

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ВЕДУЩЕЕ ВЫСШЕЕ УЧЕБНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

**УДК 616.441-008.64-074**

**Лухверчик Людмила Николаевна**

***ИММУНОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ И  
ИЗУЧЕНИИ  
ПАТОГЕНЕЗА РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ГИПОТИРЕОЗА***

14.00.36 – Аллергология и иммунология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата медицинских наук**

Минск 2004

Работа выполнена в ГНУ “Институт биоорганической химии НАН Беларуси” и Международном государственном экологическом университете им.А.Д.Сахарова.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор Пивень Н.В., ГНУ “Институт биоорганической химии НАН Беларуси”, заведующая лабораторией медицинского микроанализа.

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Федорович С.В., Республиканский научно - практический центр гигиены Минздрава РБ, заведующий клиническим отделом проф. патологии и аллергологии;

доктор медицинских наук Батян А.Н., Международный государственный экологический университет им. А.Д.Сахарова, профессор кафедры экологической медицины и радиобиологии.

Оппонирующая организация: Витебский государственный медицинский университет.

Защита состоится “14” мая 2004 г. в 15.00 ч. на заседании Совета по защите диссертаций Д 03.18.05 при Белорусском государственном медицинском университете по адресу: 220116, г. Минск, пр. Дзержинского 83.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Белорусского государственного медицинского университета.

Автореферат разослан “ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 200\_г.

Ученый секретарь  
Совета по защите диссертаций  
кандидат медицинских наук, доцент

А.М. Близнюк

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы диссертации.** Прогресс в диагностике и профилактике различных заболеваний человека в последние годы стал возможен благодаря созданию универсальных, специфичных и высокочувствительных средств современного иммунохимического анализа (ИХА), среди которых основное место заняли иммуноферментный и радиоиммунный анализ (ИФА и РИА). ИХА позволяет проводить изучение концентраций различных биорегуляторов, гормонов, транспортных белков, опухолевых маркеров, эффекторных молекул и др. с высоким уровнем чувствительности ( $10^{-9}$ -  $10^{-12}$  моль/л) и тем самым оценивать функциональное состояние различных регуляторных систем организма в норме и патологии. Однако, широкое внедрение методов ИХА в практику сдерживается отсутствием научно-обоснованных рекомендаций по их применению при конкретных формах патологии.

Особое место среди основных заболеваний человека занимает патология щитовидной железы (ЩЖ). Результаты проводимых исследований показывают, что в последние годы среди населения нашей Республики возросло количество заболеваний ЩЖ. Так, заболеваемость гипертиреозом возросла в 1,3 раза по сравнению с 1997 годом и составила в 2002 году около 8 случаев на 100 тысяч населения, а гипотиреозом - в 3,8 раза и составила около 30 случаев на 100 тысяч населения. В то же время количество тиреоидитов, которые могут приводить к развитию гипотиреоза, увеличилось в 2 раза. Таким образом можно предположить, что тенденция к росту заболеваемости гипотиреозом в дальнейшем будет сохраняться. Перечень приоритетных научных исследований по проблеме ликвидации медицинских последствий аварии на ЧАЭС, определенный Всемирной организацией здравоохранения, включает и изучение патологии ЩЖ.

Важным аспектом этой проблемы является выявление ранних доклинических форм заболеваний ЩЖ и изучение роли иммуноэндокринных механизмов в их патогенезе. Разработка и использование для этих целей высокочувствительных и специфичных методов ИХА позволяет приблизиться к решению этой проблемы.

**Связь работы с крупными научными программами, темами.** Исследования выполнялись в рамках тем: “Разработка и внедрение на основе радиоиммуноанализа автоматизированной системы донозологического скрининга и мониторинга скрытых нарушений функции щитовидной железы”, Республиканская научно-техническая программа “Информатизация РБ”, номер госрегистрации 19972003; “Изучение регуляторных механизмов иммунного гомеостаза: патогенетическая и прогностическая роль нарушений антителосинтезирующей функции иммунной системы”, грант Фонда фундаментальных исследований РБ, номер госрегистрации 20002885; “Изучение функционального состояния системы “гипофиз - щитовидная железа” у здоровых

лиц, проживающих в г. Минске, с помощью современного иммунохимического анализа и на основе выявленных нарушений создание банка данных по гипо- и гипертиреоидному статусу для проведения динамического слежения за развитием патологии”, грант Министерства образования РБ, номер госрегистрации 20011478.

**Цель исследования.** Оценить использование средств ИХА для диагностики доклинических нарушений функционирования системы “гипофиз-щитовидная железа”, изучения иммунопатогенеза субклинического и клинически выраженного гипотиреоза и определения клинико-диагностической, патогенетической и прогностической значимости выявленных нарушений с помощью разработанных количественных критериев.

**Задачи исследования.** Для достижения цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Определить концентрации регуляторов тиреоидного статуса (тиреотропного гормона, тироксина, трийодтиронина, тироксинсвязывающего глобулина, тиреоглобулина) и аутоантител к тиреоглобулину у практически здоровых лиц трудоспособного возраста и на этой основе выделить группы риска по гипер- и гипотиреоидному признакам;

2. Идентифицировать и количественно оценить уровень аутоантител к тиреоглобулину, тиреопероксидазе и микросомальной фракции тироцитов, определить их принадлежность к подклассам иммуноглобулинов G (G1-G4) и оценить патогенетическую роль в развитии субклинического и клинически выраженного гипотиреоза;

3. Изучить степень выраженности сенсибилизации лимфоцитов к антигенам ЩЖ (тиреоглобулину и тиреопероксидазе) и продукцию ими  $\gamma$ -интерферона и оценить роль клеточного звена иммунитета в патогенезе гипотиреоза различных стадий;

4. Разработать методику иммуноферментного анализа Fas-рецептора и с его помощью оценить роль механизмов апоптоза в патогенезе субклинического и клинически выраженного гипотиреоза;

5. Изучить возможности использования ИХА для оценки клинико-патогенетической значимости выявленных нарушений при гипотиреозе.

**Объект и предмет исследования.** Объект исследования - здоровые лица трудоспособного возраста (18-45 лет), лица с субклиническим гипотиреозом и пациенты с клинически выраженным гипотиреозом (больные аутоиммунным тиреоидитом, находящиеся на диспансерном учете в Республиканском консультативном эндокринологическом центре МЗ РБ).

Предмет исследования - регуляторы тиреоидного статуса (тиреотропный гормон гипофиза - ТТГ, тироксин – Т<sub>4</sub>, трийодтиронин – Т<sub>3</sub>, тироксинсвязывающий глобулин - ТСГ и тиреоглобулин - ТГ), показатели гуморального и клеточного звеньев иммунорегуляции - аутоантитела к ТГ (АТ-ТГ), микросомальной фракции (АТ-МСФ) и тиреопероксидазе (АТ-ТПО) различ-

ных подклассов G1-G4 иммуноглобулинов G (IgG),  $\gamma$  – интерферон, Fas – рецептор (FasR) и антигены ЩЖ – ТПО и ТГ. Все перечисленные показатели были изучены в сыворотке крови обследуемых лиц.

**Гипотеза.** С помощью средств современного ИХА возможна разработка количественных критериев оценки функционального состояния различных регуляторных звеньев иммуноэндокринного статуса и на этой основе диагностика доклинических форм патологии, формирование групп риска для последующего динамического слежения и изучения патогенеза заболевания (на примере субклинического и клинически выраженного гипотиреоза).

**Методы проведенного исследования.** Для выполнения исследования использованы следующие методы:

- радиоиммуноанализ тиреоидных гормонов (ТТГ, Т4, Т3) и белков (ТСГ, ТГ);
- радиоиммунный и иммуноферментный анализ АТ-ТГ, АТ-МСФ и АТ-ТПО;
- иммуноферментный анализ подклассов IgG, формирующих АТ-ТГ и АТ-ТПО;
- оценка пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови в присутствии неспецифического митогена (фитогемагглютинаина) и антигенов ЩЖ (ТГ и ТПО);
- иммуноферментный анализ концентрации  $\gamma$ -интерферона;
- иммуноферментный анализ концентрации растворимой формы FasR;
- методы компьютерной обработки данных и математической статистики: описательная статистика, критерий Стьюдента, дисперсионный анализ и критерий Ньюмена-Кейсла.

### **Научная новизна и значимость полученных результатов**

Впервые разработана научно-обоснованная методология использования количественного ИХА для проведения скрининга и комплексной оценки тиреоидного статуса здоровых лиц с целью выявления скрытых донологических нарушений функционирования системы “гипофиз-щитовидная железа”, достоверного разграничения состояний эу-, гипер- и гипотиреоза и формирования на основе выявленных нарушений групп риска для последующего динамического слежения за развитием патологии.

Обнаружено повышение уровня аутоантител к тиреоглобулину, тиреопероксидазе и микросомальной фракции тироцитов при субклиническом и клинически выраженном гипотиреозе, которое нарастает по мере развития гипотиреоза. Полученные результаты обосновывают использование сочетанного ИХА двух и более анти тиреоидных аутоантител с целью повышения эффективности диагностики и оценки степени выраженности аутоиммунных нарушений в организме.

Впервые обнаружены различия в распределении аутоантител к ТГ и ТПО по подклассам (G1-G4) IgG, что может быть одним из патогенетических механизмов аутоиммунных нарушений в силу различного повреждающего действия подклассов IgG на ткань ЩЖ.

Выявлено повышение интенсивности пролиферативного ответа лимфоцитов периферической крови под влиянием антигенов ЩЖ – ТГ и ТПО у лиц с различными формами гипотиреоза, что доказывает возможность их использования для оценки степени выраженности аутосенсibilизации и иммунореактивности на антигены ЩЖ при гипотиреозе.

Разработан новый метод иммуноферментного анализа концентрации FasR - маркера апоптоза и доказана возможность использования этого теста в качестве дифференциально-диагностического, патогенетического и прогностического критерия при патологии ЩЖ различного генеза.

### **Практическая значимость полученных результатов**

Разработана научно-обоснованная методология использования средств современного ИХА в медицинской практике в норме и при патологии (на примере различных форм гипотиреоза) для выявления ранних донозологических нарушений функции ЩЖ, достоверного разграничения состояний эу-, гипер- и гипотиреоза, формирования на основе выявленных нарушений групп риска для последующего динамического слежения за развитием патологии, обоснования проведения индивидуальных лечебно-профилактических мероприятий; диагностики и изучения патогенеза различных стадий гипотиреоза.

Рекомендовано использование сочетанного ИХА двух и более аутоантител для повышения эффективности диагностики и оценки степени выраженности аутоиммунных нарушений.

Определена дифференциально-диагностическая, патогенетическая и прогностическая значимость ИФА концентрации FasR – маркера апоптоза при патологии ЩЖ различного генеза.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Иммунохимический анализ является адекватным и надежным лабораторным методом для разработки количественных критериев оценки функционирования различных звеньев иммуноэндокринного статуса в норме и патологии при субклиническом и клинически выраженном гипотиреозе; выявления доклинических нарушений функционирования системы “типофизитовидная железа” и достоверного разграничения их по принципу эу-, гипер- и гипотиреоза; формирования групп риска на основе выявленных нарушений для последующего слежения за развитием патологии.

2. Повышение содержания различных типов антитиреоидных аутоантител при развитии гипотиреоза обосновывает использование сочетанного ИХА двух и более аутоантител к антигенам ЩЖ в целях повышения эффективности диагностики и оценки степени выраженности аутоиммунных нарушений. Различия в распределении АТ-ТГ и АТ-ТПО по подклассам (G1-G4) IgG могут быть одним из патогенетических механизмов аутоиммунных нарушений в силу разного повреждающего действия подклассов IgG на ткань ЩЖ.

3. Повышение пролиферативной активности лимфоцитов под действием ТГ и ТПО у лиц с различными формами гипотиреоза подтверждает возможность использования антигенов ЩЖ для оценки степени выраженности аутосенсibilизации и иммунореактивности при гипотиреозе различных стадий.

4. Изменение уровня FasR при различных формах гипотиреоза подтверждает роль механизмов апоптоза в его патогенезе, а концентрация FasR может служить количественным дифференциально – диагностическим, патогенетическим и прогностическим критерием при патологии ЩЖ различного генеза.

**Личный вклад соискателя.** Организация и проведение экспериментальных исследований, статистическая обработка полученных результатов, анализ литературы, обобщение результатов, написание работы и выводов выполнены лично автором. Основные результаты работы, полученные по данным обследования 767 человек, выполнены с участием автора. Планирование экспериментов, теоретическое обсуждение и оформление результатов в виде статей проводилось совместно с научным руководителем.

**Апробация результатов диссертации.** Материалы диссертационной работы были представлены и обсуждены на: Республиканских конференциях молодых ученых и студентов "Сахаровские чтения" ( Минск, 23-24 мая 2000 г.; Минск, 21-22 мая 2001 г.); Третьей Международной конференции молодых ученых "Экологические проблемы XXI века" (Минск, 1-2 ноября 2000 г.), 6-й Международной научной конференции "Дни иммунологии в Санкт-Петербурге" (Санкт-Петербург, 20-23 мая 2002 г.); 6-й Международной школе иммунологов Джона Хамфри (Москва - Пушкино, 15-22 сентября 2002 г.), XXII Европейском конгрессе аллергологов и клинических иммунологов (Париж - Франция, 7-11 июня 2003 г.), 7-м Всероссийском научном Форуме с международным участием им. акад. В.И. Иоффе "Дни иммунологии в Санкт-Петербурге" (Санкт-Петербург, 23-26 июня 2003 г.).

**Опубликованность результатов.** Основное содержание диссертации изложено в 17 научных работах, из них - 3 статьи в рецензируемых журналах, 14 научных работ в сборниках материалов и конференций, из них – 9 в международных изданиях. Суммарный объем опубликованных материалов составляет 41 страницу.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста, иллюстрирована 16 таблицами (14 страниц) и 18 рисунками (9 страниц). Состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, материалов и методов, четырех глав собственных исследований и обсуждения результатов, заключения и выводов, списка использованных источников, включающего 81 работу отечественных и 246 работ иностранных исследователей.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Донозологическая диагностика нарушений функции щитовидной железы

Для изучения возможности использования одного из методов ИХА - радиоиммуноанализа (РИА) в целях массового скрининга здорового населения трудоспособного возраста, выявления доклинических нарушений функционального состояния регуляторной системы "гипофиз - щитовидная железа" и формирования на основе выявленных нарушений групп риска для организации последующего динамического слежения за развитием патологии в течение 1999-2002 гг. нами было проведено комплексное клинко-лабораторное обследование 727 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 45 лет без жалоб и клинических нарушений со стороны ЩЖ. Комплексное клинко-лабораторное обследование включало сбор анамнеза, осмотр специалиста – эндокринолога, проведение ультразвукового исследования ЩЖ и РИА концентраций тиреоидных гормонов и белков (ТТГ, Т3, Т4, ТСГ, ТГ и АТ-ТГ).

В результате проведенных исследований были выявлены различные формы гипертиреоза у 209 человек (28,8%), в то время как у 215 лиц (29,7%) был выявлен гипотиреоз. У 303 обследуемых (41,5%) не были обнаружены изменения в концентрациях тиреоидных гормонов и белков, что позволило отнести их в группу здоровых лиц. Значения изученных показателей в контрольной группе и сформированных группах риска приведены в таблице 1.

Таблица 1

Концентрации тиреоидных гормонов и белков (M±m) у обследуемых лиц							
Форма	Число обсл. (%)	Исследуемые соединения					
		ТТГ, мМЕ/л	Т3, нмоль/л	Т4, нмоль/л	ТСГ, мкмоль/л	ТГ, нг/мл	АТ-ТГ ЕД/мл
<b>ЗДОРОВЫЕ ЛИЦА</b>							
Здоровые	303	1,7±0,06*	2,32±0,5*	109,9±1,8*	0,52±0,16	39±7,4	13,1±2,8
<b>ГИПЕРТИРЕОЗ</b>							
Субклинический	197 (94,2%)	0,2±0,07* <sup>^</sup>	2,56±0,2*	120±4,2	0,33±0,01	28±3,2	14,5±0,9
Клинически выраженный	12 (5,8%)	0,1±0,03* <sup>^</sup>	2,9±0,3* <sup>^</sup>	188,6±4,4* <sup>^</sup>	0,37±0,01	7,4±1	49,8±0,3
<b>ГИПОТИРЕОЗ</b>							
Субклинический	207 (96,3%)	19,5±0,6* <sup>^</sup>	1,92±0,03	107,1±1,5	0,37±0,01	7,7±1	24,6±1,2
Клинически выраженный	8 (3,7%)	20,8±3,7* <sup>^</sup>	1,15±0,09	48±3,5* <sup>^</sup>	0,33±0,03	12±4,8	78,7±8,2

\* - различия с показателями нормы достоверны при p<0,05,

<sup>^</sup> - различия с группой здоровых лиц достоверны при p<0,05.

Как видно из таблицы у лиц с гипертиреозом преобладала субклиническая форма, которая характеризовалась снижением уровня ТТГ на фоне нор-

мального содержания Т3, Т4, ТСГ и ТГ. Клинически выраженный гипертиреоз характеризовался значительным снижением концентрации ТТГ и повышением уровня Т3 и Т4. Содержание ТСГ и ТГ оставалось в пределах нормальных значений.

Состояние гипотиреоза выявлено у 215 чел. (29,7%), при этом среди лиц с выявленным гипотиреозом также преобладала субклиническая форма, которая характеризовалась повышением концентрации ТТГ на фоне нормального содержания Т3, Т4, ТСГ и ТГ. Клинически выраженный гипотиреоз характеризовался снижением концентрации Т3 и Т4, повышением уровня ТТГ на фоне нормального содержания ТСГ и ТГ.

Изучение характера выявленных в функциональной системе “гипофиз – щитовидная железа” нарушений в зависимости от возраста и пола обследуемых лиц показало, что у лиц в возрасте 18-19 лет в 25% (59) случаев был выявлен гипотиреоз и 28,4% (67) - гипертиреоз; 20-29 лет – в 37,4% (123) и 26,6% (91); 30-39 лет – в 20% (23) и 33,9% (39) и 40-45 лет – в 14,7% (5) и 35,2% (12) соответственно. Гипертиреоз был выявлен в 42,5% (94) случаев среди обследованных женщин и в 23% (116) случаев среди мужчин, в то время как гипотиреоз – в 10,8% (24) и 38% (192) случаев соответственно и 46,7% (105) из обследованных женщин и 39% (196) из обследованных мужчин были отнесены в группу здоровых лиц.

Таким образом проведенные исследования доказали возможность использования РИА для выявления донозологических нарушений функции ЩЖ в виде гипер- и гипотиреоза различных стадий и на этой основе формирования групп риска для организации последующего динамического слежения за развитием патологии.

Скрытые нарушения в функционировании эндокринного звена “гипофиз – щитовидная железа” обнаружены более чем у половины обследуемых лиц, причем у лиц более молодого возраста (18-29 лет) преобладал гипотиреоз, в то время как у лиц старше 30 лет - гипертиреоз. Другим важным результатом можно считать факт обнаружения доклинической патологии у мужчин в большем проценте случаев, чем у женщин, при этом доминирующим нарушением функции ЩЖ у них являлся гипотиреоз, в то время как у женщин – гипертиреоз.

На основе полученных показателей тиреоидного статуса был проведен сравнительный анализ значений концентрации регуляторов тиреоидного статуса в группе здоровых лиц (контрольная группа) и общепринятых показателей “нормы”, отраженных в инструкциях к соответствующим наборам. В результате этого сравнения были обнаружены достоверные различия ( $p < 0,05$ ) в значениях концентрации этих двух групп показателей: ТТГ ( $1,66 \pm 0,06$  мМЕ/л - концентрация полученная при обследовании здоровых лиц,  $2,9 \pm 0,2$  МЕ/л - общепринятый показатель “нормы”), Т4 ( $109,9 \pm 1,8$  нмоль/л и  $100, \pm 2,0$  нмоль/л соответственно), Т3 ( $2,32 \pm 0,05$  нмоль/л, при показателе “нормы” -  $1,54 \pm 0,03$  нмоль/л). Обнаруженные различия значений концентрации ТТГ, Т4 и Т3 у здоровых лиц, характеризующие функционирование как центрального,

так и периферического звеньев системы “типофиз - щитовидная железа” могут служить основанием для обсуждения, на наш взгляд, важного вопроса: какова взаимосвязь между уровнем “нормальных” показателей и интерпретацией выявляемых на их основе нарушений функции ЩЖ.

В связи с этим полученные показатели тиреоидного статуса были интерпретированы и на основе использования показателей “нормы”, полученных в наших исследованиях у здоровых лиц. В результате такого подхода произошло “перераспределение” обследуемых лиц по группам со скрытым гипер- и гипотиреозом (табл.2), которое проявлялось в “снижении” как числа лиц с доклиническими нарушениями функционирования системы “типофиз - щитовидная железа”, так и соответственно числа лиц, которые были отнесены в группы с гипер- и гипотиреозом, т.е. среди обследуемых лиц произошел сдвиг в сторону “оздоровления”.

В случаях с гипертиреозом по-прежнему преобладала субклиническая его форма. При гипотиреозе уменьшалось число лиц с субклинической и клинически выраженной стадиями гипотиреоза. Таким образом, использование общепринятых показателей “нормы” для тиреоидных гормонов и белков приводит к “завышению” числа случаев с нарушениями функции ЩЖ.

Таблица 2

Сравнительная характеристика тиреоидного статуса обследуемых лиц, полученная на основе различных показателей “нормы” тиреоидных гормонов

	Всего обследовано:	из них:						
		Здоровые лица	ГИПЕРТИРЕОЗ:			ГИПОТИРЕОЗ:		
			Всего	в том числе		всего	в том числе:	
На основании общепринятых показателей "нормы"	727	303 41,5%	209 28,8%	Субклинический	197 94%	215 29,7%	Субклинический	207 96,3%
				Клинически выраженный	12 6%		Клинически выраженный	8 3,7%
На основании выявленных показателей “нормы” в группе здоровых лиц (1999-2002)	727	491 67,5%	31 4,3%	Субклинический	15 48,4%	203 28,2%	Субклинический	199 98%
				Клинически выраженный	16 51,6%		Клинически выраженный	4 2%

На наш взгляд, использование значений показателей “нормы”, полученных в наших исследованиях, более объективно и адекватно отражает функциональное состояние изучаемой эндокринной системы в новых экологических условиях, возникших на территории Республики Беларусь спустя 18 лет после аварии на ЧАЭС. Все вышеизложенное дает основание поставить вопрос о необходимости пересмотра существующих показателей “нормы” для регуляторов тиреоидного статуса и разработки новых региональных показате-

телей, отражающих истинный уровень регуляции, характерный для населения республики Беларусь

## 2. Иммунохимическая диагностика аутоиммунного поражения ЩЖ и изучение его роли в патогенезе различных форм гипотиреоза

**Концентрация аутоантител к ТГ, МСФ и ТПО как количественный критерий развития аутоиммунного процесса.** Уровень аутоантител к ТГ, предшественнику синтезируемых из него периферических гормонов ЩЖ, МСФ – основному компоненту тироцитов и ТПО, ключевому ферменту гормоногенеза, определяли методами РИА и ИФА. Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Концентрация АТ-ТГ, АТ-МСФ и АТ-ТПО в сыворотке крови у здоровых лиц, лиц с субклиническим и клинически выраженным гипотиреозом

Обследуемые группы	АТ - ТГ Ед/мл	АТ – МСФ МЕ/мл	АТ - ТПО МЕ/мл
Здоровые лица, (n=34)	25,58±1,83	32,33±4,58	8,9±0,1
Лица с субклиническим гипотиреозом, (n=42)	98,74±3,1* **	96,91±6,99***	53,34±1,44***
Лица с клинически выраженным гипотиреозом, (n=40)	785,45±13,8*	742,23±65,8*	216,52±9,45*

\* - достоверность различий с контрольной группой  $p < 0,05$ ,

\*\* - достоверность различий с клинически выраженным гипотиреозом  $p < 0,05$ .

Как видно из таблицы концентрация АТ-ТГ в группе лиц с субклиническим гипотиреозом был выше в 3,9 раза по сравнению с контрольной группой, а в группе с клинически выраженным гипотиреозом – в 30 раз. Уровень АТ-МСФ в группе лиц с субклиническим гипотиреозом был выше 2,9 раза, а в группе с клинически выраженным гипотиреозом – в 23 раза по сравнению со здоровыми лицами. Концентрация АТ-ТПО при субклиническом гипотиреозе была в 6 раз выше, а при клинически выраженном гипотиреозе – в 24 раза выше по сравнению с контрольной группой. Таким образом, обнаружено значительное повышение концентрации всех изученных разновидностей аутоантител уже на стадии субклинического гипотиреоза, которое значительно возрастало по мере развития гипотиреоза. Обнаруженная динамика концентраций аутоантител доказывает сочетанное прогрессирование аутоиммунизации и гипофункции ЩЖ по мере развития патологии.

Так как ТПО является основной частью микросомальной фракции ЩЖ, мы провели корреляционный анализ связи между значениями концентраций этих АТ в изучаемых группах. Была установлена прямая корреляционная связь уровня АТ-МСФ и АТ-ТПО, при этом коэффициент корреляции составил 0,9 ( $p < 0,05$ ). Полученные результаты указывают на возможность использования для диагностики аутоиммунных тиреоидных нарушений одного из

двух изученных видов аутоантител (АТ-ТПО или АТ-МСФ), так как проведенные исследования показали их взаимозаменяемость.

Анализ распределения аутоантител к ТГ и ТПО среди обследованных лиц показал, что среди лиц с субклиническим гипотиреозом у 36% было выявлено повышение концентрации АТ-ТГ, а у 24% - только АТ-ТПО, сочетанное повышение АТ-ТГ и АТ-ТПО обнаружено у 29%, а у 11% обследуемых концентрации АТ-ТГ и АТ-ТПО оставались в пределах нормы. Среди лиц с клинически выраженным гипотиреозом у 18% обнаружено увеличение количества только АТ-ТГ. В 72% случаев отмечалось сочетанное повышение уровня АТ-ТГ и АТ-ТПО. У 10% обследуемых концентрации АТ-ТГ и АТ-ТПО оставались в пределах нормы. Полученные результаты показывают, что у лиц с субклиническим гипотиреозом в большем числе случаев присутствуют АТ-ТГ, в то время как при клинически выраженном гипотиреозе преобладают лица с повышением концентрации двух типов аутоантител (АТ-ТГ и АТ-ТПО). В то же время в обеих изучаемых группах у 10% обследуемых не обнаружено повышения концентрации АТ-ТГ и АТ-ТПО, что, вероятно, может быть проявлением индивидуальной гипореактивности иммунной системы на конкретный аутоантиген, опосредуемой в некоторых случаях дефектами Ig-генов – генов иммунного ответа (Immune response).

Исходя из полученных результатов можно заключить, что сочетанный ИХА двух и более видов антитиреоидных аутоантител существенно повышает эффективность лабораторной верификации аутоиммунного поражения ЩЖ.

***Патогенетическая роль аутоантител к ТГ и ТПО различных подклассов Ig G.*** Известно, что АТ-ТГ и АТ-ТПО, в основном, принадлежат к IgG, однако, их принадлежность к различным подклассам IgG (G1-G4) при гипотиреозе мало изучена. Между тем подклассы IgG различаются по функциям, выполняемым ими в организме, что обусловлено различиями в структуре тяжелых цепей иммуноглобулиновой молекулы. В связи с этим мы провели ИФА концентраций IgG и их подклассов, формирующих АТ-ТГ и АТ-ТПО у лиц с различными формами гипотиреоза.

Концентрация IgG, представленных АТ-ТГ, у здоровых лиц была равна  $15,6 \pm 0,5$  нг/л, в то время как у лиц с субклиническим и клинически выраженным гипотиреозом она была достоверно выше ( $p < 0,05$ ) и составляла  $63,29 \pm 0,7$  нг/л и  $322,27 \pm 1,2$  нг/л соответственно. Для удобства анализа был рассчитан удельный вес (в процентах) подклассов АТ-ТГ-IgG у всех обследованных лиц, что представлено на рисунке 1.

Анализ удельного веса подклассов IgG, формирующих АТ-ТГ у всех обследованных лиц показал, что у здоровых лиц большую часть АТ-ТГ составляли IgG2 и IgG3. У лиц с субклиническим гипотиреозом увеличивалось количество IgG4 почти до 30% от общего числа иммуноглобулинов, а уровень IgG2 имел тенденцию к снижению (до 20%). В то же время у лиц с клинически выраженным гипотиреозом основная масса АТ-ТГ была представлена на IgG2 и IgG4. В целом с нарастанием гипофункции ЩЖ возрастал удель-

ный вес IgG4 на фоне снижения количества IgG2 и IgG3. Таким образом, результаты исследования показали, что АТ-ТГ, в основном, представлены IgG2 и IgG4, которые не способны активировать комплемент, и в связи с этим, возможно, они не оказывают серьезного повреждающего действия на клетки ЩЖ.

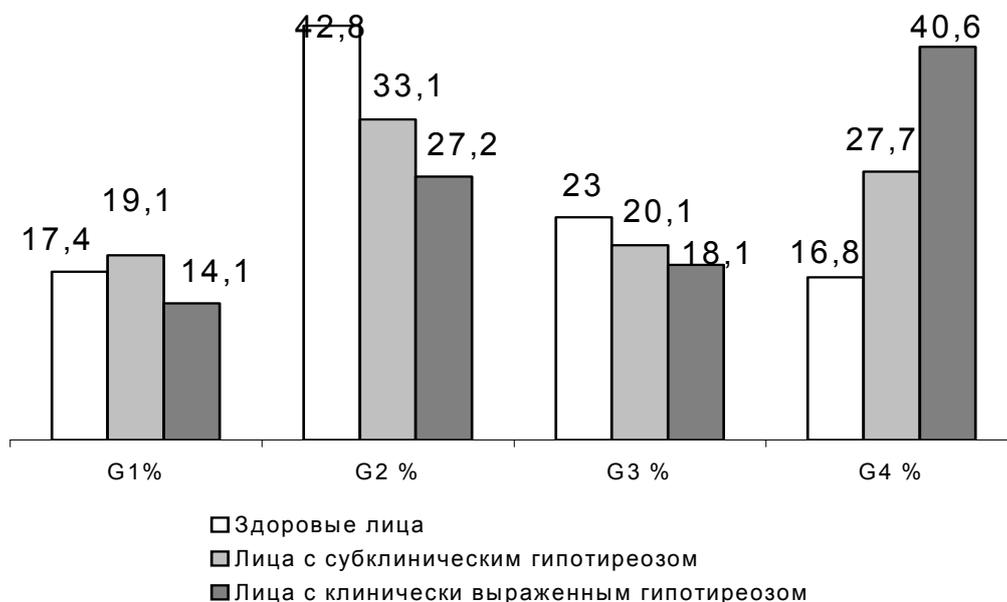


Рис.1. Содержание подклассов IgG (%), формирующих АТ-ТГ, у здоровых лиц и лиц с различными формами гипотиреоза

В группе с субклиническим гипотиреозом общее количество IgG, представленных АТ-ТПО, составило  $162,6 \pm 2,9$  нг/л, а у лиц с клинически выраженным гипотиреозом -  $265 \pm 1,9$  нг/л и было достоверно выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой здоровых лиц ( $15,6 \pm 1,5$  нг/л). Удельный вес подклассов АТ-ТПО-IgG у всех исследуемых представлен на рис.2.

У лиц с различными формами гипотиреоза преобладали IgG1 и IgG4. По сравнению с распределением по подклассам АТ-ТГ шло увеличение доли IgG1, на фоне незначительной тенденции к снижению других подклассов – IgG2 – IgG4. И по мере развития гипотиреоза увеличивался удельный вес IgG1 на фоне достаточно высокого уровня IgG4. Таким образом, значительную долю АТ-ТПО составляли IgG1(37,7%), которые как известно, активируют комплемент по классическому пути и осуществляют “антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность”. В силу этого можно предположить, что именно этими факторами обусловлены более выраженные деструктивные свойства АТ-ТПО по сравнению с АТ-ТГ.

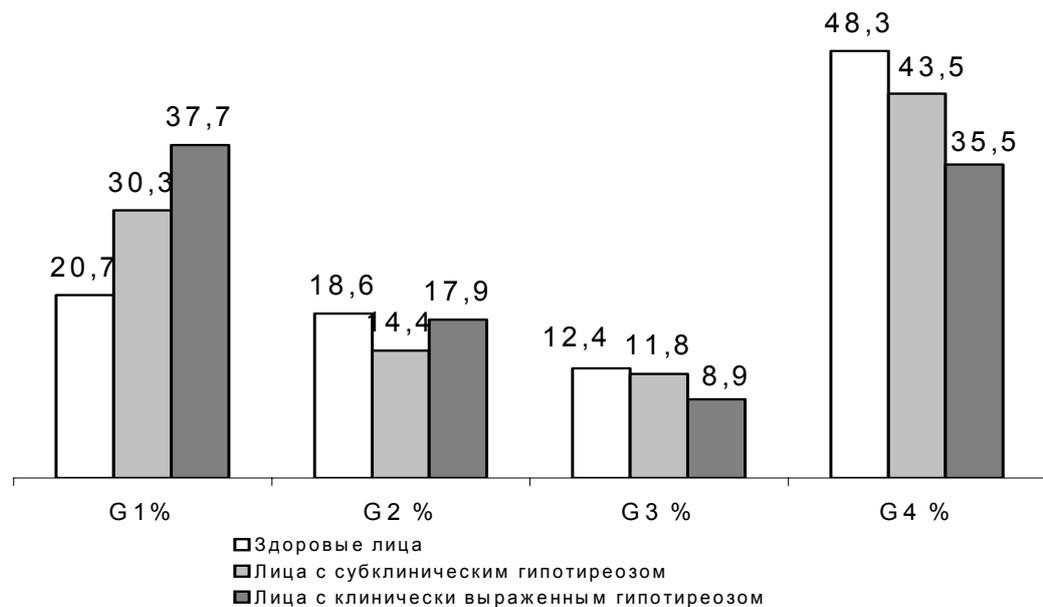


Рис.2. Содержание подклассов IgG (%), формирующих АТ-ТПО, у здоровых лиц и лиц с различными формами гипотиреоза

### 3. Участие клеточного звена иммунитета в патогенезе гипотиреоза

**Изучение сенсибилизации и иммунореактивности лимфоцитов на антигены ЩЖ.** Была изучена пролиферативная активность лимфоцитов периферической крови у здоровых лиц и лиц с различными формами гипотиреоза под действием общепринятого неспецифического митогена – фитогемагглютинаина (ФГА) и антигенов ЩЖ - ТГ и ТПО с целью оценки возможности использования этих антигенов в реакции пролиферации лимфоцитов.

Обнаружена тенденция повышения уровня спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови у лиц с субклиническим ( $161,18 \pm 3,58$  имп/мин) и клинически выраженным ( $169,4 \pm 7,24$  имп/мин) гипотиреозом по сравнению с контрольной группой ( $149,78 \pm 3,43$  имп/мин), что свидетельствует об активации лимфоцитов у лиц с нарушениями функции ЩЖ.

Пролиферативная активность лимфоцитов, индуцированная ФГА и оцененная через индекс пролиферации (ИП), у лиц с субклиническим ( $87,71 \pm 8,02$ ) и клинически выраженным ( $51,37 \pm 3,1$ ) гипотиреозом была достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже, чем в контрольной группе ( $93,6 \pm 2,13$ ).

ИП лимфоцитов под влиянием антигена - ТГ у лиц с субклиническим ( $3,29 \pm 0,14$ ) и клинически выраженным гипотиреозом ( $3,14 \pm 0,24$ ) был практически одинаков, но достоверно ( $p < 0,05$ ) выше по сравнению со здоровыми лицами ( $0,8 \pm 0,12$ ) - в 4,1 и 3,9 раза соответственно.

Величина ИП при культивировании с ТПО у лиц с субклиническим гипотиреозом ( $3,54 \pm 0,18$ ) была в 4,2 раза, а при клинически выраженном гипотиреозом

тиреозе ( $4,89 \pm 0,37$ ) - в 5,5 раз выше ( $p < 0,05$ ), чем у здоровых лиц ( $0,89 \pm 0,07$ ). Пролиферативная активность лимфоцитов при клинически выраженном гипотиреозе была выше ( $p < 0,05$ ), чем при субклиническом гипотиреозе. Выявленные различия уровня пролиферации лимфоцитов периферической крови под действием ТГ и ТПО у лиц с субклиническим и клинически выраженным гипотиреозом позволяют говорить о сенсбилизации лимфоцитов к антигенам ЩЖ, выраженность которой возрастает по мере прогрессирования гипотиреоза. Полученные результаты позволяют обосновать использование ТГ и ТПО для изучения механизмов аутосенсбилизации и иммунореактивности на антигены ЩЖ.

**Клинико-диагностическая и патогенетическая роль  $\gamma$ -интерферона в развитии гипотиреоза.** С целью оценки роли клеточного звена иммунорегуляции в патогенезе гипотиреоза нами была изучена и концентрация  $\gamma$ -IFN в сыворотке крови здоровых лиц и лиц с различными формами гипотиреоза в силу доказанного участия его в различных реакциях клеточного иммунитета, опосредованных цитотоксическими CD8+-Т-лимфоцитами, CD4+-Т-хелперами 1 типа, натуральными киллерами и др.

Результаты оценки концентрации  $\gamma$ -IFN методом твердофазного ИФА показали, что уровень  $\gamma$ -IFN у лиц с субклиническим гипотиреозом был выше в 21 раз, а у лиц с клинически выраженным гипотиреозом - в 25 раз по сравнению с контрольной группой (табл. 4). Однако, между группами лиц с субклиническим и клинически выраженным гипотиреозом не выявлено статистически достоверных различий концентраций  $\gamma$ -IFN.

Таблица 4

Концентрация  $\gamma$ -IFN ( $M \pm m$ ) в сыворотке крови здоровых лиц и лиц с различными формами гипотиреоза

Обследуемые группы	$\gamma$ -IFN (МЕ/мл)
Здоровые лица – контрольная группа, (n=34)	$0,05 \pm 0,01$
Лица с субклиническим гипотиреозом, (n=42)	$1,06 \pm 0,03^*$
Лица с клинически выраженным гипотиреозом, (n=40)	$1,25 \pm 0,09^*$

\* - достоверность различий с контрольной группой  $p < 0,05$ .

Обнаруженное повышение уровня  $\gamma$ -IFN при гипотиреозе различных стадий доказывает участие механизмов клеточного звена иммунорегуляции в развитии этой патологии. Однако, отсутствие достоверных различий его концентраций между донозологической и клинически выраженной формами гипотиреоза позволяет говорить о недостаточной информативности этого теста при изучаемых видах патологии.

#### **4. Патогенетическая роль Fas-рецептора (CD95) – маркера апоптоза в развитии тиреоидной патологии**

Нами разработан метод иммуноферментного анализа растворимой формы Fas-рецептора (sFasR), принцип которого основан на специфическом

взаимодействии FasR с моноклональными антителами (МАТ) к нему, иммобилизованными на твердой фазе (полистироловом планшете). Образовавшийся комплекс “МАТ – sFasR” выявляли с помощью МАТ к sFasR другой специфичности, меченных пероксидазой хрена. Количество связавшегося конъюгата определяли с помощью субстрат-хромогенной смеси, регистрируя оптическую плотность (при длине волны 492 нм) на многоканальном спектрофотометре, величина которой находилась в прямой зависимости от концентрации sFasR.

С помощью разработанного метода была изучена концентрация sFasR у здоровых лиц, лиц с различными формами гипотиреоза и у больных, прооперированных по поводу рака ЩЖ (группа сравнения) и оценена его дифференциально-диагностическая, патогенетическая и прогностическая значимость. Полученные результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

## Концентрация sFasR в сыворотке крови обследуемых лиц (M±m)

Обследуемые группы	Количество CD95 в УЕ
Контрольная группа - здоровые лица, (n=34)	356,9±47,69
Субклинический гипотиреоз, (n=42)	1035,69±202,6*
Клинически выраженный гипотиреоз, (n=40)	763,6±46,18*
Рак ЩЖ, (n=15)	106,0±4,79*

\* - достоверность различий по сравнению с контрольной группой  $p < 0,05$ .

В группе обследуемых с субклиническим гипотиреозом отмечалось повышение уровня sFasR в 2,9 раза, а у лиц с клинически выраженным гипотиреозом – в 2 раза по сравнению с контрольной группой. В то же время концентрация sFasR у лиц с раком ЩЖ была снижена в 3 раза по сравнению с контрольной группой. Таким образом концентрация sFasR повышается при гипотиреозе, причем степень этого повышения зависит от стадии гипотиреоза: если при субклиническом гипотиреозе экспрессия sFasR достаточно высока, то при клинически выраженном она снижается, однако, остается существенно выше, чем у здоровых лиц. В то же время у больных раком ЩЖ уровень sFasR в крови значительно снижен по сравнению с контролем. Все вышеизложенное позволяет говорить о взаимосвязи характера патологических нарушений в ЩЖ с уровнем экспрессии Fas-рецептора и, тем самым, с функционированием системы Fas-рецептор - Fas-лиганд, которая является, по современным воззрениям, пусковым сигналом апоптоза. Кроме того, снижение уровня FasR по мере прогрессирования гипофункции ЩЖ может служить важным патогенетическим маркером глубоких нарушений механизмов апоптоза при гипотиреозе и, вероятно, прогностическим критерием риска возникновения опухолевого поражения ЩЖ. В связи с этим мы склонны рекомендовать проведение ИХА концентрации FasR в динамике развития гипотиреоза: появление тенденции к снижению уровня FasR, вероятно, требует, более

тщательного обследования таких пациентов на предмет исключения онкопатологии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам работы сделаны следующие **выводы**:

1. У здоровых лиц с помощью ИХА выявлены нарушения в функционировании системы “гипофиз - щитовидная железа” в виде донозологических форм гипер- и гипотиреоза (58,6% обследуемых). Субклинический гипотиреоз обнаружен в 28,4%, а субклинический гипертиреоз – 27,1% случаев от общего числа обследованных. Выявлены различия между значениями общепризнанных показателей “нормы” концентраций ТТГ, Т3, Т4 и определенных нами у здоровых лиц, что обосновывает необходимость пересмотра существующих показателей “нормы” для тиреоидных гормонов и белков и разработки новых “региональных” показателей для названных соединений, наиболее адекватно отражающих функциональное состояние эндокринной системы в новых экологических условиях на территории Беларуси [1, 5, 8].

2. Обнаружено повышение уровня аутоантител различной специфичности (АТ-ТГ, АТ-ТПО/АТ-МСФ, АТ-ТГ + АТ-ТПО/АТ-МСФ) у лиц с субклиническим и клинически выраженным гипотиреозом. Выявление АТ-ТГ и АТ-ТПО при доклинической форме гипотиреоза подтверждает развитие аутоиммунного синдрома на ранней стадии заболевания. По мере развития гипотиреоза повышается процент сочетанного содержания аутоантител (АТ-ТГ + АТ-ТПО/АТ-МСФ) с 29% случаев при субклиническом до 72% - при клинически выраженном гипотиреозе, что доказывает необходимость проведения ИХА двух и более типов аутоантител в целях повышения эффективности диагностики аутоиммунного поражения ЩЖ. Прямая корреляция между концентрациями АТ-МСФ и АТ-ТПО (коэффициент корреляции – 0,9) подтверждает взаимозаменяемость этих двух тестов и доказывает возможность использования для диагностики аутоиммунных нарушений одного из двух типов аутоантител (АТ-МСФ или АТ-ТПО) [10, 13, 17].

3. Иммунохимический анализ общего IgG и подклассов IgG1-IgG4, формирующих АТ-ТГ и АТ-ТПО, выявил, что при субклиническом гипотиреозе большая часть IgG представлена АТ-ТПО, которые обладают более выраженным деструктивным воздействием на ткань ЩЖ по сравнению с АТ-ТГ. Обнаружены значительные различия в распределении аутоантител по подклассам: среди АТ-ТГ преобладали IgG2, в то время как среди АТ-ТПО – IgG4. Нарастание явлений гипотиреоза приводило к перераспределению этих аутоантител по подклассам: среди АТ-ТГ преобладали IgG2 и IgG4, а АТ-ТПО - IgG1 и IgG4. Различия в распределении аутоантител по подклассам IgG могут быть одним из патогенетических механизмов аутоиммунных нарушений из-за разного повреждающего действия подклассов IgG на ткань ЩЖ [12, 15, 16].

4. Повышение индекса пролиферации лимфоцитов периферической крови под влиянием антигенов ЩЖ (ТГ и ТПО) у лиц с субклиническим гипотиреозом в 4,1 и 4,2 раза, а у лиц с клинически выраженным гипотиреозом в 3,9 и 5,5 раз, соответственно, по сравнению со здоровыми лицами, подтверждает возможность их использования в качестве митогенов для оценки степени выраженности аутосенсбилизации и иммунореактивности при гипотиреозе различных стадий [9, 17].

5. Обнаруженное с помощью разработанного метода ИФА повышение концентрации FasR/CD95 – маркера апоптоза при субклиническом ( $1035,69 \pm 202,6$  УЕ) и клинически выраженном гипотиреозе ( $763,6 \pm 46,2$ ) и ее снижение при раке ЩЖ ( $106,0 \pm 4,79$ ) по сравнению со здоровыми лицами ( $356,9 \pm 47,7$ ) доказывает важную роль механизмов апоптоза в развитии патологии ЩЖ и обосновывает возможность использования этого теста в качестве дифференциально-диагностического, патогенетического и прогностического критерия при патологии ЩЖ различного генеза [2, 3, 14].

6. ИХА является современным адекватным методом для разработки количественных критериев оценки функционирования различных звеньев иммуоэндокринного статуса в норме и при патологии (субклиническом и клинически выраженном гипотиреозе) и использовании их в выявлении донозологических нарушений функции ЩЖ, изучении патогенетической роли механизмов аутосенсбилизации, иммунореактивности и апоптоза при различных формах гипотиреоза [1, 4, 6].

### **Практические рекомендации**

1. РИА (ИФА и др.) тиреоидных гормонов и белков рекомендуется включать в комплексное клиничко-лабораторное обследование при проведении скрининга здоровых лиц с целью выявления ранних донозологических нарушений функции ЩЖ, достоверного разграничения состояний эу-, гипер- и гипотиреоза и формирования на основе выявленных нарушений групп риска для последующего динамического слежения за развитием патологии и разработки индивидуальных лечебно-профилактических рекомендаций.

2. С целью диагностики и оценки степени выраженности аутоиммунных нарушений рекомендуется проводить сочетанный ИХА двух и более аутоантител к антигенам ЩЖ.

3. ИФА концентрации Fas-рецептора рекомендуется в качестве дополнительного критерия при дифференциальной диагностике патологии ЩЖ различного генеза.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИС-СЕРТАЦИИ

1. Пивень Н.В., Пилатова Н.Л., Лухверчик Л.Н., Соловей В.В., Кравчук В.Г., Мохорт Т.В. Радиоиммунный анализ в выявлении донозологических нарушений функционирования системы "гипофиз - щитовидная железа" // Вести НАН Беларуси, серия биологические науки. – 2001. - №2. - С.104-108.
2. Пивень Н.В., Новиков В.В., Лухверчик Л.Н., Кузьменкова Е.И. Иммуноферментный анализ Fas-рецептора (CD95) у лиц с патологией щитовидной железы // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2001. - №3. - С.15-20.
3. Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н., Орлова Е.Е., Гончарик А.В. FAS/CD95 – опосредованный апоптоз в патогенезе различных заболеваний (Обзор) // Сб. “Биорегуляторы: Использование и применение”. – Минск, УП “Технопринт”, 2003. – С.53-61.
4. Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н., Пилатова Н.Л., Соловей В.В., Кузьменкова Е.И., Кравчук В.Г. Возможности радиоиммуноанализа для выявления ранних донозологических нарушений функции щитовидной железы // Медицинская иммунология (Санкт-Петербург). – 1999. - № 3-4. - С. 80-81.
5. Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н. Радиоиммуноанализ (РИА) – основа разработки автоматизированной системы донозологического скрининга и мониторинга нарушений щитовидной железы // Сб. трудов международной конференции иммунологов и аллергологов. – Дагомыс.- 2000.- С.332.
6. Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н., Кузьменкова Е.И., Соловей В.В. Создание автоматизированной системы донозологического скрининга и мониторинга нарушений функции щитовидной железы на основе иммунохимического анализа // Сб. трудов съезда иммунологов Республики Беларусь. – Гомель. - 2000 г. - С.265-267.
7. Лухверчик Л.Н. Выявление донозологических нарушений функционирования системы "гипофиз-щитовидная железа" средствами современного иммунохимического анализа // Сб. материалов Республиканской конференции молодых ученых и студентов "Сахаровские чтения". – Минск. - 2000 г. - С.195-197.
8. Лухверчик Л.Н. Диагностика доклинических нарушений функции щитовидной железы с применением средств современного иммунохимического анализа // Сб. материалов Третьей Международной конференции молодых ученых "Экологические проблемы XXI века". – Минск. - 2000 г. - С. 199-201.
9. Лухверчик Л.Н., Шило Е.А. Оценка пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови у лиц со скрытым и клинически выраженным гипотиреозом // Сб. материалов Республиканской конфе-

ренции молодых ученых и студентов "Сахаровские чтения". – г.Минск. - 2001 г.- С.169-170.

10. Piven N.V., Luchverchik L.N., Kuzmenkova E.I., Solovei V.V., Kravchuk V.G. Reveal of autoantibodies to thyroglobulin and thyroperoxidase in people with latent and clinically obvious hypothyroidism, resulted from autoimmune pathology of thyroid gland // Int. Journal on Immunorehabilitation. - 2001.- Vol.3, N 1. - P.109.

11. Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н. Анализ Fas-рецептора у лиц с патологией щитовидной железы // Аллергология и Иммунология. - 2001. - Т.2, №2. - С.120-121.

12. Лухверчик Л.Н., Пивень Н.В., Кузьменкова Е.И. Радиоиммунный анализ в диагностике нарушений функции щитовидной железы // Сборник тезисов докладов III международного симпозиума "Актуальные проблемы дозиметрии" (15 лет после Чернобыльской катастрофы). – Минск. - 2001г. - С.108-110.

13. Пивень Н. В., Лухверчик Л.Н. Иммунохимический анализ аутоантител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе при различных формах гипотиреоза // Медицинская иммунология (Санкт-Петербург). - 2002. – Т.4., №2.-С.203.

14. Luchverchik L., Piven N. Soluble form of Fas-receptor in patients with thyroid pathology // Sixth John Humphrey advanced summer programme in immunology. – Pushchino. – 2002. - P.79.

15. Luchverchik L., Piven N. IgG subclass distribution antithyroid-peroxidase and antithyroglobulin antibodies in different forms of hypothyroidism // Abstract Book of XXII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. – Paris. – 2003. – P.48.

16. Лухверчик Л.Н., Пивень Н.В. Изучение субклассов IgG, формирующих антитела к тиреопероксидазе и тиреоглобулину при различных формах гипотиреоза // Медицинская иммунология (Санкт-Петербург). - 2003. –Т.5, №3-4. - С.259.

17. Piven N., Luchverchik L. Immunochemical analysis as differential estimation of autoimmune disorders at hypothyroidism development // Int. Journal on Immunorehabilitation.-2003.- V.5, N 1.-P.84.

## РЭЗІЮМЭ

Лухверчык Людміла Мікалаеўна

### Імунахімічны аналіз у дыягностыцы і вывучэнні патагенезу розных форм гіпатэрыезу

**Ключавыя словы:** імунахімічны аналіз, гіпатэрыез, шчытападобная залоза, апаптоз, аўтаімунітэт, дыягностыка, патагенез.

**Аб'екты і прадмет даследавання:** Аб'ект - здаровыя асобы ва ўзросце ад 18 да 45 гадоў, асобы з субклінічным гіпатэрыезам і пацыенты з клінічна выразаным гіпатэрыезам. Прадмет - рэгулятары тэрыоіднага статусу (тэрыятропны гармон, ціраксін, трыодціранін, ціраксінзвязваючы глабулін і ціраглабулін), аўтаантыцелы да ціраглабуліну (АЦ-ЦГ), мікрасамальнай фракцыі (АЦ-МСФ) і цірапераксідазы (АЦ-ЦПА) розных падкласаў імунаглабулінаў G (IgG),  $\gamma$  – інтэрферон, Fas – рэцептар і антыгены шчытападобнай залозы (ШЗ) – ЦГ і ЦПА.

**Мэта даследавання:** Ацаніць выкарыстанне імунахімічнага аналізу (ІХА) для дыягностыкі парушэнняў функцыянавання сістэмы “гіпофіз - шчытападобная залоза”, вывучэння імунапатагенезу субклінічнага і клінічнага гіпатэрыеза і ацэнкі клініка-дыягнастычнай, патагенетычнай і прагнастычнай значнасці выяўленых парушэнняў з дапамогай распрацаваных колькасных крытэрыяў.

**Метады даследавання:** радыяімуны і імунаферментны аналіз (ІФА), метады ацэнкі праліфератыўнай актыўнасці лімфацытаў, статыстычныя метады.

**Навуковыя вынікі:** Упершыню распрацавана навукова-абгрунтаваная метадалогія выкарыстання сродкаў сучаснага ІХА для правядзення скрынінгу здаровых асоб шляхам ацэнкі тэрыоіднага статусу з мэтай выяўлення даназалагічных парушэнняў функцыянавання сістэмы “гіпофіз - шчытападобная залоза”, дакладнага размежавання стану эу-, гіпер- і гіпатэрыезу і фарміравання на выснове выяўленых парушэнняў груп рызыкі для наступнага дынамічнага назірання за развіццём паталогіі. Абгрунтавана перавага выкарыстання спалучанага ІХА дзвюх і больш аўтаантыцел да аўтаантыгенаў ШЗ, што павышае эфектыўнасць дыягностыкі і ацэнкі ступені выяўлення аўтаімуных парушэнняў. Упершыню выяўлены адрозненні ў размеркаванні АЦ-ЦГ і АЦ-ЦПА па падкласах IgG, што можа з'яўляцца адным з патагенетычных механізмаў аўтаімуных парушэнняў у сілу разнастайнага пашкоджваючага дзеяння падкласаў IgG на тканку ШЗ. Паказана магчымасць выкарыстання ЦПА і ЦГ у якасці мітагенаў для ацэнкі аўтасенсібілізацыі і імунарэактыўнасці пры гіпатэрыезе розных стадый. Даказана дыферэнцыяльна-дыягнастычная, патагенетычная і прагнастычная важнасць канцэнтрацыі FasR – маркера апаптозу пры паталогіі ШЗ рознага генэзу.

**Галіна выкарыстання:** клінічная і эксперыментальная імуналогія, эндакрыналогія, клінічная біяхімія.

## РЕЗЮМЕ

Лухверчик Людмила Николаевна

### Иммунохимический анализ в диагностике и изучении патогенеза различных форм гипотиреоза

**Ключевые слова:** иммунохимический анализ, гипотиреоз, щитовидная железа, апоптоз, аутоиммунные нарушения, диагностика, патогенез.

**Объекты и предмет исследования:** здоровые лица в возрасте от 18 до 45 лет, лица с субклиническим гипотиреозом и пациенты с клинически выраженным гипотиреозом. Предмет - регуляторы тиреоидного статуса (тиреотропный гормон гипофиза, тироксин, трийодтиронин, тироксинсвязывающий глобулин и тиреоглобулин), аутоантитела к тиреоглобулину (АТ-ТГ), микросомальной фракции (АТ-МСФ) и тиреопероксидазе (АТ-ТПО) различных подклассов иммуноглобулина G (IgG),  $\gamma$  – интерферон, Fas – рецептор (FasR) и антигены щитовидной железы (ЩЖ) – ТПО и ТГ.

**Цель работы:** Оценить использование ИХА для диагностики доклинических нарушений функционирования системы “гипофиз–щитовидная железа”, изучения иммунопатогенеза субклинического и клинически выраженного гипотиреоза и оценки клинико-диагностической, патогенетической и прогностической значимости выявленных нарушений с помощью разработанных количественных критериев.

**Методы исследования:** радиоиммунный и иммуноферментный анализ (ИФА), метод оценки пролиферативной активности лимфоцитов, статистические методы.

**Научные результаты:** Впервые разработана научно-обоснованная методология использования средств современного ИХА для скрининга здоровых лиц путем оценки тиреоидного статуса с целью выявления скрытых донозологических нарушений функционирования системы “гипофиз-щитовидная железа”, достоверного разграничения состояний эу-, гипер- и гипотиреоза и формирования на основе выявленных нарушений групп риска для динамического слежения за развитием патологии. Обосновано использование сочетанного ИХА двух и более антител к аутоантигенам ЩЖ, что повышает эффективность диагностики и оценки степени выраженности аутоиммунных нарушений. Впервые обнаружены различия в распределении АТ-ТГ и АТ-ТПО по подклассам IgG, что может являться одним из патогенетических механизмов аутоиммунных нарушений в силу различного повреждающего действия подклассов IgG на ткань ЩЖ. Показана возможность использования антигенов ЩЖ - ТПО и ТГ в качестве митогенов для оценки аутосенсibilизации и иммунореактивности при гипотиреозе различных стадий. Доказана дифференциально-диагностическая, патогенетическая и прогностическая значимость концентрации FasR – маркера апоптоза при патологии ЩЖ различного генеза.

**Область применения:** клиническая и экспериментальная иммунология, эндокринология, клиническая биохимия.

## SUMMARY

### **Lukhverchyk Liudmila Nikolaevna Immunochemical analysis in diagnosis and study of hypothyroidism different forms pathogenesis**

**Key words:** immunochemical analysis, hypothyroidism, thyroid gland, apoptosis, autoimmunity disorders, diagnose, pathogenesis.

**Object and subject of the study:** Object of the study was health's people in age form 18 to 45 years, patients with latent hypothyroidism and patients with manifest hypothyroidism against background of autoimmune thyroiditis. Subject of the study was thyroid hormones and proteins (thyroid-stimulating hormone, triiodothyronine, thyroxine, thyroxine binding globulin and thyroglobulin) and indicators of humoral and cellular immunity - antithyroglobulin antibodies (antiTg Abs)/ anti microosomal antibodies (anti-MC abs) and antithyroid-peroxidase antibodies (anti-TPO Abs) of different subclasses (G1-G4) of immunoglobulin G (IgG),  $\gamma$  - interferon, Fas - receptor (FasR) и autoantigens of thyroid gland (TG) - TPO and TG.

**Purpose of the study:** to appreciate possibility of immunochemical analysis (ICA) use for diagnosis of subclinical functional disorders in system "pituitary - thyroid gland", investigation of hypothyroidism different form immunopathogenesis and estimation of diagnostic, pathogenesis and prognoses significance of the disorders with help quantitative criteria.

**Methods:** radioimmunoassay, enzyme immunoassay, method of estimation of lymphocytes proliferation activity, statistical methods.

**Results:** It was developed scientific methodology of quantitative ICA use for estimation thyroid status by health's people, diagnosis subclinical functional thyroid disorders, reliable division of hypothyroidism and hyperthyroidism, risk groups formation for further dynamic observation for pathology development. It was substantiated advantage of combination two and more antithyroid Abs immunochemical assay for effective diagnosis of autoimmunity disorders. It was revealed difference in IgG subclass distribution anti-TPO and anti-TG Abs that may be one of autoimmunity pathogenesis mechanisms. Since subclasses IgG had differences in destroy of thyroid tissue. It was showed possibility of TG and TPO use for estimation autosensibility and immunological reactivity to thyroid antigens by hypothyroidism different forms. It was proved differential-diagnostic, pathogenesis and prognosis significance of FasR concentration by thyroid pathology.

**Field of application:** clinical and experimental immunology, endocrinology, clinical biochemistry.