносупрессивное действие антищитовидных препаратов. 2 больных имели рецидив заболевания: в одном случае после антищитовидной терапии (длительность ремиссии после окончания лечения составляла 1,5 года), в другом — после оперативного лечения (длительность ремиссии 2 года). Все больные были тщательно обследованы с целью исключения сопутствующих заболеваний, влияющих на уровень цитокинов в сыворотке крови. Пациентов с такими заболеваниями (аутоиммунные заболевания, бактериальные и вирусные инфекции, интоксикации и т. д.) в исследование не включали.

Уровень трийодтиронина (Т<sub>3</sub>) и тироксина (Т<sub>4</sub>) определяли радиоиммунным методом с использованием наборов РИА-Т<sub>3</sub>-СТ и РИА-Т<sub>4</sub>-СТ, ТТГ — РИО-ТТГ. Нормальные величины были следующими: Т<sub>3</sub> 1,2—2,8 нмоль/л, Т<sub>4</sub> 60—160 нмоль/л, ТТГ 0,3—5 МЕД/л. Титр антител к тиреоглобулину определяли также радиоиммунным методом с использованием набора РИО-АТ-ТГ-I-125. В нор-

ме антитела к тиреоглобулину не определяются или концентрация их незначительна. Концентрацию цитокинов (TNF- $\alpha$  и IL-1) определяли иммуноферментным методом с использованием ТОО-протеинового контура. Полученные данные подвергали обработке на ЭВМ с помощью электронных таблиц Excel методами многомерной статистики (корреляционный анализ) с использованием пакета программ SSP ("Сборник научных программ на фортране", 1974 г.) [1].

## Результаты и их обсуждение

Пациентов с ДТЗ обследовали до начала лечения, на фоне гипертиреоза (см. таблицу). Клинические проявления в большинстве случаев соответствовали классическим проявлениям тиреотоксикоза II—III степени тяжести. 4 человека, уровень гормонов у которых был в пределах нормы, были исключены при анализе корреляций по этому показателю.

Пациентов с АИТ обследовали на фоне эутиреоза (см. таблицу). Изучение уровня антител к тиреоглобулину показало, что у большинства пациентов с ДТЗ антитела не определялись. Только у 2 из 14 пациентов антитела были обнаружены в диагностическом титре (1:1000). В то же время у 5 из 6 пациентов с АИТ антитела к тиреоглобулину определялись, причем у 4 в диагностическом титре (1:1000—1:100 000).

В зависимости от размеров зоба больные с ДТЗ были разделены на 2 группы: ДТЗ II степени и ДТЗ III степени. Увеличение щитовидной железы у пациентов с АИТ соответствовало II степени зоба. При анализе полученных данных у большинства больных в обеих группах содержание TNF- $\alpha$  в сыворотке крови было выше нормы, в то время как уровень IL-1 был в пределах нормы у всех пациентов (см. таблицу). Были изучены различия в уровне TNF- $\alpha$  у пациентов с ДТЗ в зависимости от размеров зоба, уровня антител и уровня тиреоидных гормонов.

Уровень TNF крови в 1-й группе составил  $337,2 \pm 183,7$  пг/мл, во 2-й —  $917,2 \pm 355,6$  пг/мл. Таким образом, между этими группами выявлены различия ( $t = 1,5$ ).

У 2 пациентов с ДТЗ, у которых были обнаружены антитела к тиреоглобулину, уровень TNF составил  $576 \pm 287,5$  пг/мл, а у пациентов, не имеющих антител к тиреоглобулину,  $191 \pm 89,9$  пг/мл (различия здесь также определяются;  $t = 1,3$ ).

При изучении полученных результатов обнаружено наличие корреляции между уровнем тиреоидных гормонов и TNF в сыворотке крови (рис. 1, а, б). Как видно на представленных графиках, между уровнем Т<sub>3</sub> и TNF и между уровнем Т<sub>4</sub> и TNF в

Содержание тиреоидных гормонов, TNF- $\alpha$  и IL-1 в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы ( $M \pm m$ )

Группа больных	Т <sub>3</sub> , нмоль/л	Т <sub>4</sub> , нмоль/л	TNF- $\alpha$ , пг/мл	IL-1, пг/мл
1-я (ДТЗ; n = 14)	$5,9 \pm 0,9$	$241,7 \pm 26,9$	$392,3 \pm 138,2$	0
2-я (АИТ; n = 6)	$1,66 \pm 0,52$	$80,53 \pm 20,65$	$481,6 \pm 190,8$	0
t	4,08	4,75	0,38	
p	< 0,001	< 0,001	нд	

Примечание. нд — недостоверно.

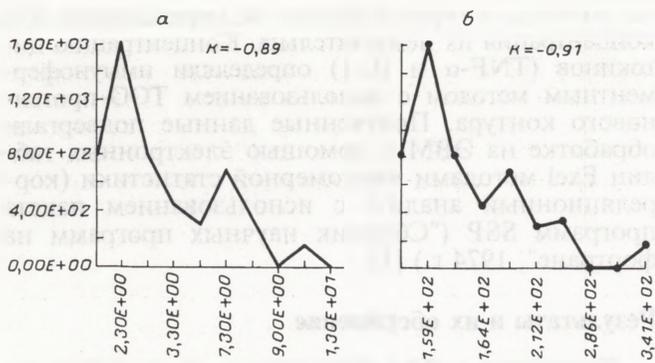


Рис. 1. Содержание TNF- $\alpha$  в зависимости от уровня T<sub>3</sub> (а) и T<sub>4</sub> (б) в сыворотке крови больных с ДТЗ.

Здесь и на рис. 3 по осям ординат — содержание TNF- $\alpha$  (в пг/мл); по осям абсцисс: а — уровень T<sub>3</sub> (в нмоль/л), б — уровень T<sub>4</sub> (в нмоль/л). Здесь и на рис. 2, 3 K — коэффициент корреляции.

крови выявляется четкая отрицательная обратная связь.

В группе больных с АИТ увеличение щитовидной железы соответствовало II степени, а уровень TNF равнялся  $481,6 \pm 190,8$  пг/мл и не имел достоверных отличий от такового у пациентов с ДТЗ.

Наиболее четкие различия были получены в этой группе в зависимости от уровня антител. Антитела были обнаружены у 5 из 6 пациентов этой группы, и титр их варьировал в широких пределах. Между титром антител к тиреоглобулину и концентрацией TNF в сыворотке крови в этой группе была выявлена достоверная положительная корреляция (рис. 2).

В отличие от пациентов с ДТЗ четкой корреляции с концентрацией T<sub>3</sub> в крови не обнаружено (рис. 3, а), но между уровнем T<sub>4</sub> и TNF такая связь прослеживалась (рис. 3, б), однако в отличие от 1-й группы она была не отрицательной, а положительной. Аналогичные данные были получены I. Chopra и соавт. [4]. Как видно из приведенных данных, у пациентов на фоне гипертиреоза наблюдаются существенные различия в уровне TNF в крови с эутиреоидными пациентами. Складывается впечатление, что при нормальном содержании тиреоидных гормонов в крови TNF выступает как стимулятор в отношении T<sub>4</sub>, при развитии гипертиреоза отмечается супрессия TNF, тем более выраженная, чем выше содержание тиреоидных гормонов в сыворотке крови. Эти данные представляются важными для уточнения роли цитокинов в патогенезе аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Представленные данные так-

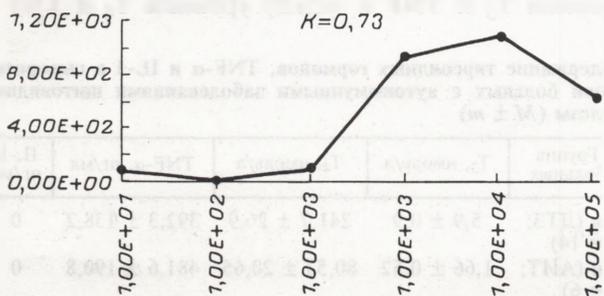


Рис. 2. Содержание TNF- $\alpha$  в зависимости от титра антител к тиреоглобулину в сыворотке крови больных с АИТ.

По осям ординат — содержание TNF- $\alpha$  (в пг/мл); по оси абсцисс — титр антител.

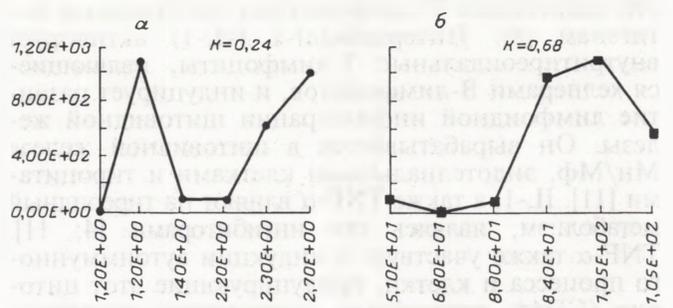


Рис. 3. Содержание TNF- $\alpha$  в зависимости от уровня T<sub>3</sub> (а) и T<sub>4</sub> (б) в сыворотке крови больных с АИТ.

же свидетельствуют о наличии взаимосвязи уровня TNF и титра антител к тиреоглобулину в сыворотке крови у пациентов с АИТ. Столь отчетливое совпадение этих показателей позволяет рассматривать содержание TNF в крови как еще один маркер аутоиммунной патологии щитовидной железы.

## Выводы

1. Уровень TNF- $\alpha$  в сыворотке крови при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы существенно повышен.

2. При гипертиреозе (ДТЗ) отмечается отрицательная обратная связь между уровнем тиреоидных гормонов и TNF в крови, при эутиреозе (АИТ) — положительная.

3. Титр антител к тиреоглобулину отчетливо коррелирует с уровнем TNF в сыворотке крови у больных с аутоиммунным тиреоидитом, что позволяет рассматривать этот цитокин как возможный маркер аутоиммунной патологии щитовидной железы.

4. Уровень IL-1, роль которого как медиатора лимфоидной инфильтрации в щитовидной железе при аутоиммунных заболеваниях последней доказана, в сыворотке крови при этих заболеваниях не повышается, что характеризует его как медиатор, действующий *in situ*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П., Васильев И. Н., Амбросов В. А. Быстрые методы статистической обработки. — Л., 1975.
2. Blakemore A. I., Watson P. F. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1995. — Vol. 80, N 1. — P. 111—115.
3. Celik I., Akalin S., Erbas T. // Eur. J. Endocrinol. — 1995. — Vol. 132, N 6. — P. 668—672.
4. Chopra I. L., Sakame S., Chua Teco G. N. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1991. — Vol. 72, N 5. — P. 1113—1116.
5. Frohman M., Francfort J. W., Coving C. // J. Immunol. — 1991. — Vol. 146, N 7. — P. 2227—2234.
6. Hamilton F. et al. // Clin. exp. Immunol. — 1991. — Vol. 83, N 1. — P. 64—68.
7. Kimura H., Davies T. F. // Clin. Immunol. Immunopathol. — 1991. — Vol. 58, N 2. — P. 195—206.
8. Kroemer G., Francese C., Martinez C. // Int. Rev. Immunol. — 1992. — Vol. 9, N 2. — P. 107—123.
9. Mariotti S. et al. // Exp. clin. Endocrinol. — 1991. — Vol. 97, N 2—3. — P. 139—146.
10. Paschke R., Kist A. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1993. — Vol. 76, N 1. — P. 97—102.
11. Rasmussen A. K. et al. // Autoimmunity. — 1993. — Vol. 16, N 2. — P. 141—148.
12. Sospendra M., Obiols G. et al. // J. Immunol. — 1995. — Vol. 154, N 8. — P. 4213—4222.
13. Sugihara S., Fujiwara H. et al. // Ibid. — Vol. 155, N 3. — P. 1619—1628.
14. Wenisch C., Miskiw D. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1995. — Vol. 80, N 7. — P. 2122—2126.
15. Zheng R. Q., Abney E. R. et al. // Immunology. — 1992. — Vol. 75, N 3. — P. 456—462.

Поступила 24.03.97