

І.Й.Сидорчук, Н.В.Пашковська

СТАН СПЕЦИФІЧНОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ХВОРИХ НА ДИFUЗНИЙ ТОКСИЧНИЙ ЗОБ

Кафедра клінічної імунології, алергології та ендокринології (зав. – проф. І.Й. Сидорчук)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Дослідження стану специфічного імунного захисту у хворих на дифузний токсичний зоб виявило зміни клітинної (зменшення як відносного, так і абсолютного рівня Т-лімфоцитів, зниження рівня Т-супресорів, зростання імунорегуляторного індексу та лейко-Т-клітинного індексу) та гуморальної (збільшення кількості В-лімфоцитів, зменшення лейко-В-клітинного індексу, підвищення концентрації IgG, зниження рівня показників IgM/Вл, IgG/Вл, IgA/Вл, зростання рівня неспецифічних циркулюючих імунних комплексів) ланок системи специфічного імунного захисту, що свідчить про формування та тривалість автоімунного процесу і потребує використання в комплексній терапії спеціальних методів імунореабілітації.

Ключові слова: дифузний токсичний зоб, специфічний імунний захист, автоімунні процеси.

Вступ. За даними ВООЗ впродовж року реєструється 290 нових випадків автоімунної патології на 100 тис. населення, а в Україні контингент таких хворих щорічно зростає на 145 тис. чоловік [1]. Серед цих патологічних станів чільне місце посідають захворювання щитоподібної залози.

Вивченню тиреоїдної патології присвячено чимало робіт, проте немає єдиної думки стосовно механізму розвитку багатьох захворювань щитоподібної залози. Дифузний токсичний зоб розглядається як імуногенетичне автоімунне захворювання, що підтверджується сімейними випадками зобу, високою частотою інших захворювань автоімунної патології серед членів родини, наявністю специфічних HLA-антигенів, що формують схильність до органоспецифічних імунних розладів [9].

Формуванню гуморальної імунної відповіді передують функціональні зміни показників клітинної ланки системи імунітету, що диктує необхідність оцінки регуляції імунної відповіді як на гуморальному, так і на клітинному рівні з метою ідентифікації порушеної ланки системи імунітету. Проте існуючі дані стосовно імунних порушень у хворих на дифузний токсичний зоб досить суперечливі, відрізняються великою варіабельністю [4], тому тільки комплексне вивчення основних показників системи імунітету може дати відповідну інформацію.

Мета дослідження. Вивчити стан регуляції імунної відповіді як на гуморальному, так і на клітинному рівні у хворих на дифузний токсичний зоб для ідентифікації порушеної ланки системи імунітету.

Матеріал і методи. Обстежено 15 хворих на дифузний токсичний зоб (3 – з тиреотоксикозом легкого ступеня, 6 – з тиреотоксикозом середнього ступеня і 6 з важким тиреотоксикозом) та 17 практично здорових осіб, що склали контрольну групу. Всі пацієнти знаходилися в стадії декомпенсації захворювання, тривалість якого складала від 2 до 13 років. У чотирьох хворих спостерігалась ІБ ступінь збільшення щитоподібної залози, у восьми – ІІ, у трьох – ІІІ ступінь. Діагноз захворювання встановлювався на підставі ретельного вивчення скарг, анамнестичних даних, фізичного та загальноклінічного обстеження, що доповнювалися клініко-лабораторними, біохімічними, інструментальними (УЗД) дослідженнями із залученням сучасних інформативних методів. Дослідження функціонального стану щитоподібної залози проводили за допомогою визначення вмісту в сироватці крові тироксину, трийодтироніну, тиреотропного гормону. Рівень тироксину визначали методом радіоімунного аналізу за допомогою набору ріо-Т4-ІІР, трийодтироніну – ріо-Т3-ІІР, тиреотропного гормону – РІА-ТТГ (Чехія) на радіоімунному аналізаторі "Гамма-12".

Для визначення показників системи імунітету з ліктьової вени в гепаринізований шприц набирали кров (10 мл крові і 50 ОД гепарину). Кров брали для визначення кількості лейкоцитів, виготовлення мазка з підрахунком лейкоформули, і після цього пробірку ставили інкубувати в термостат на 1 год. Сироватку після відстоювання центрифугували при 2000 G 5 хв, забирали для проведення реакції з метою визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), імуноглобулінів основних класів, а з лейкозависі виділяли лімфоцити, які вводили у реакції розеткоутворення, а також для цитохімічного методу.

Клітини крові отримували за допомогою традиційних методик [6].

Абсолютна та відносна кількість Т-лімфоцитів визначалися шляхом підрахунку відсотка Е-розеток у реакції спонтанного розеткоутворення [7].

Абсолютну та відносну кількість В-лімфоцитів визначали, підраховуючи відсоток ЕАС-комплексів у реакції ЕАС-розеткоутворення [8].

Т-хелпери визначали, додаючи до 0,1 мл лімфоцитів ($2 \cdot 10^6$ /мл) 0,1 мл 1%-вої зависі еритроцитів бика із специфічним кролячим IgG, інкубуючи при 37°C 30 хв у термостаті, центрифугували при 1500 G 5 хв, виготовляли мазки і підраховували кількість утворених розеток на 200 лімфоцитів [10].

Т-супресори визначали, додаючи до 0,1 мл зависі лімфоцитів ($2 \cdot 10^6$ /мл) 0,1 мл 1%-вої зависі еритроцитів бика із анти-IgM кролика, центрифугували 3 хв при 1500 G, інкубували 12 год при +4°C, фіксували розетки, виготовляли мазки і підраховували кількість на 200 лімфоцитів [10].

Імунорегуляторний індекс (ІРІ) — показник, що дає можливість оцінювати вплив імуноадгезивних властивостей мембран регуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів на формування імунної відповіді, вираховували за співвідношенням між Т-хелперами та Т-супресорами.

Для більш повної характеристики важкості перебігу захворювання визначали лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) та індекс алергізації (ІА), які вираховували за формулами:

$$\text{ЛІІ} = \frac{\text{плазм.кЛН} + \text{ю} + \text{п} + \text{с}}{\text{б} + \text{е} + \text{л} + \text{м}}$$

$$\text{ІА} = \frac{\text{л} + 10 \times (\text{е} + 1)}{\text{п} + \text{с}}$$

де ю — юні, п — паличкоядерні, с — сегментоядерні, б — базофіли, е — еозинофіли, л — лімфоцити, м — моноцити.

Неспецифічні циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) визначали додаванням до 0,5 мл сироватки 1,2 мл боратного буфера (рН 8,4), після чого перемішували і переносили по 0,3 мл у дві пробірки. В одну з них додавали 2,7 мл 0,1%-вого боратного буфера (контрольна проба), у другу — 2,7 мл 3,5%-вого розчину поліетиленгліколю (М 6000) на боратному буфері (дослідна проба). Після ретельного перемішування через 60 хв витримання при кімнатній температурі. На спектрофотометрі в кюветах розміром 1x1 см² при 450 Нм визначали оптичну густину зразків і, помноживши результат на 1000, отримували кількість ЦІК у 100 мл сироватки крові [3,7].

Отримані результати оброблені за допомогою статистичної програми Biostat.

Результати дослідження та їх обговорення. У хворих на дифузний токсичний зоб рівень лейкоцитів за даними лімфо-лейкоцитарної формули (табл. 1) вірогідно зменшувався. На цьому фоні зростала відносна кількість лімфоцитів без вірогідних змін абсолютного значення цього показника. Також спостерігалось вірогідне збільшення рівня базофілів та зменшення сегментоядерних лейкоцитів. Привертає увагу підвищення індексу алергізації відносно контролю.

Таблиця 1

Показники лімфо-лейкоцитарної формули периферійної крові у хворих на дифузний токсичний зоб (M±m)

№ пп:	Показник	Одиниці виміру	ДТЗ n=15	Контроль n=17	Ступінь імунологічних порушень	P відносно контролю
1.	Лейкоцити	10 ⁹ /л	6,11±0,42	7,26±0,09	-I	P<0,01
2.	Базофіли	%	0,14±0,09	0	-I	P<0,001
3.	Еозинофіли	%	1,76±0,11	1,81±0,08	-I	P>0,05
4.	Паличкоядерні	%	2,22±0,69	1,88±0,07	+I	P>0,05
5.	Сегментоядерні	%	57,81±1,32	60,59±0,45	-I	P<0,05
6.	Лімфоцити %	%	35,86±2,57	29,78±0,33	+I	P<0,05
7.	Лімфоцити абс.	10 ⁹ /л	2,19±0,79	2,16±0,18	+I	P>0,05
8.	Моноцити	%	2,21±0,31	6,35±0,21	-III	P<0,001
9.	ЛІІ	.	1,51±0,12	1,65±0,04	-I	P>0,05
10.	ІА	.	1,07±0,07	0,90±0,06	+I	P<0,05

Як відносний, так і абсолютний рівень Т-лімфоцитів (табл. 2) в обстежуваних пацієнтів вірогідно зменшувався відповідно II ступеня імунологічних порушень. Відмічалось виражене (II ступінь імунологічних порушень) зниження рівня Т-супресорів без вірогідних змін рівня Т-хелперів, що засвідчує про формування аутоімунних розладів у хворих на ДТЗ. Зниження Т-супресорів пояснюється теорією Вольпе [2], згідно якої дифузний токсичний зоб розвивається в організмі, який має дефект у системі "імунологічного виживання". За цих умов виживають і проліферують Т-лімфоцити, що виникають внаслідок спонтанної мутації і здатні реагувати з органоспецифічними антигенами (антигени щитоподібної залози), тобто з'являються форбідні ("заборонені") клони Т-лімфоцитів. Цей процес обумовлений саме зниженням Т-супресорів.

Таблиця 2

Показники клітинної ланки системи імунітету у хворих на дифузний токсичний зоб (M±m)

№ пп:	Показник	Одиниці виміру	ДТЗ n=15	Контроль n=17	Ступінь імунологічних порушень	P відносно контролю
1.	Т-лімфоцити	%	43,0±2,64	65,0±0,08	-II	P<0,001
2.	Т-лімфоцити абс.	10 ⁹ /л	0,94±0,13	1,40±0,14	-II	P<0,05
3.	Th	%	38,18±3,40	43,35±0,57	-I	P<0,001
4.	Ts	%	14,08±1,07	20,76±0,32	-II	P<0,001
5.	IRI		2,72±0,11	2,05±0,01	+II	P<0,001
6.	ЛТі		6,51±0,19	5,67±0,02	+I	P<0,001

Імунорегуляторний індекс вірогідно зростав відповідно II ступеня імунологічних порушень, що може свідчити про наявність гіперергічної реакції і феномену аутоімунності у досліджуваних пацієнтів. Лейко-Т-клітинний індекс вірогідно збільшувався, що свідчить про зменшення Т-лімфоцитів.

Кількість В-лімфоцитів як відносна, так і абсолютна (табл. 3) вірогідно збільшувалась і відповідала II ступеню імунологічних розладів. Привертає увагу різке зниження у пацієнтів (III ступінь імунологічних порушень) лейко-В-клітинного індексу порівняно з групою здорових осіб, що підтверджує зростання в периферичній крові В-лімфоцитів.

Таблиця 3

Зміни показників гуморальної ланки системи імунітету у хворих на дифузний токсичний зоб (M±m)

№пп:	Показник	Одиниці виміру	ДТЗ n=15	Контроль n=17	Ступінь імунологічних порушень	P відносно контролю
1.	В лімфоцити %	%	23,82±4,73	14,71±0,22	+II	P<0,05
2.	В лімфоцити абс.	10 ⁹ /л	0,53±0,06	0,32±0,048	+II	P<0,001
3.	ЛВІ		11,54±0,76	27,92±0,67	-III	P<0,001
4.	IgM	г/л	1,12±0,12	1,37±0,04	-I	P>0,05
5.	IgG	г/л	16,43±0,87	14,90±0,10	+I	P<0,05
6.	IgA	г/л	2,51±0,36	2,22±0,88	+I	P>0,05
7.	IgM+ IgG+ IgA В лімфоцити		36,44±3,74	30,86±1,02	+I	P>0,05
8.	IgM/Вл		2,11±0,25	5,27±0,23	-III	P<0,001
9.	IgG/Вл		31,0±2,83	57,31±0,76	-III	P<0,001
10.	IgA/Вл		4,74±0,51	8,54±0,46	-III	P<0,001P
11.	ЦІК	у.о.	158,2±11,74	89,24±0,71	+III	P<0,001

Концентрація IgG вірогідно зростала відносно контролю, IgM та IgA – не зазнавала істотних змін.

Відмічалось виражене (III ступінь імунологічних порушень) зниження рівня показників IgM/Вл, IgG/Вл, IgA/Вл, очевидно за рахунок зростання кількості В-лімфоцитів та зниження їх секреторної здатності.

Рівень неспецифічних циркулюючих імунних комплексів значно (III ступінь імунологічних порушень) підвищився порівняно з контрольною групою.

Таким чином, у хворих на дифузний токсичний зоб розвиваються різноманітні порушення лімфо-лейкоцитарної формули (зниження рівня лейкоцитів, підвищення вмісту базофілів і збільшення індексу алергізації), виникають зміни як клітинної (зменшення як відносного, так і абсолютного рівня Т-лімфоцитів, зниження рівня Т-супресорів, зростання імунорегуляторного індексу та лейко-Т-клітинного індексу), так і гуморальної (збільшення кількості В-лімфоцитів, зменшення лейко-В-клітинного індексу, підвищення концентрації IgG, зниження рівня показників IgM/Вл, IgG/Вл, IgA/Вл, зростання рівня неспецифічних циркулюючих імунних комплексів) ланок системи специфічного імунного захисту. Ці порушення свідчать про формування та тривалість аутоімунного процесу і потребують обов'язкової корекції, тобто в комплексній терапії слід додатково використовувати спеціальні методи імунореабілітації.

Висновки.

1. У хворих на дифузний токсичний зоб змінюються показники лейкоцитарної формули I ступеня. Кількість моноцитів знижується у 2,87 раза (III ступінь імунних порушень).

2. При дифузному токсичному зобі формується II ступінь імунних порушень клітинної ланки системи імунітету.

3. Дифузний токсичний зоб характеризується збільшенням відносної та абсолютної кількості В-лімфоцитів (II ступінь імунних порушень) та підвищенням концентрації IgG.

Література. 1. Дранік Г.М. Роль та місце клінічної імунології у структурі охорони здоров'я. Деякі підсумки та перспективи розвитку в Україні // Імунологія та алергологія. – 1998. – № 1-2. – С. 5-14. 2. Лазарева С.П., Кандорр В.П. Показатели клеточного иммунитета и их информативность при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы // Проблемы эндокринологии. – 1998. – Т. 34, № 4. – С. 49-53. 3. Осипов С.Г., Еремеев В.В., Руднев В.И. Методы определения иммунных комплексов // Лаб. дело. – 1983. – №11. – С. 3-7. 4. Чеботарев В.Ф. Современные представления о механизмах аутоиммунного процесса. Аутоагрессия и проблемы иммунореабилитации при эндокринной патологии // Імунологія та алергологія. – 1998. – № 1-2. – С. 59-64. 5. Bianco C., Patrick R., Nussenzweig V. A population of lymphocytes rearing a membrane receptor for antigen-antibody complement complexes. Separation and characterization // J. Exp. Med. – 1978. – V. 138. – P. 1565-1578. 6. Boyum L. Isolation of mononuclear and granulocytes from human blood // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1968. – V. 21. – P. 77-89. 7. Haskova V., Kaslik J., Riha I. et al. Simple method of circulation immune complex detection in human sera by polyethylenglycol precipitation // J. Immunol. – 1978. – V. 154, № 4. – P. 399-406. 8. Jondal M., Klein G. Surface markers on human B and T-lymphocytes // J. Exp. Med. – 1973. – V. 138. – P. 1365-1378. 9. McKenzie Hyperthyroidism // Endocrinology / Ed. DeGroot. – 1989. – Vol. 1. – P. 646-682. 10. Shore A., Dosh H., Gelfand E. W. Induction and separation of antigen-dependent T-helper and T-suppressor cells in man // Nature. – 1978. – V. 274. – P. 586-587.

CONDITION OF SPECIFIC IMMUNE DEFENCE IN PATIENTS WITH DIFFUSE TOXIC GOITER

I.I.Sydorchuk, N.V.Pashkovska

Abstract. A research of specific immune defence in patients with diffuse toxic goiter has revealed changes of the cellular (a decrease of both the relative, and absolute level of T-lymphocytes, a decrease of the level of T-suppressors, an increase of the immunoregulatory index and leuko-T-cellular index) and humoral (an increase of the level of B-lymphocytes, a decrease of the leuko-B-cellular index, an increase of IgG concentration, a decrease of the level of the parameters of IgM/BI, IgG/BI, IgA/BI, an increase of the level of non-specific circulating immune complexes) links of the system of specific immune defence, that is indicative of the formation and duration of the autoimmune process and requires the use of special methods immunorehabilitation in multimodality therapy.

Key words: diffuse toxic goiter, specific immune defence, autoimmune processes.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 03.10.2000р.