

УДК: 616.441-002-036.1-071:612.017.1

О.П. Храброва

ДЗ "Луганський державний медичний університет", м. Рубіжне

СТУПІНЬ ПОРУШЕНЬ ФАКТОРІВ І МЕХАНІЗМІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ПРОТИІНФЕКЦІЙНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ АВТОІМУННИЙ ТИРЕОЇДИТ

Ключові слова: хронічний автоімунний тиреоїдит, вроджений спадковий імунітет, ступінь порушень

Резюме. У хворих на хронічний автоімунний тиреоїдит виявлено зниження у периферійній крові абсолютної і відносної кількості NK-клітин у 1,77 та у 1,63 рази відповідно; TCD3+CD25+- у 4,59 та у 3,38 рази відповідно; у 1,9 рази - фагоцитарна активність та міграційна здатність нейтрофільних гранулоцитів (НГ), відносна кількість НГ готових до апоптозу підвищується в 1,9 рази, що призводить до зниження фагоцитарної ємкості крові в 1,89 рази та кількості активних макрофагів у крові - у 1,9 рази. У НГ підвищується активність мієлопероксидази на 10,13%, але знижується на 47,52% концентрація протеїнів і зростає концентрація у НГ глікогену на 32,17% і ліпідів - на 36,76%.

Вступ

Патологія щитоподібної залози є найбільш поширеною у структурі ендокринної патології. Така ситуація збережеться у наступні роки, оскільки в останні роки відзначається поступове збільшення поширеності захворювань щитоподібної залози (ЩЗ).

В Україні на долю хронічного автоімунного тиреоїдиту (ХАІТ) припадає 1,9 особи на 1000 населення [3, 4].

Головна проблема медикаментозного лікування захворювань ЩЗ - це рецидиви і труднощі їх прогнозу. Часті рецидиви протягом перших п'яти років після відміни традиційного лікування складають 50-60%. Нормалізація функції ЩЗ з використанням тиреостатичних препаратів не впливає на імунологічні причини захворювання, які прирікають хворого на рецидив.

Використання нових імунологічних методів параклінічного обстеження хворих на патологію ЩЗ дозволяє підтвердити і переглянути механізми розвитку ХАІТ. У літературі наведені суперечливі дані про участь у патогенезі ХАІТ клітинних і гуморальних ланок імунної системи, особливо неспецифічних (вроджених) факторів і механізмів захисту організму. У зв'язку з цим дослідження ступеня імунних порушень широкого спектру імунологічних показників і факторів неспецифічного захисту, які беруть участь у формуванні імунної відповіді на початку, в процесі та в ефекторній стадії імунної відповіді, представляє не тільки теоретичний інтерес, але має практичну спрямованість [2, 3].

Мета дослідження

Встановити ступінь імунних порушень клі-

тинної ланки спадкового імунітету, прозапальних цитокінів першого і другого покоління у хворих на хронічний автоімунний тиреоїдит.

Матеріал і методи

Клініко-імунологічне обстеження проведено у 48 хворих на ХАІТ (маніфетний гіпотиреоз), із них 6 чоловіків і 42 (87,5%) жінок віком 31-76 років. Клінічний діагноз верифікували на підставі клінічної маніфестації, підвищеного рівня ТТГ, зниження рівня вільного Т4, підвищення титру аАТ до ТПО і ТГ, ультразвукового дослідження, гістологічне обстеження пунктату біопсії ЩЗ, що виявила лімфоїдну і плазмоклітинну інфільтрацію. Середній термін захворювання ХАІТ становив 6,1 2,6 років. Критерії підбору хворих на обстеження наведені в таблиці 1.

У хворих на ХАІТ виявлена супутня патологія: хвороби серцево-судинної системи (41,7%), хронічний калькульозний холецистит (20,8%), хронічний бронхіт (16,7%) і варикозна хвороба (8,3%). У 12,5% хворих супутньої патології не виявлено.

Контрольна група представлена 38 практично здоровими донорами (5 чоловіків і 33 жінки) віком 20-50 років. У всіх відсутня будь-яка патологія щитоподібної залози, не виявлено жодних хронічних і рецидивуючих захворювань, у тому числі інфекційного, автоімунного, алергічного та пухлинного генезу. Частота гострих респіраторних захворювань складала 0-2 рази протягом року, причому обстеження проводились не раніше 6 місяців після лікування захворювання. Відхилень функцій інших органів і систем не встановлено. Усі вони проживали в тому ж регіоні, що і хворі основної групи.

Таблиця 1

Критерії включення невиключення хворих на ХАІТ для подальшого обстеження

| Критерії включення | Критерії невиключення |
|--|---|
| 1.Хронічний автоімунний тиреоїдит 2.Маніфестний гіпотиреоз (за критеріями Т.В. Мохарт, Н.В.Карлович, 2004). | 1.Субклінічний гіпотиреоз 2.Ускладнений гіпотиреоз 3.Декомпенсація кровообігу 4.Цукровий діабет 5.Туберкульоз легень 6. Вагітність 7.Вакцинація протягом 6 місяців 8.Прийом імуноотропних препаратів |

Для імунологічних досліджень забирали цільну кров із ліктьової вени вранці (8-10г) натщесерце у 2 пробірки. У першу пробірку із стабілізатором (1мл. розчину гепарину(10-15од/мл)) вносили 4мл. крові, в якій визначали абсолютну та відносну кількість лімфоцитів, фагоцитарну і секреторну активність нейтрофільних гранулоцитів. В іншу (суху) пробірку вносили 6мл крові, яку центрифугували 10 хв. за 1500 об/хв. для отримання плазми, в якій визначали концентрації прозапальних цитокінів, антитіл щодо органоспецифічних антигенів ШЗ (тиреоглобуліну, тиреоїдної пероксидази та до рецептора тиреотропного гормону) [1,2].

В імунологічних дослідженнях використовувалася панель моноклональних антитіл "Сорбент" (Росія) до мембранних CD-рецепторів-анти-CD3+, CD4+, CD16+, CD19+, CD25+, CD95+ та анти HLA-DR+. Фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів (НГ) оцінювали за здатністю захоплювати часточки монодисперсного (ϕ 1,7мкм) полістирольного латексу.

Для опрацювання одержаних результатів використані методи варіаційної статистики. Визначали середні величини (M), похибки середніх арифметичних ($\pm m$). Різниця між групами вважалася статистично достовірною за $P < 0.05$. Математичні операції проведені на IBM/PC за допомогою пакета програми BIOSTAT 3,03 "Statistica for Windows and Microsoft Excel".

Обговорення результатів дослідження

Неспецифічні фактори реактивності організму (фактори вродженого імунітету) беруть участь на початку, в період розвитку і в заключній фазі специфічної імунної відповіді. Реактивність неспецифічної системи захисту недиференційована стосовно конкретного антигену і направлена проти будь-яких інфекційних і неінфекційних агентів. Імунна специфічна відповідь завжди конкретна та адресована конкретному антигену. Визначення стану неспецифічної реактивності організму має

важливе значення в комплексній оцінці імунного статусу та в прогнозі перебігу захворювання. Від стану неспецифічних захисно-приспосувальних (адаптаційних) механізмів залежить початок і перебіг захворювання запального процесу. Різке і тривале інгібування неспецифічних факторів захисту - несприятливий прогноз захворювання. Виходячи із сказаного вище, нами проведено дослідження клітинної ланки неспецифічної реактивності та концентрації прозапальних цитокінів першого і другого покоління в периферійній крові хворих на хронічний автоімунний тиреоїдит (табл.2)

Для встановлення інформативності змін показників неспецифічної реактивності організму хворих на ХАІТ, як можливих прогностичних факторів та основи вибору імуноотропних препаратів, визначений ступінь імунних порушень кожного показника. За наявності імунної недостатності показник був негативним ("-") числом, значення показника зі знаком "+" засвідчило про гіперфункцію неспецифічної реактивності. Значення результатів, що знаходилися в межах 1-33%, відповідало I ступеню розладів неспецифічної реактивності, 39-66,7% - II ступеню, понад 66,7% - III ступеню розладів.

Виявлено, що серед 18 показників, що характеризують клітинну ланку неспецифічної реактивності організму, 10 (55,6%) мають II ступінь порушень, 3 (16,7%) - III ступінь та 5 (27,7%) - I ступінь. Виходячи з цього, хворим на ХАІТ слід підбирати імуноотропні препарати із препаратів крові та адаптогенів. Небажаним є використання препаратів центральної дії (препаратів тимусу або кісткового мозку).

Високий (III ступінь) рівень порушень у хворих на ХАІТ-відзначається зниження абсолютної та відносної кількості природних регуляторних клітин (TCD3+ CD25+) у 3,38 раза та у 4,59 раза відповідно. Вони беруть участь у механізмі підтримки толерантності та супресії інших Т-лімфоцитів. Ці клітини регулюються імунною від-

Таблиця 2

Ступінь порушень клітинної ланки неспецифічної реактивності організму хворих на хронічний автоімунний тиреоїдит

| Популяції імунокомпетентних клітин | Одиниці виміру | Хворі на ХАІТ (n=48) M±m | Практично здорові особи (n=38) M±m | Ступінь імунних порушень | p |
|--|----------------------|-----------------------------|---------------------------------------|--------------------------|--------|
| Лейкоцити | x10 ⁹ /л | 5,34 (4,81±6,54) | 5,07 (4,44±5,45) | +I | >0,05 |
| О-лімфоцити | % | 14,52 (12,91-19,36) | 13,92 (13,12±15,81) | +I | >0,05 |
| | кл/мкл | 383,17 (172,63±539,26) | 279,85 (197,56-330,06) | +II | <0,05 |
| Природні кілери NK CD3 ⁺ CD16 ⁺ | % | 10,60 (8,04-11,41) | 17,25 (16,67-18,33) | -II | <0,05 |
| | кл/мкл | 62,50 (48,50-66,25) | 110,50 (72,25-149,00) | -II | <0,05 |
| Природні регуляторні клітини (CD3 ⁺ CD25 ⁺) | % | 1,04 (0,55-2,06) | 3,51 (2,52-4,03) | -III | <0,001 |
| | кл/мкл | 15,75 (0-35,50) | 72,25 (54,00-104,75) | -III | <0,001 |
| Фагоцитарна активність НГ | % | 37,80±2,7 | 71,90±3,80 | -II | <0,01 |
| Фагоцитарний індекс | у.о./кг | 2,78±1,09 | 2,46±0,14 | +I | >0,05 |
| Міграційна активність НГ | мкм/сутки | 37,60±2,20 | 75,60±3,80 | -II | <0,05 |
| Індекс спонтанної адгезії | % | 32,50±11,50 | 20,60±6,70 | +II | <0,05 |
| НГ3 CD95 ⁺ | % | 35,40±1,50 | 18,60±1,30 | +III | <0,01 |
| Фагоцитарна ємкість крові | x 10 ⁹ /л | 9,97±0,71 | 18,80±1,12 | -II | <0,01 |
| Кількість активних фагоцитів | x 10 ⁹ /л | 7,11±0,39 | 13,52±0,69 | -II | <0,01 |
| Активність мієлопероксидази НГ | у.о. | 2,13±0,17 | 1,52±0,18 | +II | <0,05 |
| Катіонні протеїни НГ | у.о. | 1,01±0,09 | 1,49±0,08 | -I | <0,05 |
| Концентрація глікогена НГ | у.о. | 1,89±0,11 | 1,43±0,09 | +I | <0,05 |
| Концентрація ліпідів НГ | у.о. | 1,86±0,08 | 1,36±0,05 | +II | <0,01 |

Примітка: НГ - нейтрофільні гранулоцити

повіддю стосовно антигенів, в тому числі автоантигенів; пригнічують проліферацію наївних TCD3⁺ CD25⁺ Т-лімфоцитів. Таким чином, природні регуляторні TCD3⁺ CD25⁺ не тільки контролюють підтримку толерантності, перешкоджають розвитку автоімунних процесів, послаблюють маніфестацію захворювання, а також регулюють імунну відповідь. Зниження абсолютної і відносної кількості TCD3⁺ CD25⁺ лімфоцитів у

хворих на ХАІТ сприяє посиленню автоімунних процесів.

Підвищення кількості на 90,3% НГ з CD95⁺ маркером засвідчує про підвищення апоптозу найбільшої популяції імунокомпетентних клітин. Вивчення фагоцитозу НГ має важливе значення у комплексному аналізі діагностики автоімунних процесів та у виборі імунотропних препаратів. Фагоцитарна активність НГ понижена на 90,2%, їх

міграційна активність знижена у 2,0 рази, фагоцитарна ємкість крові хворих на ХАІТ - на 88,6% та кількість активних фагоцитуючих клітин - на 90,2%, але підвищується адгезивна активність на 57,8%. У хворих на ХАІТ порушуються механізми фагоцитозу на заключному етапі за рахунок зменшення катіонних білків НГ на 47,5% при підвищеній активності мієлопероксидази на 40,1%, концентрації глікогену - на 32,2% і ліпідів - на 36,8%.

Незважаючи на підвищення абсолютної кількості О-лімфоцитів на 36,9% і тенденції до зростання відносної кількості цих клітин, абсолютна і відносна кількість основної популяції - природніх кілерів (NK) - знижена на 76,8% і 62,7% відповідно.

Відомо, що при поділі імунокомпетентні клітини секретують різноманітні регуляторні речовини пептидної природи (цитокіни). Вони діють на інші клітини як лімфоїдного, так й інших ростків, переважно на моноцити/макрофаги, включаючи у них широкий спектр біологічних ефектів по лінії

стимуляції, так і пригнічення функцій імунокомпетентних клітин. Цитокіни проявляють різнобічну дію, забезпечуючи взаємодію клітин в імунній системі та її взаємозв'язок з іншими системами організму.

Результати дослідження концентрації прозапальних цитокінів першого і другого покоління у хворих на ХАІТ наведені в таблиці 3.

Із наведених у табл. 3 результатів дослідження видно, що у хворих на ХАІТ концентрація ІЛ-1 β знижена у 3,6 рази, що призводить до зниження продукції гепатоцитами білків гострої фази, адгезивних молекул, гама - ІНФ, ФНП та інших цитокінів. Незважаючи на це, у крові хворих на ХАІТ зростає концентрація ІЛ-6 на 54,3%, ІЛ-8 - у 4,4 рази, ФНП - альфа - у 4,9 рази. При цьому суттєво зростає концентрація у крові хворих на ХАІТ альфа-і гама - інтерферонів у 5,6 та у 35,9 рази відповідно.

Підвищення концентрації ІЛ-6, який синтезується різними типами клітин (макрофагами, Т- і В - лімфоцитами, епітеліальними, мікрогліаль-

Таблиця 3

Концентрація прозапальних цитокінів першого і другого покоління в плазмі крові хворих на хронічний автоімунний тиреоїдит

| Цитокіни | Одиниці виміру | Хворі на ХАІТ (n=48) | Практично здорові особи (n=38) | Ступінь імунних порушень | P |
|--|----------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------|
| Інтерлейкін-1 β (ІЛ-1 β) | пг/мл | 12,79 (10,62-17,34) | 43,48 (39,25-45,54) | -III | <0,001 |
| Інтерлейкін-6 (ІЛ-6) | пг/мл | 1,45 (1,06-2,04) | 0,94 (0,32-1,60) | +II | <0,05 |
| Інтерлейкін -8 (ІЛ-8) | пг/мл | 78,98 (19,89-124,30) | 17,95 (16,64-35,5) | +III | <0,01 |
| Фактор некрозу пухлин – альфа (ФНП- α) | пг/мл | 6,63 (5,51-7,75) | 1,35 (1,11-1,59) | +III | <0,001 |
| Інтерферон – альфа (α -ІНФ) | пг/мл | 7,35 (0,08-12,04) | 1,31 (0,00-2,64) | +III | <0,01 |
| Інтерферон – гама (γ -ІНФ) | пг/мл | 15,06 (11,06-18,67) | 0,42 (0,29-0,49) | +III | <0,001 |

ними клітинами, хондріоцитами, остеоцитами), має більш різносторонні ефекти, ніж інші цитокіни. Він схожий з ефектами ІЛ-1, в кооперації з іншими цитокінами підсилює диференціацію і проліферацію стовбурових клітин, активацію TCD4⁺ і TCD8⁺-лімфоцитів. Його збільшення підсилює ефективність запального процесу.

Зростання концентрації ІЛ-8 або NAO (neutrophil activating protein - 1), який стимулює активацію НГ за рахунок підсилення хемотаксису, експресії адгезивних молекул, прилипання до ендотеліальних клітин, підсилює екзоцитоз лізосомальних ферментів ангиогенезу і підсилює

експресію рецепторів щодо окремих компонентів системи комплементу.

У хворих на ХАІТ підвищується у 4,9 рази ФНП- α , що може призвести до розвитку ендотоксиніндукованого септичного шоку, ФНП - альфа сприяє проліферації Т- і В - лімфоцитів, активації НГ і макрофагів, посилює продукцію ІЛ-1 та ІЛ-6, експресію молекул НЛА класу I. ФНП - α сумісно з гама - інтерфероном, концентрація якого також підвищується, посилюють експресію молекул НЛА класу II на макрофагах.

Висновки

1. У хворих на хронічний автоімунний тиреоїдит відзначається зниження в периферійній крові абсолютної та відносної кількості НК - клітин у 1,77 та у 1,63 раза відповідно; TCD3+ і TCD25+ - у 4,59 та у 3,38 раза відповідно. Зростає у 1,37 раза абсолютна кількість О- лімфоцитів; знижується в 1,9 раза фагоцитарна та міграційна активність нейтрофільних гранулоцитів у 2 рази.

2. Перебіг хронічного автоімунного тиреоїдиту супроводжується підвищенням у 1,9 раза відносної кількості нейтрофільних гранулоцитів, готових до апоптозу, що призводить до зниження фагоцитарної ємкості крові в 1,89 раза та кількості активних фагоцитів у крові в 1,9 раза.

3. Має місце порушення фагоцитарного процесу на заключному етапі. Незважаючи на підвищення на 40,13% активності мієлопероксидази у фагоцитуючих клітин (НГ) знижується концентрація катіонних протеїнів на 47,52%, але зростає концентрація у нейтрофільних гранулоцитів глікогену на 32,17% і ліпідів - на 36,76%.

Перспективи подальших досліджень

Одержані результати будуть підставою для вивчення ступеня імунних порушень системного імунітету у хворих на ХАІТ.

Література. 1. Долгушин І.І. Нейтрофіли і гомеостаз/І.І. Долгушин, О.В. Бухарин.- Екатеринбург: Уро РАН, 2001.-277с. 2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник-К., 2010. - 552с. 3. Паньків В.І. Практична тиреоїдологія / В.І.Паньків.-Д: Заславський О.Ю., 2011. - 223с. 4. Чекагіна Н.І. Сучасні уявлення про автоімунний тиреоїдит: етіологія та патогенез / Н.І.Чекагіна, Ю.М.Казанов, Є.Є.Петров [та ін.] // Вісник ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія".- 2013.- Т.12, вип.4(40). - С.229-232/

СТЕПЕНЬ НАРУШЕНИЙ ФАКТОРОВ И МЕХАНИЗМОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОТИВИНФЕКЦИОННОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТ

О.П. Храброва

Резюме. У больных хроническим аутоиммунный тиреоидит отмечается снижение в периферической крови абсолютного и относительного количества НК-клеток в 1,77 и в 1,63 раза соответственно; TCD3 + CD25 + - в 4,59 и в 3,38 раза соответственно; в 1,9 раза - фагоцитарная активность и миграционная способность нейтрофилов (НГ), относительное количество НГ готовых к апоптозу повышается в 1,9 раза, что приводит к снижению фагоцитарной емкости крови в 1,89 раза и количества активных макрофагов в крови в 1,9 раза. В НГ повышается активность миелопероксидазы на 10,13%, но снижается на 47,52% концентрация протеинов и возрастает концентрация в НГ гликогена на 32,17% и липидов - на 36,76%.

Ключевые слова: хронический аутоиммунный тиреоидит, врожденный иммунитет, степень нарушений

THE EXTENT OF VIOLATIONS OF THE FACTORS AND MECHANISMS OF NON-SPECIFIC DEFENSE AGAINST INFECTION OF THE PATIENTS BODY WITH CHRONIC AUTOIMMUNE THYROIDITIS

О.П. Храброва

Abstract. In patients with chronic autoimmune thyroiditis a decrease of absolute and relative number of cells in N. 1.77 and 1.63 times respectively; TSD3 + CD25 + - by 4.59 and at 3.38 times is marked in the peripheral blood, respectively; by 1.9 times - phagocytic activity and migration ability of neutrophilic granulocytes (NG) NG relative the number of ready-to apoptosis increase by 1.9 times, which reduce the phagocytic capacity of blood by 1.89 times and total amount of macrophages in the blood by 1.9 times. In NY myeloperoxidase activity increased 10.13%, but decreased 47.52% protein concentration increasing glycogen concentration in NY 32.17% and lipids - 36.76%.

Key words: chronic autoimmune thyroiditis, innate immunity, the degree of violations.

HSEE of Ukraine "Lugansk state medical university", Rubizhne

Clin. and experim. pathol.-2016.-Vol.15,№2(56).p.1.-P.186-190.

Надійшла до редакції 10.04.2016

Рецензент – проф. І.Й. Сидорчук

© О.П. Храброва, 2016