

гипотироксинемии. Рост числа больных АИТ, влияние гипотироксинемии, даже асимптоматической, на состояние здоровья, репродуктивную функцию, интеллектуальную и физическую работоспособность, а также на уровень интеллектуального развития потомства женщин с данной патологией — все это определяет проблему АИТ как чрезвычайно актуальную. Учитывая разноречивый характер мнений относительно вопросов своевременной диагностики и сроков начала терапии, дискуссия по данным вопросам с целью принятия в итоге согласованного решения чрезвычайно необходима.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бронштейн М. Э. // Пробл. эндокринол. — 1999. — Т. 45. № 5. — С. 34—38.
2. Вольпе Р. // Болезни щитовидной железы / Под ред. Л. И. Бравермана: Пер. с англ. — М., 2000. — С. 140—172.
3. Касаткина Э. П. // Пробл. эндокринол. — 2000. — Т. 47. № 4 — С. 3—6.
4. Рюмин Г. А. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы: оптимизация диагностики у детей и подростков: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1997.
5. Соколовская В. Н. Ювенильное увеличение щитовидной железы. Гипоталамо-гипофизарно-тиреоидные взаимоотношения. Диагностика. Терапия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1986.

6. Шилин Д. Е. Заболевания щитовидной железы у детей и подростков в условиях йодной недостаточности и радиационного загрязнения среды: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2002.
7. Fukino O., Tamai H., Kumai M. et al. // Acta Endocrinol. — 1982. — Vol. 100, N 2. — P. 231—236.
8. Glinioer D. // Endocrinol. Rev. — 1995. — Vol. 18. — P. 404—431.
9. Glinioer D. // The Thyroid and Environmental Merk European Thyroid Symposium. — Budapest, 2000. — P. 121—133.
10. Godinho-Matos L., Kocjan G., Kurtz A. // J. Clin. Pathol. — 1992. — Vol. 45, N 5. — P. 391—395.
11. Haddow J. E., Polomaki G. E., Allan W. C. et al. // N. Engl. J. Med. — 1999. — Vol. 341. — P. 549—555.
12. Marwaha R. K., Tandon N., Korak A. K. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2000. — Vol. 85. — P. 3798—3802.
13. Mizukami Y., Michigishi T., Kawato M. et al. // Human Pathol. — 1992. — Vol. 23, N 9. — P. 980—988.
14. NACB. International Thyroid Testing Guidelines. Implication for Clinical Practice. — Los Angeles, 2001.
15. Rallison M. L., Dobins B. M., Meikle W. A. et al. // Am. J. Med. — 1991. — Vol. 91. — P. 363—370.
16. Roth C., Scortea M., Stubbe P. et al. // Exp. Clin. Endocrinol. — 1997. — Vol. 105. — P. 66—96.
17. Sakurada N. // Bul. Tokyo Med. Dent. Univ. — 1979. — Vol. 26, N 4. — P. 279—286.
18. Wasserstrum N., Anania C. A. // Clin. Endocrinol. — 1997. — Vol. 43. — P. 353—358.

Поступила 03.01.02

◆ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2002

УДК 616.154:577.175.328]-008.61-092:612.017.1]-078.33

И. А. Иловайская, И. В. Крюкова, Ю. М. Кеда, Е. Е. Макаровская, В. И. Кандрор, Е. И. Марова

РОЛЬ АНТИГИПОФИЗАРНЫХ АНТИТЕЛ В ПАТОГЕНЕЗЕ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМии

Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

С целью оценки возможной роли аутоиммунных нарушений в патогенезе гиперпролактинемии изучались показатели гуморального иммунитета — антитела к поверхностным антигенам клеток аденогипофиза (АПАГ) и антитела к пролактину (Пrl) — у 26 больных с идиопатической гиперпролактинемией (1-я группа), у 32 больных с пролактиномами (2-я группа), а также у 12 беременных с физиологической гиперпролактинемией (3-я группа). АПАГ были выявлены у 38,5—76,9% пациенток в 1-й группе, у 18,7—29% — во 2-й и не найдены ни у одной пациентки в 3-й группе (с использованием клеток аденогипофиза крыс — клеток пролактиномы человека соответственно). Преобладание АПАГ-позитивных пациенток в группе идиопатической гиперпролактинемии по сравнению с пролактиномами было статистически достоверным ($p < 0,001$). При использовании лактотрофов по сравнению с клетками аденогипофиза крыс у больных с идиопатической гиперпролактинемией АПАГ обнаруживались также достоверно чаще ($p = 0,011$). У подавляющего большинства пациенток присутствие антител к Пrl не совпадало с наличием АПАГ, т. е. обнаруживаемые АПАГ и аутоантитела к Пrl являются различными видами антител. Присутствие антител к поверхностным антигенам лактотрофов, выявленное в нашем исследовании у значительного числа пациенток 1-й группы, позволяет предположить, что одной из причин идиопатической гиперпролактинемии могут быть аутоиммунные нарушения.

For evaluating the probable role of autoimmune disorders in the pathogenesis of hyperprolactinemia, humoral immunity parameters (antibodies to surface antigens of adenohypophysis cells - ASAG - and to prolactin - Prl) were studied in 26 patients with idiopathic hyperprolactinemia (group 1), 32 with prolactinomas (group 2), and 12 pregnant women with physiological hyperprolactinemia (group 3). Using rat adenohypophysis and human prolactinoma cells, respectively, ASAG were detected in 38.5-76.9% patients in group 1, 18.7-29% in group 2, and in none of the women in group 3. The predominance of ASAG-positive patients in the idiopathic hyperprolactinemia group in comparison with prolactinoma patients was statistically significant ($p < 0.001$). Using lactotrophs instead of rat adenohypophysis cells, ASAG were also detected significantly more often in the patients with idiopathic hyperprolactinemia ($p = 0.11$). The presence of antibodies to Prl in the overwhelming majority of patients did not coincide with the presence of ASAG, which means that ASAG and autoantibodies to Prl are different antibody types. The presence of antibodies to surface lactotroph antigens detected in many patients of group 1 suggests that autoimmune disorders can be one of the causes of idiopathic hyperprolactinemia.

Как показали исследования последних лет, аутоиммунные нарушения являются пусковым механизмом в развитии сахарного диабета типа 1, аутоиммунного тиреоидита, диффузного токсического зоба и многих других заболеваний периферических эндокринных желез [2, 8]. Изучение показателей гуморального иммунитета у больных с различными нейроэндокринными заболеваниями позволяет утверждать, что аутоиммунные нарушения могут также играть определенную роль в формировании гипопитарных расстройств, и маркерами таких нарушений считают антитела к поверхностным антигенам клеток аденогипофиза — АПАГ [5, 11]. АПАГ обнаруживаются при некоторых формах гипопитуитаризма [13], изолированной СТГ-недостаточности [4], синдроме "пустого" турецкого седла [9] и других гипопитарных заболеваниях.

Одним из наиболее распространенных нейроэндокринных расстройств является гиперпролактинемия. Причины патологического повышения уровня пролактина (Прл) многочисленны [1]. Часто выявляется Прл-секретирующая опухоль гипофиза, однако в значительном числе случаев существенное повышение уровня Прл отмечается в отсутствие аденомы гипофиза и каких-либо видимых Прл-стимулирующих воздействий — так называемая идиопатическая гиперпролактинемия.

С целью оценки возможной роли аутоиммунных нарушений в патогенезе гиперпролактинемии в настоящей работе изучались показатели гуморального иммунитета — антитела к поверхностным антигенам клеток аденогипофиза и антитела к Прл — у пациенток с гиперпролактинемией опухолевого и неопухолевого происхождения.

Материалы и методы

Обследовано 70 женщин от 19 до 46 лет, из них 26 с идиопатической гиперпролактинемией (1-я группа), 32 с секретирующими аденомами гипофиза (2-я группа), а также 12 беременных с физиологической гиперпролактинемией (3-я группа). Основными клиническими проявлениями заболевания у пациенток с патологической гиперпролактинемией были отсутствие менструаций или нарушение менструального цикла по типу олиго/опсоменореи, галакторея, бесплодие, головные боли. Состояние области турецкого седла у всех больных оценивалось с помощью рентгеновской компьютерной томографии с использованием аппарата "Somatom" ("Somatom", ФРГ) и/или магнитно-резонансной томографии на аппарате BNT-1000 ("Bruker", ФРГ). Размер аденомы гипофиза у больных 2-й группы варьировал от 8 до 14 мм. У всех женщин исследовали содержание иммунореактивного Прл в сыворотке крови, у женщин 1-й и 2-й групп — содержание тиреотропного, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов. У женщин с сохраненным менструальным циклом определение Прл и гонадотропинов проводили на 5—7-й день менструального цикла. Содержание Прл в сыворотке крови определяли с помощью реагентов, поставляемых ВОЗ либо полученных в лаборатории молекулярной эндокринологии ЭНЦ РАМН и откалиброванных по соответствующей

тест-системе ВОЗ. Уровень общего иммунореактивного Прл в сыворотке крови варьировал от 741 до 3200 мЕ/л в 1-й группе, от 1519 до 17 000 мЕ/л во 2-й и от 3690 до 6800 мЕ/л в 3-й.

Определение АПАГ в сыворотке крови осуществляли твердофазным иммуноферментным методом [2, 3]. Первичную суспензию клеток аденогипофиза крысы или пролактиномы человека в количестве 40 000—50 000 клеток на лунку иммобилизовали на плоскодонных 96-луночных планшетах "Nunc", предварительно обработанных 0,01% раствором лизина. Клетки фиксировали глутаровым альдегидом, нейтрализовали глицином и свободные места в лунках блокировали 2% бычьим сывороточным альбумином. Тестируемую сыворотку разводили в соотношении 1:100 в фосфатном буфере, содержащем 0,15 М NaCl, и в количестве 0,1 мл вносили в лунку и далее проводили анализ методом, описанным ранее [3]. Окраску измеряли на медицинском фотометре "Эфос" при 492 нм. В качестве внутреннего стандарта в каждом опыте использовали 2 контрольные позитивные сыворотки и 10 контрольных негативных сывороток (лабораторные стандарты). Тестируемая сыворотка считалась положительной — АПАГ (+), если величина ее оптической плотности (D_{492}) была выше $M \pm 3\sigma$, где M — средняя величина оптической плотности контрольных негативных сывороток. Если D_{492} тестируемой сыворотки была ниже $M \pm 3\sigma$, но выше $M \pm 2\sigma$, то сыворотка считалась слабоположительной — АПАГ(±). Коэффициент вариации внутри одного опыта составлял 12,8%, между опытами — 14,5%.

Наличие в сыворотке крови антител к Прл оценивали по способности иммуноглобулиновой фракции сыворотки связывать высокоочищенный Прл, меченный радиоактивным йодом. Высокоочищенный Прл человека йодировали с помощью йодогена. Связывание [125 I]-Прл иммуноглобулинами в сыворотке крови определяли методом, основанным на осаждении иммунных комплексов 12,5% полиэтиленгликолем-6000 (ПЭГ-6000) [6]. Реакционная смесь для анализа связывания меченого Прл в сыворотке крови состояла из 50 мкл 0,05 М натрий-фосфатного буфера с добавлением 0,5% бычьего сывороточного альбумина и 0,01% мертиолата (буфер инкубации), 50 мкл сыворотки крови и 15—20 тыс. имп/мин [125 I]-Прл в 50 мкл буфера инкубации. Пробы инкубировали в течение 1 ч при температуре 37°C. По окончании инкубации к реакционной смеси добавляли 150 мкл 25% ПЭГ-600,0 пробы тщательно перемешивали, выдерживали 15 мин при температуре 4°C и центрифугировали 30 мин со скоростью 3000 об/мин. Надосадочную жидкость удаляли, осадок взмучивали в 150 мкл буфера инкубации и переосаждали равным объемом 25% ПЭГ-6000. Радиоактивность осадков после промывания измеряли на гамма-спектрометре. О связывании меченого Прл судили по доле радиоактивности в материале, осевшем в этих условиях, в процентах от общего количества добавленной метки. Прл-связывающая способность сыворотки крови считалась повышенной, если процент [125 I]-Прл, осаждавшегося в присутствии ПЭГ, составлял $M \pm 2\sigma$, где M — средняя ве-

личина Прл-связывающей способности контрольных сывороток крови.

Достоверность различия частот выявления антител в обследованных группах оценивали по критерию χ^2 .

Результаты и их обсуждение

Пациентки с наличием АПАГ в сыворотке крови были выявлены в обеих группах больных с патологической гиперпролактинемией (см. рисунок). При использовании клеток аденогипофиза крыс в качестве антигеноносителей в 1-й группе АПАГ были обнаружены у 10 (38,5%) пациенток, во 2-й — у 6 (18,7%) и в 3-й не найдены ни у одной. Несмотря на то что наличие АПАГ было найдено у большего числа больных с идиопатической гиперпролактинемией по сравнению с пролактиномами, преобладание АПАГ-положительных больных в 1-й группе по сравнению со 2-й было статистически недостоверным.

В исследованиях, проведенных с использованием клеток пролактиномы человека в качестве антигеноносителей, АПАГ определялись у 20 (76,9%) больных 1-й группы и у 9 (29%) 2-й группы, у лиц 3-й группы АПАГ не обнаружены. Было отмечено достоверное ($p < 0,001$) преобладание АПАГ-положительных пациенток в 1-й группе по сравнению со 2-й.

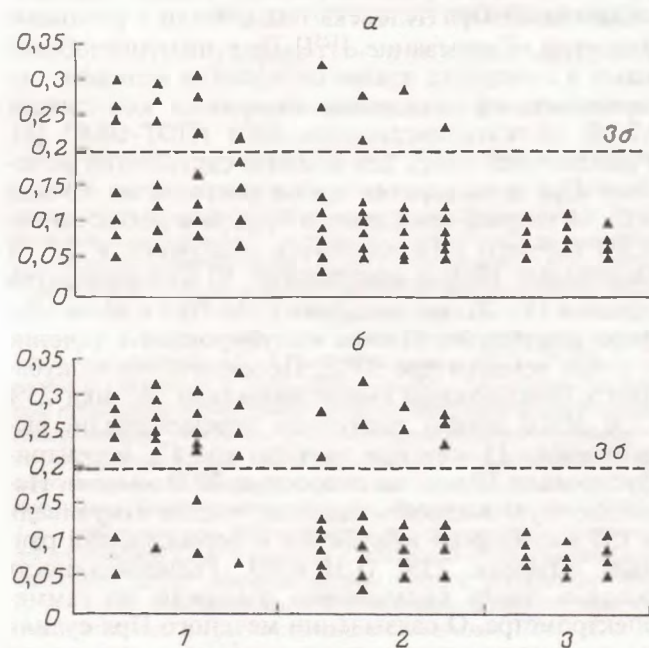
Ранее проведенные исследования продемонстрировали возможность использования клеток аденогипофизов крыс для скринингового определения АПАГ [2, 5, 11]. В нашем исследовании у 8 из 10 пациенток 1-й группы и у 5 из 6 больных 2-й группы, у которых определялись АПАГ на клетках аденогипофиза крыс, выявлялись антигипофизарные ан-

титела и на клетках пролактиномы человека. Однако использование клеток пролактиномы позволило выявить наличие антигипофизарных антител в большем количестве случаев. При сравнении частоты выявления АПАГ на различных антигеноносителях оказалось, что для опухолевой гиперпролактинемии эта разница статистически незначима, в то время как при идиопатической гиперпролактинемии АПАГ обнаруживались достоверно чаще ($p = 0,011$) при использовании лактотрофов по сравнению с клетками аденогипофиза крыс.

В популяции Российской Федерации АПАГ могут обнаруживаться до 4,5% случаев среди лиц без эндокринных заболеваний [2]. При различных эндокринных заболеваниях частота выявления АПАГ значительно возрастает — от 16,6% при синдроме Шмидта до 44,4% при инсулиннезависимом сахарном диабете [2, 4, 9]. Мы не обнаружили АПАГ у обследованных женщин с физиологическим повышением уровня Прл во время беременности, однако выявили антигипофизарные антитела у пациенток с патологической гиперпролактинемией. Результаты настоящего исследования позволяют сделать вывод о том, что у больных с гиперпролактинемией АПАГ выявляются чаще, чем в здоровой популяции. Большая выявляемость положительных сывороток на опухолевых клетках человека позволяет предположить, что определяемые у больных с идиопатической гиперпролактинемией антигипофизарные антитела специфичны по отношению к поверхностным антигенам именно лактотрофов. Более того, высокая частота выявления АПАГ у больных этой группы свидетельствует о том, что нарушения гуморального аутоиммунитета могут играть существенную роль в формировании патологической гиперпролактинемии в отсутствие аденомы гипофиза.

Известно, что одной из причин повышения уровня иммунореактивного Прл в сыворотке крови может быть повышение Прл-связывающей способности сыворотки крови вследствие присутствия аутоантител к Прл, которые определяются в сыворотке крови у 16–24% больных с гиперпролактинемией [6]. В связи с этим возникает вопрос, не являются ли антитела к поверхностным антигенам лактотрофов антителами к Прл? Для его решения были проведены исследования Прл-связывающей способности сыворотки крови и определение в одних и тех же сыворотках крови у больных с гиперпролактинемией опухолевого и неопухолевого генеза, а также у женщин с физиологической гиперпролактинемией.

Исследование Прл-связывающей способности сыворотки крови было проведено у 11 женщин с идиопатической гиперпролактинемией, у 7 — с пролактиномами и у 12 — с физиологической гиперпролактинемией (см. таблицу). Среди больных с идиопатической гиперпролактинемией 7 пациенток были АПАГ-положительными. Значительное повышение уровня Прл-связывающей способности сыворотки крови (более 10% для данного исследования), свидетельствующее о присутствии аутоантител к Прл, было отмечено у 3 из 11 женщин, однако только у 1 больной наблюдалось наличие и АПАГ, и аутоантител к Прл. Среди пациенток с пролактиномами Прл-связывающая способность



Наличие АПАГ в сыворотках крови пациентов с гиперпролактинемией различного генеза при использовании клеток аденогипофиза крыс (а) и клеток пролактиномы человека (б).

1 — идиопатическая гиперпролактинемия ($n = 26$); 2 — пролактиномы ($n = 32$); 3 — физиологическая гиперпролактинемия ($n = 12$). По оси ординат — оптическая плотность D_{492} .

Наличие АПАГ и Прл-связывающая способность сыворотки крови у пациенток с гиперпролактинемией различного генеза

Вид гиперпролактинемии	№	Уровень Прл, мЕ/л	Прл-связывающая способность, %	АПАГ	
				аденогипофиз крыс	пролактинома человека
Идиопатическая гиперпролактинемия	1	1187,6	6,3	+	+
	2	2302,8	5,6	+	-
	3	1277,3	6,9	-	-
	4	877,5	6,8	±	+
	5	1743,3	10,9	+	+
	6	2171,5	8	-	+
	7	2024	11,1	-	-
	8	1384	13,7	-	-
	9	1867	6,7	±	-
	10	1647,7	5,3	+	+
	11	741	6,1	-	+
Опухоли гипофиза (пролактиномы)	1	1519	6,8	-	-
	2	1756	4,8	+	+
	3	5814	3,8	+	+
	4	2240	3,4	+	+
	5	17 000	5,8	-	-
	6	7725	9,5	-	-
	7	6114	4,2	-	-
Физиологическая гиперпролактинемия	1	3690	4	-	-
	2	4200	3,9	-	-
	3	6800	8	-	-
	4	5432	7,9	-	-
	5	3780	7,9	-	-
	6	4560	6,2	-	-
	7	5890	6,4	-	-
	8	6100	6,3	-	-
	9	5123	4,6	-	-
	10	3789	5,3	-	-
	11	6180	5,2	-	-
	12	4900	6,7	-	-

сыворотки крови не превышала 9,5%, т. е. достоверно аутоантитела к Прл не были выявлены ни в одном случае, в то время как у 3 женщин этой группы определялись АПАГ. Среди лиц с физиологической гиперпролактинемией повышения Прл-связывающей способности сыворотки крови не отмечено. Таким образом, в подавляющем большинстве случаев у пациенток с различными формами патологической гиперпролактинемии присутствие антител к Прл не совпадало с наличием антител к поверхностным антигенам клеток аденогипофиза. Результаты проведенного исследования подтверждают, что обнаруживаемые АПАГ и аутоантитела к Прл являются различными видами антител.

В последнее время одной из причин различных гипофизарных расстройств считается лимфоцитарный аденогипофизит (ЛАГ). Первые описания этого заболевания касались патолого-анатомического материала, причем ЛАГ рассматривался как патологическое состояние у женщин послеродового периода, на фоне которого наблюдалось снижение уровня Прл [14]. К настоящему времени известно, что возникновение ЛАГ возможно как у женщин вне связи с беременностью и родами [12], так и у мужчин [10]. Примерно у половины больных с ЛАГ это может проявляться повышением содержания

Прл в сыворотке крови [8, 12, 13]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что у больных с идиопатической гиперпролактинемией возможной причиной заболевания может являться ЛАГ. Присутствие антител к поверхностным антигенам лактотрофов, выявленное в нашем исследовании у значительного числа пациенток с идиопатической гиперпролактинемией, позволяет предположить, что аутоиммунные нарушения играют важную роль в формировании повышенного уровня Прл в отсутствие Прл-секретирующей опухоли гипофиза.

Выводы

1. АПАГ и антитела к Прл являются различными видами аутоантител, что подтверждается наличием в большинстве случаев только одного вида аутоантител в сыворотке крови.

2. Частота выявления АПАГ в крови больных с гиперпролактинемией опухолевого генеза достоверно не отличается при использовании различных антигеноносителей и составляет на клетках аденогипофиза крыс 18,7% и на клетках пролактиномы человека 29%.

3. Частота обнаружения АПАГ достоверно выше у пациенток с идиопатической гиперпролактинемией при использовании лактотрофов в качестве антигеноносителей (76,9%), чем при использовании клеток аденогипофиза крыс (38,5%).

4. АПАГ чаще выявляются в сыворотке крови больных с идиопатической гиперпролактинемией по сравнению с пролактиномами. Полученные данные свидетельствуют о том, что одной из причин идиопатической гиперпролактинемии могут быть аутоиммунные нарушения (лимфоцитарный гипофизит?).

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И. И., Мельниченко Г. А. Персистирующая галакторея-аменорея (этиология, патогенез, клиника, лечение). — М., 1985.
2. Кеда Ю. М., Крюкова И. В., Смирнова Р. М. и др. // Вестн. РАМН. — 1994. — № 12. — С. 33–39.
3. Камолов И. С., Морозова Л. Г., Фазекаш И. и др. // Бюл. exper. биол. — 1978. — № 2. — С. 215–217.
4. Фофанова О. В., Петеркова В. А., Крюкова И. В. и др. // Пробл. эндокринолог. — 1996. — Т. 42, № 3. — С. 10–15.
5. Crock P. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — Vol. 83, N 2. — P. 609–618.
6. Hattori N., Ikekubo K., Ishihara T. et al. // Eur. J. Endocrinol. — 1994. — Vol. 130. — P. 438–445.
7. Hattori N., Inagaki C. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1997. — Vol. 82, N 9. — P. 3107–3110.
8. Josse R. // Autoimmune Diseases of the Endocrine System / Ed. R. Volpe. — Boca Raton, 1990. — P. 331–352.
9. Komatsu M., Kondo T., Yamauchi K. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1988. — Vol. 67, N 4. — P. 633–638.
10. Lee J. H., Laws E. R., Guthrie B. L. et al. // Neurosurgery. — 1994. — Vol. 34. — P. 159–162.
11. Stromberg S., Crock P., Lemmark A., Hulting A. L. // J. Endocrinol. — 1998. — Vol. 153, N 3. — P. 475–480.
12. Thodou E., Asa S. L., Kontogeorgos G. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1995. — Vol. 64. — P. 309–312.
13. Thorner M. O., Vance M. L., Laws E. R. et al. // Williams Textbook of Endocrinology. — 9-th Ed. — Philadelphia, 1998. — P. 249–340.
14. Wild R. A., Kepley M. // J. Reprod. Med. — 1986. — Vol. 31. — P. 211–216.