Оригинальное исследование | Original study

Патогенные иерсинии и болезнь Грейвса

©*Л.Ю. Хамнуева[1], Т.В. Гома[1]*, В.Т. Климов[2]*

[1] *ФГБОУ ВО "Иркутский государственный медицинский университет" Минздрава России, Иркутск, Россия*
[2] *ФКУЗ Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, Иркутск, Россия*

Обоснование. Наиболее часто встречающимся заболеванием щитовидной железы, сопровождающимся синдромом тиреотоксикоза, является болезнь Грейвса (БГ). Сведения о роли иерсиний в развитии данного заболевания противоречивы.
Цель. Определить значение *Yersinia enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* в развитии БГ.
Материал и методы. Обследовано 78 больных БГ. Выявление антител к иерсиниям проводилось следующими методами: 1) реакцией агглютинации (РА) с суспензиями живых вирулентных бактерий *Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica* O:3 и O:9; 2) реакцией непрямой гемагглютинации (РНГА) с применением эритроцитарного диагностикума; 3) определением антител классов IgA и IgG к белкам «патогенности» штаммов иерсиний методом иммуноблотинга (30 больных).
Результаты. У всех больных БГ получены диагностически значимые титры антител в РА. В группе пациентов с максимальным титром антител обнаружен наибольший общий объем щитовидной железы по данным УЗИ ($p = 0{,}010$) и максимальная длительность течения заболевания ($p = 0{,}040$). Не обнаружено связей между титром антител к иерсиниям и уровнями тиреоидных гормонов, стимулирующих антител к рецептору тиреотропного гормона. У 30 больных БГ (9 пациентов с титром антител в РА 1:800–1:1600, 17 – 1:400, 4 – 1:200) тест на выявление антител класса IgA был отрицательный. У всех пациентов с максимальным титром антител в РА обнаружены положительные антитела IgG к антигенам YopM (Yop2a), YopH (Yop2b), V-антиген, YopD. Длительность течения БГ у пациентов с отрицательным титром антител в реакции иммуноблотинга была меньше, чем с положительным ($p = 0{,}010$). Отсутствие активной и/или перенесенной иерсиниозной инфекции у всех обследованных больных БГ подтвердили отрицательные клинико-анамнестические данные и негативные результаты исследования сывороток в РНГА.
Заключение. В сыворотке крови больных БГ в РА и методом иммуноблотинга определяются перекрестно-реагирующие антитела к антигенам *Y. enterocolitica*. Диагностический титр данных антител чаще выявляется у пациентов с бóльшей длительностью БГ, значительным объемом щитовидной железы. Отсутствие связи между титром данных антител и уровнями тиреоидных гормонов, антител к рецептору тиреотропного гормона, а также негативные результаты в РНГА с диагностикумом, не содержащим белков наружной мембраны патогенных иерсиний, отрицают триггерную роль иерсиниозной инфекции как инициирующего фактора развития БГ.

Ключевые слова: *иерсинии, болезнь Грейвса, перекрестная реактивность, антитела.*

Yersinia infections and Graves' disease

©*Larissa Yu. Khamnueva[1], Tatyana V. Goma[1]*, Valery T. Klimov[2]*

[1] *Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia*
[2] *Irkutsk Plague Control Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia*

Background. The most common thyroid disease, accompanied by thyrotoxicosis syndrome, is Graves' disease (GD). Information about the role of Yersinia in the development of this disease is contradictory.
Aims. To study the significance of *Yersinia (Y.) enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in the development of Graves' disease.
Materials and methods. 78 patients with GD. Identification of antibodies to *Y.* was carried out by the following methods: 1. agglutination test (AT) with suspensions of live virulent cultures *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* O:3 and O:9; 2. indirect hemagglutination test (IHET) with the use of erythrocyte diagnosticum; 3. determination of IgA and IgG antibodies against pathogenicity factors of *Y. enterocolitica* strains by immunoblotting (30 patients with GD).
Results. Diagnostically significant titers of antibodies to *Y. pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* were obtained in all patients with GD by AT. The greatest total thyroid volume determined by ultrasound investigation ($p = 0.010$) and the maximum duration of the disease ($p = 0.040$) were determined in the group of patients with the maximum antibody titer. No significant relation was found between the titer of antibodies to *Yersinia* and the levels of thyroid hormones stimulating the thyroid antibodies.The test for detection of IgA antibodies by immunoblotting was negative in 30 patients with GD (9 patients with a titer of antibodies by AT 1:800 – 1:1600, 17 – 1:400, 4 – 1:200). In all cases with the maximum antibody titer in AT, the positive IgG antibodies to the antigens YopM (Yop2a), YopH (Yop2b), V-antigen, YopD were found. The GD duration in patients with negative titers of antibodies by the immunoblotting test was less than with the positive one ($p = 0.010$). The privative clinical and anamnestic data and nega-

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018

Статья может быть использована на условиях международной лицензии CC BY-NC-ND 4.0.
The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 license.

tive results by IHET confirmed the absence of active and/or transferred *Yersinia* infections in all the examined patients with GD.

Conclusions. The cross-reacting antibodies to the antigens of *Y. enterocolitica* are determined in the serum of GD patients by AT and immunoblotting. The diagnostic titer of these antibodies is more often detected in patients with greater GD duration and larger volume of the thyroid gland. The absence of a link between the titer of these antibodies and the levels of thyroid hormones, the antibodies to the thyrotropin receptors of pituitary, as well as negative results by IHET with a diagnosticum that does not contain outer membrane proteins of pathogenic *Yersinia*, deny the trigger role of *Yersinia* infections as an initiating factor in the development of GD.

Key words: *Yersinia infections, Graves' disease, cross reaction, antibodies.*

Обоснование

Наиболее часто встречающимся заболеванием щитовидной железы (ЩЖ), сопровождающимся синдромом тиреотоксикоза, является болезнь Грейвса (БГ). Известно, что БГ – аутоиммунное заболевание, где в качестве аутоантигена-мишени выступает рецептор тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) тироцита. Антитела к рецептору ТТГ (АТ к рТТГ) при БГ носят тиреоидстимулирующий характер [1].

Считается, что аутоиммунные заболевания ЩЖ возникают у генетически предрасположенных лиц после воздействия каких-либо триггеров (например, вирусной или бактериальной инфекции). Особый интерес представляет роль иерсиний в инициации данного заболевания.

Впервые в 1974 г. K. Bech и соавт. [2] обнаружили взаимосвязь между *Yersinia enterocolitica* и аутоиммунными заболеваниями ЩЖ, определив высокий титр антител к данной бактерии у больных с БГ и тиреоидитом Хашимото. M. Weiss и соавт. [3] выявили на наружной мембране иерсиний участки связывания с тиреотропным гормоном гипофиза – "ТТГ-рецептороподобные молекулы", сходные по антигенному строению с ТТГ-рецепторами клеток ЩЖ. Они высказали мысль об "антигенной мимикрии" между определенными участками иерсиний и ТТГ-рецепторами клеток ЩЖ. В последующих исследованиях B. Wenzel и соавт. [4] предположили взаимосвязь между аутоиммунными заболеваниями ЩЖ и перенесенным иерсиниозом, полагая, что перекрестная реактивность характерна как для *Y. enterocolitica*, так и для *Y. pseudotuberculosis* независимо от серотипов и может играть инициирующую роль в развитии аутоиммунного поражения ЩЖ.

В Японии антитела к *Y. enterocolitica* серотипов 03, 08, 09 найдены у 70% больных с различной патологией ЩЖ, особенно высокий титр данных антител обнаружен только при БГ [5]. В Израиле, где распространенность иерсиниозов меньше, выявлено 45% серопозитивных лиц к *Y. enterocolitica* среди обследованных с тиреопатиями и ни одного из 77 здоровых [3]. Последующие исследования показали, что рТТГ и некоторые белки наружной мембраны *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*, возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза, обладают схожими антигенными детерминантами [6–8]. Показано, что 8 белков *Y. enterocolitica* гомологичны с некоторыми аутоэпитоп-содержащими сегментами рТТГ, тиреоглобулина и тиреопероксидазы [7], обнаружена взаимная реактивность между белками иерсиний и антителами при БГ [7, 9]. В недавнем исследовании Z. Wang и соавт. [8] выявлены положительные корреляционные связи между уровнями АТ к рТТГ и антител к *Y. enterocolitica*, в том числе антител против F-белка наружной мембраны (ompF) иерсиний. Перекрестная реактивность также выявлена между АТ к рТТГ и рекомбинантными белками OmpA, OmpC *Y. enterocolitica* [10]. Обнаружено, что белок ompF и экстрануклеарная часть рТТГ имеют идентичную аминокислотную последовательность, на основании чего высказано предположение, что белок ompF вовлечен в иммунный механизм секреции АТ к рТТГ и патогенез БГ через механизмы молекулярной мимикрии [8].

M. Giménez-Barcons и соавт. [11] обнаружили экспрессию рТТГ в созревающих тимоцитах при БГ. Они выдвинули гипотезу о том, что многократная непрерывная стимуляция тимоцитов с помощью АТ к рТТГ может привести к порочному циклу многократного улучшения аффинности, благодаря чему антитела к иерсиниям могут перекрестно реагировать с рТТГ.

Противоположной точки зрения об участии иерсиний в патогенезе аутоиммунных заболеваний ЩЖ придерживается R. Volpe [12]. Он считает, что действительно существует перекрестная реактивность ("антигенная мимикрия"), но понимать ее следует в другом контексте. При постановке серологических реакций в сыворотке больных с аутоиммунными заболеваниями ЩЖ с иерсиниозным антигеном во взаимодействие вступают не истинные антитела к иерсиниям, а антитела к клеткам ЩЖ (в частности, АТ к рТТГ) вследствие структурной генетической схожести. Поэтому утверждение о триггерной роли иерсиний в развитии аутоиммунных заболеваний ЩЖ он подвергает сомнению. Выводы R. Volpe косвенно подтверждает высокая корреляция анти-ТТГ-рецепторных антител и антииерсиниозных антител

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018

у одних и тех же больных. При лечении тиреостатическими препаратами, радиоактивным йодом или тиреоидэктомией наблюдается параллельное снижение титров обоих видов антител [13].

Таким образом, при изучении зарубежной и отечественной литературы обращает внимание противоречивость выводов о роли иерсиний как инициирующего фактора БГ. Однако авторы едины во мнении о необходимости дальнейших углубленных исследований этой проблемы, независимо от их позиции относительно отрицания или подтверждения триггерной роли *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* в развитии аутоиммунных заболеваний ЩЖ.

Цель

Изучить значение *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* в развитии болезни Грейвса.

Методы

Дизайн исследования

Исследование было наблюдательным одномоментным одноцентровым неконтролируемым с участием пациентов с БГ.

Критерии соответствия

Критерии соответствия: пациенты с БГ в возрасте от 18 до 60 лет, европеоидной расы вне зависимости от пола. Диагноз БГ устанавливался на основании Клинических рекомендаций по диагностике и лечению тиреотоксикоза с диффузным зобом (диффузный токсический зоб, болезнь Грейвса–Базедова), узловым/многоузловым зобом [14].

Критериями исключения больных из исследования явились: наличие других эндокринных заболеваний, сопутствующие хронические заболевания в стадии обострения, текущие острые заболевания и требующие постоянной медикаментозной терапии, беременность и состояние лактации у женщин, отказ пациента от проведения исследования. Пациенты для участия в исследовании подписывали форму информированного согласия.

Условия проведения

Забор биоматериала осуществлялся на базе ГБУЗ Иркутская ордена “Знак Почета” областная клиническая больница г. Иркутска. Исследования проводились на базе лабораторий ГБУЗ Иркутской ордена “Знак Почета” областной клинической больницы, НИИ биомедицинских технологий ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора г. Иркутска.

Продолжительность исследования

Пациенты с БГ обследовались однократно в период с 2010 по 2011 г.

Описание медицинского вмешательства

Материалом для исследования служила сыворотка венозной крови пациента. Венозная кровь забиралась из локтевой вены путем венепункции в стандартные пробирки с активатором Vacuette 10 мл. Пробирки отстаивались в течение 30 мин при комнатной температуре, затем центрифугировались в течение 10 мин при 3500 об/мин.

Основной исход исследования

В сыворотке крови больных БГ определяли уровни свободного T_4, ТТГ, АТ к рТТГ, а также проводилось исследование содержания антител к *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis.*

Анализ в подгруппах

У всех обследуемых были получены диагностически значимые титры антител к *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* в реакции агглютинации (РА). В зависимости от результатов РА пациенты с БГ были разделены на три группы: 1-я группа с титром антител к *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* 1:200; 2-я группа – 1:400; 3-я группа – 1:800–1:1600.

Методы регистрации исходов

Концентрацию T_4, ТТГ в сыворотке крови определяли радиоиммунным методом с помощью наборов Immunotech (Чехия). Определение АТ к рТТГ осуществляли с помощью диагностических наборов Medipan Medizym TRAb clone (Германия).

Выявление АТ к *Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica* O:3, O:9 осуществляли тремя методами:

1) объемной РА с суспензиями живых вирулентных клеток соответствующего вида и сероварианта бактерий (ФКУЗ ИркНИПЧИ, Иркутск);

2) реакцией непрямой гемагглютинации (РНГА) с применением эритроцитарного диагностикума, где эритроциты сенсибилизированы липополисахаридом соответствующего микроорганизма (НИИВС, Санкт-Петербург). Диагностический титр – 1:100;

3) методом иммуноблотинга (30 больных: всем пациентам 3-й группы, 17 из 2-й и 4 из 1-й; отбор образцов сывороток из групп с титром антител в РА 1:200 и 1:400 осуществлялся способом случайной выборки) проводилось определение антител классов IgA и IgG к белкам, экспрессируемым родоспецифической плазмидой “вирулентности” иерсиний *pYV* с помощью тест-наборов Anti-Yersinia enterocolitica WESTERNBLOT (IgG, IgA, IgM) EUROIMMUNE AG (Германия). Тест-системы содержат стрипы с элек-

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018

трофоретически разделенными факторами вирулентности патогенных штаммов *Y. enterocolitica*. В случае положительного образца сыворотки специфические антитела IgA и IgG будут связываться с соответствующими антигенами определенной молекулярной массы с развитием цветной реакции. Интенсивно окрашенная полоса на тестовом стрипе является критерием положительного результата, отсутствие окрашивания – тест отрицательный.

Этическая экспертиза

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ Иркутская ордена "Знак Почета" областная клиническая больница г. Иркутска 4 марта 2009 г. (выписка из протокола №14).

Статистический анализ

Для статистического анализа использовалась программа Statistica 6.0 for Windows. Нормальность распределений проверялась с помощью критерия Шапиро–Уилка. Так как распределение признаков не подчинялось закону нормального распределения, в работе использовались непараметрические методы статистического анализа. Данные представлены как Me [Q25; Q75], где Me – медиана вариационных рядов, [Q25; Q75] – интерквартильный размах в виде 0,25 и 0,75 квартилей. Для сравнения групп исследования использовались непараметрические методы: (Манна–Уитни, χ^2, Краскела–Уоллиса). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Определение размера выборки проводилось методом двухстороннего теста с помощью онлайн-калькулятора "Определение требуемого числа исследуемых" (http://medstatistic.ru/calculators/calcsize.html) для одной выборки при уровне значимости $p = 0,05$, мощность критерия составила 80%, ширина доверительного интервала – 10%. Показатель ожидаемой частоты явления в группах основывался на данных H. Tacuno и соавт. [5]. Репрезентативный размер выборки составил 67 больных БГ.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследовании приняли участие 78 больных БГ. Медиана возраста пациентов с БГ составила 41,5 [29,0; 49,0] лет, среди них 15 мужчин (19,2%) и 63 женщины (80,8%), мужчины и женщины по возрасту не отличались ($p > 0,05$). Манифестный тиреотоксикоз был диагностирован у 64 больных (82,1%), субклинический – у 14 (17,9%).

Основные результаты исследования

У больных БГ ($n = 78$) была проведена РА с живой вирулентной культурой *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. У всех больных были получены диагностически значимые титры антител к *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*: у 29 (37,2%) был обнаружен титр антител 1 : 200; у 40 (51,3%) – 1 : 400; у 9 (11,5%) – 1 : 800–1 : 1600. Первую группу составили 4 мужчин и 25 женщин, 2-ю – 8 мужчин и 32 женщины, 3-ю – 3 мужчин и 6 женщин. Группы были однородны по возрасту.

Больные БГ в зависимости от титра антител в РА были разделены на три группы:

- 1-я группа – 1 : 200 ($n = 29$);
- 2-я группа – 1 : 400 ($n = 40$);
- 3-я группа – 1 : 800–1:1600 ($n = 9$).

В каждой из групп был оценен гормональный статус ЩЖ. Показатели (Me) свободного T_4 и ТТГ в группах не различались ($p > 0,05$). В то же время титр АТ к рТТГ у больных БГ с титром антител в РА 1 : 800–1 : 1600 был максимальным и составил 29,0 [8,7; 33,7] МЕ/мл, однако различия в группах не достигли статистической значимости. Наибольший общий объем ЩЖ, по данным УЗИ, выявлен у больных БГ с максимальным титром антител в РА (3-я группа) и составил 81,4 [67,6; 83,6] $см^3$ ($p_{3-1} = 0,02$, $p_{3-2} = 0,003$). Объем ЩЖ у больных БГ 1-й и 2-й групп значимо не различался ($p > 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1. Гормональный статус, уровень антител к рецептору ТТГ и объем щитовидной железы у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от титра антител в реакции агглютинации к *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*

Показатель	1-я группа Титр антител к иерсиниям 1:200 ($n = 29$)	2-я группа Титр антител к иерсиниям 1:400 ($n = 40$)	3-я группа Титр антител к иерсиниям 1:800–1:1600 ($n = 9$)	p
Свободный T_4, пмоль/л	31,3 [22,6; 57,0]	31,1 [16,3; 53,9]	30,3 [25,6; 39,0]	>0,05
ТТГ, мкМЕ/мл	0,012 [0,005; 0,060]	0,013 [0,006; 0,050]	0,030 [0,010; 0,060]	>0,05
АТ к рТТГ, МЕ/мл	10,4 [6,9; 27,5]	9,6 [6,0; 25,8]	29,0 [8,7; 33,7]	>0,05
Общий объем ЩЖ, $см^3$	51,7 [24,8; 69,3]	44,3 [33,2; 60,5]	81,4 [67,6; 83,6]	0,01

Примечание: p – достоверность различия показателей (метод Краскела–Уоллиса).

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018

Анализ данных анамнеза и медицинской документации у больных БГ с разным титром антител в РА показал, что длительность течения БГ у больных 3-й группы была максимальной и составила 10,0 [7,0; 12,0] лет, во 2-й группе – 2,5 [0,5; 6,0] лет и 1-й группе – 1,5 [0,5; 6,0] лет, $p_{1-2-3} = 0,04$, $p_{3-1} = 0,04$, $p_{3-2} = 0,01$. Количество эпизодов (рецидивов) тиреотоксикоза в 3-й группе (5,0 [2,0; 10,0]) было несколько больше, чем в 1-й (1,0 [1,0; 3,0]) и во 2-й (2,0 [1,0; 3,0]) группах больных ($p > 0,05$).

Результаты РНГА с применением эритроцитарного диагностикума к *Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica* O:3 и O:9 были отрицательными у всех пациентов с БГ.

В настоящее время для лабораторного подтверждения иерсиниоза наиболее информативным считается тест на определение антител к факторам патогенности *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* методом иммуноблотинга. IgA, IgG и IgM антитела могут быть обнаружены в раннюю фазу после контакта с *Y. enterocolitica*. У больных, перенесших иерсиниоз, титры IgA и IgM снижаются в течение нескольких месяцев. Антитела класса IgG обычно персистируют существенно дольше и могут выявляться в сыворотке через 12 мес и более после начального контакта с антигенами возбудителя.

Методом иммуноблотинга 30 больным БГ (всем пациентам 3-й группы, 17 из 2-й и 4 из 1-й) исследовались антитела классов IgA и IgG к факторам вирулентности патогенных штаммов *Y. enterocolitica*. Тест на выявление антител класса IgA в сыворотке крови больных БГ был отрицательный во всех случаях. Тест на выявление антител класса IgG к антигенам *Y. enterocolitica* в исследуемых сыворотках крови больных БГ из 1-й и 2-й групп был отрицательным. Но у всех больных БГ 3-й группы выявлены положительные антитела класса IgG к антигенам (белкам наружной мембраны иерсиний) YopM (Yop2a), YopH (Yop2b) – у 9 (100%) больных, V-антиген – у 9 (100%), YopD – у 8 (88,9%) больных БГ. Больные БГ с положительным и отрицательным титром антител класса IgG, определенных методом иммуноблотинга, не отличались между собой по полу, возрасту, уровням свободного T_4, ТТГ. В группе с положительными антителами IgG к факторам вирулентности патогенных штаммов *Y. enterocolitica* был выше уровень АТ к рТТГ ($p > 0,05$), а также общий объем ЩЖ по данным УЗИ ($p = 0,04$) (табл. 2).

Длительность течения БГ у больных с отрицательным титром антител в реакции иммуноблотинга была меньше, чем с положительным (диагностическим), и составила 4,0 [1,5; 6,0] и 10,0 [7,0; 12,0] лет соответственно, $p = 0,01$. Количество эпизодов (рецидивов) тиреотоксикоза также было больше в группе с положительным титром антител (5,0 [2,0; 10,0] и 2,0 [1,0; 5,0]), но разница этих показателей статистически не достоверна ($p > 0,05$).

Нежелательные явления

Не были зарегистрированы ни у одного пациента с БГ.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

У всех больных были получены диагностически значимые титры антител к *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* в РА. Связей между титром этих антител и гормональным статусом ЩЖ не выявлено. Обнаружено, что у пациентов с максимальным титром в РА определялся бóльший объем ЩЖ по данным УЗИ, длительность течения БГ в этой группе была максимальной.

Результаты РНГА с применением эритроцитарного диагностикума к *Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica* O:3 и O:9 были отрицательными у всех обследуемых.

У всех больных БГ с максимальным титром антител в РА выявлены антитела класса IgG к белкам

Таблица 2. Гормональный статус, уровень антител к рецептору ТТГ и объем щитовидной железы у больных болезнью Грейвса с положительным и отрицательным титром антител класса IgG к факторам вирулентности патогенных штаммов *Y. enterocolitica*, выявленных методом иммуноблотинга

Показатель	Титр антител положительный ($n = 9$)	Титр антител отрицательный ($n = 21$)	p
Свободный T_4, пмоль/л	30,3 [25,6; 39,0]	39,3 [17,5; 82,3]	>0,05
ТТГ, мкМЕ/мл	0,030 [0,010; 0,060]	0,010 [0,006; 0,030]	>0,05
АТ к рТТГ, МЕ/мл	29,0 [8,7; 33,7]	22,2 [9,6; 31,6]	>0,05
Общий объем ЩЖ, $см^3$	81,4 [67,6; 83,6]	51,7 [41,0; 74,3]	0,04

Примечание: p – достоверность различия показателей (метод Манна–Уитни).

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018

наружной мембраны иерсиний – V, YopM (Yop2a), YopH (Yop2b), YopD методом иммуноблотинга.

Обсуждение основного результата исследования

Положительные результаты РА и иммуноблотинга ставят вопрос: страдали ли обследуемые больные БГ кишечным иерсиниозом или псевдотуберкулезом и имели ли его в анамнезе? Отсутствие перенесенной иерсиниозной инфекции у обследованных больных БГ подтвердили отрицательные клинико-анамнестические данные и негативные результаты исследования сывороток в РНГА с применением эритроцитарного диагностикума к *Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica* O:3 и O:9. Диагностикум предназначен для выявления антител к липополисахариду иерсиний в сыворотке крови людей и не дает перекрестных реакций на антитела к белковым детерминантам.

Антитела класса IgG к белкам, экспрессируемым родоспецифической плазмидой "вирулентности" pYV *Y. enterocolitica*, выявлены только у обследуемых с максимальным титром антител в РА. Тест на выявление антител класса IgA был негативным у всех пациентов с БГ, что также не подтверждает наличие иерсиниозной инфекции. Положительные результаты, выявленные в РА и методом иммуноблотинга, объясняются выработкой перекрестно-реагирующих антител к белкам наружной мембраны иерсиний у пациентов с БГ. У патогенных иерсиний на наружной мембране имеются плазмидкодированные "ТТГ-рецептороподобные белки", структурно идентичные участкам рТТГ тироцитов человека. Именно с ними могут вступать во взаимодействие АТ к рТТГ у больных БГ, обладающие перекрестной реактивностью, вследствие структурной генетической схожести [13]. Отсутствие связи между титром выявленных антител к иерсиниям и уровнями тиреоидных гормонов, АТ к рТТГ тироцитов, а также негативные результаты РНГА отрицают триггерную роль иерсиний в развитии БГ.

Ранее в проспективном исследовании, проведенном Л.Ю. Хамнуевой и соавт., не показана роль *Y. pseudotuberculosis* как инициирующего фактора развития БГ [15]. Было оценено состояние ЩЖ у больных, перенесших псевдотуберкулез. Обследование пациентов в острой стадии в фазу реконвалесценции ($n = 21$) не выявило характерных для гипотиреоза или тиреотоксикоза клинических симптомов, ультразвуковая картина, данные объективного осмотра и пальпации ЩЖ не имели специфических отличий от здоровых лиц. Основываясь на публикациях о возможной триггерной роли иерсиний в развитии БГ, целенаправленно искали характерную для тиреотоксикоза клиническую симптоматику, при объективном осмотре тщательно анализировали показатели гормонального статуса у каждого больного. При обследовании больных в течение года после перенесенного псевдотуберкулеза ($n = 44$) ни в одном случае не зарегистрирована БГ. С этим данными согласуются результаты исследования G. Effraimidis и соавт. [16], которые показали отсутствие связи между инфицированием *Y. enterocolitica* и развитием аутоиммунных заболеваний ЩЖ. Хотя возможность развития аутоиммунных заболеваний на основе перекрестно-реагирующих антигенов доказана В.В. Серовым и О.В. Зайратьянц, обращает внимание то, что обычно такие антигены обусловливают продукцию нецитотоксических антител и не ведут к повреждению тканей [17].

Ограничения исследования

В качестве основного ограничения исследования следует указать то, что в исследование не вошли пациенты с компенсированным тиреотоксикозом и в фазе ремиссии, поэтому полученные данные можно экстраполировать только на пациентов БГ с манифестным и субклиническим тиреотоксикозом.

Заключение

В сыворотке крови больных БГ в РА и методом иммуноблотинга определяются перекрестно-реагирующие антитела к антигенам наружной мембраны *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*. Диагностический титр данных антител чаще выявляется у пациентов с бóльшей длительностью БГ, значительным объемом ЩЖ.

Отсутствие связи между титром данных антител и уровнями тиреоидных гормонов, АТ к рТТГ, а также негативные результаты в РНГА с диагностикумом, не содержащим белков наружной мембраны патогенных иерсиний, отрицают триггерную роль иерсиниозной инфекции как инициирующего фактора развития БГ.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа проведена при поддержке ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России, ФКГУЗ Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора в рамках совместной научной работы.

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциальных и явных конфликтов (двойственности) интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Информация о вкладе каждого автора: Хамнуева Л.Ю. – концепция и дизайн исследования, сбор

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018

информации, анализ полученных данных, написание и редактирование текста; Гома Т.В. – сбор информации, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста; Климов В.Т. – сбор информации, проведение лабораторной диагностики, анализ полученных данных, редактирование текста.

Список литературы [References]

1. Кроненберг Г.М., Мелмед Ш., Полонски К.С., Ларсен П.Р. Заболевания щитовидной железы. / Под ред. Дедова И.И., Мельниченко Г.А. – М.: ООО "Рид Элсивер"; 2010. [Kronenberg GM, Melmed S, Polonski KS, Larsen PR. Dedov II, Melnichenko GA, editors. *Zabolevaniya shchitovidnoi zhelezy*. Moscow: Reed Elsevier; 2010. (In Russ.)]
2. Bech K, Hannover Larsen J, Mlholm Hansen J, Nerup J. Yersinia enterocolitica infection and thyroid disorders. *Lancet*. 1974; 304(7886):951-952. doi: 10.1016/s0140-6736(74)91152-0.
3. Weiss M, Rubinstein E, Bottone EJ, et al. Yersinia enterocolitica antibodies in thyroid disorders. *Isr J Med Sci*. 1979;15(7):553-555.
4. Wenzel BE, Peters A, Zubaschev I. Bacterial virulence antigens and the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases (AITD). *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1996;104 Suppl 4:75-78. doi: 10.1055/s-0029-1211707.
5. Takuno H, Sakata S, Miura K. Antibodies to Yersinia enterocolitica serotype 3 in autoimmune thyroid diseases. *Endocrinol Jpn*. 1990;37(4):489-500. doi: 10.1507/endocrj1954.37.489.
6. Gangi E, Kapatral V, El-Azami El-Idrissi M, et al. Characterization of a recombinant Yersinia enterocolitica lipoprotein; implications for its role in autoimmune response against thyrotropin receptor. *Autoimmunity*. 2004;37(6-7):515-520. doi: 10.1080/08916930410001728074.
7. Guarneri F, Carlotta D, Saraceno G, et al. Bioinformatics support the possible triggering of autoimmune thyroid diseases by Yersinia enterocolitica outer membrane proteins homologous to the human thyrotropin receptor. *Thyroid*. 2011;21(11):1283-1284. doi: 10.1089/thy.2010.036.
8. Wang Z, Zhang Q, Lu J, et al. Identification of outer membrane porin f protein of Yersinia enterocolitica recognized by antithyrotopin receptor antibodies in Graves' disease and determination of its epitope using mass spectrometry and bioinformatics tools. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(8):4012-4020. doi: 10.1210/jc.2009-2184.
9. Rastawicki W. Humoral response to selected antigens of Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis in the course of yersiniosis in humans. IV. Specificity of antigens. *Med Dosw Mikrobiol*. 2008;60(1):27-37.
10. Hargreaves CE, Grasso M, Hampe CS, et al. Yersinia enterocolitica provides the link between thyroid-stimulating antibodies and their germline counterparts in Graves' disease. *J Immunol*. 2013;190(11):5373-5381. doi: 10.4049/jimmunol.1203412.
11. Gimenez-Barcons M, Colobran R, Gomez-Pau A, et al. Graves' disease TSHR-stimulating antibodies (TSAbs) induce the activation of immature thymocytes: a clue to the riddle of TSAbs generation? *J Immunol*. 2015;194(9):4199-4206. doi: 10.4049/jimmunol.1500183.
12. Volpé R. Antibodies to plasmdo-encoated proteins of enteropathogenic Yersinia in patients with autoimmune thyroid disease. *Lancet*. 1988;331(8586):647. doi: 10.1016/s0140-6736(88)91444-4.
13. Asari S, Amino N, Horikawa M, Miyai K. Incidences of antibodies to Yersinia enterocolitica: High incidence of serotype O5 in autoimmune thyroid diseases in Japan. *Endocrinol Jpn*. 1989;36(3): 381-386. doi: 10.1507/endocrj1954.36.381.
14. Трошина Е.А., Свириденко Н.Ю., Ванушко В.Э., и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению тиреотоксикоза с диффузным зобом (диффузный токсический зоб, болезнь Грейвса-Базедова), узловым/многоузловым зобом. – М.; 2014. [Troshina EA, Sviridenko NY, Vanushko VE, et al. *Klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu tireotoksikoza s diffuznym zobom (diffuznyi toksicheskii zob, bolezn' Greivsa-Bazedova), uzlovym/mnogouzlovym zobom*. Moscow; 2014. (In Russ.)]
15. Хамнуева Л.Ю., Сизых Т.П., Климов В.Т., Харитончик О.А. Состояние щитовидной железы при псевдотуберкулезе. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 1999. – Т. 18. – №3. – С. 32–35. [Khamnueva LY, Sizykh TP, Klimov VT, Kharitonchik OA. Thyroid condition in pseudotuberculesis. *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Irkutsk, Russia)*. 1999;18(3):32-35. (In Russ.)]
16. Effraimidis G, Tijssen JG, Strieder TG, Wiersinga WM. No causal relationship between Yersinia enterocolitica infection and autoimmune thyroid disease: evidence from a prospective study. *Clin Exp Immunol*. 2011;165(1):38-43. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04399.x.
17. Серов В.В., Зайратьянц О.В. Аутоиммунизация и аутоиммунные болезни. // Архив патологии. – 1992. – Т. 54. – №3. – С. 5–12. [Serov VV, Zairat'yants OV. Autoimmunizatsiya i autoimmunnye bolezni. *Arkh Patol*. 1992;54(3):5-12. (In Russ.)]

Информация об авторах [Authors info]

***Гома Татьяна Владимировна,** к.м.н. [Tatyana V. Goma, MD, PhD]; адрес: 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 1 [address: 1 Krasnogo Vosstaniya street, 664003 Irkutsk, Russia]; телефон: +7(3952)407884;
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3441-3498, eLibrary SPIN: 3686-5360; e-mail: tanyagoma@mail.ru

Хамнуева Лариса Юрьевна, д.м.н. [Larissa Yu. Khamnueva, MD, PhD];
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6296-898X; eLibrary SPIN: 4933-3080; e-mail: hamnueval@mail.ru

Климов Валерий Тимофеевич, к.м.н. [Valery T. Klimov, MD, PhD]; ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0036-0017; eLibrary SPIN: 1382-9190; e-mail: 41klimov@mail.ru

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018

Как цитировать [To cite this article]

Хамнуева Л.Ю., Гома Т.В., Климов В.Т. Патогенные иерсинии и болезнь Грейвса // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2018. – Т. 14. – №1. – С. 11–18. doi: 10.14341/ket9416

Khamnueva LYu., Goma TV., Klimov VT. Yersinia infections and Graves' disease. *Clinical and experimental thyroidology.* 2018;14(1):11-18. doi: 10.14341/ket9416

Рукопись получена: 20.10.2017. **Рукопись одобрена:** 05.03.2018.
Received: 20.10.2017. **Accepted:** 05.03.2018.

© ОО Российская ассоциация эндокринологов, 2018
© Russian association of endocrinologists, 2018