

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ИНФИЦИРОВАННОСТИ ВИРУСАМИ ГРУППЫ ГЕРПЕСА У БОЛЬНЫХ АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ

Е.Б. Кравец, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, А.В. Рогалева, Ю.В. Недосекова,
В.Н. Кузнецова, О.А. Васильева, Е.А. Мифтофутдинова

Сибирский государственный медицинский университет, Томск

Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов крови и уровня инфицированности вирусами простого герпеса (ВПГ), цитомегалии (ЦМВ) и Эпштейна–Барра (ВЭБ) у больных аутоиммунным тиреоидитом АИТ. Обследовано 2 мужчин и 26 женщин (средний возраст – $44,0 \pm 2,3$ года) с длительностью заболевания $6,0 \pm 2,7$ года. 85,7% больных находились в состоянии эутиреоза, 14,3% – гипотиреоза. Из них 25% больных был выставлен диагноз атрофическая форма АИТ, 60,7% – фиброзная и фиброзно-узловая формы, 14,3% – гипертрофическая форма АИТ. Показано, что течение АИТ сопровождается увеличением содержания в крови CD20⁺-лимфоцитов при нормальной численности CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- и CD56⁺-клеток. Иммуноглобулины класса G к ВПГ обнаруживались у 92,9% больных АИТ, к ЦМВ – у 96,4%, к предраннему антигену (ЕА) ЦМВ (острая инфекция) – у 39,3%, к ядерному антигену ВЭБ (НА) (поздняя пост-инфекция) – в 67,6% случаев. У двух (7,1%) пациентов обнаруживались ВЭБ-IgG к ЕА и НА одновременно (поздняя стадия первичной ВЭБ-инфекции или реактивация ее хронической формы). Доказано, что у 39,3% больных заболевание АИТ ассоциируется с острой ЦМВ-инфекцией.

The population composition of lymphocyte and the rate of infection by by the herpes simplex virus in patients ill with autoimmune autoimmune thyroiditis

E.B. Kravez, O.I. Urazova, V.V. Novitskii, A.V. Rogaleva, U.V. Nedosekova,
V.N. Kuznetsova, O.A. Vasiljeva, E.A. Miftofutdinova

Siberian Medical University, Tomsk

The objective of the research is the analysis of blood lymphocyte composition and the rate of infection by the herpes simplex virus (HSV), cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV) in patients with AIT. Two men and twenty six women (with the average age 44.0 ± 2.3 years) ill with the disease for 6.0 ± 2.7 years were examined. 85.7% of the ill were in the euthyroid state, 14.3% were in hypothyroidism. 25% of the patients were diagnosed with atrophic AIT, 60.7% got the diagnoses of fibroid and fibronodular AIT and 14.3% got hypertrophic AIT diagnoses. It was found that the course of AIT was accompanied with the increase of the rate of CD20⁺-lymphocytes in blood at the normal number of CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- и CD56⁺ cells. The IgG to the HSV was found in 92.9% patients with AIT, to the CMV – in 96.4% cases, to the pre-early antigen (EA) of CMV (acute infection) – in 39.3% patients and to the nuclear antigen of EBV (NA) (late past-infection) – in 67.6% cases. In two cases we found EBV-IgG to EA and NA simultaneously (late stage of primary EBV-infection or reactivation of its chronic form). It was proved that 39.3% of the patients with AIT associate this disease with acute cytomegalovirus infection.

Введение

Заболевания щитовидной железы, наряду с сахарным диабетом, занимают лидирующее положение в структуре эндокринной патологии. В последние годы отмечается неуклонный рост тиреопатий, суммарная частота выявления которых даже вне зон зобной эндемии достигает 20% от общей заболеваемости населения. При этом одной из распространенных клинических форм тиреопатий являются аутоиммунные заболевания щитовидной железы [8, 10]. Состояние иммунитета занимает одну из ключевых позиций в индукции, определении характера течения и исходов аутоиммунных тиреопатий (АИТП). Генетически обусловленные дефекты иммунокомпетентных клеток под влиянием различного рода экзоген-

ных факторов могут инициировать срыв естественной толерантности и развитие антитиреоидного иммунитета. Не исключается возможность влияния на развитие АИТП генерализованного подавления иммунного контроля, следствием которого являются нерегулируемая экспансия ауто-, в том числе тиреоидоагрессивных лимфоцитов, инфильтрация щитовидной железы иммунокомпетентными клетками и продукция тиреоид-специфических антител [7, 11].

Предполагается, что наиболее вероятными болезнетворными факторами, способными инициировать развитие АИТП, могут служить инфекционные агенты и их продукты (вирусы, бактериальные токсины). Вирусы, имеющие родственные к тиреоид-

ным антигенам эпитопы, способны вызывать активацию тиреоид-специфичных Т-лимфоцитов, перекрестно реагирующих на структуры неизменной щитовидной железы [1, 4, 5].

К числу наиболее часторегистрируемых аутоиммунных заболеваний щитовидной железы относится тиреоидит Хашимото (АИТ), в основе формирования которого лежит образование аутоантител к аутоантигенам щитовидной железы (микросомальной фракции, тиреоглобулину, коллоиду), что сопровождается гибелью тиреоцитов и замещением их лимфоидными элементами [6]. Предрасполагающим (“внутренним”) фактором развития АИТ являются нарушения иммунного и эндокринного гомеостаза в пубертатном, климактерическом периодах, при беременности, родах, а также при старении [7, 12]. Срыв естественной толерантности и, как следствие, развитие антитиреоидного иммунитета может осуществляться также за счет угнетения апоптоза аутореактивных лимфоцитов, реализацию которого могут индуцировать персистирующие в организме вирусы [9, 10]. Кроме того, показана способность ряда цитокинов индуцировать экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости тиреоидными клетками, что ведет к рестимуляции аутореактивных Т-клеток и усиливает привлечение Т- и В-лимфоцитов в ткань щитовидной железы с развитием антитиреоидной реакции иммунитета [1, 12].

Несмотря на повышенный интерес современных исследователей к проблеме аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, многие аспекты их патогенеза остаются открытыми. До настоящего времени четко не определен спектр факторов, способствующих развитию АИТ. Вместе с тем знание молекулярных механизмов иммунного дисбаланса при АИТ, их взаимосвязи с активностью аутоиммунного повреждения щитовидной железы и выраженностью клинических проявлений заболевания может оказаться основой для разработки новых подходов к диагностике, прогнозированию исходов и, что особенно важно, патогенетически обоснованной иммуномодулирующей терапии АИТ.

Цель исследования. Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови и уровня инфицированности вирусами группы герпеса у больных АИТ.

Материал и методы

Было обследовано 28 человек (2 мужчин и 26 женщин) в возрасте от 19 до 60 лет (средний возраст — $44,0 \pm 2,3$ года) с установленным по общепринятым критериям (наличие двух “больших” диагностических признаков по данным клинического, гормонального, ультразвукового обследования) ди-

агнозом АИТ. Критериями исключения были: наличие в анамнезе сопутствующей патологии инфекционного и неинфекционного генеза, наличие других форм тиреопатий, вакцинация в течение 6 мес, предшествующих исследованию, прием иммуномодулирующих препаратов. Длительность заболевания АИТ составляла в среднем $6,0 \pm 2,7$ года. Из общего числа обследованных пациентов с АИТ у 6 человек данное заболевание было зарегистрировано впервые.

Контрольную группу составили 15 практически здоровых мужчин и женщин сопоставимого с больными АИТ возраста и с подтвержденным отсутствием тиреоидной патологии.

У всех пациентов проводились клиническое обследование, ультразвуковое исследование щитовидной железы, определение содержания гормонов в сыворотке крови (ТТГ, св. Т₄) и АТ-ТПО.

Материалом исследования служили сыворотка периферической крови и мононуклеары, выделенные из цельной периферической крови путем центрифугирования на слое фиколл-урографина ($1,077 \text{ г/см}^3$). Клетки дважды отмывали и ресуспендировали в питательной среде Хэнкса. CD-популяционный состав (%) лимфоцитов периферической крови исследовали с помощью лимфоцитотоксического теста с использованием моноклональных антител к дифференцировочным антигенам (“Сорбент”, г. Москва, Россия). Содержание вирус-специфических антител в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов “Вектор-Бест” (г. Новосибирск, Россия). Проводилось определение антител к вирусу простого герпеса (ВПГ-IgG), цитомегаловирусу (ЦМВ-IgG и ЦМВ-ЕА-IgG) и вирусу Эпштейна–Барра (ВЭБ-ЕА-IgG и ВЭБ-NA-IgG).

Статистический анализ данных осуществляли с использованием программы Statistica for Windows Version 6.0. Для оценки нормальности распределения выборочных данных применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Обработку результатов проводили с использованием критериев Манна–Уитни, χ^2 и точного теста Фишера. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

По результатам клинико-гормонального обследования большинство пациентов (24 человека, 85,7%) находились в состоянии эутиреоза. При этом 12 (42,8%) пациентов для его поддержания получали терапию синтетическим гормоном щитовидной железы (L-тироксин в дозе 50–100 мкг). У данной группы пациентов в анамнезе имелось указание на пер-

Таблица. CD-популяционный состав лимфоцитов периферической крови (%) у здоровых доноров и у больных аутоиммунным тиреоидитом (M ± m)

Показатель		Здоровые доноры (n = 15)	Больные аутоиммунным тиреоидитом (n = 28)
Лимфоциты (%)	CD3 ⁺	75,22 ± 1,68	71,80 ± 0,59
	CD4 ⁺	44,89 ± 1,75	43,70 ± 0,61
	CD8 ⁺	25,44 ± 1,52	22,87 ± 0,44
	CD20 ⁺	5,67 ± 0,67	8,17 ± 0,52 (p = 0,028)
	CD56 ⁺	14,44 ± 1,38	18,00 ± 1,33
ИРИ		1,81 ± 0,14	1,91 ± 0,04

вичный гипотиреоз, чаще (75,0% больных) в фазе клинической манифестации заболевания, что и послужило основанием для назначения препарата. Состояние гипопункции щитовидной железы на момент проведения исследования было диагностировано у 4 (14,3%) человек (средний показатель ТТГ составил $10,4 \pm 2,2$ мЕд/л). При анализе анамнестических данных этих пациентов установлено, что данное заболевание диагностировано у них впервые и назначенную заместительную терапию по поводу гипотиреоза больные еще не принимали. Учитывая данные ультразвукографии, у 7 (25,0%) пациентов был выставлен диагноз атрофическая форма АИТ, у 17 (60,7%) – фиброзная и фиброзно-узловая формы, у 4 (14,3%) больных – гипертрофическая. Титр АТ-ТПО у всех больных с АИТ был повышенным по сравнению с таковым у здоровых доноров (до $418,2 \pm 289,3$ Ед/л), что, как известно, является одним из критериев диагностики АИТ.

Результаты исследования больных АИТ показали значимое увеличение процентного содержания в крови CD20-экспрессирующих лимфоцитов (p = 0,028). Относительное содержание CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- и CD56⁺-популяций лимфоцитов у больных АИТ соответствовало таковому у здоровых доноров. Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) составил $1,91 \pm 0,04$, что также соответствовало норме (таблица).

Необходимо отметить, что данные литературы относительно изменений популяционного состава лимфоцитов при АИТ весьма противоречивы, что, по всей вероятности, связано с иммунологическим обследованием больных в разные периоды формирования аутоиммунного процесса. Так, Л.А. Болотская и соавт. [2] отмечали снижение в крови больных АИТ количества CD3⁺, CD4⁺-лимфоцитов и ИРИ при повышении численности CD8⁺-клеток. В то же время Ю.В. Виноградова и соавт. [3] отметили, что каких-либо изменений содержания CD8⁺-лимфоцитов при АИТ выявлено не было. Установленное же нами повышение процентного содержания CD20⁺-В-лимфоцитов в крови у больных

АИТ при нормальном количестве Т- и НК-клеток служит свидетельством смещения иммунного баланса в направлении активации гуморального звена иммунной системы. Возможным объяснением этому, на наш взгляд, может служить нарушение механизмов иммунного контроля, следствием которого, вероятно, являлась стимуляция продукции антител, “направленных” против антигенов щитовидной железы.

В связи с этим закономерно возникает вопрос: Что могло явиться причиной такого рода изменений? Как уже указывалось выше, в качестве триггеров АИТ рассматриваются различного рода инфектогены. Учитывая, что приоритет в данном аспекте отводится вирусам, прежде всего способным к длительной (нередко пожизненной) персистенции, актуальным явилось обследование больных АИТ на предмет их инфицированности вирусами группы герпеса, которые, как известно, широко распространены в человеческой популяции и способны вызывать не только острую цитодию, но и персистентную инфекции. Результаты проведенного исследования показали, что иммуноглобулины класса G к ВПГ обнаруживались у 26 (92,9%) больных АИТ, что в целом соответствует сведениям литературы, согласно которым, распространенность латентной герпес-вирусной инфекции в человеческой популяции достигает 98,8% [4].

Аналогичная картина выявлялась в структуре показателей инфицированности ЦМВ. При анализе содержания IgG к ЦМВ антитела к вирусу были найдены у 27 (96,4%) больных АИТ. Известно, что антитела к поздним (структурным) белкам ЦМВ обнаруживаются в сыворотке крови и после окончания острой стадии инфекции при переходе вируса в латентное состояние. Между тем, наряду с IgG к ЦМВ, у 11 (39,3%) обследованных нами пациентов с диагнозом АИТ были обнаружены антитела к предраннему белку вируса цитомегалии (ЦМВ-ЕА-IgG), что служит показателем активной репликации вируса и свидетельствует о наличии у данной категории больных острой стадии ЦМВ-инфекции.

У 19 (67,6%) больных АИТ титр антител к ВЭБ соответствовал поздней паст-инфекции (отсутствовали IgG к раннему антигену (ЕА), но присутствовали IgG к ядерному антигену (NA). Кроме того, у двух (7,1%) пациентов с АИТ были обнаружены иммуноглобулины класса G как к ЕА ВЭБ, так и к NA ВЭБ, что соответствует поздней стадии первичной ВЭБ-инфекции либо реактивации хронической ее формы.

При оценке полученных данных с помощью теста Фишера и поправки Йетса нами была установлена положительная взаимосвязь между наличием антител класса G к предраннему антигену (ЕА) ЦМВ и заболеванием аутоиммунным тиреоидитом (значения критерия Фишера – $p = 0,023$; поправка Йетса – $p = 0,027$).

Полученные данные позволяют предполагать, что острая ЦМВ-инфекция может служить одним из факторов, провоцирующих либо развитие АИТ, либо манифестацию ранее сформировавшейся субклинической его формы. Активная репликация ЦМВ, возможно, является пусковым фактором “срыва” естественной иммунологической толерантности и формирования тиреоидспецифической реакции лимфоцитов.

Список литературы

1. Акинчев А.А. Аутоиммунный тиреоидит: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Л., 1996.
2. Болотская Л.А., Маркова Т.П. Клинико-иммунологическая характеристика больных аутоиммунным тиреоидитом // Иммунология. 2002. № 3. С. 175–177.
3. Виноградова Ю.Е., Шинкаркина А.П., Поверенный А.М. Аутоиммунный тиреоидит при заболеваниях системы крови // Терапевтический архив. 2003. Т. 75, № 12. С. 83–92.
4. Вирусология: В 3-х т. / Под ред. Б. Филдса, Д. Найпа. М.: Мир, 1989. Т. 3.
5. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология: Учебник. М.: Медицина, 2000.
6. Кандрор В.И. Молекулярно-генетические аспекты тиреоидной патологии // Проблемы эндокринологии. 2001. Т. 47, № 5. С. 3–10.
7. Кандрор В.И. Современные проблемы тиреоидологии // Проблемы эндокринологии. 1999. № 1. С. 3–8.
8. Петунина Н.А. Клиника, диагностика и лечение аутоиммунного тиреоидита // Проблемы эндокринологии. 2002. Т. 48, № 6. С. 16–22.
9. Старкова Н.Т. Руководство по клинической эндокринологии. 3-е изд. СПб.: Питер, 2002.
10. Eguchi K. Apoptosis in autoimmune diseases // Intern. Med. 2001. V. 40. P. 275–284.
11. Volpe R. Autoimmune thyroid disease – a perspective // Molec. Biol. Med. 1986. V. 3. N 1. P. 25–51.
12. Weetman A. P. Autoimmunity and endocrinology // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1999. V. 107. P. 63–66.