

УДК 616.441-008.61

Серкин Д.М., Серкина М.В., Серебрякова О.В.,  
Гринь Н.О., Просяник В.И., Серкин М.А.**УРОВЕНЬ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА 70, 90 И АНТИТЕЛ  
К БЕЛКУ ТЕПЛООВОГО ШОКА 70 ПРИ СИНДРОМЕ ТИРЕОТОКСИКОЗА****Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Читинская государственная медицинская академия»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Цель исследования:** изучение системы белков теплового шока и антител к ним при синдроме неосложненного тиреотоксикоза. Объектом исследования явились лица с синдромом неосложненного тиреотоксикоза, предметом исследования – сыворотка крови.

**Материалы и методы.** Было обследовано 23 пациента с первичным тиреотоксикозом в возрасте от 18 до 58 лет, с длительностью тиреотоксикоза не менее 6 месяцев. Контрольная группа сопоставима по полу и возрасту и представлена 18 здоровыми людьми. Синдром тиреотоксикоза и его форма определялась на основании общепринятых классификаций. Всем лицам, включенным в исследование определяли концентрации белка теплового шока 70 (БТШ 70), белка теплового шока 90 (БТШ 90), антител к белку теплового шока 70 (АТ БТШ 70), тиреотропный гормон (ТТГ) и свободный тироксин (Т4св) методом иммуноферментного анализа. Статистическая обработка проводилась с применением методов непараметрической статистики.

**Результаты.** Содержание БТШ 70, БТШ 90 и АТ БТШ 70 в сыворотке здоровых лиц в состоянии эутиреоза составили 0,338 нг/мл, 36,625 нг/мл и 552,65 нг/мл, соответственно. У обследуемых лиц при наличии синдрома тиреотоксикоза концентрации БТШ 90 в исследуемой когорте возрастала в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с лицами в эутиреоидном состоянии. Сывороточная концентрация БТШ 70 при субклиническом тиреотоксикозе была выше по сравнению с группой манифестного тиреотоксикоза в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация БТШ 90 была выше при более тяжелой форме тиреотоксикоза, при субклинической форме превышала в 2,23 ( $p < 0,05$ ), а при манифестной формах превышала в 2,94 ( $p < 0,05$ ) контрольные значения. Зафиксирована обратная слабая связь концентраций ТТГ с уровнем БТШ 90 ( $r = -0,236$ ,  $p < 0,05$ ), положительная связь умеренной силы показателей Т4св и БТШ 90 ( $r = 0,476$ ,  $p < 0,05$ ).

**Заключение.** У пациентов в состоянии тиреотоксикоза наблюдается в 2,5 раза более высокие уровни БТШ 90 по сравнению с эутиреоидными лицами. Значения БТШ 70 и антител к нему не зависят от наличия синдрома тиреотоксикоза. Концентрация БТШ 90 увеличивается при нарастании степени тяжести тиреотоксикоза, обнаружена слабая обратная связь данного шаперона с уровнем ТТГ и умеренная прямая связь с показателем свободного тироксина.

**Ключевые слова:** тиреотоксикоз, гипертиреоз, белки теплового шока

**Serkin D.M., Serkina M.V., Serebryakova O.V., Grin' N.O., Prosyaniuk V.I., Serkin M.A.****THE LEVEL OF HEAT SHOCK PROTEIN 70, 90 AND ANTIBODIES TO HEAT SHOCK PROTEIN  
70 IN THYROTOXICOSIS SYNDROME****Chita state medical academy**

**The aim of the research.** Purpose of the study. The study of the system of heat shock proteins and antibodies to them in the syndrome of uncomplicated thyrotoxicosis. The object of the study was persons with the syndrome of uncomplicated thyrotoxicosis, the subject of the study was blood serum.

**Materials and methods.** A total of 23 patients with primary thyrotoxicosis between the ages of 18 and 58 years, with a duration of thyrotoxicosis of at least 6 months, were examined. The control group is comparable in sex and age and is represented by 18 healthy people. Thyrotoxicosis syndrome and its form was determined on the basis of generally accepted classifications. All individuals included in the study determined the concentrations of heat shock protein 70 (HSP 70), heat shock protein 90 (HSP 90), antibodies to heat shock protein 70 (Ab HSP 70), thyroid stimulating hormone (TSH) and free thyroxin (T4f) by enzyme immunoassay. Statistical processing was carried out using non-parametric statistics.

**Results.** The content of HSP 70, HSP 90 and Ab HSP 70 in the serum of healthy individuals in a state of euthyroidism was 0.338 ng / ml, 36.625 ng / ml and 552.65 ng / ml, respectively. In the examined individuals, in the presence of thyroidism syndrome, HSP concentration 90 in the studied cohort increased 2.5 times ( $p$

$<0.05$ ) as compared with persons in the euthyroid state. The serum concentration of HSP 70 in subclinical thyrotoxicosis was 2.3 times higher than in the group of manifest thyrotoxicosis ( $p < 0.05$ ). The concentration of HSP 90 was higher with a more severe form of thyrotoxicosis, with a subclinical form exceeding 2.23 ( $p < 0.05$ ), and with manifest forms exceeding 2.94 ( $p < 0.05$ ) control values. An inverse weak correlation between the concentrations of TSH and the level of HSP 90 ( $r = -0.236$ ,  $p < 0.05$ ), and a positive connection of moderate strength of T4f and HSP 90 ( $r = 0.476$ ,  $p < 0.05$ ).

**Conclusion.** In patients with thyrotoxicosis, there are 2.5 times higher levels of HSP 90 compared with euthyroid individuals. The values of HSP 70 and its antibodies do not depend on the presence of thyrotoxicosis syndrome. The concentration of HSP 90 increases with increasing severity of thyrotoxicosis, a weak feedback of this chaperone with the level of TSH and a moderate direct relationship with the index of T4f were found.

**Key words:** thyrotoxicosis, hyperthyroidism, heat shock proteins

В настоящее время прослеживается явная тенденция к росту распространенности заболеваний щитовидной железы, которые занимают одну из лидирующих позиций в структуре эндокринной патологии [1]. Считается, что до 5-14% населения в течение жизни сталкиваются с проблемами дисфункции щитовидной железы, а страдают тиреотоксикозом до 1-2% популяции [1, 2].

Известно, что как гипотиреоз, так и тиреотоксикоз приводят к поражению различных органов и систем. Описаны поражения сердечно-сосудистой системы с развитием кардиопатии, костных структур с развитием остеопороза, печени с формированием гепатозов и гепатитов, дислипидемии, проонкогенных эффектов [2-5]. У пациентов с тиреотоксикозом отмечается высокая частота (до 45-90%) измененных лабораторных показателей, отражающих функцию печени, при этом клинически значимыми являются лишь единичные случаи тиреотоксического гепатита [4]. У больных дисфункциями щитовидной железы поражение сердечно-сосудистой системы проявляется ремоделированием миокарда, различными нарушениями ритма, возникновением легочной гипертензии [2, 4].

В норме белки теплового шока (БТШ) содержатся преимущественно внутри клеток, за счёт чего к ним не формируется иммунологическая толерантность [6, 7]. Это является причиной возможности участия БТШ в аутоиммунных процессах и иммунной регуляции. Любое повреждение тканей приводит к выбросу БТШ во внеклеточное пространство, и в итоге - к образованию к ним антител (АТ БТШ) [6-8]. Иммунная регуляция БТШ осуществляется путём стимуляции макрофагов и дендритных клеток, что в дальнейшем патофизиологическом каскаде приводит к усилению синтеза провоспалительных цитокинов, адгезивных молекул, а также костимулирующих факторов на мембране клеток. БТШ образуют комплекс с антигенами и белками главного комплекса гистосовместимости; данный комплекс в дальнейшем поглощается и затем представляется антигенпрезентирующими клетками. Описанный процесс приводит к активации как клеточной, так и гуморальной ветвей иммунной системы [6, 7]. У больных эндокринной офтальмопатией, часто ассоциированной с синдромом тиреотоксикоза, обнаружено участие системы БТШ в развитии заболевания [1, 9, 10].

**Целью работы** явилось изучение ряда БТШ, антител к ним при синдроме неосложненного тиреотоксикоза.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 23 пациента с первичным тиреотоксикозом в возрасте от 18 до 58 лет, с длительностью состояния от 6 мес до 3 лет.

#### **Критерии включения в исследование:**

- Наличие синдрома первичного тиреотоксикоза в течение не менее 6 месяцев.

#### **Критерии исключения:**

- Осложненная форма тиреотоксикоза.
- Центральные (гипофизарные/гипоталамические) формы тиреотоксикоза.
- Длительность тиреотоксикоза менее 6 мес.
- Обострение хронических или наличие острых заболеваний на момент включения в исследование.
- Травмы, в т.ч. термическая, в течение 3 мес. до включения в исследование.
- Беременность и лактация.

- Наличие онкологических заболеваний.
- Возраст до 18 лет.

Синдром первичного тиреотоксикоза и его форма устанавливались на основании общепринятых критериев: стойкая супрессия тиреотропного гормона (ТТГ), изолированная для субклинического тиреотоксикоза, для манифестного тиреотоксикоза – в сочетании с одно-временным нарастанием концентрации свободного тироксина (Т4св) [11]. Выявление осложненной формы тиреотоксикоза осуществляли на основании наличия типичных осложнений тяжелого тиреотоксикоза: тиреотоксической кардиомиопатии, тиреотоксического криза, тиреотоксического гепатита [11]. Контрольная группа представлена 18 практически здоровыми лицами, сопоставимыми по полу и возрасту, в эутиреоидном состоянии.

Определение белка теплового шока 70 (БТШ 70), белка теплового шока 90 (БТШ 90), антител к белку теплового шока 70 (АТ БТШ 70) в сыворотке крови выполнялось в лаборатории НИИ Молекулярной медицины ФГБОУ ВО ЧГМА с помощью наборов для иммуноферментного анализа «ВСМ Diagnostics» США. Определение концентраций тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (Т4св) осуществлялось на аппарате Access.

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, нижнего и верхнего квартилей [25; 75]. Для сравнения выборок использовался критерий Крускала-Уоллиса, попарное сравнение осуществляли методом Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводился с помощью критерия Спирмена. Отличия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», протокол № 74 от 06.11.2015 г., у всех лиц, включенных в исследование, было получено добровольное информированное согласие.

**Результаты и их обсуждение.** Содержание БТШ 70, БТШ 90 и АТ БТШ 70 в сыворотке здоровых лиц в состоянии эутиреоза составили 0,338 нг/мл, 36,625 нг/мл и 552,65 нг/мл, соответственно. У обследуемых лиц в состоянии тиреотоксикоза были обнаружены тенденции к более низким сывороточным концентрациям БТШ 70 и АТ БТШ 70 на 20,7% ( $p > 0,05$ ) и 15,1% ( $p > 0,05$ ) соответственно, чем у здоровых, при этом медиана концентрации БТШ 90 в исследуемой когорте возрастала на 156% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с лицами в эутиреоидном состоянии (таблица 1).

Таблица 1

Сывороточные концентрации БТШ и антител к ним в зависимости от функции щитовидной железы. Ме [25; 75]

	БТШ 70, нг/мл	БТШ 90, нг/мл	АТ БТШ 70, нг/мл
Эутиреоз (n=18)	0,338 [0,108;0,728]	36,625 [26,05; 102,3]	552,65 [207,6; 873,9]
Тиреотоксикоз (n=23)	0,268 [0,172; 1,3]	93,815 [35,575; 200,45]*	469,25 [247,8; 772,7]

Примечание: n - число наблюдений, \* - статистическая значимость различий  $p < 0,05$  между группами.

Нами проанализированы изменения в системе БТШ в зависимости от формы синдрома тиреотоксикоза (субклинический или манифестный) [11]. Пациенты с осложнённой формой синдрома тиреотоксикоза на этапе планирования не включались в исследования, т.к. в данной когорте изначально подразумевалось наличие выраженного тканевого и клеточного повреждения. Сывороточная концентрация БТШ 70 при субклиническом тиреотоксикозе демонстрировала тенденцию к превышению его уровня у эутиреоидных лиц на 86,9% ( $p > 0,05$ ), и была выше по сравнению с группой манифестного тиреотоксикоза на 135,8% ( $p < 0,05$ ). У лиц с манифестным тиреотоксикозом отличий концентраций БТШ 70 по сравнению с контролем обнаружено не было ( $p > 0,05$ ) (таблица 2).

Уровень БТШ 90 увеличивался по мере нарастания степени тяжести тиреотоксикоза, при субклинической и манифестной формах превышал контрольные значения в 2,23 ( $p < 0,05$ ) и 2,94 ( $p < 0,05$ ) раз соответственно, но отличия между подгруппами с субклиническим и манифестным тиреотоксикозом обнаружены не были ( $p > 0,05$ ) (таблица 2).

Выявлены тенденции к более низким концентрациям АТ БТШ 70 при субклиническом (на 12%,  $p > 0,05$ ) и манифестом гипертиреозе (на 15,1%,  $p > 0,05$ ) по сравнению с когортой эутиреоидных пациентов (таблица 2).

Таблица 2

Сывороточные концентрации БТШ и антител к ним в зависимости от степени выраженности тиреотоксикоза. Ме [25; 75]

	БТШ 70, нг/мл	БТШ 90, нг/мл	АТ БТШ 70, нг/мл
Субклинический тиреотоксикоз (n=12)	0,632 [0,174; 1,592] \$	81,6125 [53,425; 202,55]*#	486,25 [174,15; 871,6]
Манифестный тиреотоксикоз (n=11)	0,268 [0,164; 0,66] \$	107,8 [35,575; 200,45]*#	469,25 [247,8; 737,9]
Эутиреоз (n=18)	0,338 [0,108; 0,728]	36,625 [26,05; 102,3]*	552,65 [207,6; 873,9]

*Примечание:* n - число наблюдений, \* - статистическая значимость различий  $p < 0,05$  между всеми группами, # - статистическая значимость различий  $p < 0,05$  по сравнению с эутиреоидными пациентами, \$ - статистическая значимость различий  $p < 0,05$  между манифестной и субклинической формой тиреотоксикоза.

Дополнительно для оценки связи функции щитовидной железы (ТТГ, Т4св) с показателями системы БТШ был проведен корреляционный анализ, в который были включены все пациенты, вошедшие в исследование (в состоянии тиреотоксикоза и эутиреоза). Обнаружена обратная слабая связь концентраций ТТГ с уровнем БТШ 90, положительная связь умеренной силы показателей Т4св и БТШ 90 (таблица 3). Отсутствие зависимости БТШ 70 и АТ БТШ 70 от функции щитовидной железы вероятно обусловлено относительно высокой вариабельностью указанных показателей. Другое возможное объяснение отмеченного феномена заключается в отсутствии включения в данное исследование пациентов с осложнённой формой тиреотоксикоза, которое сопровождается значимым повреждением тканей и, ожидается, будет приводить к более высоким сывороточным уровням данных агентов.

Таблица 3

Корреляция сывороточных концентраций БТШ 70, БТШ 90 и АТ БТШ 70 с показателями функции щитовидной железы

	БТШ 70	БТШ 90	АТ БТШ 70
ТТГ	0,0886; $p > 0,05$	-0,236; $p < 0,05$	0,0759; $p > 0,05$
Т4св	0,0886; $p > 0,05$	0,476; $p < 0,05$	0,0759; $p > 0,05$

*Примечание:* p – уровень статистической значимости.

Изменения в системе белков теплового шока, подобные обнаруженным в нашей работе, описаны при эндокринной офтальмопатии, когда уровень БТШ 90 был ассоциирован как с развитием данного заболевания, так и отличался при различных его формах [9, 10]. При этом содержание БТШ 70 и АТ БТШ 70 при различных формах офтальмопатии Грейвса не отличались от показателей контрольной группы [9,10]. Указанные тенденции для БТШ 70 и антител к ним не достигали рубежа статистической значимости ( $p > 0,05$ ), вероятно, из-за относительно высокой вариабельности показателей, а также преимущественно внутриклеточной функцией БТШ 70 [9]. Другое возможное объяснение отсутствия нарастания БТШ 70 заключается в том, что при неосложненных формах тиреотоксикоза значимого клеточного повреждения не наблюдается, в пользу данной гипотезы свидетельствует «стабильный» уро-

вень АТ БТШ 70. При «явном» клеточном повреждении концентрации АТ БТШ 70 значительно возрастают [6, 7, 9]. Концентрация БТШ 90 в данном нашем исследовании может увеличиваться за счет стимуляции белок-синтетической функции.

#### Выводы:

1. У пациентов в состоянии тиреотоксикоза наблюдается в 2,5 раза более высокие уровни БТШ 90 по сравнению с эутиреоидными лицами.
2. Значения БТШ 70 и антител к нему не зависят от наличия синдрома тиреотоксикоза.
3. Концентрация БТШ 90 увеличивается при нарастании степени тяжести тиреотоксикоза, обнаружена слабая обратная связь данного шаперона с уровнем ТТГ и умеренная прямая связь с показателем свободного тироксина.

#### Литература:

1. Эндокринология: национальное руководство. под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012.
2. Глушаков Р.И., Козырко Е.В., Соболев И.В., Ермолова С.А., Власьева О.В., Кузин А.А., Тапильская Н.И. Заболевания щитовидной железы и риск возникновения нетиреоидной патологии. Казанский медицинский журнал. 2017. 98(1). 77-84.
3. Серебрякова О.В. Патогенетические механизмы формирования кардиомиопатии при тиреотоксикозе и гипотиреозе [диссертация ... док. мед. наук]. Чита: ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», 2008.
4. Пикулев Д.В., Клеменов А.В. Тиреотоксический гепатит. Проблемы эндокринологии. 2017. 63(1). 46-50.
5. Серкин Д.М., Серкина М.В., Серебрякова О.В., Гринь Н.О. Роль инсулинорезистентности в формировании дислипидемий у пациентов с дисфункциями щитовидной железы. Забайкальский медицинский вестник. 2017. 1. 1-10.
6. Маргулис Б.А., Гущина И.В. Белки стресса. Цитология. 2000. 4. 323-342.
7. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н. Белки теплового шока, ДВС-синдром и тромбоз. Проблемы клинической медицины. 2009. 1. 110-118.
8. Жилина А.А. Клинические и патогенетические особенности различных форм неалкогольной жировой болезни печени [диссертация ... канд. мед. наук]. Чита: Читинская государственная медицинская академия, 2012.
9. Серкин Д.М. Роль белков теплового шока и антител к ним, полиморфизма PPAR $\gamma$  рецептора в патогенезе эндокринной офтальмопатии [диссертация ... канд. мед. наук]. Чита: Читинская государственная медицинская академия, 2013.
10. Серкин Д.М., Серебрякова О.В., Харинцева С.В., Харинцев В.В. Система сывороточных белков теплового шока при эндокринной офтальмопатии. Забайкальский медицинский вестник. 2013. 1. 57-61.
11. Серебрякова О.В., Маякова Е.И., Романова Е.Н., Просяник В.И., Серкин Д.М., Малов В.И., Горбунов В.В., Аксенова Т.А., Лукьянов С.А., Царенок С.Ю., Муха Н.В., Алексенко Е.Ю., Морозова Е.И., Сороко Т.С. Классификация заболеваний внутренних органов: учебно-справочное пособие. Чита: РИЦ ГБОУ ВПО ЧГМА. 2015.

#### References

1. Dedov I.I., Mel'nichenko G.A., editors. Endocrinology: national guidelines. Moscow: GEOTAR-Media. 2012. in Russian.
2. Glushakov R.I., Kozyrko E.V., Sobolev I.V., Ermolova S.A., Vlaseva O.V., Kuzin A.A., Tapil'skaya N.I. Thyroid diseases and risk of non-thyroidal pathology Kazanskij meditsinskij zhurnal. 2017. 98(1). 77-84. in Russian.
3. Serebryakova O.V. Pathogenetic mechanisms of cardiomyopathy formation in thyrotoxicosis and hypothyroidism [dissertation] Chita: Chita state medical academy. 2008. in Russian.
4. Pikulev D.V., Klemenov A.V. Thyrotoxic hepatitis Problems of Endocrinology. 2017. 63(1). 46-50. in Russian.

5. Serkin D.M., Serkina M.V., Serebryakova O.V., Grin N.O. Role of insulin resistance in the formation of dyslipidemia in patients with thyroid dysfunction. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2017. 1. 1-10. in Russian.
6. Margulis B.A., Gushhina I.V. Stress proteins. *TSitologiya*. 2000. 4. 323-342. in Russian.
7. Kuznik B.I., Tsybikov N.N. Heat shock proteins, DIC and thrombosis. *Problemy klinicheskoy meditsiny*. 2009. 1. 110-117. in Russian.
8. ZHilina A.A. Clinical and pathogenetic features of various forms of non-alcoholic fatty liver disease [dissertation] Chita: Chita state medical academy. 2012. in Russian.
9. Serkin D.M. The role of heat shock proteins and antibodies to them, the PPAR $\gamma$  receptor polymorphism in the pathogenesis of endocrine ophthalmopathy [dissertation] Chita: Chita state medical academy. 2013. in Russian.
10. Serkin D.M., Serebryakova O.V., Charinceva S.V., Charincev V.V. System of serum heat shock protein in thyroid eye disease. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2013. 1. 57-61. in Russian.
11. Serebryakova O.V., Mayakova E.I., Romanova E.N., Prosyaniuk V.I., Serkin D.M., Malov V.I., Gorbunov V.V., Aksenova T.A., Luk'yanov S.A., TSarenok S.YU., Mukha N.V., Aleksenko E.YU., Morozova E.I., Soroko T.S. Classification of diseases of internal organs: a training manual. Chita: CHGMA. 2015. in Russian.