

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ И ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГРЕЙВСА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОМПЕНСАЦИИ ГИПЕРТИРЕОЗА



© М.А. Дудина^{1,2*}, А.А. Савченко^{1,3}, С.А. Догадин^{1,2}, И.И. Гвоздев³

¹Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

²Краевая клиническая больница, Красноярск, Россия

³Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», Красноярск, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Оксидативный стресс при болезни Грейвса может потенцировать цитотоксичность нейтрофилов и поддерживать аутоиммунное воспаление. Ликвидация гипертиреоза при консервативной терапии тиамазолом лишь в некоторых случаях приводит к стойкой ремиссии, что предопределяет необходимость поиска новых иммунологических маркеров для разработки этиотропных терапевтических подходов к лечению заболевания.

ЦЕЛЬ. Изучить хемилюминесцентную и энзиматическую активность нейтрофилов периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от компенсации гипертиреоза для определения внутриклеточных мишеней иммуотропного лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Оценку спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществляли на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «БЛМ-3607» (ООО «МедБиоТех», Красноярск). Реактивность нейтрофилов периферической крови была охарактеризована следующими показателями: время выхода на максимум (Tmax — скорость развития хемилюминесцентной реакции), максимальное значение интенсивности (Imax — максимальный уровень синтеза активных форм кислорода (АФК)) и площадь под кривой хемилюминесценции (S — суммарный синтез АФК за 90 мин измерения). С помощью биолюминесцентного метода в нейтрофилах крови определяли активность NAD(P)-зависимых дегидрогеназ.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В проспективное исследование были включены 126 женщин с лабораторно подтвержденной болезнью Грейвса в возрасте от 18 до 65 лет, из них 93 (73,81%) — с компенсированным и 33 (26,19%) — с некомпенсированным гипертиреозом. При некомпенсированном гипертиреозе показатель суммарного синтеза АФК спонтанной и зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов значительно возрастает как относительно контрольного диапазона, так и относительно значений, установленных у пациентов с компенсированным гипертиреозом. При антигенной стимуляции нейтрофилов в ходе люминол-зависимой хемилюминесценции у пациентов с рецидивом гипертиреоза зафиксировано более чем десятикратное увеличение суммарного синтеза АФК относительно контрольных значений, но не выявлены статически значимые различия с показателями пациентов с компенсированным гипертиреозом. Установлен высокий уровень активности NADH-зависимой реакции глутамат-дегидрогеназы у пациентов с рецидивом гипертиреоза как относительно контрольного диапазона, так и показателей пациентов с болезнью Грейвса в состоянии медикаментозного эутиреоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Нарушения кислородного метаболизма нейтрофилов периферической крови у пациентов в состоянии медикаментозного эутиреоза преимущественно затрагивают первичное звено — продукцию супероксидных радикалов, что сопряжено с компенсацией гипертиреоза и иммуносупрессивным эффектом тиамазола. У пациентов с рецидивом гипертиреоза отмечаются более выраженные изменения в продукции высокоэнергетических оксидантов не только на начальном этапе окислительных реакций, но и на уровне продукции вторичных АФК, свидетельствующие об активации иммунологических механизмов клеточного реагирования.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Грейвса; оксидативный стресс; активные формы кислорода; нейтрофилы; NAD- и NADP-зависимые дегидрогеназы; таргетная терапия.

THE CHEMILUMINESCENT AND ENZYMATIC ACTIVITY OF BLOOD NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH GRAVES' DISEASE DEPENDING ON HYPERTHYROIDISM COMPENSATION

© Margarita A. Dudina^{1,3*}, Andrei A. Savchenko², Sergey A. Dogadin^{1,3}, Ivan I. Gvozdev²

¹Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

²Krasnoyarsk regional clinical hospital, Krasnoyarsk, Russia

³Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of medical problems of the North, Laboratory of Molecular and Cell physiology and pathology, Krasnoyarsk, Russia

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



BACKGROUND: Oxidative stress in Graves' disease can potentiate the cytotoxicity of neutrophils and support autoimmune inflammation. Elimination of hyperthyroidism with conservative therapy with thiamazole only in some cases leads to remission, which determines the necessity to search immunological markers for etiotropic therapeutic approaches in treatment of the disease.

AIM: To study the chemiluminescent and enzymatic activity of peripheral blood neutrophils in patients with Graves' disease depending on hyperthyroidism compensation to determine the intracellular targets of immunotropic treatment.

MATERIALS AND METHODS: Spontaneous and zymosan-induced chemiluminescence was evaluated using a 36-channel chemiluminescence analyzer «BLM-3607» (MedBioTech, Krasnoyarsk). The reactivity of peripheral blood neutrophils was characterized by: T_{max} — the rate of development of the chemiluminescent reaction, I_{max} — the maximum level of reactive oxygen species (ROS) synthesis and the area under the chemiluminescence curve (S — total synthesis of ROS for 90 minutes of measurement). The activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases in neutrophils was determined using the bioluminescent method.

RESULTS: The prospective study included 126 women with Graves' disease, aged 18 to 65 years, 93 (73.81%) with compensated and 33 (26.19%) with uncompensated hyperthyroidism. In uncompensated hyperthyroidism, the indicator S of spontaneous ROS and zymosan-induced lucigenin-dependent chemiluminescence increases significantly, both relative to the control and to the values of compensated hyperthyroidism patients. Antigenic neutrophils stimulation during luminol-dependent chemiluminescence in patients with recurrent hyperthyroidism demonstrated more than tenfold increase in the total synthesis of ROS relative to the control, but no statistically significant differences with compensated hyperthyroidism patients. A high level of NADH-GDG was established in patients with recurrent hyperthyroidism, both relative to the control range and to the patients with euthyroidism.

CONCLUSION: Violation of oxygen peripheral blood neutrophils metabolism in patients with euthyroidism mainly affects the production of ROS, which is associated with hyperthyroidism compensation and the immunosuppressive effect of thiamazole. In patients with recurrent hyperthyroidism, there are more changes in the production of high-energy oxidants not only at initial oxidative reactions stage, but also at the level of secondary ROS, indicating the activation of cellular response immunological mechanisms.

KEYWORDS: Graves' disease; oxidative stress; reactive oxygen species; neutrophils; NAD- and NADP-dependent dehydrogenases; targeting therapies.

ОБОСНОВАНИЕ

В основе гипертиреоза аутоиммунного генеза при болезни Грейвса (БГ) лежит образование иммуноглобулинов класса G, которые связываются и стимулируют рецептор тиреотропного гормона (рТТГ) и являются единственным иммунологическим маркером рецидивирования заболевания [1]. Механизмы стимуляции иммунной системы при манифестации и рецидиве гипертиреоза на фоне тиреостатической терапии при болезни Грейвса до сих пор изучены не полностью [2]. У пациентов с БГ развивается стойкое аутоиммунное воспаление, эффективность которого определяет тяжесть течения, ответ на тиреостатическую терапию и рецидивирующее течение гипертиреоза [3]. Ликвидация гипертиреоза при консервативной терапии тиамазолом лишь в некоторых случаях приводит к стойкой ремиссии заболевания, а доля пациентов с рецидивом тиреотоксикоза даже на фоне поддерживающей дозы антигипертиреозных препаратов остается высокой и варьирует, по данным разных авторов, от 37 до 70% [2, 4]. Несмотря на органоспецифичность заболевания, все больше исследователей разделяют мнение, что неадекватный иммунный ответ против щитовидной железы при БГ реализуется на разных уровнях и инициирует длительный аутоиммунный процесс [5].

Окислительный стресс при БГ может привести к повреждению периферических тканей, способствуя как клиническому проявлению тиреотоксикоза, так и цитопатогенному воздействию на тиреоциты с последующей потерей аутоотолерантности к собственным антиге-

нам щитовидной железы [6]. Имеются противоречивые сообщения о том, что антигипертиреозные препараты снижают уровень показателей окислительного стресса за счет восстановления эутиреоза и общего реактивного антиоксидантного потенциала плазмы [7]. С другой стороны, показано снижение общей антиоксидантной способности у пациентов со средней продолжительностью гипертиреоза $2,3 \pm 1,5$ мес [8]. Но до сих пор остается неизученной радикал-продуцирующая способность нейтрофилов при консервативной терапии БГ в зависимости от компенсации гипертиреоза. Однако функционирование NADPH-оксидазного комплекса и интенсивность метаболических процессов в нейтрофилах периферической крови могут определять их функциональные возможности при развитии и последующем поддержании аутоиммунной реакции при БГ. Ограниченность наших знаний в функционировании метаболических каналов и свободнорадикального окисления клеток иммунной системы, которые могут потенцировать цитотоксичность нейтрофильных гранулоцитов при развитии и поддержании аутоиммунной реакции, предопределяет необходимость поиска новых маркеров для разработки этиотропных терапевтических подходов к лечению заболевания.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить хемилюминесцентную и ферментативную активность нейтрофилов периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от компенсации гипертиреоза для определения внутриклеточных мишеней иммунотропного лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Исследование проводилось на базе эндокринологического центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Красноярск).

Время исследования. Наблюдение пациентов осуществлялось с 6 сентября 2020 г. по 6 сентября 2021 г.

Исследуемые популяции (одна или несколько)

Исучались две популяции: пациенты с БГ и здоровые индивиды (контроль).

Популяция «пациенты с болезнью Грейвса».

Критерии включения: женский пол, возраст от 18 до 65 лет, лабораторно подтвержденная БГ, постоянный, непрерывный прием тиамазола.

Популяция «контроль».

Критерии включения: женский пол, возраст от 18 до 65 лет, отсутствие отягощенного анамнеза по заболеваниям щитовидной железы у самой пациентки и кровных родственников, отсутствие структурных изменений по данным ультразвукового исследования щитовидной железы.

Критерии исключения: узловой/многоузловой токсический зоб, беременность, лактация, эндокринная офтальмопатия, новообразования, заболевания печени, системные заболевания соединительной ткани, сахарный диабет, другие заболевания органов эндокринной системы, курение и прием антиоксидантов, острые респираторные и вирусные инфекции, а также введение профилактических прививок в течение 2 мес, предшествующих иммунологическому и гормональному анализу.

Способ формирования выборки из изучаемой популяции (или нескольких выборок из нескольких изучаемых популяций)

Формирование подгрупп пациентов с БГ проводилось способом формирования выборки наблюдений в зависимости от компенсации гипертиреоза при условии непрерывной консервативной терапии тиамазолом.

Клинико-гормональное обследование пациентов с БГ проводилось при манифестации заболевания, до начала тиреостатической терапии, а также через 6 нед консервативной терапии тиамазолом, для оценки компенсации гипертиреоза. Через 3 мес от начала консервативной терапии тиамазолом, при приеме поддерживающей дозы тиреостатика всем пациентам проводилось контрольное клинико-иммунологическое обследование. Группы пациентов с компенсированным (медикаментозный эутиреоз) и некомпенсированным гипертиреозом (рецидив) были сформированы согласно критериям диагностики и протоколу консервативного лечения БГ национальных клинических рекомендаций [9]. Рецидивом гипертиреоза считалось изменение показателей тиреоидного статуса, соответствующих критериям субклинического или манифестного гипертиреоза, у обследуемых пациентов с ранее достигнутым и подтвержденным лабораторно медикаментозным эутиреозом.

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое когортное сплошное открытое контролируемое исследование с участием пациентов с лабораторно подтвержденной БГ.

Материалы и методы

Клинические методы обследования включали объективный осмотр, пальпацию щитовидной железы, клинико-лабораторную оценку тиреоидного статуса и титра антител к рТТГ в сыворотке крови на момент манифестации гипертиреоза и верификации БГ, а также в динамике консервативного лечения тиамазолом. Методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах на автоматическом анализаторе Architect i1000sr (Abbott Diagnostics, США) определяли уровень ТТГ и свободного тироксина (св.Т4) в сыворотке крови, указанный референсный диапазон соответственно 0,4–4,0 мЕд/л и 9,01–19,05 пмоль/л. Определение свободного трийодтиронина (св.Т3) в сыворотке крови осуществляли методом энзим-связанного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «ДС-ИФА-ТИРОИД-Т3свободный» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия), референсный интервал 2,14–6,42 пмоль/л. Уровень антител к рТТГ оценивался методом ИФА при помощи стандартного набора Medizym T.R.A. (Medipan Diagnostica, Германия), рекомендованная точка разделения (cut-off) — 1,5 мЕд/л («серая» зона 1–1,5 мЕд/л). Ультразвуковое исследование щитовидной железы проводилось при помощи аппарата Philips iU22 xMatrix (США) с линейным датчиком 7,5 МГц. Увеличенным считался объем железы, превышающий 18 мл, рассчитанный по формуле J. Brunn. Интенсивность внутреннего кровотока железы оценивалась в режиме цветового доплеровского картирования (ЦДК).

Нейтрофильные гранулоциты выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в двойном градиенте плотности фиколл-урографина: $\rho=1,077$ г/см³ — для отделения лимфоцитов, $\rho=1,119$ г/см³ — для выделения нейтрофилов. Оценку спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществляли в течение 90 мин на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «БЛМ-3607» (ООО «МедБиоТех», Красноярск) [10]. Реактивность нейтрофилов периферической крови была охарактеризована следующими показателями: время выхода на максимум (Tmax — скорость развития хемилюминесцентной реакции), максимальное значение интенсивности (Imax — максимальный уровень синтеза активных форм кислорода (АФК)) и площадь под кривой хемилюминесценции (S — суммарный синтез АФК за 90 мин измерения). В качестве индикаторов хемилюминесцентной реакции использовали люцигенин (реакция светоизлучения только при взаимодействии с супероксид-радикалом) и люминол (реакция светоизлучения при взаимодействии со всеми АФК).

С помощью биолюминесцентного анализа в нейтрофилах периферической крови определяли активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), NADP-зависимой декарбоксилирующей малатдегидрогеназы (NADP-МДГ), NAD- и NADH-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и NADH-ЛДГ), NAD- и NADH-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и NADH-МДГ), NADP- и NADPH-зависимой глутаматдегидрогеназы (NADP-ГДГ и NADPH-ГДГ), NAD- и NADH-зависимой

глутаматдегидрогеназы (NAD-ГДГ и NADH-ГДГ), NAD- и NADP-зависимых изоцитратдегидрогеназ (NAD-ИЦДГ и NADP-ИЦДГ соответственно) и глутатионредуктазы (ГР). Активность исследуемых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах ($1E=1$ мкмоль/мин на 10^4 клеток). Исследование проводили на ферментативном препарате NAD(P): FMN оксидоредуктаза-люцифераза из *Photobacterium leiognathi* (полученном в Институте биофизики СО РАН, г. Красноярск). Измерение активности ферментов осуществляли на 36-канальном биохемилюминесцентном анализаторе «БЛМ-3607» (ООО «МедБиоТех», Россия).

Статистический анализ

Описание полученных данных производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 1 и 3 квартилей (Q_1-Q_3), а также в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений от среднего ($M\pm SD$) в случае нормального распределения показателей. Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий Шапиро–Уилка. Достоверность различий между исследуемыми показателями оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test). Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену (Spearman rank R). Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoftInc., 2007).

Этическая экспертиза

Протокол исследования рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им/ профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (протокол № 72/2016 от 09.11.2016) и КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (протокол № 124 от 07.04.2016).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В проспективное исследование были включены 126 женщин с лабораторно подтвержденной БГ в возрасте от 18 до 65 лет. Все пациенты наблюдались в Клинике эндокринологического центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница» дебюта заболевания. При верификации БГ манифестный гипертиреоз диагностировали у 108 (85,71%), субклинический гипертиреоз — у 18 (14,28%) пациентов, соответственно ТТГ=0,01 мЕд/л (0,002–0,05), свТ3=6,79 пмоль/л (5,91–8,94), свТ4=21,52 пмоль/л (19,21–32,37) и ТТГ=0,04 мЕд/л (0,003–0,01), свТ3=4,12 пмоль/л (2,31–5,43), свТ4=15,01 пмоль/л (10,81–17,33). Медиана уровня антител к рТТГ у обследованных пациентов с БГ статистически значимо не отличалась в зависимости от степени тяжести гипертиреоза на момент манифестации заболевания и составила 15,29 мЕд/л (9,21–24,52). При оценке ультразвуковых характеристик тиреоидной паренхимы как у пациентов с манифестным, так и с субклиническим гипертиреозом визуализировалась диффузно неоднородная структура щитовидной железы с участками повышенной и пониженной эхогенности и усиленным кровотоком при ЦДК, общий объем железы составил 32,01 мл (20,41–50,61). Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофилов крови у обследуемых пациентов на момент верификации

БГ не различалась в зависимости от последующей компенсации гипертиреоза и характеризовалась сокращением времени реагирования на стимул (T_{max}) люцигенин-зависимой зимозан-индуцированной хемилюминесценции и увеличением интенсивности образования вторичных АФК в ходе люминол-зависимой спонтанной и зимозан-индуцированной реакции, а также внутриклеточным повышением активности ГбФДГ, ингибированием анаэробного гликолиза и стимуляцией субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот.

Всем пациентам сразу после верификации заболевания инициирована консервативная терапия тиамазолом по стандартному протоколу с последующим переводом на постоянный прием поддерживающей дозы тиреостатика. При динамическом наблюдении через 6 нед после инициации тиреостатической терапии у всех пациентов диагностировался медикаментозный эутиреоз: ТТГ=0,67 мЕд/л (0,42–2,83), свТ3=4,79 пмоль/л (2,15–5,61), свТ4=12,63 пмоль/л (10,23–17,37). При контрольном обследовании через 3 мес от момента начала тиреостатической терапии при приеме поддерживающей дозы тиреостатика у 93 (73,81%) пациентов с БГ определялся стойкий медикаментозный эутиреоз, у 33 (26,19%) пациентов был диагностирован рецидив тиреотоксикоза.

При проведении клинико-иммунологического обследования все пациенты были разделены на две группы в зависимости от компенсации гипертиреоза (табл. 1). Группу контроля составили 65 практически здоровых женщин.

Несмотря на положительную динамику снижения циркулирующих антител к рТТГ при лечении тиамазолом, их титр оставался статистически значимо повышен относительно контроля, независимо от компенсации гипертиреоза. Обращает на себя внимание, что пациенты обеих групп не различались по поддерживающей дозе тиреостатика.

Оценка параметров спонтанной и индуцированной люцигенин- и люминол-зависимой хемилюминесценции позволила обнаружить выраженные изменения показателей активности NADPH-оксидазы и синтеза вторичных АФК у пациентов с БГ, в том числе и при рецидиве гипертиреоза (табл. 2).

При исследовании активности спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов обнаружено, что независимо от компенсации гипертиреоза у пациентов с БГ повышается площадь под хемилюминесцентной кривой. Причем при некомпенсированном гипертиреозе показатель суммарного синтеза АФК значительно возрастает как относительно контрольного диапазона, так и относительно значений, установленных у пациентов с компенсированным гипертиреозом. Похожая кинетика хемилюминесцентного ответа наблюдалась и при зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции, в ходе которой зафиксировано повышение в 4,35 раза площади хемилюминесценции у пациентов с некомпенсированным гипертиреозом в сравнении с показателем суммарного синтеза АФК у пациентов с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза. Независимо от степени компенсации гипертиреоза у пациентов с БГ снижено время выхода на максимум люцигенин-зависимой зимозан-индуцированной хемилюминесценции.

При исследовании параметров спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов обнаружено, что у пациентов с компенсированным гипер-

Таблица 1. Клинико-гормональная характеристика пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от компенсации гипертиреоза, Ме (Q1–Q3)

Показатели	Контроль	Пациенты с болезнью Грейвса	
		Компенсированный гипертиреоз	Некомпенсированный гипертиреоз (рецидив)
	n=65	n=93	n=33
	1	2	3
Возраст, лет (M ± SD)	42,02 ± 12,03	43,02 ± 13,03	40,93 ± 12,17
Поддерживающая доза тиамазола на момент обследования, мг	-	10,0 (10–15)	10,0 (10–15)
ТТГ, мЕд/л	1,13 (0,86–1,51)	2,72 (1,55–3,64) p ₁ =0,003	0,11 (0,008–0,39) p _{1,2} <0,001
свТ3, пмоль/л	3,07 (1,61–4,53)	2,15 (1,68–2,92) p ₁ =0,024	5,62 (4,38–7,38) p ₁ =0,021
свТ4, пмоль/л	13,10 (11,28–14,80)	15,12 (10,72–17,64) p ₁ =0,021	20,89 (17,32–25,55) p _{1,2} <0,001
Антитела к рТТГ, МЕ/л	0,14 (0,16–0,42)	0,33 (0,11–1,12) p ₁ =0,031	0,51 (0,38–5,84) p ₁ =0,030 p ₂ =0,040
Объем щитовидной железы, мл	7,51 (7,11–10,63)	24,72 (19,41–31,69) p ₁ <0,001	27,81 (19,31–44,61) p _{1,2} <0,001

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с контрольными величинами; p₂ — статистически значимые различия с показателями пациентов с компенсированным гипертиреозом. свТ4 — свободный тироксин; свТ3 — свободный трийодтиронин; рТТГ — рецептор тиреотропного гормона.

тиреозом увеличиваются время выхода на максимум и площадь под хемилюминесцентной кривой. При некомпенсированном гипертиреозе сокращается время выхода на максимум при увеличении в 7,21 раза показателя суммарного синтеза АФК относительно значений, установленных в группе пациентов с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза. При антигенной стимуляции нейтрофилов у пациентов обеих групп обнаружено повышение интенсивности и площади хемилюминесценции. Причем при некомпенсированном гипертиреозе зафиксировано более чем десятикратное увеличение суммарного синтеза АФК относительно контрольных значений, но не выявлены статистически значимые различия с показателями пациентов с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза.

Более выраженное повышение интенсивности стимулированной люминол-зависимой хемилюминесценции определяет увеличение индекса соотношения суммарного синтеза АФК в ходе спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (Синд./Спонт.) у пациентов с компенсированным гипертиреозом. В то же время наблюдаемое снижение Синд./Спонт. у пациентов с некомпенсированным гипертиреозом в сравнении с показателями пациентов с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза при дополнительной индукции «респираторного взрыва» с помощью опсонизированного зимозана характеризует отсутствие метаболических резервов для функциональной активации нейтрофилов.

Исследование уровней активности NAD- и NADP-зависимых дегидрогеназ нейтрофилов у пациентов с БГ

в зависимости от компенсации гипертиреоза позволило установить выраженные изменения относительно контрольных значений (табл. 3).

Независимо от компенсации гипертиреоза в нейтрофилах у пациентов с БГ повышена активность исследуемых NAD-зависимых оксидоредуктаз (NAD-ГДГ и МДГ), вспомогательных дегидрогеназных реакций (NADP-ГДГ и NADP-ИЦДГ) и NADH-зависимых реакций (NADH-ЛДГ и NADH-МДГ). Изучение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ нейтрофилов показало, что независимо от степени компенсации гипертиреоза у пациентов с БГ выявлен высокий уровень активности Г6ФДГ, а также шунтирующей реакции NADP-МДГ. Причем у пациентов с рецидивом заболевания активность Г6ФДГ и NADP-МДГ возрастала не только относительно контроля, но и ферментативных единиц активности, установленных в группе пациентов с медикаментозным эутиреозом. Сравнительный анализ уровней активности NAD- и NADP-зависимых дегидрогеназ нейтрофилов крови в зависимости от степени компенсации гипертиреоза у пациентов с БГ позволил также отметить, что группы медикаментозного эутиреоза и рецидива заболевания имели различия по уровню активности ЛДГ и NADH-ГДГ. Высокая активность аэробной реакции ЛДГ у пациентов с рецидивом гипертиреоза статистически значимо возрастала относительно значений активности фермента, установленных в группе пациентов с медикаментозным эутиреозом, но не отличалась от контрольных показателей. Характерной особенностью пациентов с рецидивом гипертиреоза также было изменение активности NADH-ГДГ. Высокий уровень

Таблица 2. Хемилюминесцентная активность нейтрофилов крови у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от компенсации гипертиреоза (Me, Q₁–Q₃)

Показатели	Контроль		Компенсированный гипертиреоз		Некомпенсированный гипертиреоз (рецидив)	
	n=65		n=93		n=33	
	1		2		3	
	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Спонтанная люцигенин-зависимая хемилюминесценция						
Tmax, с	2083	1407–2881	1743	1740–2297	1663	1442–2273
Imax, о.е. × 10 ³	7,53	2,55–16,54	5,74	2,43–15,50	7,01	2,36–18,38
S, о.е. × с × 10 ⁵	4,11	1,06–11,33	11,70	10,40–50,76	87,71	36,11–205,22
			p ₁ =0,008		p ₁ <0,001 p ₂ =0,039	
Зимозан-индуцированная люцигенин-зависимая хемилюминесценция						
Tmax, с	1737	1386–2331	1362	910–1584	1397	1041–1797
Imax, о.е. × 10 ³	14,12	7,46–28,96	10,39	1,27–15,98	17,89	5,21–26,59
S, о.е. × с × 10 ⁵	6,85	2,94–17,81	39,72	18,18–114,56	174,22	75,38–232,48
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001 p ₂ =0,014	
Синд./Спонт.	1,77	1,17–3,11	2,20	1,33–4,23	2,17	1,78–3,50
Спонтанная люминол-зависимая хемилюминесценция						
Tmax, с	969	567–1559	2096	1809–2136	1169	595–1792
Imax, о.е. × 10 ³	10,83	4,06–30,88	24,83	7,25–35,59	48,06	14,50–88,28
S, о.е. × с × 10 ⁵	4,11	1,24–14,04	127,44	24,10–305,28	915,80	57,45–1846,00
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001 p ₂ =0,021	
Зимозан-индуцированная люминол-зависимая хемилюминесценция						
Tmax, с	1072	796–1459	764	737–977	1309	722–1645
Imax, о.е. × 10 ³	21,25	7,55–62,59	151,89	26,83–152,95	121,45	83,98–168,22
S, о.е. × с × 10 ⁵	6,71	2,54–23,20	741,60	136,80–1602,00	2420,5	193,15–6302,50
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
Синд./Спонт.	1,89	1,34–2,87	5,25	3,89–5,82	2,65	1,63–4,04
			p ₁ <0,001		p ₂ =0,033	

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с контрольными величинами; p₂ — статистически значимые различия с показателями пациентов с компенсированным гипертиреозом. Tmax — скорость развития хемилюминесцентной реакции; Imax — максимальный уровень синтеза АФК; S — суммарный синтез АФК за 90 минут измерения; Синд./Спонт. — соотношение суммарного синтеза АФК за 90 минут измерения при индуцированной и спонтанной хемилюминесценции.

активности NADH-ГДГ у пациентов с рецидивом гипертиреоза выявлен как относительно контрольного диапазона, так и показателей, установленных в группе пациентов с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза. Снижение активности ЛДГ отмечалось у пациентов с медикаментозным эутиреозом. При этом активность ГЗФДГ и ГР не изменялись ни в одной из групп пациентов с БГ.

С помощью корреляционного анализа обнаружено, что у пациентов с БГ концентрация свТ4 положитель-

но взаимосвязана с площадью под кривой спонтанной и зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции: при компенсированном гипертиреозе — соответственно r=0,62, p=0,009 и r=0,58, p=0,014; при некомпенсированном гипертиреозе — соответственно r=0,73, p<0,001 и r=0,72, p<0,001. Только у пациентов с некомпенсированным гипертиреозом обнаружена взаимосвязь между концентрацией свТ4 и Imax спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции

Таблица 3. Активность NAD- и NADP-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах крови (мкЕ) у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от компенсации гипертиреоза (Me, Q₁-Q₃)

Показатели	Контроль		Компенсированный гипертиреоз		Некомпенсированный гипертиреоз (рецидив)	
	n=65		n=93		n=33	
	1		2		3	
	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃
Г6ФДГ	0,89	0,01–4,18	4,57	2,24–14,47	19,30	7,59–70,50
			p ₁ =0,042		p ₁ <0,001 p ₂ =0,030	
ГЗФДГ	0,32	0,11–1,72	0,11	0,05–0,22	0,24	0,13–1,40
ЛДГ	10,90	2,89–50,65	3,88	0,36–8,31	15,25	3,07–69,73
			p ₁ =0,020		p ₂ =0,033	
NADP-МДГ	0,03	0,01–1,86	2,05	1,00–3,56	9,11	0,09–44,06
			p ₁ =0,043		p ₁ =0,009 p ₂ =0,045	
NADP-ГДГ	0,16	0,01–2,31	3,09	1,84–9,35	2,63	2,52–17,77
			p ₁ =0,007		p ₁ =0,015	
NADP-ИЦДГ	1,35	0,00–5,88	10,70	4,98–27,13	20,52	4,39–41,95
			p ₁ =0,008		p ₁ =0,003	
МДГ	1,95	0,10–9,80	5,44	2,91–15,19	5,46	1,96–17,71
			p ₁ =0,044		p ₁ =0,045	
NAD-ГДГ	0,67	0,01–4,60	2,29	1,60–5,47	3,59	1,13–14,50
			p ₁ =0,047		p ₁ =0,030	
NAD-ИЦДГ	0,11	0,05–1,65	0,59	0,18–1,11	0,14	0,03–0,75
NADH-ЛДГ	2,39	0,46–18,88	42,63	17,63–78,76	53,06	22,79–82,31
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
NADH-МДГ	15,80	3,67–55,78	61,25	20,87–76,15	86,51	20,01–151,93
			p ₁ =0,045		p ₁ =0,016	
ГР	2,14	0,85–6,68	4,38	2,43–10,51	1,85	0,39–9,69
NADH-ГДГ	5,98	0,02–16,39	14,20	2,67–31,95	51,65	25,89–67,34
					p ₁ =0,008 p ₂ =0,024	
NADPH-ГДГ	12,48	2,00–21,40	16,52	2,70–25,38	9,00	4,50–17,95

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с контрольными величинами; p₂ — статистически значимые различия с показателями пациентов с компенсированным гипертиреозом. Г6ФДГ — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; ГЗФДГ — глицерол-3-фосфатдегидрогеназа; NADP-МДГ — NADP-зависимая декарбоксилирующая малатдегидрогеназа; ЛДГ и NADH-ЛДГ — NAD- и NADH-зависимые реакции лактатдегидрогеназы; МДГ и NADH-МДГ — NAD- и NADH-зависимые реакции малатдегидрогеназы; NADP-ГДГ и NADPH-ГДГ — NADP- и NADPH-зависимые глутаматдегидрогеназы; NAD-ГДГ и NADH-ГДГ — NAD- и NADH-зависимые глутаматдегидрогеназы; NAD-ИЦДГ и NADP-ИЦДГ — NAD- и NADP-зависимые изоцитратдегидрогеназы.

(r=0,69, p=0,001). Кроме того, у пациентов обеих групп выявляются положительные корреляции свТ3 с уровнями активности Г6ФДГ и NADP-МДГ в нейтрофилах: при компенсированном гипертиреозе — соответственно r=0,63, p=0,010 и r=0,47, p=0,037; при некомпенсированном гипертиреозе — соответственно r=0,75, p<0,001 и r=0,45, p=0,022. Только при некомпенсированном гипертиреозе установлена связь между концентрацией свТ4 и внутриклеточной активностью МДГ (r=0,52, p=0,021). У пациентов с БГ также выявляются взаимосвязи между активностью ферментов в нейтрофилах и показателями хемилюминесценции. При компенсированном гипертиреозе активность Г6ФДГ положительно коррелирует с I_{max} спонтан-

ной и S зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции (r=0,54, p=0,015 и r=0,49, p=0,020 соответственно). При некомпенсированном гипертиреозе уровни активности Г6ФДГ и NADP-ГДГ также положительно взаимосвязаны с S спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценцией нейтрофилов (r=0,74, p<0,001, в обоих случаях) и I_{max} спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции (r=0,69, p=0,003 и r=0,65, p=0,005 соответственно). У лиц контрольной группы взаимосвязей между показателями тиреотидного статуса и показателями хемилюминесцентной и метаболической активности нейтрофилов, а также между показателями синтеза АФК и активностью ферментов в нейтрофилах не обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Репрезентативность выборок

Набор когорты пациентов с БГ проводился только в Краевом государственном учреждении здравоохранения, где оказывается специализированная помощь и определяется тактика ведения пациентов с БГ из всех районов Красноярского края.

Сопоставление с другими публикациями

Фундаментальные и клинические исследования последних лет свидетельствуют о том, что избыточная секреция гормонов щитовидной железы при тиреотоксикозе аутоиммунного генеза создает гиперметаболическое состояние, характеризующееся насыщением физиологических антиоксидантных систем за счет высокого потребления внутриклеточного АТФ и кислорода, разобщением дыхательной цепи митохондрий, дисфункцией которой способствует выработка АФК в периферических тканях и в щитовидной железе, и вызывает окислительный стресс у пациентов с БГ [11]. При исследованной нами ранее активности респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов крови у пациентов, не принимающих антигипертиреоидные препараты, в дебюте БГ было продемонстрировано, что в гипертиреоидную фазу болезни в нейтрофилах крови повышается интенсивность респираторного взрыва за счет синтеза вторичных АФК [12]. Полученные данные согласуются с результатами недавнего исследования окислительного стресса и гомеостаза тиола/дисульфида в периферической крови методом спектрофотометрии у 60 пациентов с впервые выявленной БГ и не принимающих антигипертиреоидные препараты [13]. Было установлено, что общий антиоксидантный статус, уровень карбонильного белка, индекс окислительного стресса, а также соотношение дисульфид/нативный тиол и дисульфид/общий тиол выше у пациентов с БГ, чем в контрольной группе.

Другое проспективное исследование [14], проведенное также с помощью спектрофотометрического метода, с включением 34 пациентов с впервые выявленным гипертиреозом показало, что концентрация *малонового диальдегида* в крови влияет на реактивность аутоантител к окислительно-модифицированной каталазе, способствуя нарушению антиоксидантного профиля и прогрессированию аутоиммунного воспаления при БГ.

Имеются единичные публикации исследований, проведенных у пациентов с БГ до и в динамике лечения антигипертиреоидными препаратами, которые демонстрируют, что уже через 3 мес после тиреостатической терапии ингибируется образование кислородных радикалов и снижается экспрессия отрицательного регуляторного белка остеоопонтинина [15]. В то же время другие авторы обнаружили увеличение уровней супероксиддисмутазы и каталазы в плазме крови у пациентов с БГ с короткой продолжительностью (1–2 мес) лечения метимазолом по сравнению со здоровыми субъектами, при этом ожидаемое увеличение антиоксидантных ферментов не происходило, напротив, уровни глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы были снижены [16]. При этом до сих пор отсутствуют исследования количественной оценки пула первичных и вторичных АФК, а также кинетики их образования в зависимости от компенсации гипертиреоза при консервативном лечении БГ, что представляется особенно значи-

мым в клиническом аспекте поддержания аутоиммунного воспаления при рецидиве заболевания.

Известно, что люцигенин окисляется и люминесцирует только под влиянием супероксид-радикала, который определяется как первичная АФК и синтезируется в системе NADPH-оксидазы [17]. У пациентов с БГ независимо от компенсации гипертиреоза активность NADPH-оксидазного комплекса уже в состоянии относительного покоя нейтрофилов характеризуется как повышенная. Причем при дополнительной индукции «респираторного взрыва» с помощью опсонизированного зимозана остается повышенной как у пациентов с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза, так и при некомпенсированном гипертиреозе. Сокращение времени выхода на максимум на фоне антигенной стимуляции нейтрофилов (зимозан-индуцированная люцигенин-зависимая хемилюминесценция) у пациентов с БГ характеризуется наличием резервной способности метаболической системы клеток к повышению уровня продукции супероксид-радикала независимо от компенсации гипертиреоза. Следует отметить, что после индукции хемилюминесцентного ответа нейтрофилов у пациентов с некомпенсированным гипертиреозом (рецидив заболевания) опсонизированным зимозаном не только замедляется время реагирования на стимул, но и еще больше возрастает суммарное количество продуцируемых первичных и вторичных АФК в сравнении с пациентами с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза. В то же время у пациентов с некомпенсированным гипертиреозом в нейтрофилах отмечена более интенсивная, чем у пациентов с компенсированным гипертиреозом, продукция вторичных АФК, что свидетельствует о высокой цитотоксической активности нейтрофилов в гипертиреоидную фазу БГ.

С помощью корреляционного анализа также показано, что если при компенсированном гипертиреозе свТ4 стимулирует только активность NADPH-оксидазы, то при некомпенсированном гипертиреозе данный гормон стимулирует синтез и первичных, и вторичных АФК. Можно предположить, что у пациентов с компенсированным гипертиреозом иммуномодулирующие эффекты тиамазола реализуются по двум механизмам: ликвидация тиреотоксикоза и ингибирование образования первичных и вторичных свободных радикалов на фагоцитирующих клетках иммунной системы. Но, видимо, последний выражен слабо, так как купирование гипертиреоза не сопровождалось восстановлением параметров оксидативного стресса до контрольных значений.

Высокий уровень продукции АФК нейтрофилами у пациентов с БГ определяется особенностями их внутриклеточного метаболизма. Так, у пациентов с БГ в нейтрофилах повышена активность всех исследуемых NADP-зависимых ферментов. Именно повышенный уровень синтеза NADPH в различных метаболических процессах и является основой для активации NADPH-оксидазного комплекса [18, 19]. Причем у больных с некомпенсированным гипертиреозом активность NADP-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах еще выше, чем у пациентов с компенсированным гипертиреозом. Активность NADPH-оксидазы и синтез первичных АФК у данной категории пациентов будут выше, что мы и доказали с помощью хемилюминесцентного метода. Взаимосвязь между активностью NADP-зависимых

ферментов и уровнем синтеза АФК в нейтрофилах также подтверждается результатами корреляционного анализа. Кроме того, при БГ в нейтрофилах крови меняется активность NAD-зависимых ферментов, функция которых в большей степени ориентирована на энергетические процессы. Так, снижение активности аэробной реакции ЛДГ (только у пациентов с компенсированным гипертиреозом) и увеличение активности анаэробной реакции (в обеих группах больных) данного фермента характеризует повышение интенсивности анаэробного гликолиза и, соответственно, функциональной активности нейтрофилов (в частности, фагоцитоз и формирование внеклеточных ловушек нейтрофилов) [20].

Дополнительно в нейтрофилах пациентов с БГ выявляется повышение уровней активности МДГ, NAD-ГДГ и NADH-МДГ (в обеих группах больных), а также активности NADH-ГДГ (только при некомпенсированном гипертиреозе). Причем более выраженная активация обменных процессов в митохондриальном компартменте (за счет активации NADH-ГДГ) нейтрофилов у пациентов с некомпенсированным гипертиреозом свидетельствует об активации компенсаторных механизмов ингибирования перекисного окисления липидов в гипертиреоидную фазу БГ. Также необходимо отметить, что если у пациентов с компенсированным гипертиреозом свТЗ положительно взаимосвязан с активностью NADP-зависимых дегидрогеназ, то при некомпенсированном гипертиреозе гормоны щитовидной железы положительно коррелируют с уровнями активности и NADP- и NAD-зависимых ферментов.

Клиническая значимость результатов

Зафиксированные закономерности образования свободных радикалов у пациентов с БГ в зависимости от компенсации гипертиреоза существенно дополняют иммунопатогенетическую концепцию адаптации нейтрофилов к системным изменениям тиреоидного статуса при консервативном лечении заболевания. Высокий системный уровень образования первичных и вторичных АФК у пациентов с БГ на фоне поддерживающей дозы тиамазола может являться не только дополнительным индикатором прогрессирования аутоиммунного процесса и рецидива гипертиреоза, но и раскрывает ограничения иммуномодулирующих эффектов антитиреоидных препаратов, определяя мишени этиотропного лечения заболевания.

Ограничения исследования

Уменьшение образования свободных радикалов на фоне тиреостатической терапии играет важную роль в Т-клеточном ответе при БГ, но в то же время может быть тесно связано с ослаблением комплемент-индуцированного повреждения тиреоцитов. Учитывая тесную связь между уровнем АФК и инициацией иммунного ответа, изменения показателей оксидативного стресса необходимо исследовать и в аспекте состояния интратиреоидного иммунитета в зависимости от силы дефекта специфических регуляторных Т-клеток.

Направления дальнейших исследований

Целесообразными представляются исследования радикал-продуцирующей функции нейтрофилов и моно-

цитов периферической крови в аспекте ингибирования образования свободных кислородных радикалов в исходе длительной тиреостатической и радионуклидной терапии БГ, которые могут иметь значение в клинической практике при прогнозировании эффективности длительной консервативной терапии и вероятности рецидива уже в дебюте заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлены особенности метаболических механизмов хемилюминесцентной реакции нейтрофилов у пациентов с БГ при консервативной терапии тиамазолом в зависимости от компенсации гипертиреоза. Обнаружено, что при некомпенсированном гипертиреозе (рецидив заболевания) активированы ферментативные реакции, характеризующие интенсивность анаэробных и аэробных процессов. Нарушения кислородного метаболизма нейтрофилов периферической крови у пациентов в состоянии медикаментозного эутиреоза преимущественно затрагивают первичное звено продукции супероксидных радикалов, что сопряжено с компенсацией гипертиреоза и иммуносупрессивным эффектом тиамазола. У пациентов с рецидивом гипертиреоза отмечаются более выраженные изменения в продукции высокоэнергетических оксидантов не только на начальном этапе окислительных реакций, но и на уровне продукции вторичных АФК, свидетельствующие об активации иммунологических механизмов системного клеточного реагирования. Становится очевидным, что цитопатогенное действие нейтрофилов в генерации АФК при БГ может быть одним из векторов патогенетического лечения заболевания.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Согласие пациентов. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Источники финансирования. Исследование выполнено при финансовом обеспечении и ресурсах лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», Красноярск, Российская Федерация.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Участие авторов. Дудина М.А. — получение, анализ данных, интерпретация результатов, написание статьи; Савченко А.А. — концепция и дизайн исследования, внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения научной ценности статьи; Догадин С.А. — концепция и дизайн исследования, внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения научной ценности статьи; Гвоздев И.И. — получение и интерпретация результатов.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Chung JH. Antithyroid Drug Treatment in Graves' Disease. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2021;36(3):491-499. doi: <https://doi.org/10.3803/EnM.2021.1070>
- Faustino LC, Kahaly GJ, Frommer L, et al. Precision Medicine in Graves' Disease: CD40 Gene Variants Predict Clinical Response to an Anti-CD40 Monoclonal Antibody. [Internet]. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Jun [cited 2021 Jun 4]: [about 7 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8212124/>
- Kahaly GJ. Management of Graves Thyroidal and Extrathyroidal Disease: An Update. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(12):3704-3720. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa646>
- Subekti I, Kartiko GJ, Suhardi ZF, et al. Serum TSH level as predictor of Graves' disease recurrence following antithyroid drug withdrawal: A systematic review. [Internet]. *PLoS One*. 2021 Jan [cited 2021 Jan 29]: [about 17 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7845983/>
- Lane LC, Cheetham TD, Perros P, et al. New Therapeutic Horizons for Graves' Hyperthyroidism. *Endocr Rev*. 2020;41(6):873-884. doi: <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa022>
- Morshed SA, Davies TF. Understanding Thyroid Cell Stress. [Internet]. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Nov. [cited 2020 Nov 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7047584/>
- Lanzolla G, Marcocci C, Marinò M. Oxidative Stress in Graves Disease and Graves Orbitopathy. *Eur Thyroid J*. 2020;9(1):40-50. doi: <https://doi.org/10.1159/000509615>
- Aslan M, Cosar N, Celik H, et al. Evaluation of oxidative status in patients with hyperthyroidism. *Endocrine*. 2011;40(2):285-289. doi: [10.1007/s12020-011-9472-3](https://doi.org/10.1007/s12020-011-9472-3)
- <https://rae-org.ru/> [Internet]. Российская Ассоциация Эндокринологов. [Rossijskaja Associacija Jendokrinologov (In Russ.)]. Доступно по ссылке: https://raeorg.ru/system/files/documents/pdf/kr_versiya_3.0_fin_otredaktirovan_16.05.2021g.pdf. Ссылка активна на: 16.05.2021.
- Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Борисов А.Г. Методы оценки и роль респираторного взрыва в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний // *Инфекция и иммунитет*. — 2017. — Т. 7. — №4. — С. 327-340. [Savchenko AA, Kudryavcev IV, Borisov AG. Methods of estimation and the role of respiratory burst in the pathogenesis of infectious and inflammatory diseases. *Russian Journal of Infection and Immunity* 2017;7(4):327-340. (In Russ.)]. doi: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2017-4-327-340>
- Diana T, Daiber A, Oelze M, et al. Stimulatory TSH-Receptor Antibodies and Oxidative Stress in Graves Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103(10):3668-3677. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem.2018-00509>
- Догадин С.А., Дудина М.А., Савченко А.А., и др. Активность респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов крови в дебюте болезни Грейвса // *Проблемы эндокринологии*. — 2017. — Т. 63. — №1. — С. 4-8. [Dogadin SA, Dudina MA, Savchenko AA, et al. Respiratory burst activity in neutrophilic granulocytes in the onset of Graves' disease. *Problems of Endocrinology*. 2017;63(1):4-8. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl20176314-8>
- Agan V, Celik H, Eren MA, et al. An Investigation of Oxidative Stress and Thiol/Disulphide Homeostasis in Graves' Disease. [Internet]. *Medicina (Kaunas)*. 2019 Jun [cited 2019 Jun 14]: [about 18 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6630526/>
- Gargouri B, Mseddi M, Mnif F, et al. Oxidative stress enhances the immune response to oxidatively modified catalase enzyme in patients with Graves' disease. [Internet]. *J Clin Lab Anal*. 2020 Oct [cited 2020 Oct 16]: [about 15 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7031633/>
- Kocak M, Akarsu E, Korkmaz H, et al. The effect of antithyroid drugs on osteopontin and oxidative stress in Graves' disease. *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2019;15(2):221-224. doi: <https://doi.org/10.4183/aeb.2019.221>
- Bednarek J, Wysocki H, Sowiński J. Oxidative stress peripheral parameters in Graves' disease: the effect of methimazole treatment in patients with and without infiltrative ophthalmopathy. *Clin Biochem*. 2005;38(1):13-18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2004.09.015>
- Qiao X, Wang L, Wang Y, et al. Intermedin inhibits unilateral ureteral obstruction-induced oxidative stress via NADPH oxidase Nox4 and cAMP-dependent mechanisms. *Ren Fail*. 2017;39(1):652-659. doi: <https://doi.org/10.1080/0886022X.2017.1361839>
- Martínez-Navarro FJ, Martínez-Morcillo FJ, López-Muñoz A, et al. The vitamin B6-regulated enzymes PYGL and G6PD fuel NADPH oxidases to promote skin inflammation. [Internet]. *Dev Comp Immunol*. 2020 Feb [cited 2020 Feb 29]: [about 18 p.]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0145305X20300331?via%3dhub#abs0015>
- Parsanathan R, Jain SK. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency Activates Endothelial Cell and Leukocyte Adhesion Mediated Via The TGFβ/NADPH Oxidases/ROS Signaling Pathway. [Internet]. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct [cited 2020 Oct 8]: [about 9 p.]. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/20/7474>
- Caslin HL, Abeyayehu D, Pinette JA, et al. Lactate Is a Metabolic Mediator That Shapes Immune Cell Fate and Function [Internet]. *Front Physiol*. 2021 Oct [cited 2020 Oct 18]: [About 14 p.]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.688485/full>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Дудина Маргарита Андреевна**, к.м.н. [Margarita A. Dudina, MD, PhD]; адрес: 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1 [address: 1 P. Zeleznyaka street, 660022 Krasnoyarsk, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2776-927X>; Researcher ID: C-3168-2019; Scopus Author ID: 57192199094; eLibrary SPIN: 4854-1926; e-mail: margo85_@bk.ru

Савченко Андрей Анатольевич, д.м.н., профессор [Andrei A. Savchenko, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5829-672X>; Researcher ID: S-5099-2016; Scopus Author ID: 7202769821; eLibrary SPIN: 3132-8260; e-mail: aasavchenko@yandex.ru

Догадин Сергей Анатольевич, д.м.н., профессор [Sergey A. Dogadin, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1709-466X>; Researcher ID: P-4467-2015; Scopus Author ID: 6506273878; eLibrary SPIN: 4803-3756; e-mail: sadogadin@gmail.com

Гвоздев Иван Игоревич [Ivan I. Gvozdev, MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1041-9871>; Researcher ID: Q-5966-2016; Scopus Author ID: 557191107590; eLibrary SPIN: 6203-4651; e-mail: leshman-mult@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Дудина М.А., Савченко А.А., Догадин С.А., Гвоздев И.И. Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофилов крови у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от компенсации гипертиреоза // *Клиническая и экспериментальная тиреология*. — 2022. — Т. 18. — №1. — С. XXX-XXX. doi: <https://doi.org/10.14341/ket12717>

TO CITE THIS ARTICLE:

Dudina MA, Savchenko AA, Dogadin SA, Gvozdev II. The chemiluminescent and enzymatic activity of blood neutrophils in patients with Graves' disease depending on hyperthyroidism compensation. *Clinical and experimental thyroidology*. 2022;18(1):4–14. doi: <https://doi.org/10.14341/ket12717>

Рукопись получена: 30.12.2021. Рукопись одобрена: 21.01.2022.

Received: 30.12.2021. Accepted: 21.01.2022.