

УДК 616.15:616-076.5:611.018.54-08-059

Захарова Н.А., Серебрякова О.В., Просяник В.И., Балаян М.К.

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАДИОАКТИВНЫМ ЙОДОМ*ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия*

У больных диффузным токсическим зобом выявлен дисбаланс в системе цитокинов. Наиболее значимо повышаются фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ , интерлейкин -4 и 8. После терапии радиоактивным йодом на 10-14 сутки отмечена тенденция к нормализации практически всех изученных показателей.

Ключевые слова: ДТЗ, радиоактивный йод, цитокины.

N. A. Zakharova, O. V. Serebryakova, V. I. Prosyaniк, M. K. Balajan
**CHANGE OF INDICATORS OF SOME CYTOKINES IN BLOOD SERUM
 IN PATIENTS WITH DIFFUSE TOXIC GOITER DURING
 RADIOACTIVE IODINE THERAPY**

Cytokine system disorder is revealed in patients with diffuse toxic goiter. The most significant increase of pro-inflammatory (SILT-8, TNF- α , INF- γ) and anti-inflammatory (SILT-4) cytokines is determined before treatment, after radioactive iodine therapy in 10-14 days a tendency to normalization of the indicators is noted.

Keywords: toxic goiter, radioactive iodine, cellular immunity.

Введение. Диффузный токсический зоб (ДТЗ) является одним из самых распространенных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ). В экономически развитых странах этим заболеванием страдают до 2% населения [1,2,3]. ДТЗ относится к органоспецифическим аутоиммунным заболеваниям, для которых характерна активация иммунной системы. По данным ряда авторов, дисфункция органа является результатом атаки недостаточно супрессированных антигенов против определенных клеток-мишеней (тироцитов), при этом продуцируются различные цитокины [1,2,4,7,11,15].

Исследования иммунного статуса больных диффузным токсическим зобом выявили важную роль цитокинов в стимуляции аутоиммунного процесса в щитовидной железе [1,2,7,11,14]. Гиперпродукция ряда цитокинов ведет к возникновению системной воспалительной реакции и может служить причиной развития ряда патологических состояний, в том числе и аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, критическое значение в патогенезе которых и принадлежит провоспалительным цитоки-

нам. Так, интерферон- γ (γ -IFN) индуцирует экспрессию II класса HLA на мембранах тироцитов с наличием собственных антигенов тироцита и активацией внутритироидных CD4+ Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов с последующей выработкой антител к представленным антигенам [3,9]. Интерлейкин-1 активировывает внутритироидальные Т-лимфоциты и индуцирует развитие лимфоидной инфильтрации щитовидной железы [1,5]. Фактор некроза опухоли- α (ФНО- α) участвует в индукции аутоиммунного процесса, и клетки, продуцирующие этот цитокин, существенно активированы при диффузном токсическом зобе [11,14,15]. Показано, что при ДТЗ уровень интерлейкина-8 превышает показатели здоровых людей в 3-4 раза, а при тяжелом течении тиреотоксикоза содержание α -IFN существенно выше его уровня у здоровых лиц [8]. Концентрация противовоспалительного интерлейкина-10 при ДТЗ также значительно возрастает [1,3,8,9].

На сегодняшний день в большинстве стран мира наиболее часто используемым

методом лечения диффузного токсического зоба является терапия радиоактивным йодом (I^{131}). Радиоактивный йод применяется для лечения тиреотоксикоза более 60 лет и доказал свою высокую эффективность [10,12,13].

Однако, несмотря на большой мировой опыт лечения диффузного токсического зоба, в терапии I^{131} остается много неясных и спорных вопросов. Окончательно не определена тактика ведения больных в зависимости от течения заболевания, его осложнений и сопутствующей патологии. Воздействие ионизирующих излучений на организм вызывает комплекс глубоких метаболических нарушений, затрагивающих все органы и системы, и, в первую очередь, иммунную. Как при локальном облучении организма, так и при тотальном, возникают количественные и функциональные изменения в системе иммунитета. Варьирование дозы облучения, ее мощности, прерывистости обуславливает специфические изменения иммунологических проявлений [9].

Некоторыми исследователями установлено, что облучение животных в диапазоне от 0 до 7 Грей вызывает повышение уровня провоспалительных цитокинов (интерлейкин- 1β , фактора некроза опухоли), при этом также повышается чувствительность к бактериальной инфекции [8, 10, 12].

В настоящее время не уточнена динамика изменений в цитокиновом статусе у больных диффузным токсическим зобом при радиойодтерапии.

Таким образом, учитывая сложный характер влияния ионизирующего облучения и большое разнообразие особенностей иммунного ответа, вызывает интерес изучение уровня цитокинов как провоспалительных, так и противовоспалительных после лечения радиоактивным йодом больных диффузным токсическим зобом.

Цель исследования: определить содержания некоторых цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ФНО- α , интерферона - γ) в сыворотке крови у больных диффузным токсическим зобом до и после лечения радиоактивным йодом.

Материал и методы. Исследование проводилось в течение 2010-2011 гг. в эндокринологическом отделении Краевой клинической больницы №1 города Читы. В исследование включены 25 пациентов с диффузным токсическим зобом (средний возраст $38,7 \pm 9,9$ лет). В группе больных тиреотоксикозом - женщин было 18 (72%), мужчин - 8 человек (28%).

Стандартизация показателей производилась на группе из 20 здоровых лиц (8 мужчин и 12 женщин), средний возраст которых составил $36,1 \pm 7,1$ лет.

Диагноз верифицировали на основании клинико-лабораторных данных: клиническая картина тиреотоксикоза; повышение концентрации в крови свободного тетраiodтиронина (св. Т4) и свободного трийодтиронина (св. Т3), снижение уровня тиреотропного гормона (ТТГ), уровень которых оценивали иммунохемилюминесцентным методом (наборами "Immulite" на автоматическом анализаторе ("Diagnostik Products Corporation", США); ультразвуковое исследование (УЗИ) ЩЖ проводили с помощью аппарата TOSBEESA-240A с линейным датчиком 7,5 Гц. - оценивали объем, структуру и эхогенность ткани щитовидной железы.

Показанием к радиойодтерапии являлись: отсутствие ремиссии после тиреостатической терапии более 2 лет (17 человек), рецидив после оперативного вмешательства (5 человек), предпочтение самим пациентом этого метода при впервые выявленном ДТЗ (3 человека). Критериями исключения из исследования были возраст моложе 18 лет, беременность и лактация, признаки тиреотоксической аденомы, других узловых образований (в том числе злокачественных), острые заболевания и обострение хронической соматической патологии. Абсолютным противопоказанием к проведению радиойодтерапии служили беременность и лактация, относительным - молодой возраст и планируемая беременность.

Перед назначением терапии I^{131} все больные получали тиреостатическую терапию тиамазолом, которую отменяли за 10-14 дней до госпитализации в эндокринологическое отделение. Лечение радиоак-

тивным йодом проводилось в радиоизотопной лаборатории Краевой больницы города Читы.

Терапия I^{131} подразумевала прием регос изотонического водного раствора натрия йодида ($Na I^{131}$). $Na I^{131}$ в изотоническом стерильном растворе производили в соответствии с ФС 42-001833979-02 в филиале ГНЦ РФ НИФХИ им. Л.Я. Карпова (Обнинск). Применяемая активность I^{131} - 320 (250; 470) МБк.

Для количественного определения провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухолей-альфа (ФНО- α), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-12 (ИЛ-12), интерферона-гамма (INF- γ)), противовоспалительных (интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерлейкина-13 (ИЛ-13)) и специфических иммунных реакций (интерлейкин-2 (ИЛ-2)) использовались наборы для твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) ООО "Протеиновый контур" г. Санкт-Петербург. Измерение уровня цитокинов проводили с помощью двойных антител и применением пероксидазы хрена. В качестве стандарта для сравнения в каждой реакции служили рекомбинантные ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, INF- γ , ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, ИЛ-2, входящие в состав набора.

Исследование проведено в соответствии с Конституцией РФ глава 2, ст.21; Хельсинкской декларацией; Конвенцией Совета Европы "О правах человека и биомедицине", одобрено на заседании Локального этического комитета при ГБОУ ВПО ЧГМА (протокол № 16 от 16.11.2010 г.). Получено добровольное согласие пациентов на участие в данном научном исследовании.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи электронных таблиц Excel 2010 для Windows и программы "Biostat". Результаты представлены как M (среднее значение) \pm SD (стандартное отклонение). Перед началом анализа вариационные ряды тестировались на нормальность. Распределение признака было асимметричным, поэтому использовались методы непараметрической статистики (метод Манна-Уитни). Для всех видов

анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение.

Как видно из данных, представленных в таблице, у пациентов с гиперфункцией щитовидной железы, был выявлен значительный дисбаланс содержания как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов.

Таблица

Некоторые показатели цитокинов в сыворотке крови у больных ДТЗ (M \pm SD)

Показатель	Контрольная	Больные с ДТЗ до терапии I^{131} (n=25)	Больные с ДТЗ после терапии I^{131} (n=25)
ИЛ-2, пкг/мл	2,5 \pm 1,0	4,0 \pm 1,2*	3,4 \pm 1,2*
ИЛ-4, пкг/мл	0,3 \pm 0,11	2,8 \pm 0,7*	1,7 \pm 0,3*#
ИЛ-6, пкг/мл	2,6 \pm 0,8	4,2 \pm 1,1*	5,6 \pm 1,1*#
ИЛ-8, пкг/мл	5,1 \pm 1,8	9,2 \pm 3,0*	7,1 \pm 3,3*#
ИЛ-10, пкг/мл	1,6 \pm 0,12	0,7 \pm 0,1*	2,5 \pm 0,4*#
ИЛ-12, пкг/мл	10,7 \pm 3,8	8,6 \pm 2,5	11,3 \pm 3,7 #
ИЛ-13, пкг/мл	2,2 \pm 0,8	1,4 \pm 0,3	2,2 \pm 0,5#
ФНО- α , пкг/мл	5,2 \pm 1,7	7,3 \pm 2,4*	5,6 \pm 1,6#
INF- γ , пкг/мл	3,4 \pm 1,2	5,7 \pm 1,9*	4,5 \pm 1,7*#

Примечание: * - статистическая значимость различий с контролем, # - статистическая значимость различий между группами больных ($p < 0,05$).

Так, у больных диффузным токсическим зобом до лечения I^{131} было выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов: ФНО- α на 40,4% ($p < 0,05$), ИЛ-6 на 61,5% ($p < 0,05$), INF- γ на 67,6% ($p < 0,05$), по сравнению с соответствующими показателями здоровых лиц, что не противоречит ранее проведенным исследованиям [1,8].

Наиболее значимо повышалось содержание хемокина (ИЛ-8) на 80,4% ($p < 0,05$), что является неблагоприятным прогностическим признаком активности аутоиммунного процесса [6].

Рядом исследователей установлено, что уровень ИЛ-2 при аутоиммунных заболеваниях повышен и при этом выявляется значи-

тельная экспрессия генов, как в инфильтрирующих щитовидную железу Т-лимфоцитах, так и макрофагах [1,4,8,11]. В нашем исследовании показатель иммуностимулирующего цитокина превышал аналогичный показатель контрольной группы на 60% ($p < 0,05$).

При изучении содержания противовоспалительных цитокинов было установлено, что уровень ИЛ-4 был в 9,33 раза ($p < 0,05$) выше по сравнению с группой здоровых лиц. В тоже время отмечено значительное уменьшение уровня интерлейкина-10 - более чем в 2 раза, а также интерлейкина-13 - на 63,6% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Интерлейкин-13 является важным медиатором противовоспалительного иммунного ответа [6]. По данным некоторых исследователей [4,8], его пониженная концентрация свидетельствует о подавленном противовоспалительном ответе при ДТЗ, что подтверждается данными нашего исследования.

Повторное исследование цитокинов проведено через 10 дней после терапии радиоактивным йодом. Установлена тенденция к нормализации всех изученных показателей. Так, концентрация противовоспалительного ИЛ-4 уменьшилась в 5,6 раз ($p < 0,05$) по сравнению с результатами до лечения, а содержание ИЛ-10, напротив, увеличилось на 56 % ($p < 0,05$). Повышение концентрации ИЛ-13 на 57,1% ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным показателем до лечения I^{131} можно рассматривать как положительный момент при применении радиоактивного йода, характеризующий восстановление физиологической регуляции иммунного ответа.

Значительно повышенный уровень ИЛ-2 до терапии радиоактивным йодом снижается на 24% ($p < 0,05$), и, вероятно, для его окончательной нормализации требуется более длительное время наблюдения.

При изучении изменений в содержании ряда провоспалительных цитокинов установлены разнонаправленные изменения: увеличение концентрации интерлейкина-6 на 33% ($p < 0,05$), интерлейкина-12 на 31% ($p < 0,05$), по сравнению с результатами до лечения, а уровень ФНО- α снизился и через 10 дней после терапии радиоактивным

йодом не отличался от показателей здоровых лиц. Выявлено влияние проведенной терапии и на содержание интерлейкина-8: его содержание снизилось на 23% ($p < 0,05$) по сравнению с показателем до лечения, но превышало на 28% ($p < 0,05$) показатели здоровых лиц. Отмечена тенденция к снижению уровня интерферона- γ , по сравнению с результатами до лечения, но показателя здоровых лиц не достигнуто.

В патогенезе диффузного токсического зоба большое значение принадлежит нарушениям в различных звеньях в иммунной системе. Роль различных цитокинов в развитии ДТЗ неоднозначна. Инфильтрация лимфоцитов, гиперпродуцирующих интерферон- γ и фактор некроза опухоли- α , что выявлено в нашем исследовании, стимулирует пролиферацию тироцитов [1,6,11]. Свой вклад в поддержание аутоиммунного процесса вносит и гиперпродукция интерлейкина-6 [6]. В ответ на высокое содержание провоспалительных цитокинов активируется продукция противовоспалительного интерлейкина-4. Содержание интерлейкина-13 у больных ДТЗ, по данным литературы [1], повышено и значительно изменяется под влиянием тиреостатической терапии, что было определено и в нашем исследовании.

Известно, что лечебное действие радиоактивного йода основано на разрушении β -частицами гиперплазированной тиреоидной ткани [9,10]. В щитовидной железе развивается некроз, который сопровождается индукцией воспалительного ответа, и транзитным увеличением продукции ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, и ФНО- α в первые сутки [9,11] и более длительным образованием INF- γ , с последующей тенденцией к нормализации процессов, вероятно, за счет замещения тиреоидной ткани фиброзом.

Таким образом, у больных диффузным токсическим зобом обнаружены значительные изменения в системе цитокинового ответа. Применение радиоактивного йода, как продемонстрировало наше исследование, оказало положительное влияние на цитокиновый баланс у данной категории пациентов. Использование источников ионизирующих излучений в медицине, проблемы экологии

аргументируют высокую актуальность исследований, направленных на уточнение патогенетических механизмов пострадиационных расстройств и разработку способов их профилактики и коррекции.

Выводы

1. У больных с ДТЗ выявляется значительный дисбаланс в системе провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.
2. При применении радиоактивного йода отмечается тенденция к снижению содержания провоспалительных цитокинов, с повышением концентрации противовоспалительных.
3. Лечение I^{131} способствует устранению тиреотоксикоза, но о восстановлении иммунитета у больных, вероятнее всего, можно будет судить только через 3-6 месяцев после проведенного лечения.

Работа выполнена в рамках исследования гранта МД-64495.2010.7

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И. Фундаментальная и клиническая тиреоидология: Учеб. пособие / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская. - М.: ОАО "Издательство "Медицина", 2007. - 816с.
2. Браверман Л.И. Болезни щитовидной железы /Л.И. Браверман. - М.: Медицина, 2000. - 217с. (43).
3. Валдина Е.А. Заболевания щитовидной железы /Е.А. Валдина. - СПб., 2001. - 397с.
4. Глазнова Т.В. Продукция некоторых цитокинов у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы / Т.В. Глазунова // Проблемы эндокринологии. - 2004. - Т.50 - № 3. - С. 29-32.
5. Дедов И.И. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы: состояние проблемы / И.И. Дедов // Проблемы эндокринологии. - 2002. - № 2. - С. 6-13.
6. Кетлинский С.А. Цитокины /С.А.Кетлинский, А.С. Симбирцев. -Спб: ООО "Издательство Фолиант", 2008. - 552с.
7. Кузник Б.И. Аутоиммунные механизмы регуляции системы гемостаза / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков // Сибирский онкологический журнал. - 2005. - № 1. - С. 88-95.
8. Лазанович В.В. Исследование про- и противовоспалительных цитокинов при диффузном токсическом зобе / В.В. Лазанович, Е.В. Маркелова // Цитокины и воспаление. - 2002. - Т. 1. - № 2. - С. 97 - 98.
9. Некоторые особенности иммунного ответа под влиянием различных доз ионизирующего облучения у животных и человека / Т.И. Коляда [и др.] // Annals of Mechnicov Institute. - 2007. - №3. - С. 17-22.
10. Радиойодтерапия тиреотоксикоза: руководство // А.Ф. Цыб и [др.]. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 160с.
11. Содержание фактора некроза опухоли- α и интерлейкина-1 в сыворотке крови пациентов при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы / Я.Б. Благоклонная [и др.] // Проблемы эндокринологии. - 1998. - № 4. - С. 22 - 24. (290).
12. Эффективность и безопасность радиойодтерапии болезни Грейвса // Г.В. Шестакова [и др.] // Проблемы эндокринологии. - 2007. - Т. 53 - № 3. - С. 24-27.
13. Эффективность лечения диффузного токсического зоба в зависимости от расчетной терапевтической активности радиоактивного йода // Древаль А.В. [и др.] // Проблемы эндокринологии. - 2007. - Т. 53. - №2. - С. 45 - 48.
14. Drugarin Doina. TH1 Cytokines in autoimmune thyroiditis / Drugarin Doina, S. Negru, A. Koreck // Rom. Arch. Microbiol. and Immunol. - 1998. - Vol. 57. - № 3 (4). - P. 309 - 319. (409)
15. Brent G.A. The molecular basis of thyroid hormone action / G.A. Brent // N. Engl. J. Med. - 1994. - Vol. 331 (13). - P. 847 - 854. (372)