

## Оригинальные работы

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ СИСТЕМЫ ЦИТОКИНОВ  
ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

Здор В.В., Маркелова Е.В.

*ГБОУ ВПО “Тихоокеанский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения России, Владивосток*

Здор В.В. — канд. мед. наук, врач-эндокринолог, ассистент кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО “Тихоокеанский государственный медицинский университет” МЗ РФ; Маркелова Е.В. — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии ГБОУ ВПО “Тихоокеанский государственный медицинский университет” МЗ РФ.

Участие оппозитных цитокинов в иммунопатогенезе болезни Грейвса (БГ) несомненно. Установлено, что при БГ изменения в содержании сывороточных цитокинов с оппозитными свойствами носят динамический характер, связанный с тяжестью течения заболевания. В дебюте аутоиммунного тиреотоксикоза отмечаются наибольшие значения цитокинов ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ ; ИФН- $\gamma$ , ИЛ-17, ИЛ-10 и TGF- $\beta$ . Доказана прямая корреляционная зависимость степени тяжести аутоиммунного тиреотоксикоза от содержания в сыворотке крови больного провоспалительных ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ ; ИФН- $\gamma$ , ИЛ-17 и противовоспалительных (TGF- $\beta$ , ИЛ-10) цитокинов. На фоне длительной терапии тиамазолом в стандартных дозах по общепринятой методике показатели данных цитокинов достоверно снижаются. Полученные данные расширили представления об иммунопатогенезе заболевания, позволили разработать алгоритм оценки возможного рецидива БГ.

**Ключевые слова:** аутоиммунный тиреотоксикоз, цитокины, тиамазол.

The State and Interactions of the System of Cytokines  
in Autoimmune Thyrotoxicosis

Zdor V.V., Markelova E.V.

*The Pacific Ocean State Medical University, chair of pathological physiology; Vladivostok, Russia*

One of the key, as well as regulatory, roles in immune response is given to the system of cytokines. The change in the content of serum opposite's cytokines in GD is dynamic. The beginning of autoimmune thyrotoxicosis shows the largest amounts of cytokines – IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17, TGF- $\beta$  and IL-10. It has been proved that there is a direct correlation dependence of the degree of the severity of the autoimmune thyrotoxicosis on the content of pro-inflammatory (IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17) and anti-inflammatory TGF- $\beta$ , IL-10 cytokines in the patient's blood serum, as well as on the production of anti-receptive thyroid autoantibodies. The benefits of study indexed that, long-term Thiamazole treatment in generally accepted standard doses demonstrates significant reduction of cytokine volume. It has also made it possible to work out the algorithm of the development of autoimmune thyrotoxicosis recurrence.

**Key words:** autoimmune thyrotoxicosis, cytokines, thiamazole.

## Введение

Болезнь Грейвса (болезнь Базедова) (БГ) является одной из наиболее актуальных проблем современной эндокринологии. Ведущая роль в патогенезе аутоиммунного тиреотоксикоза отводится нарушениям в процессах регулирования иммунного ответа, в том числе дисбалансу в активации различных субпопуляций эффекторных Т-хелперов (Th1-, Th2-, Th17-клеток). Роль цитотоксических клеток в предотвращении активации аутореактивных клонов Т-лимфоцитов и их функциональные дефекты при БГ известны с 1978 г., однако необходимость дальнейшего иммуно-

логического мониторинга продиктована тем, что одно только присутствие аутоантител или аутоспецифических клеток недостаточно для развития и поддержания аутоиммунного процесса [9, 15]. По мнению ряда авторов, существенную роль при аутоиммунных заболеваниях играют регуляторные нарушения в иммунной системе и дисбаланс в Т-клеточном звене иммунитета [3, 6, 9, 10, 12, 15].

Одна из ключевых, в том числе и регуляторных, ролей в иммунном ответе отводится системе цитокинов, которые являются “наиболее важной и универсальной в функциональном отношении группой гумо-

ральных факторов системы иммунитета” [7]. Важную роль отводят не только дисбалансу вышеперечисленных субпопуляций лимфоцитов, но и продукции маркерных для них цитокинов, а также взаимосвязи Th17- и Treg-клеток [9, 11, 14], осуществляемой в том числе с помощью TGF- $\beta$  [13], который, наряду с ИЛ-6, индуцирует дифференцировку Th17-клеток, а цитокины, продуцируемые Th1-клетками, подавляют развитие Th17-клеток [7, 12]. Однако по результатам исследований последних лет было доказано, что при аутоиммунных заболеваниях Т-клетки активно продуцируют как ИЛ-17, так и противовоспалительные цитокины [3, 9].

Участие цитокинов в иммунопатогенезе аутоиммунных заболеваний щитовидной железы активно изучается последние два десятилетия [1, 2, 4, 5, 6, 8, 15], но точно не известно, как изменяется уровень оппозитных цитокинов в зависимости от продолжительности аутоиммунного ответа и тяжести течения тиреотоксикоза, на фоне применения различных способов лечения и в зависимости от наличия или отсутствия осложнений тиреотоксикоза [4, 10, 15]. Изменения в содержании сывороточных Th1, Th2, Th17 маркерных цитокинов при БГ и аутоиммунном тиреоидите, как известно, носят динамический характер. Доказана прямая корреляционная зависимость степени тяжести аутоиммунного тиреотоксикоза от содержания в сыворотке больного провоспалительных (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ ; ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ ) и противовоспалительных (ИЛ-10, ИЛ-12) цитокинов, а также в некоторой степени от продукции антирецепторных тиреоидных аутоантител [2, 4, 6].

На фоне длительной терапии тиамазолом в стандартных дозах показатели цитокинов достоверно снижаются. Полученные ранее данные позволили уточнить динамику провоспалительных (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-8, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ ), противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов, тиреостимулирующих аутоантител при БГ [4], что сделало более понятным некоторые патогенетические механизмы заболевания, а также предоставило возможность разработки алгоритма оценки эффективности терапии, прогнозирования вероятности развития рецидива тиреотоксикоза.

Актуальность иммунологического мониторинга при БГ, в том числе уровня цитокинов, для объективной оценки результатов проводимой терапии, а также прогнозирования отдаленных результатов лечения привлекла внимание к данной проблеме. Однозначного мнения о роли и взаимосвязях иммунокомпетентных клеток и цитокинов в патогенезе БГ до сих пор не существует, что и послужило предпосылкой для этого исследования.

**Целью работы** была оценка роли сывороточного уровня ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10, ИЛ-17

и TGF- $\beta$  в патогенезе БГ различной степени тяжести, в механизмах иммунологической и клинической ремиссии аутоиммунного тиреотоксикоза, а также возможности их использования в качестве предикторов течения заболевания.

В задачи исследования входило изучение состояния и динамики Th1-, Th2-, Th17-цитокинов у больных БГ, а также исследование возможных механизмов прогрессирования БГ, обеспечиваемых данными цитокинами. На основании комплексной оценки соотношения между продукцией тиреоидных гормонов, синтеза цитокинов, антител и клинико-лабораторными характеристиками БГ необходимо определить наиболее значимые факторы риска рецидива заболевания и влияние различных терапевтических программ на установленные прогностические иммунологические критерии исхода БГ.

### Материал и методы

В Приморском краевом центре диабета и эндокринных заболеваний, а также в клиниках города Владивостока нами было обследовано 127 пациентов, группу контроля составили 50 здоровых доноров. Возраст больных — от 18 до 64 лет. У всех пациентов диагноз устанавливался на основании жалоб, данных анамнеза, характерной клинической картины аутоиммунного тиреотоксикоза и подтверждался на основании гормонального, иммунологического, морфологического или радиоизотопного методов обследования. Определение размеров, объема и структуры щитовидной железы проводилось с помощью метода эхо-локации (на аппарате Aloka 2000 с использованием линейного датчика с частотой 7,5 и 10 МГц).

Все пациенты были разделены на три основные группы по степени тяжести аутоиммунного тиреотоксикоза. В группе легкого течения (I группа) было 13 человек (7,52% от общего числа пациентов), группа средней степени тяжести (II группа) — 56 человек (42,10%) и группа тяжелого течения (III группа) — 47 человек (50,38%). Женщины составили 84,2% (87 человек), мужчин было 15,8% (19 человек). Возраст больных колебался в пределах от 18 до 65 лет, средний возраст —  $42,86 \pm 1,05$  лет. Пациенты всех групп получали лечение антитиреоидными препаратами группы тиомочевины (тиамазол) в дозах от 20 до 60 мг в сутки в зависимости от тяжести течения тиреотоксикоза. Длительность их приема была от 6 до 12 мес — если тиреостатическая терапия была этапом подготовки к оперативному вмешательству, от 18 до 24 мес — в случае эффективности тиреостатической терапии и при отсутствии показаний к радикальным способам лечения БГ.

Всем пациентам проводился мониторинг клинико-биохимических показателей: исходно, через

1, 3 мес и далее в динамике каждые 3 мес терапии. Сывороточный уровень тиреотропного гормона (ТТГ), свободных  $T_3$ ,  $T_4$  методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью диагностических наборов фирмы F. Hoffmann-La Roche, Швейцария. Определение ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ ; ИФН- $\gamma$ , ИЛ-17, TGF- $\beta$ 3 и ИЛ-10 в сыворотке крови проводилось методом твердофазного ИФА с помощью диагностических наборов R&D Diagnostics Inc., США, определение содержания антител к рецептору тиреотропного гормона (РТТГ), тиреоглобулину (ТГ) и тиреоидной пероксидазе (ТПО) — методом твердофазного ИФА. Наблюдение за больными на фоне консервативного лечения препаратами группы тионамидов продолжалось в течение двух лет. Статистическая обработка материалов проведена с использованием программы SPSS-16.

### Результаты и их обсуждение

Несбалансированная гиперцитокинемия отмечалась в дебюте аутоиммунного тиреотоксикоза с повышением провоспалительных цитокинов (преимущественно ИЛ-1 $\alpha$ ). Нарастание уровня цитокинов происходило прямо пропорционально степени тяжести тиреотоксикоза. При оценке уровня сывороточного ИЛ-1 $\alpha$  в дебюте БГ выявлено его увеличение в десятки раз по сравнению с показателями у здоровых лиц ( $19,15 \pm 5,41$  пг/мл против  $0,56 \pm 0,04$  пг/мл,  $p < 0,01$ ). Увеличение же показателей ИЛ-1 $\beta$  было не столь значимым ( $9,7 \pm 4,41$  пг/мл против  $5,24 \pm 2,18$  пг/мл).

Обнаружена прямая корреляционная зависимость между сывороточным уровнем ИЛ-1 $\alpha$  и уровнем антител к РТТГ, которая была более выражена в дебюте заболевания в группе тяжелого течения БГ ( $r_{III} = 0,64$ ;  $p < 0,05$ ;  $r_I = 0,45$ ;  $r_{II} = 0,36$ ). Корреляционный анализ не установил достоверной связи ( $r = -0,1$ ,  $p < 0,001$ ) между ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-17 в сыворотке крови при БГ.

При оценке сывороточного уровня ИЛ-10 было получено существенное превышение его показателей у пациентов с тиреотоксикозом по сравнению с контрольными величинами ( $65,85 \pm 14,38$  пг/мл против  $13,86 \pm 0,70$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). Данные по показателям оппозитных цитокинов представлены в таблице.

Показатели противовоспалительного ИЛ-10 при манифестном аутоиммунном тиреотоксикозе в группах легкой и средней степени тяжести составили  $58,5 \pm 6,43$  пг/мл, при норме  $13,86 \pm 0,7$  пг/мл ( $p < 0,01$ ), а в группе тяжелого течения достигали  $136,93 \pm 14,03$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). При этом сывороточный уровень цитокина коррелировал с тяжестью течения тиреотоксикоза и был наиболее высок в де-

Показатели уровня сывороточных цитокинов у здоровых людей и пациентов с болезнью Грейвса

Цитокины	Показатели ( $M \pm m$ ), пг/мл	
	Здоровые люди ( $n = 50$ )	Больные БГ ( $n = 127$ )
ИЛ-1 $\alpha$	$0,56 \pm 0,04$	$19,153 \pm 5,41^*$
ИЛ-1 $\beta$	$5,24 \pm 2,18$	$9,70 \pm 4,41$
ИФН- $\gamma$	$12,74 \pm 1,51$	$37,48 \pm 11,39^*$
ИЛ-17	$7,82 \pm 2,58$	$22,11 \pm 5,69^{**}$
TGF- $\beta$ 3	$52,73 \pm 10,41$	$61,56 \pm 5,36$
ИЛ-10	$13,86 \pm 0,7$	$65,85 \pm 14,38^*$

Примечание: \* – статистическая значимость различий между показателями больных БГ и здоровых людей ( $p < 0,01$  по  $t$ -критерию Стьюдента). \*\* –  $p < 0,001$  по  $t$ -критерию Стьюдента.

бюте заболевания, а также достоверно снижался на фоне терапии тиамазолом. Через 6 мес терапии уровень ИЛ-10 оставался высоким только в группе тяжелого течения БГ ( $58,77 \pm 9,31$  пг/мл,  $p < 0,01$ ), что еще раз подтверждает иммуносупрессивные свойства тионамидов и их незначительную эффективность в случае тяжелого течения БГ. При анализе возможных корреляционных связей между показателями сывороточного ИЛ-10 и антителами к РТТГ была выявлена прямая зависимость уровня аутоантител от сывороточного уровня ИЛ-10 ( $r_I = 0,35$ ;  $r_{II} = 0,34$ ;  $r_{III} = 0,65$ ,  $p < 0,05$ ). При этом между уровнем тиреотропного гормона и уровнем ИЛ-10 была установлена обратная связь умеренной силы в дебюте БГ ( $r = -0,37$ ). Между сывороточным уровнем ИЛ-10 и уровнем аутоантител к ТГ, как в дебюте заболевания, так и в динамике на фоне терапии тиамазолом, были выявлены прямые сильные и умеренной силы связи во всех клинических группах ( $r_I = 0,86$ ;  $r_{II} = 0,36$ ;  $r_{III} = 0,64$ ,  $p < 0,05$ ). Уровень аутоантител к ТПО также имел прямую корреляцию с сывороточным уровнем ИЛ-10 в начале заболевания ( $r_I = 0,40$ ;  $r_{II} = 0,64$ ;  $r_{III} = 0,33$ ;  $p < 0,05$ ) и с размерами зоба как в дебюте заболевания ( $r_I = 0,35$ ;  $r_{III} = 0,49$ ), так и в динамике БГ ( $r_I = 0,31$ ;  $r_{II} = 0,34$ ;  $r_{III} = 0,32$ ).

ИФН- $\gamma$  в группах легкой и средней степени тяжести БГ определялся в величинах, близких к показателям здоровых лиц, при нормальных показателях от 1,0 до 17,62 пг/мл, его уровень составил  $23,09 \pm 4,04$  пг/мл. В группе с тяжелым тиреотоксикозом ИФН- $\gamma$  определялся в количестве  $139,41 \pm 54,10$  пг/мл, что существенно превышает показатели у здоровых лиц ( $p < 0,001$ ). На фоне лечения БГ препаратами группы тионамидов (тиамазол) в течение 6–9 мес уровень ИФН- $\gamma$  снижался и определялся в количестве  $4,15 \pm 1,23$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). Корреляционный анализ позволил установить прямую сильную связь не только между уровнем цитокина и тяжестью течения тиреотоксикоза, уровнем тиреоидных гормонов (св. $T_3$ , св. $T_4$ ), но и между уровнем

ИФН- $\gamma$  и высокой концентрацией антител к ТПО ( $r = +0,7$ ;  $p < 0,001$ ), что подтверждает важную патогенетическую роль ИФН- $\gamma$  при БГ. Учитывая, что прогностически уровень антител к ТПО рассматривается как показатель выраженности лимфоидной инфильтрации щитовидной железы и степени ее повреждения [15], применение трех показателей (ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10 и антител к ТПО) будет повышать их предикторную ценность. Особый интерес, на наш взгляд, представляет наличие корреляционной зависимости между показателями сывороточного ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10: так, если в дебюте заболевания связи между цитокинами были обратные слабовыраженные, то в динамике, через полгода терапии тиамазолом, нами была выявлена прямая умеренной силы связь ( $r = 0,46$ ).

При этом ИЛ-17 у больных с БГ составил  $22,11 \pm 5,69$  пг/мл против  $7,82 \pm 2,58$  пг/мл у здоровых лиц ( $p < 0,001$ ). Выявлена также тенденция к увеличению TGF- $\beta 3$  ( $61,56 \pm 5,36$  пг/мл;  $p > 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой ( $52,73 \pm 10,41$  пг/мл). Корреляционный анализ позволил установить положительную связь умеренной силы между содержанием в сыворотке крови ИЛ-17 и TGF- $\beta 3$  ( $r = 0,32$ ). Более высокая степень увеличения уровня ИЛ-17 по сравнению с TGF- $\beta 3$ , при наличии прямой связи между указанными цитокинами, доказывает наличие дополнительных индуцирующих факторов для дифференцировки Th17-клеток, которое отмечается в исследованиях последних лет [3, 7, 14], и доказывает необходимость дальнейших исследований в этом направлении, так как существуют исследования, свидетельствующие о противоположном – о стимулирующем влиянии ИЛ-17 на TGF- $\beta 3$  [11].

## Заключение

1. Повышенные уровни оппозитных цитокинов, в том числе высокие сывороточные уровни ИЛ-1 $\alpha$ , ИФН- $\beta$ , ИЛ-17 и ИЛ-10, демонстрируют нарушения в системе иммунорегуляции при БГ и объективно отражают выраженность аутоиммунного процесса на системном уровне.

2. Установленная связь умеренной силы между ИЛ-17 и TGF- $\beta 3$  дополнительно подтверждает гипотезу о взаимосвязи между указанными цитокинами, а возрастание их уровня в зависимости от степени тяжести тиреотоксикоза доказывает утверждение о способствовании данных цитокинов аутоиммунному поражению при БГ.

3. Наличие корреляционной зависимости между ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10 при аутоиммунном тиреотоксикозе, а также выявленная прямая связь обоих цитокинов с антителами к ТПО позволяют отнести их к важным предикторным маркерам течения БГ.

4. Полученные данные позволяют ввести в практику дополнительные иммунологические критерии оценки степени тяжести БГ и оценки проводимой терапии, а также могут быть использованы для прогнозирования возможного рецидива болезни Грейвса и выбора оптимального способа лечения для конкретного пациента.

## Список литературы

1. Авдеева ЖИ, Алтатова НА, Аскользина СЕ, Медуницын НВ. Цитокины и вакцины. Тихоокеанский медицинский журнал. 2009;3:22-27.
2. Казаков СП. Уровень цитокинов и молекул межклеточной адгезии в плазме крови и их диагностическая эффективность при аутоиммунных и онкологических заболеваниях щитовидной железы. Медицинская иммунология. 2010;12(6):559-564.
3. Кетлинский СА, Симбирцев АС. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с.
4. Маркелова ЕВ, Лазанович ВВ. Аутоантитела и цитокиновый профиль у пациентов с болезнью Грейвса–Базедова и их динамика на фоне терапии тионамидами. Медицинская иммунология. 2008;10(2-3):245-250.
5. Саприн ТВ, Прохоренко ТС и др. Цитокиноопосредованные механизмы формирования аутоиммунных тиреопатий. Клиническая и экспериментальная тиреология. 2010;6(4):22-27.
6. Шагарова СВ, Савченко АА и др. Особенности состояния иммунитета у больных аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием “Дни иммунологии в Сибири”. Под ред. В.А. Козлова, С.В. Смирновой, В.Т. Манчука. Абакан: Издательство ГОУ ВПО “Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова”, 2011. гл.1. С.38.
7. Ярилин АА. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с.
8. Al-Humaidi MA. Serum cytokines levels in Graves' disease. Saudi Med. J. 2000;21(7):639-644.
9. Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. J Exp Med. 1996;184:387-396.
10. Goulvestre C, Batteux F, Charreire J. Chemokines modulate experimental autoimmune thyroiditis through attraction of autoreactive or regulatory T cells. Eur J Immunol. 2002;32:3435-3442.
11. Horie I, Abiru N, Saitoh O et al. Distinct role of T helper Type 17 immune response for Graves' hyperthyroidism in mice with different genetic backgrounds. J Autoimmunity. 2011;44(2):159-165.
12. Marazuela M, Garcia-Lopez MA et al. Regulatory T Cells in Human Autoimmune Thyroid disease. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91(9):3639-3646.
13. Prud'Homme GJ, Piccirillo CA. The inhibitory effects of transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1) in autoimmune diseases. J Autoimmun. 2000;14:23-42.
14. Starnes T, Robertson MJ, Sledge G et al. Cutting edge: IL-17E, a novel cytokine selectively expressed in activated T cells and monocytes, regulates angiogenesis and endothelial cell cytokine production. J Immunol. 2001;167(8):4137-4140.
15. Weetman AP. Autoimmune thyroid disease. Autoimmunity. 2004;37:337-340.