

НОВЫЕ АСПЕКТЫ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА БОЛЕЗНИ ГРЕЙВСА – ЦИТОКИНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ И КЛЕТОЧНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

© 2019 г. В. В. Здор^{1*}, Б. И. Гельцер²

*E-mail: victoria.zdor@mail.ru

¹ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»
Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

²ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 13.03.2019

При болезни Грейвса выявлены значимые изменения сывороточных уровней ряда оппозитных цитокинов с существенным увеличением содержания IFN γ и IL-2 на фоне дефицита TGF β 1 исходно и на фоне терапии тиамазолом, что свидетельствует о дисфункции Tregs с последующим феноменом истощения. Сохранение повышенного уровня IL-10 на фоне 6 месяцев терапии тиреотоксикоза свидетельствует о негативной роли цитокина из-за известной индукции им дифференцировки Treg в Th17-клетки с последующим снижением числа Tregs. Наряду с исследованием тиреоидных гормонов, ТТГ и тиреоидных аутоантител, целесообразно проводить мониторинг сывороточного уровня IL-2, IFN γ , IL-6, sIL-6R, IL-17 и TGF β 1 исходно и на фоне терапии тиамазолом для адекватного контроля за течением аутоиммунного процесса и прогнозирования возможного рецидива заболевания, в том числе при решении вопроса о проведении радикального лечения. Получены убедительные данные об участии мастоцитов в патогенезе болезни Грейвса, но не при узловом эутиреоидном зобе. Активная миграция мастоцитов в щитовидную железу при болезни Грейвса, их дегрануляция в интра- и межфолликулярном пространстве и экспрессия ими CD86 предопределяет способность мастоцитов участвовать в антиген-презентирующей функции при аутоиммунном тиреотоксикозе, что раскрывает перспективы для персонифицированной патогенетической терапии заболевания.

Ключевые слова: аутоиммунный тиреотоксикоз, тиреоидэктомия, цитокины, мастоциты, CD86

DOI: 10.31857/S102872210006594-8

Адрес: 690002 г. Владивосток, проспект Острякова 4, Центральная научно-исследовательская лаборатория, н.с. Здор Виктория Владимировна. Тел./факс: +79147919625.

E-mail: victoria.zdor@mail.ru

Авторы:

Здор В. В., к.м.н., научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Гельцер Б. И., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор департамента клинической медицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Болезнь Грейвса (БГ) – аутоиммунный тиреотоксикоз – относят к мультифакторным по этиопатогенезу аутоиммунным заболеваниям.

Важные аспекты иммунопатогенеза БГ неизвестны – триггерный механизм, первичный аутоантиген, все антиген-презентирующие клетки (АПК) [1]. Роль тиреоидных гормонов (ТГ) в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, влияние ТГ на иммунорегуляторные процессы интенсивно исследуется в последние годы. Доказано взаимное влияние ТГ на иммунокомпетентные клетки лимфоидного ряда через их специфические мембранные и ядерные рецепторы [2, 3]. Существенную роль в развитии БГ играют регуляторные нарушения в системе иммунитета, в том числе дисбаланс в системе цитокинов, но нарушения цитокин-опосредованных механизмов трактуются неоднозначно [4, 5]. Кроме того, до сих пор неизвестны все меха-

низмы потери толерантности к аутоантигенам ЩЖ [1]. В связи с этим, актуально детальное изучение механизмов прогрессирования аутоиммунного тиреотоксикоза, что явилось **целью** нашего исследования.

МЕТОДЫ

Исследование было проспективное, открытое, наблюдательное, с параллельным принципом формирования групп: 1-я – пациенты с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза (51 человек); 2-я – пациенты с узловым эутиреоидным зобом (32 человека) и группа контроля (50 человек). Пациентам с узловым эутиреоидным зобом (УЗ) была проведена гемитиреоидэктомия с предварительной морфологической верификацией диагноза (32 человека). Тотальная тиреоидэктомия применялась при БГ в случаях рецидива тиреотоксикоза (28 человек; 54,9%) и/или при увеличении объема ЩЖ с компрессионным синдромом (23 человека; 45,1%). Определение сывороточного уровня ТТГ, свободного Т3, Т4, антител к рТТГ, ТПО и к тиреоглобулину проведено электрохемилюминисцентным методом всем пациентам. Сывороточные уровни IL-1 α , IL-1 β , IL-6 и sIL-6 R, IL-8, IL-17, IL-2 и рецептора sIL-2 RI, IFN γ , TNF α и рецепторов sTNF α RI и RII; IL-4, IL-10, IL-13, IL-22, TGF β 1, TGF β 3 определяли методом ИФА (чувствительность 1 пг/мл). Применяли гистохимические, ИГХ методы. Иммунное окрашивание проводилось стрептавидин-биотиновым пероксидазным методом. Хромогеном служил DAB+; ставили позитивные и негативные контроли. Морфометрия с подсчетом количества МС в единице площади ЩЖ и степень их дегрануляции при помощи программы «Motic Images Plus, 2.0». Методом электронной и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии изучали (в диапазоне увеличения 1200–20000) ультрамикроструктуру тиреоцитов и иммуноцитов, экспрессию CD86 в ЩЖ, идентифицировали маркер МС – триптазу. Использовали валидные статистические методы, ROC-анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При БГ установлен функциональный дисбаланс в системе клеточного иммунного реагирования на основании сохранения значимо высокого абсолютного уровня и нарушения соотношения оппозитных цитокинов, несмотря на достижение медикаментозного эутиреоза перед тиреоид-

эктомией, что указывает на прогрессирование аутоиммунного процесса в ЩЖ на фоне терапии. Значимое снижение концентрации цитокинов было зафиксировано через 2 месяца после тиреоидэктомии. Так, предоперационный уровень IL-1 α превышал аналогичный показатель контроля в 45 раз, но после тиреоидэктомии IL-1 α существенно снижился, но оставался в 1,6 раза выше нормы ($p < 0,05$). При БГ значительно снижались после тиреоидэктомии уровень IL-6 ($16,24 \pm 2,37$ пг/мл против $2,74 \pm 0,34$ пг/мл, $p < 0,001$) и его растворимого рецептора sIL-6 R (перед операцией – $4303,02 \pm 37,12$ пг/мл, через 2 месяца – $3889,21 \pm 40,76$ пг/мл, $p < 0,05$), что демонстрирует участие тиреоидного эпителия в комплексе местных и, вероятно, системных воспалительных реакций посредством IL-6 и sIL-6 R. Исходно значимо высокий IFN γ при БГ практически нормализовался после операции ($72,98 \pm 6,21$ пг/мл против $10,27 \pm 1,47$ пг/мл, $p < 0,01$). Перед тиреоидэктомией была высокой (в 7 раз выше нормы) концентрация сывороточного IL-17, которая нормализовалась через 2 месяца после операции ($74,56 \pm 11,04$ пг/мл против $9,46 \pm 0,24$ пг/мл после операции, $p < 0,01$). Сывороточный уровень IL-10 был значимо высоким ($131,94 \pm 11,84$ пг/мл против контроля $11,06 \pm 0,30$ пг/мл, $p < 0,01$), отмечалась прямая зависимость содержания IL-10 от уровня свободного Т3 ($r = 0,57$; $p < 0,01$); он достоверно снижился через 2 месяца после тиреоидэктомии до $17,24 \pm 4,10$ пг/мл ($p < 0,01$). Корреляция показателей данных цитокинов с тяжестью тиреотоксикоза предполагает перспективным рассмотрение вопроса о таргетной антицитокиновой терапии при БГ. Через 2 месяца после тиреоидэктомии при БГ зафиксировано достоверное возрастание исходно низкого TGF β 1 ($11,21 \pm 1,49$ нг/мл до $18,49 \pm 1,41$ нг/мл, $p < 0,05$). Значимый абсолютный и относительный дефицит TGF β 1 подтверждает ключевую роль цитокина в поддержании аутоиммунного воспаления в ЩЖ и свидетельствует в пользу феномена активационного истощения Tregs, обусловленного генетическим дефектом в системе иммунорегуляции при БГ, вероятно за счёт нарушения специфической индукции Tregs [5]. Взаимосвязь TGF β 1 и объема ЩЖ оказалась обратной средней силы ($r = -0,52$; $p < 0,05$). Кроме того, при БГ после тиреоидэктомии зафиксировано значимое снижение исходно высокого уровня IL-2 ($16,91 \pm 3,36$ пг/мл против $122,51 \pm 2,80$ пг/мл до операции; $p < 0,001$), которое сопровождалось

достоверным нарастанием уровня его растворимого рецептора sIL-2 R ($184,17 \pm 29,79$ пг/мл и после операции $440,86 \pm 39,84$ пг/мл; $p < 0,001$). Незначительная эффективность тиамазола при осложненном течении тиреотоксикоза доказывает иммуностимулирующее действие исходно высоких уровней ТГ, а возрастающий в динамике на фоне терапии уровень ТТГ может влиять на синтез ТЗ в иммунocyтах. При БГ цитокины могут индуцировать противоречивые иммунные реакции, которые зависят от взаимодействия с другими медиаторами [1, 4, 5], дальнейшее их изучение позволит провести эффективных поиск иммуноотропных препаратов, способных воздействовать на течение аутоиммунного процесса при БГ. В отличие от пациентов с узловым эутиреоидным зобом, при БГ получены достоверные данные об активной миграции, дегрануляции и экспрессии мастоцитами CD86 в межфолликулярном пространстве ЩЖ, что доказывает участие МС в функции антигенпрезентации при аутоиммунном тиреотоксикозе. Ингибирование дегрануляции МС может являться одной из реальных задач патогенетической терапии БГ. Дальнейшее изучение данных аспектов иммунного ответа при БГ будет способствовать эффективной разработке соответствующих стратегий регуляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общими предикторами прогрессирования аутоиммунного процесса при БГ могут являться высокие сывороточные уровни IL-6, sIL-6R,

IL-17. Дополнительными иммунологическими маркерами для прогнозирования тяжести дальнейшего течения и возможного рецидива заболевания, при решении вопроса о тиреоидэктомии могут служить высокие показатели IL-1 α , IL-6, IFN γ . Значительное увеличение или сохранение в процессе терапии БГ показателей IFN γ в сыворотке крови свидетельствует о вероятном прогрессировании или рецидиве аутоиммунного тиреотоксикоза. Обнаруженные при БГ интенсивные корреляции между показателями ряда оппозитных цитокинов и ТГ, активно дегранулирующие и экспрессирующие CD86 интратиреоидные МС свидетельствуют об их участии в антигенпрезентации при БГ, возможно, после идентификации уровня тиреоидных гормонов в крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *McLachlan S. M., Rapoport B.* Breaking tolerance to thyroid antigens: changing concepts in thyroid autoimmunity. *Endocr. Rev.* 2014, 35(1), 59–105.
2. *Csaba G.* Hormones in the immune system and their possible role. A critical review. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 2014, 61 (3), 241–260.
3. *Brown M. A., Hatfield J. K.* Mast cells are important modifiers of autoimmune disease: with so much evidence, why is there still controversy? *Front. Immunol.* 2012, 3, 147.
4. *Kristensen B.* Regulatory B and T cell responses in patients with autoimmune thyroid disease and healthy controls. *Dan. Med. J.* 2016, 63(2), 27.
5. *Wiersinga W. M.* Thyroid autoimmunity. *Endocr. Dev.* 2014, 26, 139–157.

**NEW ASPECTS OF IMMUNOPATHOGENESIS OF GRAVES' DISEASE –
CYTOKINES REGULATION AND CELLULAR INFILTRATION
OF A THYROID GLAND AT AN AUTOIMMUNE THYROTOXICOSIS**

© 2019 V. V. Zdor^{1*}, B. I. Geltser²

E-mail: victoria.zdor@mail.ru

¹*FSBEI HE Pacific State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Vladivostok, Russia;*

²*FSAEI HE Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia*

Received: 28.02.2019. **Accepted:** 13.03.2019

It is revealed that significant changes in serum levels of a number of opposed cytokines with a significant increase of IFN- γ and IL-2 on the background of TGF- β 1 deficiency initially and on the background of thiamazole therapy, which indicates Tregs dysfunction followed by a depletion phenomenon occur in Graves' disease. Preservation of elevated IL-10 levels on the background of 6 months of thyrotoxicosis therapy indicates a negative role of the cytokine due to the well-known induction of Treg differentiation into Th17 cells with subsequent reduction in the number of Tregs. Along with the study of thyroid hormones, TSH and thyroid autoantibodies, it is advisable to monitor the serum levels of IL-2, IFN- γ , IL-6, sIL-6R, IL-17 and TGF- β 1, initially and during the thiamazole therapy for adequate monitoring of the autoimmune process and prediction of a possible recurrence of the disease, including when deciding on the radical treatment. The study obtained convincing data on the participation of mastocytes in the pathogenesis of Graves' disease, but not in the nodal euthyroid goiter. The active migration of mast cells to the thyroid gland in Graves' disease, their degranulation in the intra- and interfollicular space and their expression of CD86 predetermines the ability of mast cells to participate in the antigen-presenting function in autoimmune thyrotoxicosis, which opens up prospects for personalized pathogenetic therapy of the disease.

Key words: autoimmune thyrotoxicosis, thyroidectomy, cytokines, mast cells, CD86

Authors:

Zdor V. V., ✉ PhD, candidate of sciences, research associate of the Central Research Laboratory within FSBEI HE Pacific State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok, Russia; 690106, 4 Ostryakova st., Vladivostok, Russia. **E-mail:** victoria.zdor@mail.ru;

Geltser B. I., MD, professor, Corresponding Member of RAS, Chair of Department clinical medicine Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia.