

УДК 617.7-007.57:616.441-008.63

Серкин Д.М., Серебрякова О.В., Харинцева С.В., Харинцев В.В.

СИСТЕМА СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА ПРИ ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия

Обследовано 57 пациентов с эндокринной офтальмопатией и 18 практически здоровых лиц. Определялось содержание сывороточных белков теплового шока 70, 90 и антитела к белку теплового шока 70. Выявлена взаимосвязь между уровнем белка теплового шока 90 и стадией эндокринной офтальмопатии. Связь между исследуемыми показателями и активностью эндокринной офтальмопатии выявлена не была.

Ключевые слова: эндокринная офтальмопатия, белки теплового шока, антитела к белкам теплового шока.

*Serkin D.M., Serebryakova O.V., Charinceva S. V., Charincev V. V.
SYSTEM OF SERUM HEAT SHOCK PROTEIN IN THYROID EYE DISEASE
Chita state medical academy*

57 patients with thyroid eye disease and 18 healthy individuals have been examined. Specifies the content of serum heat shock protein 70, 90, and anti-heat shock protein 70. The interrelation between the level of heat shock protein 90 and the stage of endocrine ophthalmopathy. Relationship between the studied parameters and activity of endocrine ophthalmopathy was not found.

Key words: thyroid eye disease, heat shock protein, antibodies to heat shock protein.

Введение. Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) - самостоятельное заболевание, которое характеризуется прогрессирующим иммуномедиаторным воспалением в экстрапауклярных мышцах и ретробульбарной клетчатке [3]. Особенностью ЭОП является выраженная взаимосвязь аутоиммунного поражения тканей орбиты с аналогичными заболеваниями щитовидной железы, сопровождающимися нарушениями тиреоидного статуса [1, 3]. Аутоагgressия в ретробульбарном пространстве приводит как к утолщению глазодвигательных мышц с возможным нарушением их функции, так и к увеличению в объеме орбитальной клетчатки, что проявляется основными клиническими симптомами ЭОП: экзофталм, дипlopия, фиксация глазного яблока [1, 2, 7].

По одним источникам, заболеваемость ЭОП составляет 16 женщин и 2,9 мужчин на 100 000 населения, по другим - достигает 0,8-1,2% в популяции [1, 3, 9]. Ежегодное выявление тиреотоксикоза среди всей популяции населения в мире достигает 2%, ЭОП раз-

вивается у 40-60% из них [1,3]. По мнению B.M.Calissendorff, офтальмопатия клинически проявляется только у 25-50% больных тиреотоксикозом. Глазные симптомы могут появляться как до клинического проявления тиреотоксикоза, так и сопутствовать ему или возникать спустя многие годы [3].

ЭОП, как и аутоиммунные заболевания щитовидной железы, не имеет различий у людей разных национальностей, частота заболеваемости не зависит от сезона [3]. В последнее время отмечается увеличение частоты развития ЭОП, что связывают с увеличением распространенности среди населения патологии щитовидной железы [3,9].

По данным литературы, нарушение функции щитовидной железы при ЭОП наблюдается в 81-99% случаев, чаще всего отмечают связь тиреотоксикоза с ЭОП 73-95%, гипотиреоз отмечают в 5-8% [1, 3, 8, 9].

С 70-80-х годов прошлого века сформулирована гипотеза об аутоиммунной природе ЭОП, что подтверждается гистопатологическими изменениями пораженной

щитовидной железы и тканей орбиты [1]. В процессе иммунного ответа цитокины индуцируют экспрессию комплекса гистосовместимости II класса и белков теплового шока (БТШ), которым отводится важная роль в распознавании антигенов и внутриклеточной адгезии молекул и пополнении Т-клеток [12, 13].

В норме БТШ содержатся преимущественно внутри клетки, благодаря чему к ним не развивается иммунологическая толерантность. Именно это свойство является причиной участия БТШ в патогенезе аутоиммунных заболеваний [5, 6]. Любое, в том числе аутоиммунное, повреждение тканей приводит к выбросу БТШ во внеклеточное пространство и, в итоге, к образованию анти-БТШ-антител (АТ к БТШ) [10, 15]. Одновременно поступившие в тканевую жидкость и экспрессированные на поверхности клеток БТШ стимулируют макрофаги и дендритные клетки, в результате чего усиливается синтез провоспалительных цитокинов, а также адгезивных и костимуляторных молекул на их мембране [5]. БТШ образует комплекс с антигенами с участием белков главного комплекса гистосовместимости, которые затем поглощаются и далее представляются антигенпрезентирующим клеткам, при этом часто активируются обе ветви иммунной системы - клеточная и гуморальная [4, 5]. На фибробластах тканей орбиты и в глазодвигательных мышцах при ЭОП выявляется экспрессия БТШ70 [14].

Но до настоящего времени ясного понимания патогенеза ЭОП пока нет, также остается до конца не выясненной роль БТШ и АТ к БТШ в механизме развития ЭОП.

Целью исследования явилось изучение сывороточных БТШ и антител к ним при ЭОП.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 57 пациентов с ЭОП в возрасте от 15 до 58 лет, с длительностью заболевания от 1 до 3 лет. Диагноз ЭОП верифицировали клинически и подтверждали при компьютерной томографии орбит утолщением глазодвигательных мышц, изменением их плотности, изменением плотности ретробульбарной клетчатки. В иссле-

довании не включались пациенты с травмами орбиты в анамнезе, с объемными образованиями орбиты. Согласно клинической картине пациенты распределялись на группы по классификации А.Ф.Бровкиной (тиреотоксический экзофтальм, отечная форма ЭОП, эндокринная миопатия) и по шкале CAS (активная и неактивная фаза) [1, 3, 11]. Контрольная группа представлена 18 практически здоровыми лицами сопоставимыми по полу и возрасту.

Определяли содержание в сыворотке крови белков теплового шока 70 (БТШ70), белков теплового шока 90 (БТШ90), антител к белку теплового шока 70 (АТ к БТШ70) с помощью наборов для иммуноферментного анализа "BCM Diagnostics" США.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась в программе Statistica 6,1. Перед началом анализа вариационные ряды тестировались на нормальность, при помощи критериев Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка, Д'Агостино. Вследствие ненормального распределения данные представлены в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей [25; 75]. Для сравнения двух независимых выборок использовался критерий Манна-Уитни, при числе выборок более двух - применялся критерий Крускала-Уоллиса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Содержание БТШ90, БТШ70 и АТ к БТШ70 в сыворотке здоровых людей составило 45,5 нг/мл, 0,386 нг/мл и 703,85 нг/мл. У пациентов с ЭОП отмечалось снижение БТШ90 на 43,1% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Изменение концентрации БТШ70 и АТ к БТШ70 в сравнении с группой здоровых лиц не было обнаружено ($p > 0,05$) (таблица 1).

Для более детального изучения изменений системы БТШ при ЭОП, пациенты из обследуемой группы были разделены на подгруппы согласно классификации А.Ф. Бровкиной: тиреотоксический экзофтальм, отечная форма ЭОП и эндокринная миопатия [1, 3]. Различия между данными клиническими формами ЭОП и группой сравнения были подтверждены только для БТШ90

($p<0,001$) и были меньше контрольных показателей для тиреотоксического экзофтальма на 22,7% ($p=0,05$), для отечной формы ЭОП на 38,8% ($p=0,002$) и для эндокринной миопатии на 57,5% ($p<0,001$) (таблица 2).

Таблица 1

Показатели БТШ70, БТШ90, АТ к БТШ70 в сыворотке крови у пациентов с ЭОП и в контроле. Ме [25;75].

	БТШ 90 (нг/мл)	БТШ 70 (нг/мл)	АТ БТШ 70 (нг/мл)
Контроль (n=18)	45,50 [33,30; 54,15]	0,39 [0,30; 0,86]	703,85 [540,4; 1416]
ЭОП (n=57)	25,88 [19,15; 41,4]	0,59 [0,18; 1,08]	781,70 [620,1; 1203,0]
Критерий Манна- Уитни (U), Р	234; $p<0,001$	522,5; $p=0,52$	466; $p=0,19$

Примечание. n - число обследованных лиц, р - по сравнению с контролем.

Таблица 2

Показатели БТШ70, БТШ90, АТ к БТШ70 в сыворотке крови у пациентов с различными формами ЭОП и в контроле. Ме [25;75].

	БТШ 90 (нг/мл)	БТШ 70 (нг/мл)	АТ БТШ 70 (нг/мл)
Контроль (n=18)	45,50 [33,30; 54,15]	0,39 [0,296; 0,86]	703,85 [540,4; 1416]
Тиреотоксиче- ский экзофтальм (n=17) $p_1=0,05$	35,15 [22,83; 53,48]	0,54 [0,16; 1,06]	1072,00 [695,6 ; 1309,00]
Отечная форма (n=28) $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	27,83 [17,80; 41,36]	0,704 [0,264; 1,44]	771,90 [626,15; 1125,5]
Эндокринная миопатия (n=12) $p_1<0,001$ $p_2=0,046$ $p_3>0,05$	19,33 [17,46; 29,78]	0,22 [0,18; 0,68]	584,60 [492,70; 859,55]
Критерий Краскела- Уоллиса (H); Р	17,06; $p<0,001$	3,95; $p>0,05$	4,73; $p>0,05$

Примечание. n - число обследованных лиц, р - между группами, p_1 - по сравнению с контролем, p_2 - по сравнению с тиреотоксическим экзофтальмом, p_3 - по сравнению с отечной формой ЭОП.

Содержание БТШ90 при отечной форме ЭОП и эндокринной миопатии были меньше значений характерных для тиреотоксического экзофтальма на 20,8% ($p>0,05$) и 45% ($p=0,046$). Отличие уровней БТШ90 при эндокринной миопатии и отечном экзофтальме не было достоверным ($p>0,05$) (таблица 2).

Содержание БТШ70 и АТ к БТШ70 при тиреотоксической экзофтальме, отечной форме и эндокринной миопатии не отличались от соответствующих показателей здоровых лиц ($p>0,05$) (таблица 2).

При исследовании влияния активности ЭОП на содержание сывороточных белков теплового шока и антител к ним из изучаемой группы был исключен 1 пациент в связи с различной фазой активности заболевания на обоих глазах. По сравнению с показателями БТШ90 в контроле, при неактивной и активной фазе заболевания отмечалось его снижение на 43,7% ($p=0,001$) и 46% ($p<0,001$) соответственно. Различия в содержании БТШ90 в зависимости от активности заболевания найдено не было ($p>0,05$), так же и различий в содержании БТШ70 ($p>0,05$) и АТ к БТШ70 ($p>0,05$) (таблица 3).

Таблица 3

Показатели БТШ70, БТШ90, АТ к БТШ70 в сыворотке крови у пациентов с различными фазами активности ЭОП и в контроле. Ме [25;75].

	БТШ 90 (нг/мл)	БТШ 70 (нг/мл)	АТ БТШ 70 (нг/мл)
Контроль (n=18)	45,50 [33,30; 54,15]	0,39 [0,30; 0,86]	703,85 [540,4 ; 1416,00]
Неактивная ЭОП (n=26) $p_1=0,001$	25,575 [20,30; 41,63]	0,59 [0,20; 1,36]	833,85 [629,20; 1241,00]
Активная ЭОП (n=30) $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	24,56 [16,85; 40,73]	0,32 [0,17; 0,87]	733,40 [556,60; 1203,00]
Краскела- Уоллиса (H); Р	17,82; $p<0,001$	0,61; $p>0,05$	1,64; $p>0,05$

Примечание: n - число обследованных лиц, р - между группами, p_1 - по сравнению с контролем, p_2 - по сравнению с неактивной фазой ЭОП.

Отсутствие изменений БТШ70 при ЭОП, независимо от формы и активности

заболевания, по нашему мнению, обусловлено преимущественно внутриклеточной ролью данного шаперона и отсутствием деструкции структур орбиты, в том числе аутоиммунного генеза, при ЭОП. Имеющиеся в литературе данные о повышении экспрессии BTSH70 при ЭОП в структурах орбиты, свидетельствуют по нашему мнению, лишь об активации антигенной презентации, но не об активации деструктивных процессов, что вполне согласуется с нашими данными [14]. Это предположение подтверждается отсутствием статистически значимых изменений уровня АТ к BTSH70, независимо от активности и формы патологического процесса. С учетом обнаруженного большого разброса содержания BTSH70 и АТ к BTSH70 во всех изучаемых группах, можно предположить минимальное влияние ЭОП на их содержание в крови. Напротив, при изучении BTSH90, нами обнаружена его четкая связь с формой ЭОП, при отсутствии связи с активностью заболевания; это позволяет предположить, что снижение его уровня обусловлено потреблением в аутоиммунном процессе на антиген-презентацию, уменьшение его синтеза глазодвигательными мышцами из-за анатомо-топографических изменений структур орбиты в исходе аутоиммунного процесса. Эти гипотезы подтверждаются прогрессивным снижением уровня сывороточного BTSH90 от тиреотоксического экзофтальма, через отечную форму ЭОП к эндокринной миопатии.

Выводы.

1. При ЭОП сывороточные BTSH70, BTSH90, АТ к BTSH90 не отражают активность патологического процесса.
2. Уровень сывороточного BTSH90 прогрессивно снижается при прогрессировании ЭОП в стадию миопатии.
3. Показатели сывороточных BTSH70 и АТ к BTSH70 не отражают структурные изменения в орбите при ЭОП.

Работа выполнена в рамках грантов МД-64495.2010.7 и МД-4448.2013.7.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Бровкина А.Ф. Болезни орбиты: Руководство для врачей / А.Ф. Бровкина - 2-е изд. - М.:ООО "Медицинское информационное агентство", 2008.- 256 с.
2. Бровкина А.Ф. Изменения экстраокулярных мышц и ретробульбарной клетчатки у больных отечным экзофтальмом в свете компьютерной томографии / А.Ф. Бровкина, Г.Г. Кармазановский, О.Ю. Яценко // Медицинская визуализация.- 2007.- №6.-С. 32-36.
3. Бровкина А.Ф. Эндокринная офтальмопатия / А.Ф. Бровкина - М.:ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 184 с.
4. Евдонин А.Л. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции / А.Л. Евдонин, Н.Д.Медведева // Цитология. - 2009. - Т.51, №2. - С.130-137.
5. Кузник Б.И. Белки теплового шока, ДВС-синдром и тромбоз / Б.И.Кузник, Н.Н. Цыбиков // Проблемы клинической медицины. - 2009. - №1. - С.110-118.
6. Маргулис Б.А. Белки стресса / Б.А. Маргулис, И.В. Гущина // Цитология. - 2000. - №4. - С.323-342.
7. Рентгенологическая характеристика эндокринной офтальмопатии в условиях Забайкалья/ Д.М. Серкин [и др.]// Кубанский научный медицинский вестник. - 2011. - №1. - С. 145-148.
8. Серкин Д.М. Клиническая характеристика эндокринной офтальмопатии в Забайкалье/ Д.М. Серкин, О.В. Серебрякова, В.И. Просяник // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. - 2011. - Т.9, вып. 1. - С. 168-171.
9. Эндокринология: национальное руководство / Под ред. Дедова И.И., Мельниченко Г.А. М.:ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 1072 с.
10. Autoantibodies to constitutive 73 kD member of the hsp70 family of heat shock proteins in systemic lupus erythematosus / S. Minota [et al.] // J. Exp. Med. - 1988. - Vol.168. - №4. - P.1475-1480.
11. Consensus statement of the European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) on management of GO / Bartalena L. [et al.] //

- Eur J Endocrinol.- 2008.- Vol.158, №3.- P.273-285.
12. Heufelder A.E. Endocrine Orbitopathie, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie / A.E. Heufelder, L.C. Hofbauer, H.D. Schworm // Die Medizinische Welt. - 1997. - Bd. 48. - S.230-238.
13. Heufelder A.E. Thyroid-associated eye disease /A.E. Heufelder, W. Joba // Strabismus. - 2000. - Vol.8. - №2. - P. 101-111.
14. Human histocompatibility leukocyte antigen- DR and heat shock protein-70 expression in eye muscle tissue in thyroid-associated ophthalmopathy / Y. Hiromatsu [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 1995. - Vol.80. - №2. - P.:685-691.
15. Incidence of anti Hsp 90 and 70 antibodies in children with SLE, juvenile dermatomyositis and juvenile chronic arthritis / S.E. Conroy [et al.]// Clin. Exp. Rheumatol. - 1996. - Vol.14. - №1. - P.99-104.