

ТУМОРНЕКРОТИЗИРУЮЩИЙ ФАКТОР-АЛЬФА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЕГО СВЯЗЬ С ВОЗРАСТНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ ГРЕЙВСА

Благосклонная Я.В., Бабенко А.Ю., Кетлинский С.А.*,
Котов А.Ю.*, Красильникова Е.И.

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова
*Всесоюзный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов

Резюме. Роль цитокинов, в частности, опухоленекротизирующего фактора-альфа (TNF- α) в развитии болезни Грейвса активно изучается. В настоящем исследовании изучался уровень TNF- α при болезни Грейвса до начала лечения, на фоне тиреостатической терапии у больных без ремиссии и с ремиссией болезни, а также сопоставлялся его уровень с возрастом больных, уровнем гормонов, выраженностью инфильтративной офтальмопатии и с титром антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции. Уровень TNF- α в сыворотке крови до начала лечения был существенно повышен и составил $281 \pm 83,4$ пкг/мл. Показано, что у пациентов пожилого возраста уровень TNF- α был достоверно выше, чем у молодых пациентов. Выявлена отрицательная корреляция между уровнем TNF- α и уровнем трийодтиронина и тироксина в сыворотке крови и положительная взаимосвязь его уровня с выраженностью инфильтративной офтальмопатии и титром антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции. В то же время, у пациентов пожилого возраста уровень трийодтиронина был достоверно ниже, а выраженность проявлений офтальмопатии значительно больше, чем у молодых пациентов. Можно предположить, что эти особенности клинического течения болезни Грейвса связаны с более высоким уровнем TNF- α . Нормализация уровня TNF- α в процессе лечения положительно коррелировала с наступлением ремиссии болезни.

Ключевые слова: TNF- α , болезнь Грейвса, возраст, щитовидная железа, тиреотоксикоз.

Blagosclonnaja Ja.V., Babenko A.U., Ketlinskiy S.A., Kotov A.U., Krasilnicova E.I.

TUMOR NECROSIS FACTOR-ALFA SERUM LEVELS IN GRAVES' DISEASE PATIENTS OF DIFFERENT AGE

Abstract. The role of cytokines, in particular tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), in pathogenesis of Graves' disease (GD) is being actively studied. We investigated TNF- α serum levels in GD patients in the remission phase or not, before the treatment and during the treatment. The levels of TNF- α were compared with T3 and T4 levels, with patients' age, with severity of Graves' ophthalmopathy and with anti-thyroglobulin and anti-thyroid peroxidase antibodies levels. TNF- α serum levels were markedly elevated before treatment - $281 \pm 83,4$ pg/ml. It was shown that TNF- α level was significantly higher in aged patients when compared with young ones. TNF- α serum levels were negatively correlated with the serum levels of thyroid hormones (T3 and T4). TNF- α levels positively correlated with the severity of Graves' ophthalmopathy and with the serum levels of anti-thyroglobulin and anti-thyroid peroxidase antibodies. However, in aged patients the level of triiodothyronine was lower and Graves' ophthalmopathy in this group of patients was more severe than in young patients. We conclude that these features of the disease course may be connected with higher levels of TNF- α . Normalization of TNF- α levels during the treatment positively correlated with the remission of the disease. (*Med.Immunol.*, 2000, vol.2, N 3, pp 345-350)

Адрес для переписки:

Бабенко Алина Юрьевна
197089, Санкт-Петербург, ул.Л.Толстого, 6/8,
Тел.: 238-71-31,
Факс: 234-54-81,
e-mail: ustas@sptu.rssi.ru.

Болезнь Грейвса является аутоиммунным заболеванием щитовидной железы. В основе ее развития лежит генетический дефект в иммунной защите, сцепленный с системой HLA и характеризующийся нарушением антигенраспознающей функции иммунокомпетентных клеток [16].

Большой интерес представляют исследования о роли в развитии этого заболевания цитокинов, в частности, туморнекротизирующего фактора-альфа (TNF- α) [3, 8, 10, 16]. Предполагается, что провоспалительные цитокины (гамма-интерферон, интерлейкин-2, TNF- α) играют важную роль в индукции аутоиммунного процесса в щитовидной железе. TNF- α , выступая как синергист гамма-интерферона, индуцирует экспрессию на поверхности клеток антигенов системы HLA класса II, обеспечивающих распознавание клеточных антигенов Т-лимфоцитами, участвующими в реакциях клеточного иммунитета [5, 6, 12, 14]. Также, по мнению ряда авторов, TNF- α влияет на тиреоидный метаболизм, тормозя синтез и транспорт тиреоидных гормонов, и/или периферическую дейодинацию тироксина [3, 9, 11, 15]. Между тем, роль TNF- α в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и его динамика в процессе тиреостатической терапии остается мало изученной. Также требует уточнения связь его уровня с возрастом больных, особенностями клинического течения болезни Грейвса и с развитием ремиссии заболевания.

В связи с вышеперечисленным представлялось важным изучить уровень TNF- α при болезни Грейвса в зависимости от стадии заболевания: до начала лечения, на фоне тиреостатической терапии у больных без ремиссии и с ремиссией болезни, а также сопоставить его динамику с титром антител для оценки возможности использования TNF- α в качестве маркера активности аутоиммунного процесса и наступления ремиссии данного заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 28 пациентов с болезнью Грейвса до начала лечения. Диагноз был верифицирован на основании клинических и лабораторных данных (высокий уровень тиреоидных гормонов, повышенное поглощение радиоактивного йода щитовидной железой).

Все больные были обследованы с целью исключения сопутствующих заболеваний, влияющих на уровень цитокинов в сыворотке крови. Пациенты, страдающие такими заболеваниями (аутоиммунная патология, бактериальные и вирусные инфекции, интоксикации и т.п.) в исследование не включались. Средний возраст больных составил $37,6 \pm 5,2$ года.

После первого обследования всем больным был назначен мерказолил. Через год после начала лечения было обследовано 22 пациента.

Уровень свободного трийодтиронина (FT3), свободного тироксина (FT4), тиреотропина (ТТГ) и титр антител к микросомальной фракции (Ат. мф) в сыворотке крови определялись иммуноферментными метода-

ми. Нормальные величины: FT3 - 4,0-8,0 пмоль/л, FT4 - 10-25 пмоль/л, ТТГ - 0,24-3,5 мМЕ/л, Ат.мф. - 0-1,0. Уровень общего трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4), титр антител к тиреоглобулину (АтТг) определялись радиоизотопными методами. Нормальные величины: Т3 - 1,6-2,5 нмоль/л, Т4 - 60-160 нмоль/л; для антител к тиреоглобулину диагностическим является титр 1:1000 и более. Концентрация TNF- α определялась иммуноферментным методом с использованием ТОО "Протеинового контура" (норма 0-50 пг/мл для возрастных групп 18-60 лет [2]).

Размеры щитовидной железы оценивались по данным ультразвукового исследования, а объем долей рассчитывался по формуле: $l \times m \times h \times 0,47$, где l - длина, m - ширина, h - высота доли. Объем двух долей суммируется. В норме объем щитовидной железы у женщин - $<18 \text{ см}^3$, у мужчин - $<25 \text{ см}^3$ [1]. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке на компьютере с применением статистической программы Excel 6.0. Использовались методы вариационной и непараметрической статистики, корреляционного анализа.

Результаты исследования

Первое обследование больных было проведено до начала лечения, на фоне тиреотоксикоза (Т3 - $4,36 \pm 1,26$ нмоль/л, Т4 - $242,58 \pm 5,09$ нмоль/л; FT3 - $20,4 \pm 2,25$ пмоль/л, FT4 - $49,9 \pm 4,14$ пмоль/л, ТТГ - $0,019 \pm 0,006$ мМЕ/л).

Уровень TNF- α в сыворотке крови у обследованных больных был существенно повышен и составил $281 \pm 83,4$ пг/мл.

Было проведено сопоставление уровня TNF- α с возрастом больных, размером зоба, выраженностью инфильтративной офтальмопатии, уровнем тиреоидных гормонов и титром антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции в сыворотке крови.

При сопоставлении уровня TNF- α в сыворотке крови у больных болезнью Грейвса различных возрастных групп выявлены достоверные различия (табл. 1). Как видно из табл. 1, у пациентов старше 40 лет уровень TNF- α был существенно выше, чем у молодых пациентов.

Учитывая столь четко выраженные возрастные различия в уровне TNF- α , было проведено сравнение клинических проявлений у пациентов различных возрастных групп.

Прямой зависимости между уровнем TNF- α в сыворотке крови и размерами зоба не было обнаружено, однако выявлена зависимость между возрастом и размерами щитовидной железы (табл. 2): объем щитовидной железы (ОЩЖ) достоверно меньше у пациентов старших возрастных групп ($p < 0,01$).

Обнаружена умеренная отрицательная корреляционная связь между концентрацией TNF- α и уров-

нем тиреоидных гормонов (общего Т3 и Т4) в сыворотке крови ($r=-0,33$, $r=-0,31$ соответственно ($p<0,05$)).

При сравнении уровня тиреоидных гормонов у пациентов разных возрастных групп, обнаружен достоверно более низкий уровень трийодтиронина у пациентов старшего возраста (табл. 2).

Среди обследованных 28 пациентов с болезнью Грейвса инфильтративная офтальмопатия была диагностирована у 15 человек. При этом у больных с инфильтративной офтальмопатией уровень TNF- α был достоверно выше ($296,7\pm66,2$ пкг/мл), чем у больных без офтальмопатии ($152\pm63,4$ пкг/мл) ($p<0,05$). Частота инфильтративной офтальмопатии существенно не различалась у пациентов различных возрастных групп, однако тяжесть ее течения увеличивалась с возрастом ($r=0,23$, $p<0,05$).

Одновременно с определением TNF- α в сыворотке крови у 25 больных болезнью Грейвса оценивался титр антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции. Антитела к тиреоглобулину в диагностическом титре были обнаружены у 7 пациентов с болезнью Грейвса. Уровень TNF- α

у этих больных был резко повышен - $424,5\pm133,8$ пкг/мл, а у пациентов, не имеющих антител к тиреоглобулину, практически не отличался от нормы - $63,3 + 29,9$ пкг/мл ($p<0,01$). При сопоставлении титра антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции с уровнем TNF- α четкая положительная корреляция ($r=0,85$ и $r=0,71$ соответственно ($p<0,01$)). При этом, с возрастом частота выявления антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции существенно возрастала (табл.2).

Через год было обследовано 22 пациента с болезнью Грейвса. У них была изучена динамика уровня TNF- α . Установлено, что в целом по группе произошло достоверное снижение уровня TNF- α по сравнению с исходным ($p<0,01$) (табл. 3). При этом была выявлена достоверная положительная корреляция между снижением уровня TNF- α в процессе лечения и наступлением ремиссии ($r=0,39$, $p<0,05$). Поэтому пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от наличия или отсутствия ремиссии.

Для оценки наступления ремиссии использовались общепринятые критерии:

Табл.1. УРОВЕНЬ TNF-АЛЬФА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГРЕЙВСА РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Группа больных	Уровень TNF- α в сыворотке крови, пкг/мл
1. Возраст до 30 лет, n=9	167,78 $\pm$ 84,16
2. Возраст от 30 до 40 лет, n=11	173,2 $\pm$ 121,5
3. Возраст старше 40 лет, n=8	611,4 $\pm$ 238,5
P1-2	-
P1-3	<0,001
P2-3	<0,001

Табл. 2. ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ВОЗРАСТА ОБЪЕМА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, УРОВНЯ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ТИТРА АНТИТЕЛ

Возраст больных	Уровень общего Т3, нмоль/л	Уровень общего Т4, нмоль/л	Объем щитовидной железы, см ³	% больных с высоким титром АтТг	% больных с высоким титром Ат.мф
1.Меньше 30 лет, n=28	5,8 $\pm$ 0,65	237,4 $\pm$ 16,2	40,4 $\pm$ 4,86	16,6	9,1
2. 30-39 лет, n=36	5,55 $\pm$ 0,5	244,89 $\pm$ 16,1	33,3 $\pm$ 3,41	21,4	16,7
3. 40-49 лет, n=40	4,26 $\pm$ 0,49	203,6 $\pm$ 17,96	26,5 $\pm$ 2,2	44,4	50
4. Старше 50 лет, n=46	4,04 $\pm$ 0,59	201,6 $\pm$ 19,45	25,1 $\pm$ 2,1	42,9	50
P1-2	-	-	-		
P1-3	<0,05	-	<0,01		
P1-4	<0,045	-	<0,01		
P2-3	-	-	-		
P2-4	<0,045	-	<0,05		
P3-4	-	-	-		

Табл. 3. ДИНАМИКА УРОВНЯ TNF-α В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАСТУПЛЕНИЯ РЕМИССИИ

Группа больных	1. Уровень TNF-α до лечения, пкг/мл	2. Уровень TNF-α через год от начала терапии, пкг/мл	P1-2
1. Пациенты с болезнью Грейвса до лечения, n=28	281±81,4	50,9±9,95*	<0,01
2. Пациенты с ремиссией болезни Грейвса, n=11	158,1±98,12	20,9±10,02*	<0,01
3. Пациенты без ремиссии болезни Грейвса, n=11	326,1±137,9	81,1±13,4	<0,01
P1-2	-	<0,05	
P1-3	-	-	
P2-3	<0,05	<0,01	

* - показатель достоверно не отличался от нормы.

- 1) уменьшение объема щитовидной железы на фоне лечения;
- 2) проба с трийодтиронином;
- 3) сохранение эутиреоза на низких дозах мерказолила (5 мг/сут.).

Всего из 22 больных, прошедших обследование через 1 год, ремиссия по приведенным критериям подтверждена у 11 человек (50%). При этом обнаружено, что у всех больных, вошедших в ремиссию, уровень TNF-α снизился до нормы, а у пациентов, не вошедших в ремиссию, оставался выше нормы (табл. 3). Уровень TNF-α в сыворотке крови при втором исследовании отрицательно коррелировал с наступлением ремиссии ($r=-0,59$; $p<0,01$).

Обращает на себя внимание тот факт, что исходный уровень TNF-α до начала лечения у больных, в дальнейшем вошедших в ремиссию, был достоверно ниже, чем у больных, не достигших ремиссии ($p<0,05$).

Уровень TNF-α в сыворотке крови в процессе лечения коррелировал с другими показателями, взаимосвязанными с ремиссией (уменьшение объема щитовидной железы, исчезновение антител). Так, между динамикой уровня TNF-α и динамикой титра антител к тиреоглобулину в сыворотке крови определялась положительная корреляционная связь ($r=0,44$, $p<0,01$).

Уменьшение проявлений инфильтративной офтальмопатии, в частности уменьшение выраженности экзофтальма на фоне терапии, положительно коррелировало с частотой ремиссии ($r=0,4$, $p<0,05$). В свою очередь между динамикой уровня TNF-α в сыворотке крови и динамикой степени проптоза также определялась положительная зависимость ($r=0,5$, $p<0,01$).

Обнаружено, что пожилой возраст является фактором, неблагоприятным для наступления ремиссии: у пациентов в возрасте до 30 лет ремис-

сия развивалась в 60% случаев, в возрасте от 30 до 40 лет - в 35% случаев, а в возрасте старше 40 лет - в 30% случаев. При проведении корреляционного анализа выявлена отрицательная взаимосвязь между частотой ремиссии и возрастом ($r=-0,34$, $p<0,01$). В то же время, если у пациентов молодого возраста (до 30 лет) отмечалась нормализация уровня TNF-α - $33,6\pm13,6$ пкг/мл, то у пациентов более старшего возраста он оставался несколько повышенным: у больных в возрасте от 30 до 40 лет - $60\pm22,8$ пкг/мл, а у пациентов старше 40 лет - $58,2\pm16,2$ пкг/мл.

Таким образом, проведенное исследование выявило, что более высокий уровень TNF-α характерен для пациентов пожилого возраста. Известно, что с возрастом увеличивается частота аутоиммунных заболеваний [13]. Провоспалительные цитокины, к которым относится и TNF-α, могут играть в этом существенную роль.

При оценке взаимосвязи уровня TNF-α с различными клиническими проявлениями болезни Грейвса, отмечено, что его уровень был более резко повышен у пациентов с инфильтративной офтальмопатией. Между тем известно, что в основе развития инфильтративной офтальмопатии также лежат клеточные цитотоксические реакции. Взаимосвязь TNF-α с активностью аутоиммунного процесса подтверждается и четкой зависимостью между его уровнем и титром антител к тиреоглобулину и микросомальной фракции в сыворотке крови, обнаружение которых закономерно при аутоиммунном тиреоидите, заболевании, характеризующимся преобладанием реакций клеточной цитотоксичности и значительно чаще встречающемся в пожилом возрасте. Наличие четкой положительной корреляции между уровнем TNF-α и титром антител при болезни Грейвса позволяет рассматривать его как еще один маркер активности аутоиммунного процесса.

Отрицательный характер взаимосвязи между уровнем тиреоидных гормонов и TNF- α может объясняться описанным многими исследователями ингибиторным действием этого цитокина на синтез тиреоидных гормонов и дейодинацию тироксина на периферии [3, 9, 11, 15].

При изучении особенностей клинического течения у пациентов с болезнью Грейвса в различных возрастных группах выявлен ряд различий. Так, у пациентов молодого возраста в подавляющем большинстве случаев имелось значительное увеличение щитовидной железы, а у больных старших возрастных групп увеличение щитовидной железы, как правило, было незначительным. Инфильтративная офтальмопатия, напротив, тяжело протекала у пациентов пожилого возраста, а у молодых больных чаще имела легкое течение. Уровень трийодтиронина был достоверно ниже у пожилых больных.

Можно предположить, что возрастные изменения в иммунной системе приводят к повышению продукции TNF- α , что подтверждается и данными литературы [4], и более высокий уровень TNF- α у пожилых пациентов может быть отражением этих процессов. Таким образом, изменение иммунологической реактивности может объяснять описанные клинические особенности течения болезни Грейвса у пожилых людей: незначительное увеличение щитовидной железы, более тяжелое течение инфильтративной офтальмопатии и более низкий уровень тиреоидных гормонов.

Установлено, что как исходный более высокий уровень этого цитокина, так и отсутствие его нормализации в процессе лечения снижает вероятность развития ремиссии болезни Грейвса. Этим может объясняться значительно меньшая частота ремиссии у пожилых людей.

Полученные результаты позволяют предположить, что TNF- α играет существенную роль в иммуногенезе и клиническом течении болезни Грейвса, причем его вклад становится более значимым при развитии заболевания в пожилом возрасте.

Список литературы

1. Герасимов Г.А. Современные аспекты патогенеза, диагностики и классификации эутиреоидного зоба // Материалы московской городской конференции эндокринологов: "Лечение и профилактика эутиреоидного зоба" - 1997. - с.8-12.
2. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Иммунология для врача. - С-Петербург, 1998. - 155 с.
3. Chopra I., Sakame S., Chua Teco G. Study of serum concentration TNF- α for thyroid and nonthyroid disease // J.Clin.Endocrinol.Metab. - 1991. - V.72, N 5. - P.1113-1116.

4. Franceschi C., Monty D., Sanssoni P. Immunology of exence in individuals: the lessons of santy santeniorials. // Immunol.Today. - 1997. - Vol.15, N 1. - P.12-16.

5. Hamilton F., Black M., Farquharson M.A., Stewart C., Foulis A.K. Spatial correlation between thyroid epithelial cells expressing class II MHC molecules and interferon-gamma-containing lymphocytes in human thyroid autoimmune disease. // Clin.Exp.Immunol. - 1991. - Vol.83, N 1. - P.64-68.

6. Heufelder A., Bahn R. (Mayo Clinic). Detection and localization of cytokine immunoreactivity in retro-ocular connective tissue in Graves' ophthalmopathy. // Eur-J-Clin-Invest. - 1993. - V.23, N 1. - P. 10-17.

7. Hiromatsu Y., Yang D., Miyake I., Koga M., Kameo J., Sato M., Inoue Y., Nonaka K. Nicotinamide decreases cytokine-induced activation of orbital fibroblasts from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. // J.Clin.Endocrinol.Metab. - 1998. - Vol.83, N 1. - P.121-124.

8. Kayser L., Broholm H., Francis D., Perrild H., Olsen B.E., Bendtzen K., Hoyer P.E. / Immunocytochemical localisation of tumor necrosis factor alpha in thyroid tissues from patients with neoplastic or autoimmune thyroid disorders. // Autoimmunity. - 1996. - Vol.23 N2. - P. 91-97.

9. Kennedy R., Jones T. Citokines in endocrinology: their roles in health and in disease // J.Endocrinol. - 1991. - Vol.129. - P.167-178.

10. Komorowski J., Jankiewicz J., Robak T., Blasinska-Morawiec M., Stepień H. Cytokines serum levels as the markers of thyroid activation in Graves' disease. // Immunol.Lett. - 1998. - Vol. 60, N 2-3. - P.143-148.

11. Massart C., Gibassier J., Raoul M., Le Gall F., Lancien G., Genetet N., Denais A., Darcel F., Lucas C. Action of peripheral or intrathyroidal lymphocytes on autologous thyrocytes cultured in follicles in collagen gel. // J.Molec. Endocrinol. - 1997. - Vol.18, N 2. - P.137-145.

12. Matsuoka N., Eguchi K., Kawakami A., Tsuboi M., Nakamura H., Kimura H., Ishikawa N., Ito K., Nagataki S. Lack of B7-1/BB1 and B7-2/B70 expression on thyrocytes of patients with Graves' disease. Delivery of co-stimulatory signals from bystander professional antigen-presenting cells. // J.Clin.Endocrinol. Metab. - 1996 Nov. - Vol.81 N11. - P. 4137-4143.

13. McGregor A., Lazarus J., Burr M., Weetman A., Ludgate M., Woodhead J., Hall R. The prevalence and progression of autoimmune thyroid disease in the elderly // Acta Endocrinol. (Copenh.) - 1981. - Vol.106. - P.341-347.

14. Natt N., Bahn R. Cytokines in the evolution of Graves' ophthalmopathy. [Review] // Autoimmunity. - 1997. - Vol.26, N2. - P.129-136.

15. Ozawa M., Sato K., Han D. et al. Effects of TNF- α on thyroid hormone metabolism. // Endocrin. - 1988. - Vol.123. - P.1461-1467.

16. Sugihara S., Fujiwara H. et al. Self-thyroid epithelial cell (TEC)-reactive CD8⁺ T cell lines/clones

derived from autoimmune thyroiditis lesions. They recognize self-thyroid antigens directly on TEC to exhibit T helper cell 1-type lymphokine production and cytotoxicity against TEC // J.Immunol. - 1995. - Vol.155, N 3. - P.1619-1628.

поступила в редакцию 16.05.2000

отправлена на доработку 22.09.2000

принята к печати 25.09.2000