

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Направление медицина

Кафедра патологии

Допущен к защите:

Заведующий кафедрой патологии

к.м.н., доцент

Чурилов Леонид Павлович

«16» мая 2020 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему:

**Диагностическое и патогенетическое значение
лимфоцитов периферической крови при
аутоиммунном тироидите**

Выполнила:

студентка 606 группы

Иванчак Александра Андреевна

Научный руководитель:

профессор кафедры патологии, к.м.н., доцент

Строев Юрий Иванович

Санкт-Петербург

2020

Оглавление

Перечень условных обозначений и символов.....	3
Введение.....	5
Глава 1. Обзор литературы.....	9
1.1. Лимфоциты и их функции в организме.....	9
1.2. Современные представления о субпопуляциях лимфоцитов.....	15
1.3. Основные субпопуляции Т-хелперов.....	22
1.4. Роль лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных болезней.....	28
1.5. Лейкоцитарная формула и лимфоциты крови при аутоиммунном тиреоидите.....	32
1.6. Прогностическое значение лимфоцитоза при аутоиммунном тиреоидите.....	38
Глава 2. Характеристика клинического материала и методов исследования.....	42
2.1. Материал исследования.....	42
2.1.1. Пациенты первого этапа исследования.....	42
2.1.2. Пациенты второго этапа исследования.....	43
2.1.3. Пациенты третьего этапа исследования.....	44
2.2. Методы исследования.....	44
2.3. Статистическая обработка полученных данных.....	45
Глава 3. Результаты собственных исследований.....	47
3.1. Результаты первого этапа исследования.....	47
3.2. Результаты второго этапа исследования.....	54
3.3. Результаты третьего этапа исследования.....	61
Глава 4. Обсуждение результатов.....	63
Глава 5. Выводы.....	68
Список литературы.....	69
Благодарности.....	79
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	80
Опубликованные научные работы по теме ВКР.....	80

Уведомление

Работа поддержана грантом Правительства РФ (договор № 14.W03.31.0009 от 13.02. 2017 г.) о выделении гранта для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих учёных.

Перечень условных обозначений и символов

ААТ – антитироидные аутоантитела
АИТ – аутоиммунный тиреоидит
АПК – антигенпрезентирующие клетки
ИЛ – интерлейкин
КЗ – кортизол
ПРЛ – пролактин
РА – ревматоидный артрит
РТТГ – рецепторы тиротропного гормона
Св. Т3 – свободный трийодтиронин
Св. Т4 – свободный тироксин
СД – сахарный диабет
СКВ – системная красная волчанка
Т3 – трийодтиронин
Т4 – тироксин
ТГ – тироглобулин
ТПО – тиропероксидаза
ТТГ – тиротропный гормон
ФНО (TNF)– фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor)
ЧАЭС – Чернобыльская атомная электростанция
ЩЖ – щитовидная железа
BCR – В-клеточный рецептор
CD – поверхностный маркер лимфоцитов
СМ – клетки центральной памяти (Central Memory T cells)
COVID-19 – коронавирусная болезнь 2019 года
DC – дендритные клетки
ЕМ – эффекторные клетки (Effector Memory T cells)
IFN – интерферон
Ig - иммуноглобулин
IL- интерлейкин
МНС – главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex)
МЗВ – В-клетки маргинальной зоны
NK – натуральные (естественные) киллеры

РАМР – патоген-ассоциированный молекулярный фрагмент

TCR – Т-клеточный рецептор

TEMRA-клетки – короткоживущие эффекторные клетки

Tfh – фолликулярные Т-хелперы

TGFB - трансформирующий ростовой фактор бета (Transforming growth factor beta)

Th – Т-хелперы

Treg – Т-регуляторы

TRM – резидентные клетки памяти (Resident Memory T cells)

TSCM – предшественники Т-клеток памяти (Stem Cell Memory T cells)

Введение

В настоящее время наблюдается тенденция к увеличению пораженности аутоиммунными заболеваниями, на первое место среди которых выходят болезни щитовидной железы (ЩЖ). Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) составляет львиную долю всей тиреоидной патологии. Его распространенность катастрофическая – около 4-5% населения и до 10% среди женщин [1]. У детей АИТ составляет 40 % всех заболеваний ЩЖ [2]. Рост пораженности можно объяснить совершенствованием средств лабораторной и инструментальной диагностики, но очевидное значение имеют также ухудшение экологической ситуации и повсеместное, порой необоснованное «йодирование» населения, то есть подогреваемое рекламой и некоторыми актами законодательства увеличение потребления соединений йода сверх физиологической потребности в нем.

АИТ встречается преимущественно у женщин (соотношение заболеваемости мужчин и женщин колеблется от 1:5 до 1:15), очевидно вследствие генетических факторов: диплоидность по X-хромосоме, клеточный химеризм, свойственный беременевшим женщинам, а также гормональными особенностями: андрогены подавляют, а эстрогены и пролактин усиливают аутоиммунитет [2,3,4].

АИТ был впервые описан Хакару Хасимото в 1912 г. в Японии, на острове Кюсю, где потребление йодидов населением самое высокое в мире. Доказано, что приём йодсодержащих добавок и лекарств в регионах сбалансированных по количеству потребляемого йода, как и избыточное употребление в пищу морепродуктов может предрасполагать к развитию аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Авария на ЧАЭС и относительно недавняя авария в Фукусиме сопровождалась массивным выбросом радиойода в атмосферу, массовое превентивное потребление нерадиоактивного йода вызвало всплеск заболеваемости АИТ у населения данных регионов. Так, в наиболее загрязнённой радионуклидами Гомельской

области заболеваемость АИТ детей и подростков с 1988 по 1993 гг. выросла более чем в 600 раз (!) [5].

Поскольку АИТ относится к проявлению аутоагрессии и включается в аутоиммунные полигландулярные синдромы, можно предположить вовлечение в иммуопатологический процесс многих тканей и органов (крови, в частности) или изменение нормального их функционирования вследствие нарушения тиреоидной регуляции, развивающейся при АИТ Хасимото.

Периферическая кровь давно служила объектом исследования при множестве заболеваний.

Известно, что нейтрофилез часто служит показателем наличия в организме бактериальной, а лимфоцитоз – вирусной инфекции, эозинофилия – паразитарной инвазии,. В последние месяцы интересные результаты дало исследование крови у больных COVID-19 – наблюдалась тенденция к лимфоцитопении, при этом её выраженность коррелировала с тяжестью состояния пациента, а происхождение связали с как с прямым лимфотропным эффектом, так и с аутоиммунитетом против некоторых интерлейкинов [6]. Таким образом, можно предположить токсическое влияние вируса непосредственно на лимфоциты или на лимфоидные органы, либо на действие лимфотропных ростовых факторов.

При эндокринных болезнях также находят изменения гемограммы. Именно с брошюры Теофиля де Бордё (1722-1776) «Исследование о хронических заболеваниях. О медицинском анализе крови» началась в XVIII веке сама история эндокринологии как науки [7]. При тенденции к гипертирозу нередко наблюдается эритроцитоз. При выраженном тиротоксикозе обнаруживаются анемия, лимфоцитоз, лимфаденопатия и увеличение селезенки, а также эозинофилия, гранулоцитопения, тромбоцитопения. Гипотироз оказывает не меньшее влияние на гемопоэз — гипопластическая анемия и некоторые другие ее виды, лейкопения, гиперсегментация нейтрофилов, склонность к мелким геморрагиям кожи,

слизистых оболочек и мозга. При гипотирозе отмечаются нарушения в системе свертывания крови и аутоиммунная тромбоцитопения [8,9]. Выяснение связей между аутоиммунным процессом в ЩЖ и системой гемопоеза может открыть новые возможности в диагностике АИТ и улучшить схемы его лечения, прояснить отдельные звенья патогенеза этой болезни.

При аутоиммунных заболеваниях ЩЖ в периферической крови наблюдается тенденция к лимфоцитозу и гипергаммаглобулинемии [10]. Систематические диспансерные наблюдения за солидным (более 10 000 чел.) числом пациентов с АИТ показали, что среди них нередко выявляются лица с повышенным (более 37% и даже более 50%) относительным содержанием лимфоцитов в периферической крови [11].

Но некоторые авторы в малых группах пациентов вообще не нашли отличий в содержании лимфоцитов от такового у здоровых доноров [12], так что спектр и содержание лимфоцитов крови при АИТ остаются предметом дискуссий.

Лимфоциты — не только центральные участники адаптивного иммунного и аутоиммунного ответа, но и координаторы процессов регенерации в эпителиальных органах и тканях [13].

Учитывая роль лимфоцитов в аутоиммунных и регенерационных процессах, мы решили изучить абсолютные и относительные показатели их содержания в крови лиц, страдающих АИТ, а также их связь с концентрациями пролактина, кортизола, ТТГ, гормонов ЩЖ и ААТ к ТГ, ТПО, рецепторам ТТГ, что в будущем может использоваться для диагностики этого заболевания, а возможно, и для усовершенствования патогенетически обоснованной терапии.

Цель исследования:

Проанализировать гемограммы и показатели уровня лимфоцитов при АИТ и изучить механизмы влияния изменений гормонального статуса пациента на количество лимфоцитов в периферической крови.

Задачи исследования:

1. Исследовать абсолютное и относительное содержание лимфоцитов крови при АИТ.

2. Изучить основные субпопуляции Т-хелперов в периферической крови при АИТ.

3. Установить различия уровня лимфоцитов в зависимости от пола и возраста пациентов с АИТ

4. Установить различия количества лимфоцитов при АИТ в зависимости от уровней Т₃, Т₄, ТТГ.

5. Определить лимфоцитарные показатели в зависимости от активности гуморального аутоиммунитета при АИТ (по титрам ААТ к ТПО, к ТГ и к рецепторам ТТГ).

6. Определить у лиц с АИТ влияние пролактина и кортизола на количество лимфоцитов в периферической крови.

7. Выявить влияние на лимфоциты терапии АИТ левотироксином.

Научная новизна:

1. На большой выборке пациентов с АИТ доказано наличие при этом заболевании абсолютного и относительного лимфоцитоза в периферической крови, что отвечает современному представлению об аутоиммунном патогенезе этой болезни.

2. Получены новые знания о субпопуляциях Т-лимфоцитов и их диагностической значимости у лиц с АИТ.

Практическая значимость:

Полученные результаты позволяют прогнозировать не только течение АИТ как иммуноэндокринного заболевания, но и возможность его трансформации в лимфомы.

Объем и структура работы:

Работа изложена на 88 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложений.

Работа содержит 11 таблиц и 11 рисунков.

Библиографический указатель включает 88 источников (37 – на русском и 51 – на иностранных языках).

Глава 1. Обзор литературы.

1.1. Лимфоциты и их функции в организме.

Анатомический синоним иммунной системы — лимфоидная система — отвечающая за распознавание в организме антигенов и выполняющая, помимо этой сенсорной, координированные с нейроэндокринным аппаратом аналитические, регуляторные и эффекторные функции по формированию и поддержанию многоклеточности организма. Производной от этого, частной функцией служит ее участие в противостоянии антигенной агрессии [13].

Различают врожденный или палеоиммунитет (генетически закреплённая способность противостоять инфекции, присущая каждому виду) и приобретенный или неоиммунитет (формирующийся в течение жизни индивидуума). Иммунные процессы осуществляются в основном клетками

костномозгового происхождения, относящимися к двум линиям кроветворения — миелоидной и лимфоидной. За реакции врожденного иммунитета ответственны миелоидные клетки, лимфоидные осуществляют главным образом реакции приобретенного и только частично — врожденного иммунитета. Существенное отличие приобретенного иммунитета от врожденного — степень клонального разнообразия и соматической изменчивости их эффекторов. В приобретенном иммунитете распознавание осуществляется при помощи высоко вариативных и клонально специфических молекул особого типа (иммуноглобулинов или других белков суперсемейства иммуноглобулинов), при этом распознаются не паттерны (как во врожденном иммунитете, где соматическая вариативность распознающих клонов и их рецепторов низкая), а индивидуальные молекулы или небольшие группы похожих молекул, называемые антигенами. Существует порядка 10^6 различных антигенов. Такое огромное число рецепторов не может не только быть представлено на одной клетке, но и быть закодировано в геноме позвоночных, содержащем только десятки тысяч генов. Вследствие этого в процессе эволюции приобретенного иммунитета сформировался сложный механизм генерации разнообразия циркулирующих и мембранно-связанных антигенспецифических рецепторов: при развитии специализированных клеток, происходит перестройка их генов, которые кодируют антигенраспознающие рецепторы, что приводит к образованию в каждой такой клетке рецептора с уникальной специфичностью. Каждая клетка при активации может дать начало клону, все клетки которого будут иметь рецепторы той же специфичности. Таким образом, только отдельные клоны, имеющие специфические антигенраспознающие рецепторы будут распознавать каждый конкретный антиген. Такие специфические клетки и есть лимфоциты [14].

Лимфоциты – главные клетки иммунной системы, обеспечивающие приобретенный клеточный и гуморальный иммунитет. Они регулируют деятельность клеток других типов, поддерживают генетическое постоянство антигенного гомеостаза, синтезируют антитела, за счет изменений соотношения и численности клонов после контакта с антигеном осуществляют иммунную память, поддерживают целостность многоклеточного индивидуального организма. Но лимфоциты – это нефагоцитирующие лейкоциты, что делает необходимым их взаимодействие с антигенпредставляющими макрофагальными и макрофагоподобными клетками в ходе полноценных иммунных реакций [15].

Лимфоциты как «клетки лимфатических узлов» впервые описал задолго до появления самой клеточной теории, британский ученый У. Хьюсон (1777). Как особый клеточный тип в лимфе и крови их впервые выделил лондонский врач Т.У. Джоунс (1846), Р. Вирхов, находя их в тканях, сомневался в их клеточной природе и называл «голыми ядрами» из-за малозаметности их цитоплазмы (1859). Четко отличить их от иных лейкоцитов и детально охарактеризовать первым смог пионер дифференциального гистологического окрашивания П. Эрлих (1891). Значение лимфоцитов в организме долго оставалось неясным и недооценивалось. Ряд авторов, с которыми спорил уверенный в их важной роли П. Эрлих, например, Л. Ранвье — считали их короткоживущими инволютивными финальными стадиями жизни клеток. Парадоксально, но именно последний пришел к пророческой идее, что лимфоцит — нечто вроде одноклеточной мобильной железы, доставляющей тканям важные гуморальные регуляторы. И.И. Мечникова останавливала на пути признания роли лимфоцитов в иммунитете их неспособность к фагоцитозу. И хотя именно его ученик Л. Дейч (1899) первым показал, что антитела образуются какими-то клетками костного мозга, эти работы не имели продолжения, а открытые Т. фон Маршалко (1895) плазматические клетки никто с иммунитетом не связывал, пока через много десятилетий. В

1948 г. А.-Э. Фагреус-Вальбом в Швеции не доказала, что именно они вырабатывают иммуноглобулины. Огромный вклад в понимание происхождения, дифференцировки и ранние морфологические классификации лимфоцитов внес наш соотечественник А.А. Максимов (1928) [16]. Сам термин «лимфоциты» был впервые употреблен в середине XIX века для обозначения клеток, входящих в состав лимфы млекопитающих. Однако, развернутое представление об их многогранной роли и морфофункциональных разновидностях сложилось лишь в 70-х годах XX века на основе экспериментальных данных при исследовании крови, лимфы и органов кроветворения. Это самые простые по строению клетки человеческого организма, однако, обладающие широким спектром функциональных возможностей. Стволовые клетки всех тканей -производных мезенхимы, имеют большое светлое ядро с ядрышками и узкий, амебоидный, выраженно базофильный ободок протоплазмы и гистологически являются ничем иным как лимфоцитоподобными клетками. Это подчеркивал А.А. Максимов, придававший им центральную роль в гистогенезе мезенхимальных ретикуло-эндотелиальных производных и даже разработавший теорию «фагоцитоза наоборот», когда, по его мнению, малые лимфоциты в тканях поглощались регенерирующими элементами, неся им строительный нуклеопротеидный материал. Теория в ее оригинальной версии не подтвердилась, но именно лимфоциты оказались источником сигнальных ростовых факторов при регенерации эпителиев [17,18].

Лимфоциты - это разновидность лейкоцитов группы агранулоцитов. Они представляют собой клетки малого размера (6–8 мкм), имеющие округлую форму с большим бобовидным ядром, занимающим почти всю клетку, и слабо выраженной цитоплазмой, бедной гранулами. В теле человека лимфоциты распределены следующим образом: около 1300 г находится в пределах соединительной ткани, приблизительно 100 г – в костном мозге и столько же в лимфоидной ткани, и лишь 3 г в крови [18].

В организме взрослого здорового человека содержится около 10^{13} лимфоцитов, т.е. примерно каждая десятая клетка тела – лимфоцит. У взрослых лимфоциты составляют, по разным авторам от 19–20 до 37–45% всех лейкоцитов крови (у детей – до 50%) [19-21].

Абсолютное их содержание равняется $4-9 \times 10^9$ /л. Продолжительность жизни лимфоцитов – от месяца до года. После окончания активной фазы адаптивных иммунных ответов большая часть экспансировавшего в ходе ответа клона претерпевает апоптоз, но некоторые представители клона (клетки памяти), сохраняя специфичность своих антигенраспознающих молекул, сохраняются в течение всей жизни индивида в лимфоидных органах, прежде всего — костном мозге, что позволяет организму поддерживать длительную иммунизацию и даже пожизненный иммунитет [15].

Иммунная система имеет органноциркуляторный принцип организации. Она состоит из центрального и периферического отдела, а также путей направленной миграции иммунокомпетентных клеток, к которым относятся кровеносная и лимфатическая системы. К центральному отделу относят костный мозг и тимус, в которых происходит лимфопоэз – дифференцировка лимфоцитов от стволовой кроветворной клетки до зрелого неиммунного лимфоцита («наивного»). Периферический отдел иммунной системы образован неинкапсулированными лимфоидными структурами, связанными со слизистыми оболочками, диффузно распределенными лимфоидными и миелоидными клетками и инкапсулированными (т.е. истинными, морфологически изолированными) лимфоидными органами, к которым относят лимфатические узлы, селезенку и пейеровы бляшки. Все лимфоидные органы организованы сходным образом. De facto, вопреки кажущейся строгости этих градаций, костный мозг — это функционально и центральный, и периферический лимфоидный орган. На примере лимфоузлов видна роль «хореографии» адресной миграции лимфоцитов: в них выделяют

зоны сосредоточения Т-лимфоцитов (паракортикальные зоны), В-лимфоцитов (фолликулы), а так же сегменты, в которых В- и Т-клетки соседствуют друг с другом. На территории периферических лимфоидных органов наивные лимфоциты вступают в контакты с антигенпредставляющими клетками (АПК). Если антигенраспознающий рецептор лимфоцита связывает комплементарный антиген на АПК, то лимфоцит вступает на путь дифференцировки в режиме иммунного ответа – начинает пролиферировать и продуцировать эффекторные молекулы (цитокины, перфорин, цитолизины, гранзимы, интерфероны, гормоноподобные регуляторы и др. в зависимости от субпопуляции лимфоцита). Дифференцировку лимфоцитов на периферии после распознавания антигена называют иммуногенезом. В результате иммуногенеза развиваются клоны иммунных (эффекторных) лимфоцитов. Иммунные лимфоциты способны распознавать антиген и организовывать деструкцию в тканях организма, где он присутствует. Следует отметить, что размножение лимфоцитов происходит не только в центральных органах иммуногенеза – имеет место и вторичное размножение стимулированных Т- и В-лимфоцитов на периферии [15].

Лимфоциты – самые подвижные клетки организма. Через каждый лимфатический узел за 1 ч проходит около 10^9 лимфоцитов. Из общего количества лимфоцитов организма в каждый момент времени в крови находится только 0,2—2 %. [22] Так, всего за несколько часов все циркулирующие клоны В- и Т-лимфоцитов проходят через все зоны организма, где на поверхности антиген-представляющих клеток фиксированы антигены, взаимодействуя с ними, обеспечивая таким образом временный тесный межклеточный контакт (формирование иммуносинапса), а следовательно адекватный иммунный ответ [15].

Лимфоциты выполняют три основные функции: иммунную, гемопоэтическую и строительную (морфогенетическую). Иммунную

функцию выполняют В-клетки, ответственные за развитие гуморального ответа в организме и Т-клетки, ответственные за развитие как клеточного, так и гуморального иммунитета с помощью разнообразных гуморальных факторов юкта- ауто- и паракринного действия, определяющих направление и силу иммунного ответа. Гемопоэтическая функция предполагает наличие среди лимфоцитов стволовых (полипотентных клеток, которые способны к самоподдержанию и дифференцировке по многим направлениям, проходя при этом стадии клеток-предшественников эритроидного, гранулоцитарного, лимфоидного, моноцитарного и мегакариоцитарного направления [18].

Морфогенетическая функция заключается в способности лимфоцитов регулировать и инициировать процессы клеточного апоптоза и пролиферации, поддерживая обновление клеточных популяций. По ранним представлениям, это сводилось к поставке «строительного материала», куда лимфоциты, проникая в различные ткани и органы и разрушаясь там, тем самым быстро снабжали питательными и пластическими веществами (нуклеиновые кислоты, белки, полисахариды и др.) другие клетки. На деле это связано не со строительной, а с сигнальной ролью ряда лимфоцитарных продуктов (некоторых цитокинов, особенно ИЛ-22, а также регуляторных физиологических аутоантител в отношении процессов регенерации [13,18, 23].

1.2.Современные представления о субпопуляциях лимфоцитов.

Выделяют 4 основных типа лимфоцитов — Т- (65–75% лимфоцитов крови), В- (10–18%), естественные (натуральные, НК) киллеры (10–20%) и дендритные (DC) клетки (1–2%) [14,24].

НК-клетки относят к клеткам врожденного иммунитета и распознают не антигены, а молекулы (стрессорные молекулы), отличные от распознаваемых миелоидными клетками (РАМР), а также сканируют клеточную поверхность, определяя плотность антигенов ГКГС и реагируют

активацией на ее снижение на неопластических клетках. DC-клетки — популяции отростчатых клеток костномозгового (моноцитарного) генеза, представляющие антигенные пептиды Т-лимфоцитам и длительно сохраняющие антигены на своей поверхности, т.е. по сути дендритные клетки являются АПК и депо антигенов и отвечают за иммунную память. К ним относятся фолликулярные отростчатые клетки лимфоузлов и селезенки, клетки Лангерханса кожи и дыхательных путей, М-клетки лимфатических фолликулов пищеварительного тракта, дендритные эпителиальные клетки тимуса. Часть DC, однако, имеет миелоидное, и только часть, хотя и наиболее значительная - лимфоидное происхождение.

Главная же роль в осуществлении реакций приобретенного иммунитета принадлежит Т- (тимусзависимые, прошедшие первичную дифференцировку в тимусе) и В- (bursa-зависимые, прошедшие созревание в сумке Фабрициуса у птиц или его аналогах у млекопитающих – в костном мозге) лимфоцитам, несущим антигенраспознающие рецепторы и выполняющим основные эффекторные и регуляторные функции. Однако распознавание антигенов у В- и Т-лимфоцитов происходит по-разному.

Иммуноглобулиновый рецептор В-клеток (BCR) позволяет им распознавать нативный антиген как в свободной, так и в связанной с мембранами формах (включая конформационные антигенные детерминанты. Рецептор же Т-клеток (TCR) распознает только фрагменты антигена (секвенциальные внутригенные детерминанты), связанные с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС). В процессе дифференцировки в Т- и В-лимфоцитах происходит перестройка генов, которые кодируют рецепторы для антигенов. В результате каждой клеткой экспрессируется уникальный по специфичности рецептор, который имеется и у всех потомков этой клетки (клон). В процессе селекции погибает большинство высокоаффинных аутореактивных клонов как Т-, так и В-клеток (впрочем, в первую очередь гибнут как раз те клоны, которые совсем не

распознают аутоантигены ГКГС). Популяции Т- и В-лимфоцитов принимают участие в иммунных реакциях клонального типа, при которых в ответ вовлекаются только клетки клонов, экспрессирующих рецепторы нужной специфичности (в отличие от естественных киллеров, не отличающихся друг от друга по специфичности) [15].

Популяции лимфоцитов гетерогенны не только по структуре антигенраспознающего рецептора. По наличию поверхностных CD (от cluster differentiation) маркеров– корецепторных молекул и выполняемым функциям лимфоциты разделяют на функционально различные субпопуляции. В-лимфоциты зарождаются в костном мозге и затем в лимфоидных органах, через ряд промежуточных форм, превращаются в плазматические клетки, обеспечивающие реакции гуморального иммунитета (антителообразование, иммунологическая память) [25]. К естественным (т.е. формирующимся в процессе нормальной дифференцировки, не связанной с действием чужеродных антигенов) относят 3 субпопуляции В-клеток: В1, В2 и В клетки маргинальной зоны (МЗВ).

В1-субпопуляция лимфоцитов еще в эмбриональном периоде покидает костный мозг. Физиологическая регенерация В1-лимфоцитов в течение жизни человека поддерживается на периферии преимущественно в плевральной и брюшной полостях, а также полости сердечной сорочки. В1-лимфоциты несут рецептор с низкой специфичностью к антигену, спонтанно (без взаимодействия с Т-хелперами) вырабатывают низкоаффинные антитела преимущественно IgM-изотипа, в том числе к нетканеспецифическим аутоантигенам. Особенностью иммуноглобулинов, продуцируемых В1-лимфоцитами, является их широкая перекрестная реактивность в ответ на воздействие бактериальных антигенов полисахаридной структуры.

В-лимфоциты маргинальной зоны (МЗВ) — клетки, сходные с В1, но локализующиеся в маргинальной зоне селезенки, пограничной между красной и белой пульпой, так же, как и НК-клетки, рассматриваются в

качестве переходной клеточной формы между врожденным и приобретенным иммунитетом. В отличие от В1-клеток, образующихся из стволовых клеток в эмбриональной печени, МzВ-лимфоциты образуются из переходных (между незрелыми и зрелыми В-клетками) В-лимфоцитов в костном мозгу. При этом переходный В-лимфоцит может дать начало фолликулярной В-клетке или МzВ.

В2-клетки, которые мы и привыкли обычно называть В-лимфоцитами, локализованы в селезенке и лимфатических узлах (в том числе в фолликулах), костном мозге, лимфоидных тканях кишечника. Именно эти клетки отвечают за образование высокоспецифичных и высокоаффинных антител разных изотипов. В процессе дифференцировки В2-лимфоцитов на их мембране экспонируются рецепторы иммуноглобулиновой природы, причем незрелые В2-лимфоциты экспрессируют IgM и небольшое количество молекул МНС II. По мере созревания В2-лимфоцитов на их поверхности экспрессируются молекулы иммуноглобулинов всех 5 классов. В то же время, появляются рецепторы для различных компонентов комплемента и другие маркерные молекулы, в частности, CD19, CD21, CD23, CD35. Антигенчувствительными рецепторами В-лимфоцитов являются мембраносвязанный мономер IgM, а возможно, и IgD.

В-лимфоцит с помощью своих иммуноглобулиновых рецепторов распознает и связывает антиген. Одновременно с В-клеткой антиген по представлению макрофага распознается Т-хелпером (Т-хелпером 2), который активируется и начинает синтезировать факторы роста и дифференцировки. Активированный этими факторами В-лимфоцит претерпевает ряд делений и одновременно дифференцируется в плазматические клетки, продуцирующие антитела.

Т-лимфоциты зарождаются в костном мозге, затем мигрируют в тимус и дозревают там. Прежде чем покинуть тимус Т-лимфоциты подвергаются двойной селекции. Позитивная селекция на кортикальных эпителиальных

клетках «обучает» развивающуюся Т-клетку реагировать на антиген только когда он презентруется клеткой, экспрессирующей такие же молекулы МНС, с какими эта клетка взаимодействовала в период дифференцировки в тимусе (МНС-рестрикция Т-клеточного ответа). Негативная селекция на DC на границе между корой и мозговым веществом тимуса удаляет Т-клетки с потенциальной реактивностью к собственным молекулам, обеспечивая аутоотолерантность. Прошедшие негативную селекцию Т-лимфоциты покидают тимус, создавая репертуар периферических клеток, реагирующих на чужеродный (несобственный) антиген [22].

Т-лимфоциты распознают процессированный и представленный на поверхности АПК антиген. Они отвечают за клеточный иммунитет, иммунные реакции клеточного типа, однако отдельные субпопуляции принимают участие в реакциях гуморального типа, помогая В-лимфоцитам реагировать на Т-зависимые антигены выработкой антител. Поверхностными антигенными маркерами Т-лимфоцитов являются CD3-рецепторы. Число естественных субпопуляций Т-лимфоцитов значительно больше, чем В-лимфоциты. Выделяют три основные группы Т- лимфоцитов: помощники (активаторы), эффекторы, регуляторы [22].

1.Помощники (хелперы) активируют Т-киллеры, В-лимфоциты, моноциты, НК-клетки путем представления (презентации) им фрагментов чужеродного антигена при прямом контакте или гуморальным путем, выделяя цитокины, несут на себе CD4 рецептор:

- a. Т-хелперы₀ (Th₀) — «наивные», недифференцированные Т-хелперы
- b. Т-хелперы₁ (Th₁) несут рецепторы CD4 (как все Т-хелперы) и CD44, отвечают за созревание Т-цитотоксических лимфоцитов (Т-киллеров), активируют Т-хелперы₂ и цитотоксическую функцию макрофагов, секретируют ИЛ-2, ИЛ-3, γ -интерферон, туморнекротизирующий фактор (ФНО) и др. цитокины

с. Т-хелперы2 (Th2) имеют общий для хелперов CD4 и специфический CD28 рецепторы, обеспечивают пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов в антителпродуцирующие (плазматические) клетки, синтез антител, тормозят функцию Т-хелперов1, секретируют ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-6

d. Т-хелперы17 (Th17) — подтип Т-хелперов, который в больших количествах продуцирует провоспалительный цитокин — ИЛ-17. Показана роль Th17-клеток в развитии аутоиммунной патологии.

e. Т-хелперы22 (Th22) — выявлены при воспалительных заболеваниях кожи. Их роль в защите организма остается неясной, поскольку эти клетки охарактеризованы недавно. Они продуцируют провоспалительный цитокин — ИЛ-22.

f. Индукторы Т-хелперов несут CD29, отвечают за экспрессию антигенов МНС класса 2 на макрофагах и других АПК

g. Индукторы Т-супрессоров несут CD45 специфический рецептор, отвечают за секрецию ИЛ-1 макрофагами, активацию дифференцировки предшественников Т- супрессоров.

2. Т- эффекторы. В нее входит только одна субпопуляция:

a. Т-цитотоксические лимфоциты (Т-киллеры). Имеют специфический рецептор CD8, лизируют клетки-мишени, несущие чужеродные антигены или измененные аутоантигены (трансплантант, опухоль, вирус и др.). Т-киллеры распознают чужеродный эпитоп вирусного или опухолевого антигена в комплексе с молекулой класса 1 МНС в плазматической мембране клетки-мишени.

3. Т-регуляторы (Treg) составляют около 10 % периферической крови. Они подавляют гиперактивность иммунной системы. Представлены двумя основными субпопуляциями.

a. Т-супрессоры имеют важное значение в регуляции иммунитета, обеспечивая подавление функций Т-хелперов 1 и 2, В-лимфоцитов.

Имеют рецепторы CD11, CD8. Группа функционально разнородна. Их активация происходит в результате непосредственной стимуляции антигеном без существенного участия главной системы гистосовместимости.

К этой же группе относят субпопуляцию CD4 Т-клеток (по наличию этого рецептора их также относят к Т-хелперам3), имеющих также CD25, Fox3, оказывающих иммуносупрессирующее действие за счет IL-10, TGFβ и функция которых состоит в контроле активности аутоспецифических клонов Т-лимфоцитов, не удаленных в процессе отрицательной селекции, мигрировавших в периферический отдел иммунной системы и создающих опасность аутоагрессии.

в.Т-контрсупрессоры. Не имеют CD4, CD8, имеют рецептор к особому лейкину. Способствуют подавлению функций Т-супрессоров, вырабатывают резистентность Т-хелперов к эффекту Т-супрессоров.

В кратком виде можно выделить следующие этапы развития иммунного ответа:

1. Поглощение и процессинг антигена макрофагом.
2. Представление процессированного антигена макрофагом с помощью белка МНС II Т-хелперам.
3. Узнавание антигена Т-хелперами и их активация.
4. Узнавание антигена и активация В-лимфоцитов.
5. Дифференциация В-лимфоцитов в плазматические клетки, синтез антител.
6. Взаимодействие антител с антигеном, активация систем комплемента, макрофагов, интерферонов.

7. Представление при участии белков МНС класса I чужеродных антигенов Т- киллерам, разрушение инфицированных чужеродными антигенами клеток Т- киллерами.

8. Индукция Т- и В- клеток иммунной памяти, способных специфически распознавать антиген и участвовать во вторичном иммунном ответе (антигенстимулированные лимфоциты)[15].

1.3. Основные субпопуляции Т-хелперов

Каждая Т-клетка после сборки TCR в тимусе проходит тестирование на функциональность случайно собранного рецептора (положительная селекция) и на отсутствие специфичности к собственным антигенам организма, т.е. на отсутствие очевидной аутоиммунной угрозы (отрицательная селекция). Этапы селекции происходят в вилочковой железе; при этом более 90% клеток-предшественников погибает, не сумев правильно собрать рецептор либо пройти селективный отбор. Выжившие Т-клетки пролиферируют и выходят из тимуса в кровоток — это наивные Т-лимфоциты, еще не встречавшиеся с антигеном. Наивная Т-клетка циркулирует в крови и периодически заходит в лимфоузлы, где в Т-клеточной зоне контактирует со специализированными клетками (АПК), которые представляют ей чужеродный антиген. После встречи с антигеном в лимфоузле Т-клетка приобретает способность снова делиться — становится предшественницей Т-клеток памяти (Stem Cell Memory T cells, TSCM). Среди ее потомков появляются клетки центральной памяти (Central Memory T cells, CM) и эффекторныe клетки-предшественники (Effector Memory T cells, EM), которые при делении дают короткоживущие эффекторныe клетки, осуществляющие иммунную реакцию (TEMRA-клетки, T-Eff) [26]. Все эти клетки выходят из лимфоузла и перемещаются по крови. Эффекторныe клетки затем могут покинуть кровоток для осуществления иммунной реакции в периферической ткани органа, где находится патоген (Рис. 1)

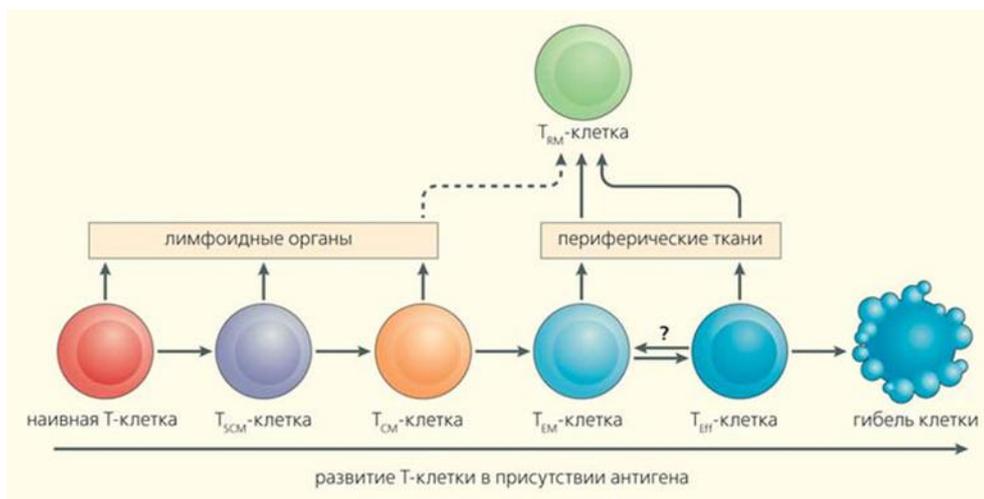


Рис. 1. Схема перехода потомков активированных Т-лимфоцитов между популяциями [27].

Клетки стромы лимфоузла, выделяют сигнальные вещества (хемокины) для того, чтобы позвать Т-клетку из периферической ткани и из крови обратно в лимфоузел. Распознают хемокины лимфоузлов рецепторы хоуминга лимфоцитов CCR7 и CD62L. Но на эффекторных клетках оба рецептора отсутствуют (Табл. 1) Поэтому после выхода из кровяного русла эффекторные клетки населяют периферические ткани, теряют способность к рециркуляции и становятся резидентными клетками памяти (Resident Memory T cells, TRM) или погибают [28].

Таблица 1.

Субпопуляции Т-хелперов (CD3+CD4+), выделяемые на основании экспрессии CD45RA и CCR7

Популяция	Фенотип
naive Th	CD45RA+CCR7+
CM Th	CD45RA–CCR7+
EM Th	CD45RA–CCR7–
TEMRA Th	CD45RA+CCR7-

Миграция лимфоцитов к очагу воспаления осуществляется благодаря хемотаксису. Наиболее важна для осуществления хемотаксиса активная направленная подвижность клеток. В основе движения лейкоцитов лежит

реакция контрактильных белков цитоскелета, прежде всего актина. Мобилизация компонентов цитоскелета происходит при активации через родопсиноподобные рецепторы хемотаксических факторов (хемокиновые рецепторы). Вследствие поляризации и происходящей при этом реорганизации цитоскелета клетка из округлой становится треугольной. В сторону объекта хемотаксиса выдвигается ламеллоподий — участок цитоплазмы, бедный органеллами, но содержащий сеть микрофиламентов, в частности нитчатый (filamentous) F-актин. Ориентацию клетки в процессе хемотаксиса определяет полимеризация микротрубочек, а процесс движения — сокращение микрофиламентов [14].

По наличию хемокиновых рецепторов выделяют следующие субпопуляции Т-хелперов центральной памяти (Табл. 2)

Таблица 2.

Субпопуляции «поляризованных» Т-хелперов центральной памяти (СМ) (CD45RA–CCR7+), выделяемые на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR5, CXCR3, CCR6 и CCR4

Популяция	Фенотип
Th1	CXCR5-CXCR3+CCR6-CCR4-
Th2	CXCR5-CXCR3-CCR6-CCR4+
Th17	CXCR5-CCR6+
Tfh	CXCR5+

Следует отметить, что наличие хемокинового рецептора CCR4 связано со способностью клеток к миграции в очаги воспаления, локализованные в соединительной ткани кожных покровов. Лигандами для CCR4 выступают CCL17, экспрессируемый эндотелиальными клетками микро-циркуляторного русла дермы кожи, и CCL22, синтезируемый дермальными дендритными клетками [29]. Поэтому основной функцией CCL17 является привлечение и усиление пенетрации лимфоцитов через стенки сосудов в непосредственной близости от очага воспаления, тогда как CCL22 отвечает за направленную

миграцию клеток уже по соединительной ткани за пределами кровеносных сосудов. Единственным выявленным лигандом CCR6 служит CCL20, который синтезируется различными клетками, входящими в состав дермы (фибробласты, клетки эндотелия сосудов, дендритные клетки) и эпидермиса (в первую очередь, кератиноциты) кожи, слизистых оболочек кишечника, включая эпителий аппендикса и Пейеровых бляшек, а также в легких и печени [30]. В настоящее время основными лигандами CXCR3 являются три хемокина CXС-семейства – CXCL9 или MIG, CXCL10 или IP-10 и CXCL11 или I-TAC, которые синтезируются клетками различных органов и тканей при запуске воспалительного процесса под действием, в первую очередь, IFN γ [31]. Увеличение уровня синтеза этих хемокинов наблюдается при весьма широком спектре патологических состояний, а места их продукции существенно различаются по своей локализации в пределах организма, что наводит на мысль о низкой специфичности механизмов инфильтрации CXCR3+ лимфоцитами очагов воспаления [32]. Лигандом CXCR5 является хемокин CXCL13, который необходим для нормального формирования В-клеточных фолликулов в составе лимфатических узлов и дифференцировки В-лимфоцитов в плазматические клетки. Наличие же данного рецептора и определяет направленную миграцию клеток в состав этих структур в периферическим лимфоидных органах [33].

Субпопуляционный состав Th17 клеток центральной памяти.

В настоящее время Th17 можно разделить на несколько отдельных субпопуляций на основании ко-экспрессии CCR4 и CXCR3: «классические» CCR4+CXCR3–, «дважды-позитивные» CCR4+CXCR3+, «не классические» Th17.1 CCR4–CXCR3+, а также «дважды-негативные» CCR4–CXCR3– клетки (Табл. 3) [34].

Субпопуляции циркулирующих Th17 (CXCR5-CCR6+), выделяемых на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR4

Популяция	Фенотип	
DN Th17	CCR4–CXCR3–	Дважды негативные
class Th17	CCR4+CXCR3–	классические
Th17.1	CCR4–CXCR3+	неклассические
DP Th17	CCR4+CXCR3+	Дважды позитивные

«Классические» Th17 могут быть представлены двумя основными фенотипами клеток, несущими на своей поверхностной мембране только CCR6 или же коэкспрессирующие CCR6 и CCR4 [35]. Эти клетки способны к синтезу большого количества IL-17A в ответ на стимуляцию, тогда как продукция остальных цитокинов, в первую очередь, IL-22 и GM-CSF, у них менее выражена. Более того, пролиферативная активность Th17 *in vitro* при сокультивировании с аутологичными Treg существенно слабее угнетается по сравнению с Th1 и Th2 [36]. Сравнительно недавно была детально описана популяция «неклассических» Th17 – Th1/Th17 или Th17.1 – обладающая характеристиками как Th1, так и Th17, к числу которых относятся экспрессия ядерных факторов TBX21 и RORC и способность к синтезу IFN- γ и IL-17A [34], хотя впервые она упоминается еще в работах 2007 г. [36]. Данная популяция клеток обладала высокой пролиферативной активностью в ответ на активацию T-клеточного рецептора по сравнению с «классическими» Th17, а также повышала уровень экспрессии T-BET, STAT4 и RUNX на фоне снижения AHR. Кроме того, эти клетки секретировали большое количество GM-CSF, ответственного за привлечение и активацию нейтрофилов в очаге воспаления, тогда как синтезируемый ими IFN- γ вызывал активацию тканевых макрофагов. Было показано, что «неклассические» Th17 периферической крови человека с фенотипом CCR6+CXCR3hiCCR4loCCR10–CD161+ экспрессировали высокий уровень

транспортера MDR1, отвечающего за устойчивость клеток в различного рода препаратам, включая глюкокортикоиды [37]. Все эти факты позволили рассматривать данную популяцию Th1/Th17 клеток в качестве «патогенной», то есть способствующей развитию и поддержанию воспалительной реакции в тканях. Эти наблюдения были подтверждены данными молекулярно-биологических исследований, когда было показано, что в Th1/ Th17 уровень мРНК провоспалительных CCL3, CCL4, CCL5, гранзим В, IL-3, IL-22, GM-CSF, STAT1, T-bet и IL-23R был существенно выше при сравнении с другими Th17 [38]. Также охарактеризованы еще две новые субпопуляции Th17 – CCR4–CXCR3– («double negative» или CCR6+DN) и CCR4+CXCR3+ («double positive» или CCR6+DP), которые по набору своих функциональных характеристик принципиально отличались от описанных ранее типов Th17 [39]. Так, CCR6+DN Th17 по сравнению с «классическими» Th17 экспрессировали больше IFN- γ , IL-17A, IL-17F, MIP-3a/CCL20 и TNF α , тогда как способность к экспрессии генов, кодирующих IL-13, у них была снижена. При сравнении CCR6+DN Th17 с Th1/Th17 клетками было отмечено, что на фоне увеличенной экспрессии IL-17A и IL-17F они отличаются сниженной способностью к продукции IFN γ и TNF γ . Тогда как уровни экспрессии GM-CSF, IL-10 и IL-22 были примерно одинаковыми во всех трех субпопуляциях Th17. Что же касается синтеза и секреции *in vitro* цитокинов Th17, то при сравнении CCR6+DN Th17 с Th17 и Th1/Th17 было обнаружено, что именно CCR6+DN являются основными продуцентами IL-17F и IL-8. Уровень CCL20 был несколько выше такового Th17, но сопоставим по уровню с Th1/Th17, тогда как по способности продуцировать IL-22 эти популяции друг от друга не отличались. Причем именно по способности к секреции IL-17F, IL-22 и CCL20 CCR6+DN Th17 принципиально отличались от CCR6+DP Th17, так как в последние практически не секретировали данный набор молекул, равно как и обладали самой низкой способностью среди всех субпопуляций Th17 к продукции IFN γ , IL-17A, TNF α и IL-13.

Субпопуляционный состав циркулирующих фолликулярных Т-хелперов центральной памяти.

Известно, что циркулирующие Tfh экспрессируют рецепторы к хемокинам соответствующие субпопуляциям поляризованных не фолликулярных Т-клеток: Th1, Th2 и Th17 [40]. Действительно, все циркулирующие Tfh человека можно разделить на три отдельные «поляризованные» популяции на основании экспрессии двух хемокиновых рецепторов: CXCR3 и CCR6 (Табл. 4).

Таблица 4.

Субпопуляции циркулирующих Tfh (CXCR5+), выделяемых на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR4

Популяция	Фенотип	
Tfh1	CXCR3+CCR6-	
Tfh2	CXCR3-CCR6-	
Tfh17	CXCR3-CCR6+	
DP Tfh	CXCR3+CCR6+	Дважды позитивные

1.4. Роль лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных болезней.

Аутоиммунные заболевания – болезни, в патогенезе которых ведущую роль играют аутореактивные лимфоциты, которые распознают антигены собственного организма как чужеродные и запускают патологические процессы, характеризующиеся деструкцией клеток-мишеней и тканей-мишеней, а также дизрегуляторными нарушениями их функций (как снижением, так и усилением) и, как правило, развитием хронического воспаления [41]. Эффекторными процессами аутоиммунных заболеваний реализуются через гуморальные (проявляющаяся в выработке аутоантител, способных привлекать клеточные (фагоциты) и гуморальные (комплемент) эффекторные факторы) и/или клеточные (состоящие в формировании

цитотоксических Т-лимфоцитов или провоспалительных Т-клеток, активирующих макрофаги) иммунные реакции.

Однако появление аутореактивных клонов Т- и В-лимфоцитов и аутоантител не может считаться однозначно связанным с аномалиями или возникновением аутоиммунного заболевания. Так, у всех людей в сыворотке присутствуют малые количества «естественных» аутоантител, которые в силу слабого сродства к антигенам и ограниченности эффекторных функций не способны вызвать повреждение тканей, а в периферических лимфоидных тканях находятся и Т-, и В-лимфоциты с антигенраспознающими рецепторами для «своего», т.е. аутореактивные клоны всегда присутствуют в организме и необходимы для равновесного функционирования самой иммунной системы и осуществления ее регуляторной роли, но в норме находятся в состоянии иммунологической толерантности, и лишь срыв этого состояния приводит к запуску аутоиммунного процесса, переходящего в заболевание. Чаще всего манифестация аутоиммунного деструктивного процесса инициируется патогенными внешними факторами, как правило — действующими аддитивно-порогово, оказывая полиэтиологические воздействия на генетически предрасположенных индивидов.

Выделяют следующие механизмы запуска аутоиммунной патологии [41]:

Антигенная мимикрия патогенов (эволюционно достигаемое уподобление микробных продуктов тканевым компонентам макроорганизма) индуцирует иммунный ответ с перекрёстной реактивностью с собственными антигенами. В дальнейшем аутоиммунный процесс не выходит в режим полноценной иммуносупрессии, поскольку свой антиген не может быть элиминирован и продолжает активировать аутореактивные лимфоциты. В этом отношении особенно «преуспевают» вирусы: размножаясь внутри клеток организма, они время от времени включают в состав своего генома какие-то из генов этого организма.

Микробные суперантигены вызывают поликлональную активацию лимфоцитов. Какие-то из клонов лимфоцитов, специфичные к собственным антигенам, могут войти в режим эффекторного иммунного ответа.

Деструкция тканей патогеном (цитопатогенное действие вирусов, бактерий, химических факторов и др.) приводит к попаданию тканевых антигенов в активированные (тем же патогеном) дендритные клетки (DC), которые транспортируют все антигены в периферические лимфоидные органы, где есть особые условия для инициирования иммунного ответа. В этих условиях DC могут утратить способность к индукции толерантности к собственным антигенам и вместо этого запускать иммунный ответ, реализуемый, как правило, с участием Th1-лимфоцитов. Гипотеза опасности — представление, введенное в 2001 г. П. Матцингер, о том, что иммунная система дифференцирует свое отношение к антигенам не по принципу «свой-чужой», а по принципу «разрушающий — не разрушающий, за последние декады получило много подтверждений.

Два TCR на одном лимфоците. Догма о моноспецифичности рецепторов каждого клона Т-лимфоцитов была поколеблена, когда стало известно, что некоторые компоненты Т-клеточного рецептора в них не проходят аллельного исключения, давая возможность экспрессировать одной клетке, по меньшей мере, 2 их варианта. Примерно 30% периферических Т-лимфоцитов несут, по крайней мере, 2 разных по специфичности TCR. Есть вероятность, что один из TCR может иметь специфичность к патогену, а второй - к аутоантигену. Активация иммуногенеза патогеном приведёт к созданию клона лимфоцитов, которые будут работать в качестве эффекторов против обоих антигенов - чужеродного и своего, таким образом, стимуляция чужим антигеном может усилит анти-свой ответ.

Нарушение функции регуляторных Т-лимфоцитов. В последние годы нарушение развития и функции регуляторных Т-лимфоцитов рассматривают как один из важнейших механизмов запуска аутоиммунной патологии, ведь

именно они контролируют активность аутоспецифических клонов, не удаленных в процессе отрицательной селекции. В 2001 г. описан наследственный синдром, названный IPEX (Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy X-linked - сцепленная с X-хромосомой иммунная дисрегуляция, полиэндокринопатия, энтеропатия). Это редкое заболевание, обусловленное мутацией гена Foxp3, приводящей к глубокому дефициту регуляторных Т-клеток (CD3+CD4+CD25+Foxp3+). Дисфункция Т-регуляторных лимфоцитов вызывает развитие полиорганной аутоиммунной патологии в сочетании с выраженным дефектом противовирусного и антибактериального иммунитета, что в большинстве случаев приводит к летальному исходу в течение 1 года жизни от генерализованного сепсиса или тяжелой мальабсорбции, осложненной кишечными кровотечениями [42].

Нарушение баланса между пролиферацией и апоптозом лимфоцитов и соматических клеток. Толерантность к собственным антигенам развивается в результате негативной селекции Т-клеток в тимусе. Однако не все аутоантигены представлены в тимусе, поэтому в некоторых так называемых иммунопривилегированных органах существуют дополнительные механизмы по поддержанию периферической толерантности. Клетки этих органов экспрессируют Fas-лиганд (CD178), взаимодействующий с Fas-рецептором (CD95), экспрессируемым Т-лимфоцитами, что приводит к индукции в последних апоптоза. Так нормальные клетки щитовидной железы могут вызывать апоптоз в инфильтрирующих её Т-лимфоцитах, предотвращая развитие тиреоидита Хасимото [41].

Проявления аутоиммунных процессов во многом определяются локализацией аутоантигена в организме: если он содержится только в определенном органе, поражение имеет локализованный характер, затрагивая соответствующий орган; при широкой распространенности аутоантигенов в организме развивается системный процесс. В этом аспекте важно, что аутоиммуннопатии неорганоспецифического характера часто затрагивают

именно те аутоантигены, которые заурядно присутствуют и даже концентрируются в составе апоптотических тел. В норме клиренс апоптотических телосуществляется особыми, неантигенпредставляющими макрофагами окрашенных телец в лимфоузлах. При нарушении их функций, регулярно регистрируемом у больных многими аутоиммунными заболеваниями с неорганоспецифическими аутоантителами и даже у их пока здоровых кровных родственников, антигены апоптотического дебриса процессируются другими клетками, имеющими функции АПК, становясь объектом патологически усиленного аутоиммунного ответа. К таким антигенам апоптотического дебриса относятся ядерные белки и нуклеиновые кислоты, кардиолимин, аннексин и др., аутоиммунитет к которым патологически усилен при ревматологических болезнях. В целом для системной патологии более характерно преобладание гуморальных факторов повреждения, а для локальных – Т-клеточных механизмов (особенно цитотоксических), хотя они часто сочетаются (пример — хаситоксикоз).

Словом, так или иначе начавшись, аутоиммунное воспаление не может самостоятельно остановиться, потому что аутоантиген не исчезает, пока вся ткань, его экспрессирующая, не будет разрушена и удалена из организма, следовательно нет условий для эрадикации аутореактивных лимфоидных клонов. Поэтому для всех аутоиммунных заболеваний характерно длительное, хроническое, прогрессирующее течение с периодами ремиссий и обострений, как для хронических инфекционных или онкологических болезней [22].

1.5. Лейкоцитарная формула и лимфоциты крови при аутоиммунном тироидите.

Аутоиммунный тироидит или хронический лимфоцитарный тироидит Хасимото (АИТ) – хроническое заболевание ЩЖ, обусловленное патологическим аутоиммунитетом и сопровождаемое специфическими изменениями ее патоморфологии в виде диффузной лимфоплазмоцитарной

инфильтрации [43]. Выделяют две основные формы АИТ: гипертрофическую (зоб Хасимото) и атрофическую (первичная микседема).

В норме в паренхиме ЩЖ лимфоциты практически отсутствуют. Появление лимфатической инфильтрации в ЩЖ наблюдается только при патологических процессах, чаще всего аутоиммунных. Как известно, хронический лимфоцитарный тиреоидит с зобом и гипотиреозом был впервые описан японским врачом Х. Хасимото в 1912 г. [44]. У четырех больных женщин им была выявлена атрофия паренхиматозных клеток ЩЖ, сопровождающаяся диффузной лимфоидной инфильтрацией, и фиброз стромы ЩЖ. Описан также вариант хронического фиброзного тиреоидита с фиброзным преобладанием и менее выраженной лимфоидной пролиферацией.

В дальнейшем было показано, что при АИТ деструктивные изменения ЩЖ нарастают постепенно, длительно поддерживается воспалительная реакция, включающая все клеточные элементы — от макрофагов до фибробластов. Наиболее часто встречается инфильтрация В-лимфоцитами, которые способны к делению, дифференцировке и созреванию до плазматических клеток непосредственно в ткани ЩЖ, и там же происходит секреция аутоантител. Кроме того, происходит дифференцировка и пролиферация цитокинпродуцирующих Т-лимфоцитов, Т-киллеров и натуральных киллеров. При длительном течении АИТ постепенно нарастает фиброз перифоликулярной стромы [9].

В начальный период АИТ у 75% пациентов функциональный статус щитовидной железы в пределах нормы, у 20% — гипотиреоз, у 5% - гипертиреоз. Первые признаки заболевания обнаруживают, как правило, в подростковом возрасте, но клинически заметный без глубокого обследования синдром развивается в большинстве (90%) случаев после 45 лет. По мере прогрессирования заболевания у 50% пациентов развивается

гипотироз [41]. Более чем у 95% больных выявляют ААТ к ТПО, иногда ААТ к ТГ и ААТ к РТТГ [9].

АИТ является самым частым аутоиммунным заболеванием, при этом частота его неизменно растет, что объясняют лучшей диагностикой (методы определения аутоантител) и ухудшением экологической обстановки, а также массивными адьювантными воздействиями на иммунную систему человека. Распространенность АИТ среди населения разных стран колеблется от 0,1–1,2% у детей до 6–11% у женщин старше 60 лет. АИТ в 5–15 раз чаще встречается среди женщин, чем среди мужчин (что типично для многих аутоиммунопатий («правило Нормана Талала»). Это можно объяснить генетическими факторами, связанными с X-хромосомами, микрохимеризмом рожавших женщин, связью с гиперпролактинемическими периодами в их жизни, а также противоположными эффектами эстрогенов и андрогенов на процессы иммуносупрессии [45,46].

Можно выделить 3 группы факторов развития АИТ:

1) Факторы внешней среды (адьювантоподобные экологические факторы, урбанизация, длительные выраженные стрессы, переходящие в дистресс что приводит к напряжению системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники, с последующим снижением адаптационного синдрома и росту риска аутоиммунных заболеваний, в частности, аутоиммунного тиреоидита.

2) Факторы внутренней среды: генетические факторы, развитие семейных форм заболевания аутоиммунным тиреоидитом. Предрасположенность к АИТ имеют лица с носительством антигенов гистосовместимости МНС DR3 (атрофическая форма), DR5 (гипертрофическая форма). Имеют значение полиморфизм основных тиреоидных антигенов и рецепторов контрольных точек Т-лимфоцитов в популяции.

3) Другие системные аутоиммунные заболевания с неорганоспецифическими аутоантителами, при которых может сочетанно

развиваться аутоиммунный тиреоидит: системная красная волчанка (СКВ), ревматоидный артрит (РА), синдром Шёгрена и пр.

Заболевание обусловлено частичным дефектом иммунологического контроля – дефицитом Т-регуляторов, в связи с чем происходит выживание запрещенного (форбидного) клона Т-лимфоцитов, лишённого толерантности к клеткам щитовидной железы. Взаимодействие форбидного клона Т-лимфоцитов с антигенами запускают иммунный процесс по типу гиперчувствительности замедленного типа, выделяются медиаторы воспаления – лимфокины, фактор некроза опухолей и другие цитотоксические вещества. Т-хелперы воздействуют на В-лимфоциты, которые превращаются в плазматические клетки и образуют антитела к тиреоглобулину и микросомальной фракции (ТПО). Антитела на поверхности клеток фолликулярного эпителия, вместе с Т-киллерами, оказывают цитотоксическое действие на гормонпродуцирующие клетки щитовидной железы, вызывают их деструкцию, приводя к снижению функции щитовидной железы, снижают секрецию Т3, Т4 и повышают ТТГ, что приводит к увеличению ЩЖ – зобу (гипертрофическая форма АИТ). При этом в дебюте заболевания может наблюдаться гипертироз, который развивается вследствие поступления в кровь и избытка стимулирующих ААТ к РТТГ. Хаситоксикоз при АИТ протекает в легкой форме с характерным транзиторным течением, в крови обнаруживают тиреостимулирующие антитела. В дальнейшем функция ЩЖ снижается с практически обязательным исходом в гипотиреоз. Атрофическую форму АИТ связывают с блокирующими антителами к рецептору ТТГ, при ней выражен фиброз, атрофия эпителиальных клеток и лимфоидная инфильтрация. Для гипертрофической формы АИТ характерна диффузная или очаговая инфильтрация лимфоцитами и плазматическими клетками с образованием лимфоидных фолликулов и фиброз различной степени [47].

Роль Т-клеток в патофизиологии АИТ

Считается, что одним из наиболее важных этапов патогенеза АИТ является активация аутореактивных CD4⁺ Т-клеток-Т-хелперов (Th), специфичных для аутоантигенов ЩЖ. Т-клетки типа 1 (Th1) активируют цитотоксические Т-лимфоциты (CD8⁺ лимфоциты) и макрофаги, которые непосредственно разрушают фолликулярные клетки ЩЖ.

Подмножества Т-хелперов Th1 и Th2 влияют на характер повреждений и исходы при АИТ. Признание того, что иммунные реакции человека могут быть направлены двумя различными подмножествами Т-хелперов (Th1 и Th2), стало важным открытием в современной иммунологии. Иммунные реакции, приводящие к повышению уровня Th1 или Th2, предполагают различные воспалительные пути и исходы заболевания [48].

Многочисленные исследования подтверждают это, в том числе исследование, которое показало, что соотношение Th1/Th2 было выше у пациентов с тяжелой формой гипотироза, чем у пациентов с легкой формой ($p < 0,001$) [49].

Еще одним подмножеством Th-клеток, играющих важную роль в развитии и прогрессировании хронического воспаления и повреждения тканей при АИТ, являются Th17-клетки. Более высокая доля Th17-клеток, а также более высокие уровни цитокинов, продуцируемых этими клетками, были обнаружены в периферической крови и ткани щитовидной железы у пациентов с АИТ, по сравнению со здоровыми лицами.

Также отмечается, что Т-регуляторные (Treg) клетки накапливаются в ткани ЩЖ больных АИТ. Они показали иммуносупрессивную роль в патогенезе АИТ, способствуя аутоиммунному разрушению ткани ЩЖ [50].

Связи между аутоиммунным процессом в ЩЖ и гематологическими заболеваниями стали изучать в последнее десятилетие, хотя о влиянии некоторых заболеваний ЩЖ на гемопоэз известно давно [51]. Особенно заметными эти связи оказались при нарушении функции ЩЖ. При тенденции

к гипертирозу нередко наблюдается эритроцитоз. При выраженном тиротоксикозе обнаруживаются анемия, лимфоцитоз, лимфаденопатия и увеличение селезенки, а также эозинофилия, гранулоцитопения, тромбоцитопения [52,53]. Выраженный гипотироз оказывает не меньшее влияние на гемопоэз — гипопластическая анемия и некоторые другие ее виды, лейкопения, гиперсегментация нейтрофилов, тромбоцитопения, склонность к мелким геморрагиям кожи, слизистых оболочек и мозга. При гипотирозе отмечаются нарушения в системе свертывания крови — снижение фибринолитической активности и уровня VII фактора свертываемости. В большинстве случаев эти изменения носят стертый характер и связаны как с выраженностью процесса в ЩЖ, так и с потенциальными возможностями костного мозга [54]. Выявлению связей между аутоиммунным процессом в ЩЖ и системой гемопоэза предшествовали скрининговые популяционные исследования, позволившие определить частоту АИТ и повышенного титра аутоантител к ЩЖ в различных возрастных группах населения многих регионов мира.

Попытки исследовать состояние белой крови при заболеваниях ЩЖ делались уже в ранний период, когда АИТ ещё не считался самой распространенной эндокринной и аутоиммунной болезнью и был относительно мало известен врачебному миру. Они предпринимались в ряде стран. Было показано, что количество циркулирующих в крови базофилов и эозинофилов находится под регуляторным влиянием не только гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, но и гормонов ЩЖ [55]. Польский ученый А. Хрычек [56] обнаружил у пациенток с гипертирозом лейкопению, нейтропению, снижение фагоцитарных свойств нейтрофилов и продукции ими лизоцима, но вместе с тем повышенную адгезивную и редуцтазную активность этих гранулоцитов. Позже итальянские исследователи сообщили о снижении окислительного метаболизма нейтрофилов при гипотирозе при нормальных миграционных свойствах нейтрофилов, но не подтвердили

прямого корректирующего действия тироксинотерапии на эти параметры [57]. Наконец, в 2010 г. были подтверждены данные о том, что течение АИТ и базедовой болезни сопровождается нарушениями антигенного состава и секреторной функции нейтрофильных гранулоцитов, параметров фагоцитоза и разбалансировкой в системе цитокинов, причем характер вышеназванных изменений зависит от функционального состояния ЩЖ. Было показано, что эти изменения более выражены при базедовой болезни, чем при АИТ, и сочетаются с усилением переваривающей способности клеток и гиперэкспрессией на их поверхности адгезивных молекул CD31, CD62L, ответственных за транс-эндотелиальную миграцию нейтрофилов [58]. Таким образом, имеющиеся данные о связи ЩЖ и лейкоцитарной формулы противоречивы и немногочисленны [59].

1.6. Прогностическое значение лимфоцитоза при аутоиммунном тироидите.

Гипотироз часто сопровождается гиперпролактинемией. Вырабатываемый в гипоталамусе трипептидный ТРГ является также и пролактолиберинем, одновременно стимулируя базофильные тиротрофы и ацидофильные соматомаммотрофы аденогипофиза на выработку ТТГ и ПРЛ, соответственно. Поэтому при гипотирозе любого происхождения, даже у детей и подростков, под воздействием компенсаторно выделяемого гипоталамического тиролиберина повышается уровень не только ТТГ, но и ПРЛ [60], экспрессируемого, что особенно важно, не только гипофизом, но и самими клетками иммунной системы – в частности, некоторыми Т-лимфоцитами [61,62].

Согласно исследованиям Hedi Orbacha & Yehuda Shoenfeld (2007), ПРЛ оказывает следующие воздействия на клетки иммунной системы:

- 1) отрицательное влияние на негативную селекцию аутореактивных В – лимфоцитов в ходе их созревания;

- 2) препятствие апоптозу;
- 3) усиление пролиферативного ответа на антигены и митогены;
- 4) увеличение продукции иммуноглобулинов и аутоантител;
- 5) увеличение выработки Т-хелперами-1 ИЛ-2 и ФНО- γ ;
- 6) активация Т-хелперов-2 на выработку аутоантител.

Уместно предположить, что нарушение в механизмах, уравнивающих центральную и местную регуляцию, приводит к тому, что гипофизарный ПРЛ, выделяясь в больших количествах, будет действовать как иммуностимулирующий пара-, ауто-, и эндокринный биорегулятор, приводя к повышению титра различных аутоантител и к расширению спектра аутоаллергии [5]. Было обнаружено, что уровни ААТ при АИТ прямо коррелируют со степенью гиперпролактинемии, а при лечении левотиноксиком они, как и уровни ПРЛ, снижаются [60]. ПРЛ – доказанный стимулятор аутоиммунитета, способствующий через свои эндокринные и паракринные влияния развитию и/или обострению многих аутоиммунных болезней, например, ревматологических, а в случае АИТ – он отвечает за порочный круг в патогенезе болезни, когда аутоиммунитет способствует гипотирозу, а тот, в свою очередь, через гиперпролактинемия подстегивает аутоиммунитет [11,15,60]. Следовательно, при гиперпролактинемии можно предположить наличие лимфоцитоза.

КЗ же, напротив, оказывает оказывает иммуносупрессивное действие, ввиду доказанной способности АКТГ и глюкокортикоидов тормозить митотическую активность лимфоцитов [63], а в высоких концентрациях – и запускать их апоптоз [15,64]. Поэтому лимфоцитопения – одно из основных гематологических проявлений гиперкортицизма, как стрессорного, так и патологического или ятрогенного.

И ранее отмечалось, что при аутоиммунных заболеваниях ЩЖ в периферической крови наблюдается тенденция к лимфоцитозу и гипергаммаглобулинемии [11,15,60,65,66,67].

Лимфоцитоз (хотя бы относительный, а иногда – и абсолютный) – особенность лейкоцитарной формулы при ряде аутоиммунопатий – аутоиммунных лимфопролиферативных синдромах, ряде форм красной волчанки, ревматоидного артрита, синдроме Шегрена, болезни Кавасаки и некоторых васкулитах с аутоантителами к нейтрофилам, аутоиммунных адреналите и гепатите, саркоидозе, генерализованной миастении и др. [68,69,70,71]. Надо отметить, что иногда (например, при гранулематозе Вегенера, синдромах Фелти и Шегрена, некоторых формах аутоиммунного гепатита и др.) это зависит не столько от лимфоидной пролиферации, сколько от развития аутоиммунно-опосредованной гранулоцитопении. Применение тиростатиков, блокирующих ТПО, также сопряжено с гранулоцитопенией [72]. Некоторые авторы в малых группах вообще не нашли отличий в содержании лимфоцитов от такового у здоровых доноров и лиц с АИТ [12].

Несмотря на преобладание клинически «молчащих» (на деле, увы, не столько неманифестных, сколько прискорбно не замечаемых врачами) форм АИТ, он требует применения эффективных методов ранней диагностики и патогенетически обоснованной терапии для профилактики деструктивных и склеротических процессов в ЩЖ, предупреждения таких его последствий, как ускоренное метаболическое старение и ранний осложненный метаболический синдром. Лимфоцитарный тироидит в ряде случаев предшествует раку и лимфоме ЩЖ и оказывает влияние на их течение. АИТ нередко сопровождает аутоиммунные и опухолевые заболевания крови.

Учитывая роль лимфоцитов в аутоиммунных и регенерационных процессах, мы решили изучить абсолютные и относительные показатели их содержания в крови лиц, страдающих АИТ, а также их связь с ПРЛ, КЗ, ТТГ, гормонами щитовидной железы и ААТ, что в будущем может использоваться

для раннего выявления этого заболевания и его осложнений (лимфомы) и для подбора патогенетически обоснованной терапии.

Глава 2. Характеристика клинического материала и методов исследования.

2.1. Материал исследования.

2.1.1. Пациенты первого этапа исследования

Мы изучили содержание лимфоцитов в периферической крови у 330 пациентов с АИТ Хасимото, установленным в соответствии с критериями Японской тиреодологической ассоциации 2013 г. [73], в возрасте от 6 до 89 лет. Женщин было – 238 (ср. возраст – $38,55 \pm 0,99$ г.), мужчин – 92 (ср. возраст – $34,21 \pm 1,72$ г.). Все пациенты были разделены по возрасту на 5 групп (Рис. 2).

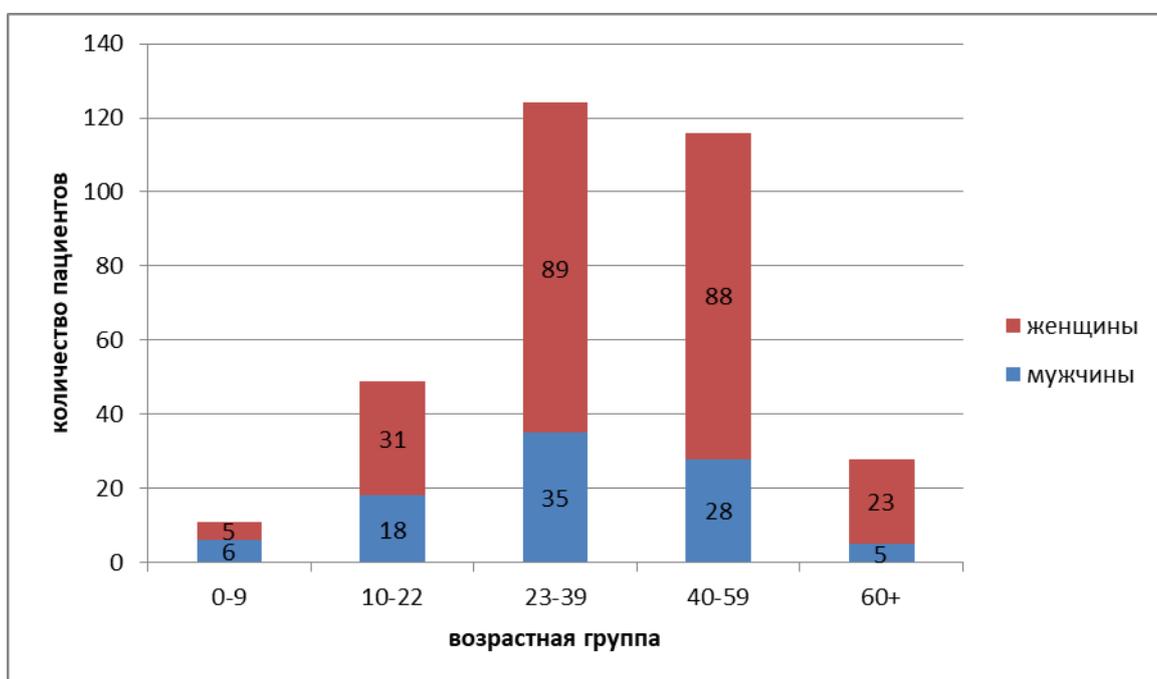


Рис. 2. Характеристика обследованных пациентов с АИТ

Пациенты представляли разные этнические группы (преобладали этнические русские) и проживали преимущественно в Северо-Западном и Центральном регионах РФ. У 38 пациентов с АИТ была клиника гипертироза (хаситоксикоз и единичные случаи относительной передозировки левотироксина). Эутироз был у 117 человек. Клиника гипотироза различной степени тяжести наблюдалась у 175 пациентов (Рис. 3).

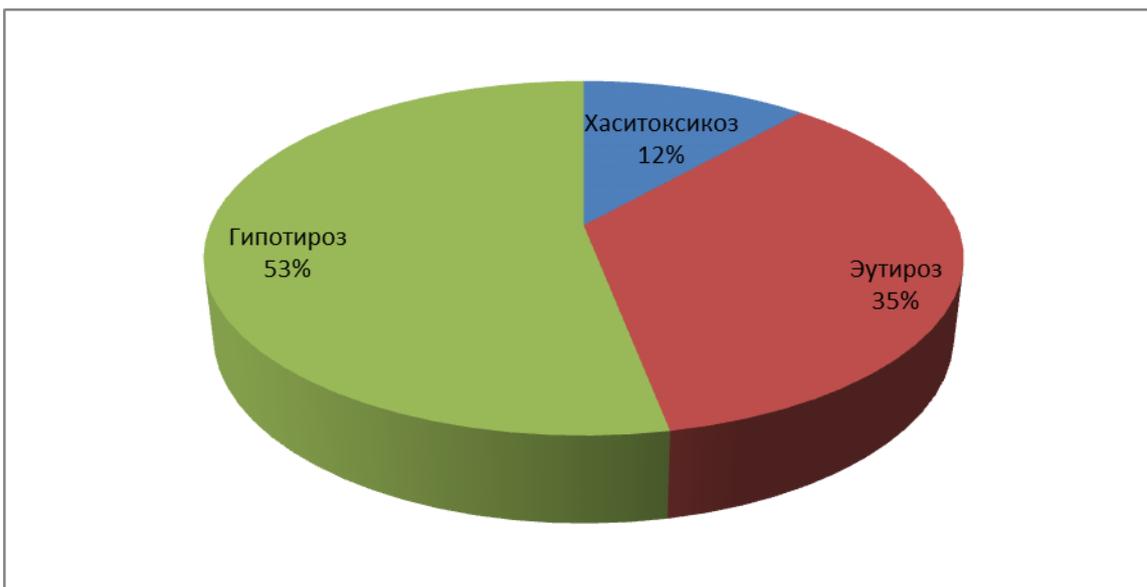


Рис 3. Распределение пациентов с АИТ по уровню функциональной активности щитовидной железы.

Клинической базой для наблюдения за пациентами служила «Клиника семейной медицины «БалтМед Гавань». Пациенты для исследования отбирались случайным образом, по мере обращения их в клинику. Все исследования проведены с добровольного информированного согласия пациентов.

2.1.2. Пациенты второго этапа исследования

В настоящее исследование были включены 17 пациентов в возрасте от 29 до 79 лет, страдающих АИТ. Средний возраст пациентов составил $47,76 \pm 3,54$ г. Из них было 7 мужчин и 10 женщин. Клинической базой для подбора пациентов и взятия образцов периферической крови служила «Клиника семейной медицины «БалтМед Гавань». Пациенты для исследования отбирались случайным образом, по мере обращения их в клинику. Все исследования проведены с добровольного информированного

согласия пациентов. Иммунофенотипирование проводилось в отделе иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Все исследования проводились в день взятия крови.

2.1.3. Пациенты третьего этапа исследования

В литературе имеются данные, что многие хронические аутоиммунные процессы с лимфоцитарной инфильтрацией желез (щитовидной железы, экзокринных желез лица) значительно повышают риск развития лимфом из лимфоцитов, участвующих в хроническом клеточном аутоиммунном процессе [74]. Нами были проанализированы и/б 7930 лиц с АИТ, которые систематически наблюдались в Клинике «БалтМед Гавань» с 2011 по 2019 гг с целью выяснить значимость АИТ в развитии данной онкологической патологии. Практически у всех пациентов были стигмы дисплазии марфаноподобного фенотипа [1].

2.2. Методы исследования.

Исследование параметров абсолютной и относительной лейкоцитарных формул производилось методом проточной цитофлуориметрии на автоматическом гематологическом анализаторе XN-9000, Sysmex (Япония) на базе клиники «БалтМед Гавань» или тем же методом на аналогичных приборах в других лицензированных диагностических центрах Санкт-Петербурга. В качестве референсных контрольных данных мы использовали полученные тем же методом и на аналогичных приборах доступные из литературы многочисленные сведения о среднем содержании лимфоцитов в периферической крови взрослых россиян [59].

Абсолютное содержание и относительная доля лимфоцитов среди лейкоцитов периферической крови в нашем исследовании сопоставлялись с полом и возрастом пациентов, а также с уровнями ряда эндокринных и иммунных показателей сыворотки крови – концентраций тиротропного

гормона (ТТГ), свободного тироксина (св. Т4), свободного трийодтиронина (св. Т3), пролактина (ПРЛ), кортизола (КЗ) и ААТ к ТПО, к ТГ и к рецепторам ТТГ, определенными иммуноферментными методами с помощью стандартных коммерческих наборов реактивов.

При исследовании субпопуляций лимфоцитов использовали методику подготовки образцов крови и подбора моноклональных антител конъюгированных с флуорохромами [75,76]. Анализ образцов проводился при помощи проточного цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, Inc., USA), оснащенного тремя лазерами с длинами волн излучения 405, 488 and 638 нм. Для каждого из образцов анализировалось не менее 40000 CD3+CD4+ (Th) лимфоцитов. Тактика «гейтирования» для выделения субпопуляций Т-клеток была описана И. Кудрявцевым [77].

2.3. Статистическая обработка полученных данных.

Полученные в ходе исследования данные вносились в таблицы Excel для дальнейшей систематизации и обработки. Вычисления производились с помощью расширения «Анализ данных» для Excel. Представленные в работе диаграммы выполнены при помощи приложений Word и Excel.

В статистической обработке результатов использовались стандартные методы вариационной статистики: вычисление средних (M) и стандартных ошибок (m). Результаты представлены в виде $M \pm m$.

Предварительно все распределения количественных данных выборки были проверены на нормальность с помощью теста Колмогорова-Смирнова и оказались близки к нормальному распределению, что позволило в дальнейшем использовать именно параметрические статистические методы. Достоверность различий для зависимых групп определялась с помощью параметрического парного t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Корреляционный анализ использовался для выявления количественной и качественной взаимосвязи между переменными. Оценивались взаимосвязи при коэффициенте корреляции $r < 0,3$ как слабые, $0,3 < r < 0,7$ как средние и $r > 0,7$ – как сильные. При этом достоверность связи как значимая принималась при t-критерии $\alpha > 0,95$ и $p < 0,05$ [78].

Статистическую обработку данных второго этапа исследования проводили при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 4.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc., США). Полученные результаты выражали в виде % клеток от искомой популяции и приводили как медиану и интерквартильный размах (Med (Q25; Q75)). Нормальность распределения оценивали при помощи теста Шапиро-Вилка (во всех группах было менее 50 пациентов). Статистическое сравнение данных между группой больных аутоиммунным тиреоидитом и условно здоровых добровольцев проводилось с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Глава 3. Результаты собственных исследований

3.1. Результаты первого этапа исследования

В общей группе пациентов средний уровень ТТГ колебался от 0,00 до 51,80 мкМЕ/мл (в среднем – $2,40 \pm 0,22$ мкМЕ/мл), св. Т3 – от 1,54 до 50 пмоль/л (в среднем – $4,85 \pm 0,17$ пмоль/л), св. Т4 – от 7,49 до 120 пмоль/л (в среднем – $15,90 \pm 0,49$ пмоль/л), ААТ к ТГ – от 0 до 3456 МЕ/мл (в среднем – $77,67 \pm 18,96$ МЕ/мл), ААТ к ТПО – от 0 до 3680 МЕ/мл (в среднем – $97,81 \pm 18,49$ МЕ/мл), ААТ к рецепторам ТТГ – от 0 до 40 МЕ/л (в среднем – $1,55 \pm 0,72$ МЕ/мл), ПРЛ – от 3,72 до 2146 мкМЕ/мл (в среднем – $327,63 \pm 15,66$ мкМЕ/мл), КЗ – от 112 до 1009 нмоль/л (в среднем – $420,76 \pm 17,58$ нмоль/л).

В общей группе обследованных самое низкое относительное содержание лимфоцитов составило 15,7%, а самый высокое – 60,2%, при этом количество пациентов, у которых относительное содержание лимфоцитов превышало общепринятую верхнюю границу нормы (37%), составило 137 человек (41,5%!). Лиц с относительным содержанием лимфоцитов ниже нижней границы общепринятой нормы (19%) ААТ – лимфоцитопений – было всего 5 человек (1,5%).

Показатели относительного и абсолютного количества лимфоцитов в зависимости от пола и возраста у обследованных нами пациентов с АИТ приведены в таблице 5.

При сравнении полученных уровней относительного и абсолютного количества лимфоцитов с показателями здоровых лиц [19,20,79,82,81] обнаружено, что при АИТ эти показатели были достоверно более высокими ($p < 0,001$). Из таблицы 5 также следует, что средний уровень относительного и абсолютного количества лимфоцитов зависел от возраста обследованных. Так, в возрасте до 9 лет эти показатели были самыми высокими – соответственно $42,26 \pm 3,36\%$ ($2,69 \pm 0,25 \times 10^9/\text{л}$) постепенно снижаясь и

достигая минимальных значений в пожилом возрасте (старше 60 лет), составив соответственно $33,64 \pm 1,29$ ($2,23 \pm 0,12 \times 10^9/\text{л}$), $p < 0,001$.

Таблица 5.

Абсолютное и относительное содержание лимфоцитов периферической крови у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом

Показатель		Число лиц	Аутоиммунный тиреоидит	
			Лимфоциты (%) M ± m	Лимфоциты ($\times 10^9/\text{л}$) M ± m
Женщины		238	$35,26 \pm 0,59$	$2,29 \pm 0,05$
Мужчины		92	$36,36 \pm 0,69$	$2,39 \pm 0,06$
Возраст (г-г.)	0-9	11	$42,26 \pm 3,36$	$2,69 \pm 0,25$
	10-22	50	$38,19 \pm 1,32$	$2,42 \pm 0,08$
	23-39	125	$34,07 \pm 0,77$	$2,26 \pm 0,07$
	40-59	116	$35,53 \pm 0,75$	$2,29 \pm 0,07$
	60+	28	$33,64 \pm 1,29$	$2,23 \pm 0,12$
Все пациенты		330	$35,57 \pm 0,47$	$2,32 \pm 0,04$

Половых различий в содержании лимфоцитов периферической крови у лиц с АИТ нами не обнаружено ($p > 0,1$).

Функциональное состояние щитовидной железы у обследованных лиц с АИТ оценивалось по уровням ТТГ, св. Т3 и св. Т4. По функциональной активности щитовидной железы пациенты были разделены на три группы: с проявлениями хаситоксикоза (38 пациентов), с эутирозом (117 пациентов), с гипотирозом (175 пациентов). Показатели относительного и абсолютного количества лимфоцитов в зависимости от тиреоидного статуса у обследованных нами пациентов с АИТ приведены в таблице 6.

Абсолютное и относительное содержание лимфоцитов периферической крови у пациентов с разным тироидным статусом

Показатель	Число лиц	Аутоиммунный тиреоидит	
		Лимфоциты (%) M ± m	Лимфоциты ($\times 10^9/\text{л}$) M ± m
Хаситоксикоз	38	36,42 ± 1,46	2,30 ± 0,14
Эутироз	117	34,58 ± 0,83	2,23 ± 0,06
Гипотироз	175	35,81 ± 0,66	2,36 ± 0,06
Все пациенты	330	35,57 ± 0,47	2,32 ± 0,04

Из таблицы 6 следует, что средний уровень относительного и абсолютного количества лимфоцитов зависел от функциональной активности щитовидной железы. Так, при нормальной деятельности щитовидной железы (эутироз) показатели лимфоцитов были самыми низкими – соответственно 34,58±0,83% (2,23±0,06×10⁹/л), однако, даже этот показатель выше среднего у здоровых лиц (27,6±1,6%) [19]. При патологии же уровни лимфоцитов повышались, $p < 0,05$.

В общей группе пациентов (330 чел.) была обнаружена прямая корреляционная связь средней силы относительного содержания лимфоцитов с КЗ ($r = 0,3270$) и прямая слабая корреляционная связь ($r = 0,2726$) абсолютного числа лимфоцитов также с КЗ (Рис. 4).

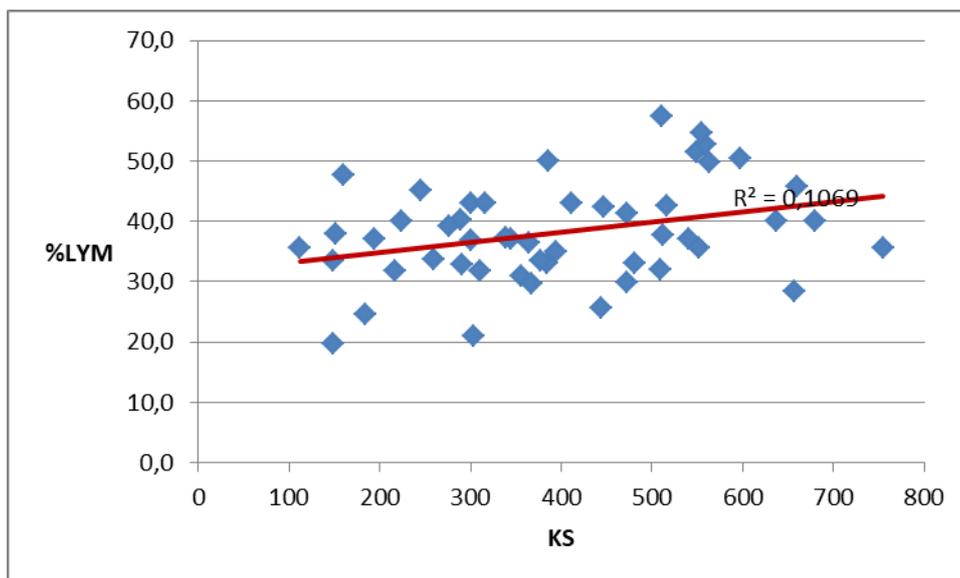


Рис. 4. Корреляция между уровнем кортизола и относительным содержанием лимфоцитов ($r=0,3270$).

В общей группе достоверная корреляционная связь содержания лимфоцитов с ТТГ, св.Т3, св. Т4, ААТ к ТГ, ААТ к ТПО, ААТ к РТТГ и ПРЛ отсутствовала. Несколько иная картина корреляционной связи наблюдалась в других группах пациентов.

Так, у пациентов с хаситоксикозом и передозировкой тироидных гормонов (38 чел.) была обнаружена обратная корреляционная связь средней силы ($r = -0,4968$) относительного числа лимфоцитов с уровнями ПРЛ и отрицательная корреляционная связь средней силы ($r = -0,4562$) между количеством ААТ к ТПО и относительным содержанием лимфоцитов (Рис. 5, б) Достоверная корреляционная связь уровня лимфоцитов с ТТГ, св.Т3, св. Т4, ААТ к ТГ, ААТ к РТТГ и КЗ отсутствовала.

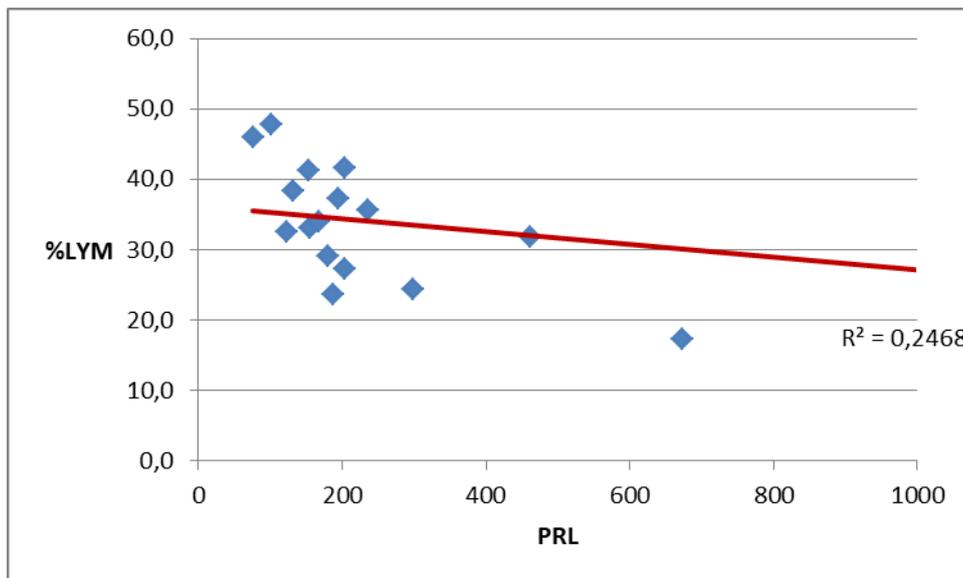


Рис. 5. Корреляция между уровнем пролактина и относительным содержанием лимфоцитов ($r=-0,4968$).

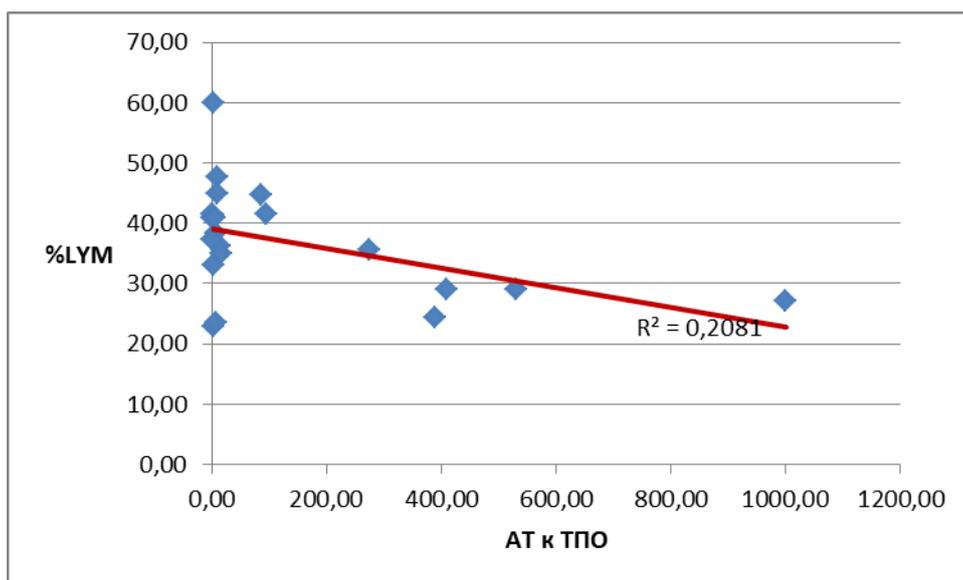


Рис. 6. Корреляция между количеством ААТ к ТПО и относительным содержанием лимфоцитов ($r=-0,4562$).

У пациентов с эутирозом (117 чел.) выявлена средняя прямая корреляционная связь ($r = 0,3331$) относительного содержания лимфоцитов со св. Т4 и средняя прямая корреляционная связь ($r = 0,3435$) абсолютного содержания лимфоцитов с КЗ (Рис. 7, 8). Достоверная корреляционная связь

содержания лимфоцитов с ТТГ, ААТ к ТГ, ААТ к ТПО, ААТ к РТТГ и ПРЛ при эутирозе отсутствовала.

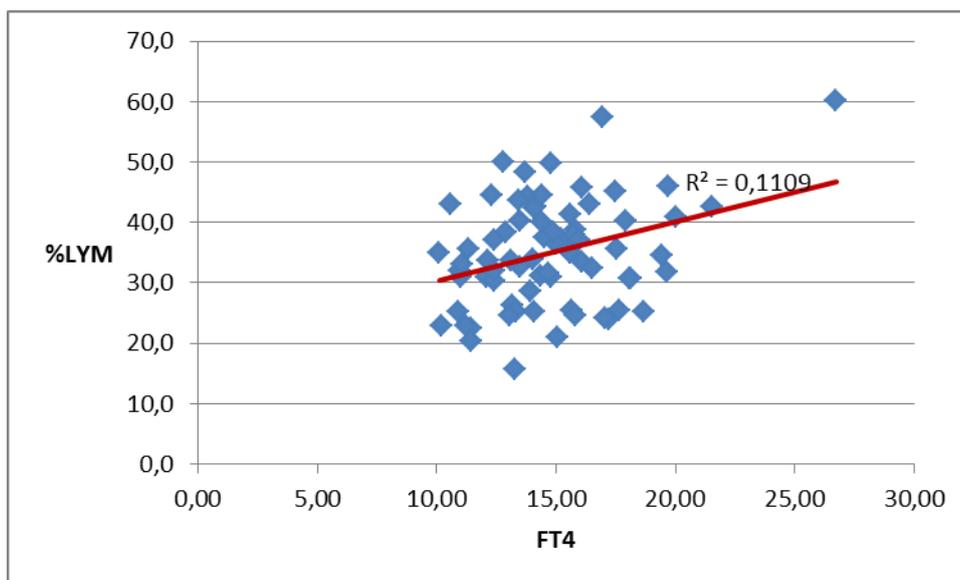


Рис. 7. Корреляция между свободным тироксином и относительным содержанием лимфоцитов ($r=0,3331$).

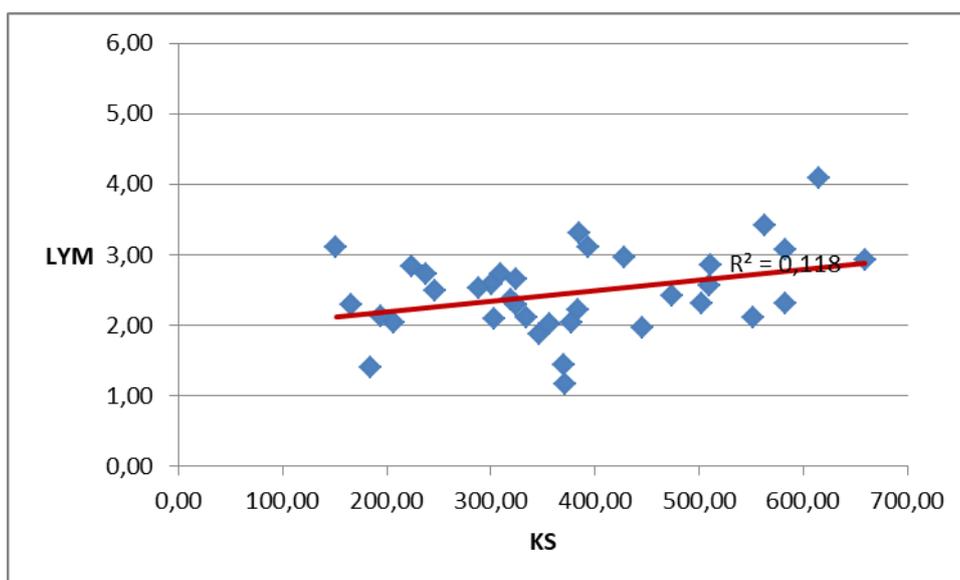


Рис. 8. Корреляция между уровнем кортизола и относительным содержанием лимфоцитов ($r = 0,3435$).

При гипотирозе (175 чел.) средняя прямая корреляционная связь ($r = 0,3272$) была обнаружена только между абсолютным числом лимфоцитов и КЗ. (Рис. 9). С уровнями ТТГ, св.Т3, св. Т4, ААТ к ТГ, ААТ к ТПО, ААТ к

РТТГ и ПРЛ значимая корреляционная связь содержания лимфоцитов в периферической крови не обнаружена.

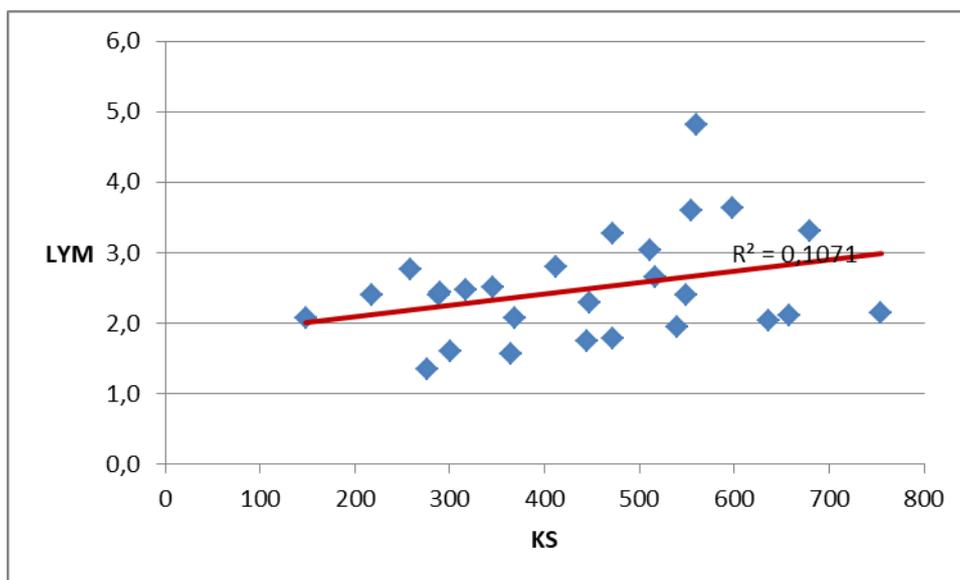


Рис. 9. Корреляция между уровнем кортизола и абсолютным содержанием лимфоцитов ($r=0,3272$).

Мы решили пронаблюдать динамику изменения уровней лимфоцитов в процессе лечения пациентов. Выборка составила 8 человек. У 7 из 8 пациентов наблюдалась тенденция к уменьшению абсолютного и относительного содержания лимфоцитов. Нами начат сбор материала для сравнения уровня лимфоцитов до и после лечения на более значимой выборке, и в дальнейшем результаты этого исследования будут представлены.

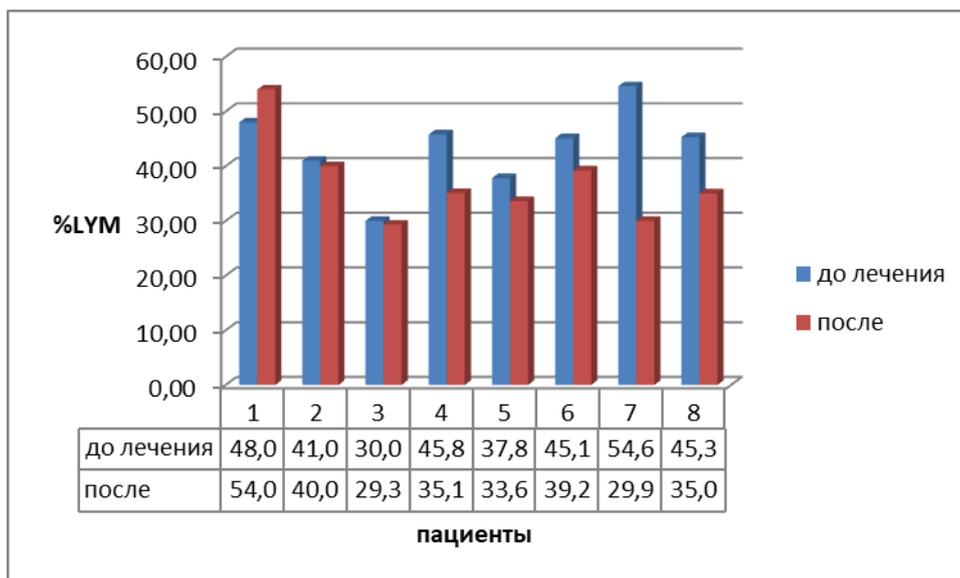


Рис. 10. Динамика относительного количества лимфоцитов у пациентов с АИТ в процессе лечения.

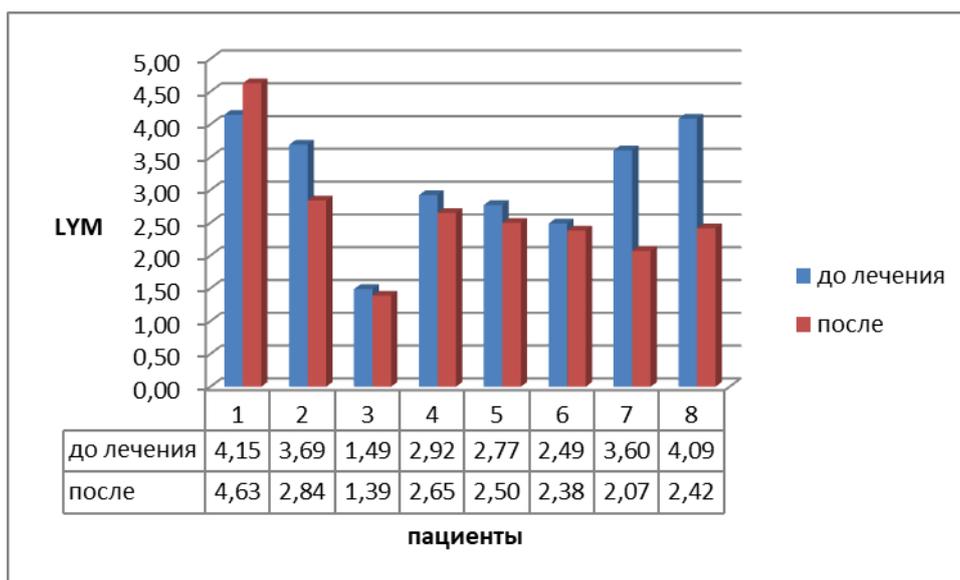


Рис. 11. Динамика абсолютного количества лимфоцитов у пациентов с АИТ в процессе лечения.

3.2. Результаты второго этапа исследования

T-хелперы периферической крови и их основные субпопуляции.

Относительное содержание CD3+CD4+ (Th) клеток в рамках общей популяции T-лимфоцитов периферической крови достоверно не различалась

($p=0,319$) между группами и составляла 62,80% (54,59; 66,47) у больных АИТ и 64,32% (61,19; 71,29) в группе сравнения.

При анализе основных стадий созревания Th клеток применяли антитела против поверхностных рецепторов CD45RA и CCR7, что позволяло выявить «наивные» клетки с фенотипом CD45RA+CCR7+, Th клетки центральной и эффекторной памяти (CM и EM с фенотипами CD45RA–CCR7+ и CD45RA–CCR7–, соответственно), а также «терминально-дифференцированные» CD45RA-позитивные Th клетки эффекторной памяти (TEMRA, фенотип CD45RA+CCR7-).

В периферической крови как больных АИТ, так и условно здоровых добровольцев доминировали «наивные» Th, уровень которых у последних находился в пределах 50%, хотя достоверно не превосходил значения группы больных (Табл. 7). При анализе относительного содержания циркулирующих Th, находящихся на разных стадиях дифференцировки, также не было обнаружено каких-либо значимых отличий между образцами крови больных АИТ и здоровых добровольцев среди популяций клеток памяти (CM, EM и TEMRA).

Таблица 7.

Относительное содержание различных субпопуляций Т-хелперов, выделяемых на основании экспрессии CD45RA и CCR7, у больных аутоиммунным тиреоидитом (n=17) и условно здоровых добровольцев (n=30). Результаты приведены в виде процента от общей популяции CD3+CD4+ (Th) лимфоцитов и представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Med (Q25; Q75)).

Популяция	Фенотип	АИТ (n=17)	Контроль (n=30)	p
naive Th	CD45RA+CCR7+	38,48 (35,12; 56,69)	50,32 (34,60; 56,25)	0,572
CM Th	CD45RA–CCR7+	35,11 (31,36; 43,45)	34,27 (30,40; 48,93)	0,921
EM Th	CD45RA–CCR7–	13,32 (9,76; 17,82)	12,04 (8,93; 15,46)	0,223
TEMRA Th	CD45RA+CCR7-	1,55 (0,97; 3,14)	1,04 (0,66; 2,16)	0,288

Здесь и далее в таблицах. Величина p – статистическое сравнение данных между группой больных аутоиммунным тиреоидитом и условно здоровых добровольцев согласно непараметрическому U-критерию Манна-Уитни.

«Поляризованные» Т-хелперы центральной памяти и их основные субпопуляции.

При анализе субпопуляций Тх клеток центральной памяти применяли антитела против хемокиновых рецепторов CXCR5, CXCR3, CCR6 и CCR4.

В периферической крови как больных АИТ, так и условно здоровых добровольцев доминировали Th17 составляя 38,10% (31,71; 40,93) и 40,39% (35,41; 47,79) соответственно (Табл. 8). На втором месте по количеству клеток в обеих группах оказались Tfh: 35,27% (33,00; 43,29) у больных и 32,92% (27,92; 39,18) у здоровых лиц. На третьем – Th1: 8,46% (7,58; 9,88) у больных АИТ и 10,31% (8,52; 13,33) у здоровых. Наименьшие доли в обеих группах пришлось Th2: 7,49% (6,36; 10,81) и 7,21% (5,64; 9,84) соответственно. При этом относительное содержание Th1 у больных тиреоидитом оказалось ниже, чем у здоровых лиц с достоверностью $p < 0,01$.

Таблица 8.

Относительное содержание различных субпопуляций «поляризованных» СМ Т-хелперов, выделяемых на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR5, CXCR3, CCR6 и CCR4, у больных аутоиммунным тиреоидитом (n=17) и условно здоровых добровольцев (n=30). Результаты приведены в виде процента от общей популяции СМ CD3+CD4+ лимфоцитов и представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Med (Q25; Q75)).

Популяция	АИТ (n=17)	Контроль (n=30)	p
Th1	8,46 (7,58; 9,88)	10,31 (8,52; 13,33)	0,007
Th2	7,49 (6,36; 10,81)	7,21 (5,64; 9,84)	0,492
Th17	38,10 (31,71; 40,93)	40,39 (35,41; 47,79)	0,150
Tfh	35,27 (33,00; 43,29)	32,92 (27,92; 39,18)	0,088

Здесь и далее под Th1 клетками подразумеваются CD3+CD4+ лимфоциты с фенотипом CXCR5-CXCR3+CCR6-CCR4-; Th2 клетки обладают фенотипом CXCR5-CXCR3-CCR6-CCR4+; общий пул Th17 клеток выявляется как CXCR5-CCR6+, тогда как общий пул Tfh определяется как CXCR5+.

Субпопуляционный состав Th17 клеток центральной памяти.

Общий анализ субпопуляций Th17 клеток при АИТ показал, что в периферической крови как больных АИТ, так и условно здоровых добровольцев доминировали Th17.1, составляя 48,92% (44,47; 54,15) и 52,26% (46,45; 56,95) соответственно (Таб. 9) При этом относительное содержание дважды негативных Th17 у больных тиреоидитом составило 6,67% (6,24; 10,51) и оказалось ниже, чем у здоровых лиц (14,30% (10,45; 16,41)) с достоверностью $p < 0,01$, а относительное содержание дважды позитивных в группе больных оказалось достоверно выше, чем у здоровых ($p < 0,01$) и составило 18,77% (14,77; 22,63) и 10,75% (7,60; 14,64) соответственно (Рис. 10).

Таблица 9.

Относительное содержание различных субпопуляций циркулирующих Th17, выделяемых на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR4, у больных аутоиммунным тиреоидитом (n=17) и условно здоровых добровольцев (n=30). Результаты приведены в

виде процента от общей популяции CXCR5-CCR6+ CM CD3+CD4+ лимфоцитов и представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Med (Q25; Q75)).

Популяция	Фенотип	АИТ (n=17)	Контроль (n=30)	p
DN Th17	CCR4-CXCR3-	6,67 (6,24; 10,51)	14,30 (10,45; 16,41)	<0,001
class Th17	CCR4+CXCR3-	21,85 (18,75; 26,53)	21,01 (18,05; 25,95)	0,707
Th17.1	CCR4-CXCR3+	48,92 (44,47; 54,15)	52,26 (46,45; 56,95)	0,352
DP Th17	CCR4+CXCR3+	18,77 (14,77; 22,63)	10,75 (7,60; 14,64)	<0,001

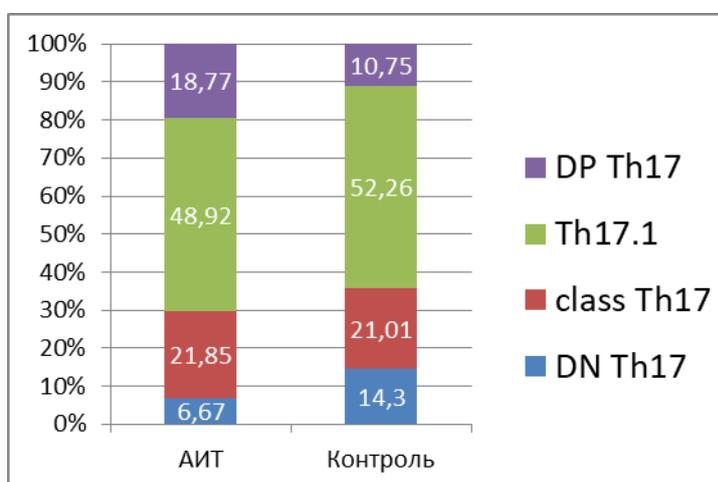


Рис. 10. Сравнение относительного содержания различных субпопуляций циркулирующих Th17 у больных АИТ и условно здоровых добровольцах.

Субпопуляционный состав циркулирующих фолликулярных Т-хелперов центральной памяти.

Общий анализ этих различных субпопуляций Tfh-клеток при АИТ показал, что в обеих группах доминировали Tfh17 клетки: 34,97% (31,62; 39,71) у лиц больных АИТ и 34,86% (28,14; 39,65) в контрольной группе (Табл. 10). Меньше всего в обеих группах оказалось Tfh2 клеток: 34,97% (31,62; 39,71) в первой и 34,86% (28,14; 39,65) во второй группе. Относительное содержание DP Tfh (дважды позитивных) клеток у больных

тиреоидитом оказалось выше, чем у здоровых лиц с достоверностью $p < 0,05$ и составило соответственно 22,11% (18,20; 24,18) и 17,96% (13,76; 22,61).

Таблица 10.

Относительное содержание различных субпопуляций циркулирующих фолликулярных Т-хелперов, выделяемых на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR6, у больных аутоиммунным тиреоидитом (n=17) и условно здоровых добровольцев (n=30). Результаты приведены в виде процента от общей популяции CXCR5+ (Tfh) CM CD3+CD4+ (Th) лимфоцитов и представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Med (Q25; Q75)).

Популяция	Фенотип	АИТ (n=17)	Контроль (n=30)	p
Tfh1	CXCR3+CCR6-	26,27 (23,41; 29,81)	30,27 (24,34; 36,59)	0,069
Tfh2	CXCR3-CCR6-	13,87 (10,98; 18,05)	16,48 (13,24; 22,30)	0,063
Tfh17	CXCR3-CCR6+	34,97 (31,62; 39,71)	34,86 (28,14; 39,65)	0,298
DP Tfh	CXCR3+CCR6+	22,11 (18,20; 24,18)	17,96 (13,76; 22,61)	0,024

На следующем этапе для более детального анализа изменений в субпопуляционном составе числа Т-хелперов с фенотипом CXCR5+CD45RA-CCR7+ (Tfh CM) был проведен анализ популяции CXCR5+ Т-хелперов центральной памяти, основываясь не только на характере экспрессии CCR6 и CXCR3, но и CCR4. Этот подход позволил нам точно установить фенотип Tfh1-, Tfh2- и Tfh17- подобных клеток и оценить относительное содержание Tfh клеток, не попадающих в общепринятую классификацию (Табл. 11). Иммунограмма больных АИТ и здоровых лиц имела существенные различия (Рис. 11) Так с уровнем достоверности $p < 0,01$ в периферической крови больных АИТ было меньше фолликулярных лимфоцитов центральной памяти

с фенотипом CXCR3-CCR6-CCR4-, CXCR3-CCR6+CCR4-, CXCR3+CCR6-CCR4- и больше с фенотипом CXCR3-CCR6-CCR4+, CXCR3-CCR6+CCR4+, CXCR3+CCR6-CCR4+, CXCR3+CCR6+CCR4+, чем в периферической крови здоровых лиц.

Таблица 11.

Относительное содержание различных субпопуляций циркулирующих фолликулярных Т-хелперов, выделяемых на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3, CCR6 и CCR4, у больных аутоиммунным тиреоидитом (n=17) и условно здоровых добровольцев (n=30). Результаты приведены в виде процента от общей популяции CXCR5+ CM CD3+CD4+ лимфоцитов и представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Med (Q25; Q75)).

Популяция	Фенотип	АИТ (n=17)	Контроль (n=30)	p
	CXCR3-CCR6-CCR4-	7,53 (5,56; 8,06)	12,00 (8,98; 15,30)	<0,001
Tfh2	CXCR3-CCR6-CCR4+	6,41 (5,34; 8,42)	4,65 (3,80; 5,28)	0,001
Tfh17	CXCR3-CCR6+CCR4-	15,65 (13,21; 18,47)	22,72 (17,64; 27,77)	<0,001
CCR4+ Tfh17	CXCR3-CCR6+CCR4+	19,52 (17,14; 21,97)	10,65 (9,07; 12,86)	<0,001
Tfh1	CXCR3+CCR6-CCR4-	16,44 (13,99; 19,65)	26,15 (21,22; 32,30)	<0,001
	CXCR3+CCR6-CCR4+	8,55 (7,47; 10,81)	3,72 (3,20; 4,67)	<0,001
Tfh17.1	CXCR3+CCR6+CCR4-	13,40 (11,17; 14,48)	14,65 (10,83; 20,01)	0,278
DP Tfh17	CXCR3+CCR6+CCR4+	8,37 (7,02; 9,63)	2,72 (1,75; 3,32)	<0,001

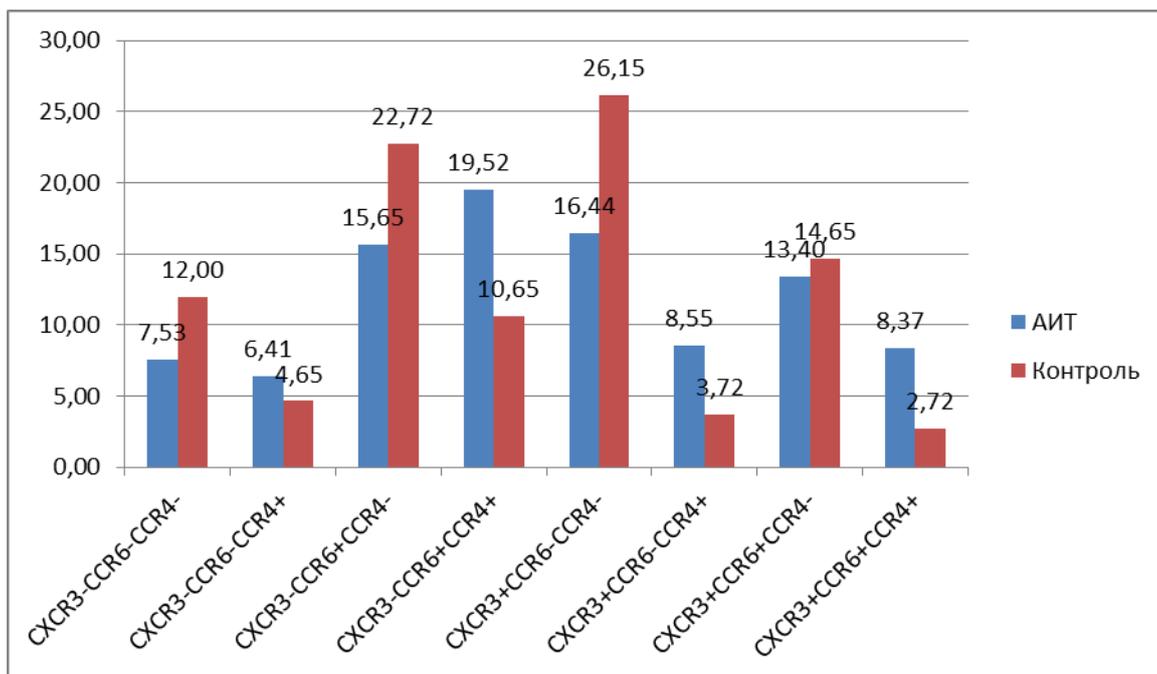


Рис. 11. Сравнение содержания различных субпопуляций циркулирующих фолликулярных Т-хелперов, выделяемых на основании анализа ко-экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3, CCR6 и CCR4

3.3. Результаты третьего этапа исследования.

Нами были проанализированы истории болезней 7930 лиц с АИТ, которые систематически наблюдались в Клинике «БалтМед Гавань» с 2011 по 2019 гг. Практически у всех были стигмы дисплазии марфаноподобного фенотипа. Среди 7030 пациентов с АИТ оказалось 11 лиц (0,14%) с лимфомами. Четверо из них обратились к эндокринологу по поводу патологии ЩЖ после лечения лимфогранулематоза, в фазе его ремиссии. У двух была ремиссия острого лимфобластного лейкоза. В одном случае была ампутация правой верхней конечности по поводу лимфосаркомы плечевой кости. В четырёх случаях был хронический лимфолейкоз, причём у двух из них он был выявлен уже на фоне страдания АИТ. Поводом к их углублённому гематологическому обследованию послужили высокие показатели уровня лимфоцитов в гемограмме при плановом посещении

эндокринолога (по поводу АИТ). В первом случае тяжелая форма ХЛЛ (волосатоклеточного) развилась у мужчины Ц-ля В.П., 56 лет, который наблюдался с 2008 г. с диагнозом: АИТ (ААТ к ТГ > 1000, ААТ к ТПО – 76,08), гипотироз II, вторичная гиперпролактинемия (787 мкЕД/мл), гинекомастия, пролактинома гипофиза, метаболический синдром. В апреле 2016 г. (через 10 лет лечения левотироксином и достинексом) в гемограмме – лимфоцитоз (84%), тени Боткина-Гумпрехта. Во втором случае ХЛЛ (опухолевая форма) пациентку К-ву А.В., 81 года, привела в клинику «БалтМед Гавань» её дочь, сама страдающая АИТ, по поводу быстрого развития «зоба» (огромные узлы в области ЩЖ, в печени, в средостении, спленомегалия). В гемограмме – лимфоцитоз (94,5%) и тени Боткина-Гумпрехта. ТТГ – 10 мкМЕ/мл, ААТ к ТГ – 479,6 МЕ/мл, ААТ к ТПО – 8,15 МЕ/мл. Направлена в РНИИ гематологии и трансфузиологии.

Глава 4. Обсуждение результатов

Ранее в литературе отмечалось, что при аутоиммунных заболеваниях ЩЖ в периферической крови наблюдается тенденция к лимфоцитозу и гипергаммаглобулинемии. [11,15,60,65,66,67]. Но, в основном, эти данные оказывались убедительны только для базедовой болезни, а не для собственно АИТ Хасимото [12,57,65,66,67]. Напротив, при АИТ некоторые авторы в малых группах вообще не нашли отличий в содержании лимфоцитов от такового у здоровых доноров и лиц с базедовой болезнью [12].

Нами впервые обнаружено наличие абсолютного и относительного лимфоцитоза при АИТ на большой выборке лиц с АИТ. Обнаруженная тенденция к лимфоцитозу при АИТ отвечает современному представлению об аутоиммунном патогенезе этой болезни.

Подчеркнем, ввиду давно известного действия тиростатиков на гемопоэз, что в нашем исследовании тенденция к лимфоцитозу прослеживалась и у эутироидных/гипотироидных пациентов, а не только у тех, кто по поводу хаситоксикоза мог получать тиростатики.

Известно, что с годами пролиферативная активность Т-лимфоцитов, составляющих большую часть лимфоидных клеток периферической крови, существенно снижается [82]. Выход новых лимфоцитов из тимуса после 35 лет резко снижается и с возрастом ввиду инволюции тимуса в крови становится всё меньше наивных лимфоцитов и всё больше клеток памяти [64,82]. Этим можно объяснить обнаруженную нами возрастную тенденцию к снижению степени абсолютного и относительного лимфоцитоза.

В наших исследованиях не получено убедительных данных, подтверждающих влияние уровня тироидных гормонов на содержание лимфоцитов в периферической крови при АИТ. Лишь при эутирозе существовала средней силы прямая корреляция между (не повышенным у данной подгруппы) уровнем свободного тироксина и содержанием лимфоцитов в крови. Однако в литературе имеются данные, что тироксин в

культурах лимфоидных клеток способен ускорять их пролиферацию [83]. Этим мы и объясняем данное явление.

Нами обнаружена отрицательная обратная связь между ААТ к ТПО и относительным содержанием лимфоцитов у пациентов с хаситоксикозом, что можно объяснить повышением у них продукции аутоантител к рецепторам ТТГ.

Обращают на себя внимание данные о прямой корреляции содержания лимфоцитов с уровнем кортизола. Это, казалось бы, противоречит основам учения о стрессе, ввиду доказанной способности глюкокортикоидных гормонов стимулировать хоуминг лимфоцитов, а в высоких концентрациях – и их апоптоз [15, 64]. Но в последние 20 лет, на фоне массового распространения рутинных автоматических определений лейкоцитарной формулы у человека описан и парадоксальный феномен временного абсолютного *лимфоцитоза* при остром действии психических и физических стрессоров – так называемый острый стрессорный лимфоцитоз [84]. Возможно, отмеченная прямая корреляция отражала проявления именно этой разновидности лимфоцитоза у обследованных нами пациентов с АИТ.

По-видимому, чтобы глубже понять патогенез полученных нами данных, следует изучить динамику уровня лимфоцитов у лиц различного возраста, страдающих АИТ, до и после лечения тиреоидными гормонами (левотироксином).

В нашем исследовании выяснилось, что у лиц с АИТ снижается в циркуляции количество Т-хелперов 1-го типа, запускающих развитие клеточного иммунного ответа, который обеспечивает организму защиту от внутриклеточно паразитирующих микроорганизмов, вирусов, грибков, а также противоопухолевый иммунитет. Таким образом, можно предположить склонность к поражению вышеперечисленными факторами больных АИТ. Не исключено, что в периферической крови Th1 лимфоцитов было меньше

как раз в силу их активного перехода в инфильтрируемые при аутоиммунном Th1-зависимом процессе ткани.

Также у пациентов с АИТ по сравнению с контрольной группой отмечено снижение CCR6+DN (дважды негативных) Th17 лимфоцитов, отличающихся высокой экспрессией IFN- γ , IL-17A, IL-17F, MIP-3a/CCL20 и TNF α и низкой экспрессией IL-13, IFN γ и TNF γ . Именно CCR6+DN являются основными продуцентами IL-17F и IL-8, инициирующих миграцию иммунных клеток к месту инфицирования. Синергетическое действие IL-17A/F и TNF α приводит к повышению уровня синтеза белка Shnurr1 3 (Shn3), при повышении уровня которого (при ревматоидном артрите и анкилозирующем спондилоартрите) кости разрушаются. При недостатке же происходит увеличение костной массы за счет активации остеобластов и снижения количества остеокластов. Можем предположить склонность к более активной оссификации у пациентов с АИТ.

Синергетическое действие IL-17A/F и TNF α также запускает выработку белка липокалина-2, роль которого заключается в защите организма от бактериальных инфекций. Липокалин-2 связывается с сидерофорами (соединения, переводящие железо в растворимую форму) и блокирует получение свободного железа нуждающимися в нём бактериями, такими как E. Coli. [85]. Уменьшение продукции IL-17A/F и TNF α может привести к недостатку выработки липокалина-2, а следовательно, к низкой сопротивляемости организма больного АИТ железозависимым бактериальным инфекциям.

Интересно также увеличение процентного содержания дважды позитивных (DP) Th17, которые обладают самой низкой способностью среди всех субпопуляций Th17 к продукции IFN γ , IL-17A, TNF α и IL-13 и совсем не секретируют IL-17F, IL-22 и CCL20 (В отличие от CCR6+DN Th17).

Роль отдельных субпопуляций фолликулярных CM клеток ещё не достаточно изучена, однако, полученные нами данные о выраженных

различиях в содержании различных субпопуляций фолликулярных клеток центральной памяти у лиц больных АИТ и здоровых индивидуумов позволяет предположить их участие в патогенезе этой болезни.

Для того чтобы лучше понять функции отдельных субпопуляций Т-хелперов необходимы более объёмные исследования со значительной выборкой, а также исследование динамики относительного количества клеток разных субпопуляций как до лечения, так и в процессе лечения АИТ.

Многие хронические аутоиммунные процессы с лимфоцитарной инфильтрацией желез (ЩЖ, экзокринных желез лица) значительно повышают риск развития лимфом из лимфоцитов, участвующих в хроническом клеточном аутоиммунном процессе [74]. Установлено повышение риска развития лимфом в 3-37 раз при аутоиммунных заболеваниях в том числе при синдроме Шегрена и при АИТ [86]. Взаимосвязь лимфоидной неоплазии с аутоиммунными заболеваниями сих пор не ясна, однако можно предположить следующий механизм их развития. В условиях хронического воспаления воспроизводится общеонкологическая закономерность — от гиперплазии, через дисплазию — к неоплазии. В подобных случаях инфильтрация клонально пролиферирующими и соматически мутирующими в ходе иммунного ответа лимфоцитами в онкологическом смысле служит эквивалентом диспластической стадии развития нарушения клеточного роста, а случайные события, индуцирующие онкогенные мутации в диспластическом клоне, могут делать его неопластическим. Аналогично развиваются многошаговым путем через стадию дисплазии раковые опухоли из эпителиоцитов [87]. Таким образом, полученные нами данные о лимфоцитозе при АИТ позволяют объяснить механизм развития лимфом из пролиферирующих лимфоцитов.

Учитывая показатель заболеваемости лимфомами среди больных АИТ (1,4 человека на 1 тыс. страдающих АИТ) и показатель заболеваемости в общей популяции (0,1 человек на 1 тыс. населения) [88] можно говорить о

том, что пациенты с АИТ составляют группу риска по лимфомам. У них необходимо не менее 2-х раз в год одновременно с уровнями ТТГ и тиреоидных гормонов контролировать гемограмму, обращая особое внимание на содержание в ней лимфоцитов.

Глава 5. Выводы

1. Средние уровни относительного и абсолютного количества лимфоцитов во всех группах пациентов с АИТ достоверно превышали показатели здоровых взрослых лиц, живущих в РФ.
2. По мере старения пациентов наблюдалось достоверное снижение абсолютного и относительного количества лимфоцитов при сохранении лимфоцитоза.
3. Половых различий в содержании лимфоцитов периферической крови у лиц с АИТ не обнаружено
4. Однозначной корреляции с уровнем ТТГ, свободного Т3, ААТ к ТГ и к РТТГ не было, в ряде групп прослеживались корреляции с уровнями кортизола, пролактина, свободного тироксина и ААТ к ТПО, пол пациентов не влиял на наблюдаемые соотношения.
5. При лечении пациентов с АИТ наблюдается тенденция к снижению количества лимфоцитов в периферической крови.
6. Пациенты с АИТ составляют группу риска по лимфомам. У них необходимо не менее 2-х раз в год одновременно с уровнями ТТГ и тиреоидных гормонов контролировать гемограмму, обращая особое внимание на содержание в ней лимфоцитов.
7. Содержание некоторых субпопуляций Т-хелперов (Th1, субпопуляций Th17 и Tfh) в периферической крови больных АИТ резко отличается от содержания этих субпопуляций в крови здоровых лиц, что может быть связано с перераспределением лимфоцитов при их эмиграции, способно изменять иммунную реактивность при АИТ и требует дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Чурилов Л.П., Строев Ю.И., Смирнов В.В., Муджилова О.М., Писарева С.В., Утехин В.И., Цой М.В. «Аутоиммунный тиреоидит - актуальная проблема современной эндокринологии» // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина, 2006, 2, 1-25.
2. Бахтин В.А., Янченко В.А. «Заболевания щитовидной железы: Учебное пособие для студентов медицинских вузов» // Киров: Кировская государственная медицинская академия, 2010. 93 с.
3. Строев Ю.И., Чурилов Л.П., Утехин В.И. «Аутоиммунное бесплодие: роль гиперпролактинемии» // Шенфельд И.: «Руководство по аутоиммунным заболеваниям для врачей общей практики», СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2017, 339-351.
4. Чурилов Л.П. «Общая патофизиология с основами иммунопатологии» // СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2015, 255-264.
5. Строев Ю.И., Чурилов Л.П. «Эхо Чернобыля в России: проблемы йодопрофилактики и йодотерапии» // Чернобыль: 25 лет спустя. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. СПб.: Агентство «Вит-принт», 2011, 320-322.
6. Zhao Q., Meng M., Kumar R., et al. "Lymphopenia is associated with severe Coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A systematic review and meta-analysis // *Internat. J. Infect. Dis.*, 2020; 96: 131-135. doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.086
7. De Bordeu, T. Recherches sur les maladies chroniques. VI. Analyse médicale du sang. Paris, 1775
8. Баранов Д.З., Строев Ю.И., Чурилов Л.П. «Тромбоцитарные показатели у гипотиреоидных больных аутоиммунным тиреоидитом, леченных и не леченных левотироксином» // *Клин. патофизиол.*, 2015, 21(4), 34-40.
9. Виноградова Ю.Е., Шинкаркина А.П., Поверенный А.М. «Аутоиммунный тиреоидит при заболеваниях системы крови» // *Терапевтический Архив*, 2003, 75(12), 83-91.

10. Строев Ю.И., Чурилов Л.П. «Аутоиммунный тиреоидит Хасимото, его последствия и коморбидность» // Шенфельд И.: «Руководство по аутоиммунным заболеваниям для врачей общей практики», СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2017, 298-325.
11. Stroevev Yu.I. «Clinical experience of dispensary observation for ten thousand patients with Hashimoto's autoimmune thyroiditis: some feature of aetiology, manifestations and comorbidity» // 4th Academy of Autoimmunity. Proceedings of the Interbational School-Conference. Advances in Autoimmunology-2019, SPbU Publ.: Saint Petersburg, 2019, 174-179.
12. Covas M.I., Esquerda A., García-Rico A., Mahy N. «Peripheral blood T-lymphocyte subsets in autoimmune thyroid disease» // J. Investig. Allergol. Clin. Immunol., 1992, 2(3), 131-135.
13. Чурилов Л.П. Иммунитет и аутоиммунитет: от защиты — до повреждения. IV. Как лимфоциты подавляют иммунный ответ и помогают тканям заживать. Диабет. Образ жизни. 2018; 6: 45-48
14. Ярилин А.А. «Иммунология» // ГЭОТАР «Медиа», 2010, 749 с.
15. Чурилов Л.П., Васильев А.Г. «Патофизиология иммунной системы» // СПб: Фолиант, 2014, 664 с.
16. Trowell O.A. "The Lymphocyte". Internat. Rev. Cytol. 1958; 7(7): 236-293; Чурилов Л.П., Васильев А.Г., Утехин В.И., Краткая история иммунологии глазами патофизиологов. Здоровье — основа человеческого потенциала. Проблемы и пути их решения. 2017; 12(2): 824-875
17. Максимов А.А. «Лимфоцит как общая стволовая клетка различных элементов крови в эмбриональном развитии и постфетальной жизни млекопитающих» // Клеточная терапия и трансплантация, 2009, 1(3), 14-24. doi: 10.3205/ctt-2009-ru-000032.02
18. Козинец Г.И., Бондарцев П.Д. «Лимфоидная ткань, лимфоциты» // Большая медицинская энциклопедия под ред. Петровского Б.В., Москва: Сов. энциклопедия, 1980, 13(3), 158-168.

- 19.Бондарчук С.В., Тыренко В.В., Михалева М. А., Юркин А.К. «Клеточный состав крови: показатели гемограммы здоровых лиц Санкт-Петербурга» // Гены и клетки, 2016, 11(3), 129-134.
- 20.Бондарь Т.П., Цогоева Т.В., Запарожцева О.И. «Особенности гемограммы у здоровых лиц, постоянно проживающих в г. Ставрополе» // Вестник Ставропольского государственного университета, 2005, 42, 177-181.
- 21.Воробьев А.И. «Клинико-диагностическое значение лабораторных показателей в гематологии» // М.: РАМН ГНЦ, 2001.
- 22.Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. «Иммунология» // М.: «Медицина», 2000, 432 с.
- 23.Бабаева А.Г. «Ещё раз о морфогенетической или строительной функции лимфоцитов» // Вестник РАЕН, 2010, 10(4), 70-74.
- 24.Грищенко Е.А. «Дендритные клетки: основные представления» // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2015, 2(41), 9-17. doi: 10.24411/2500-1175-2015-00014
- 25.Труфакин В.А. «Иммунорфологические аспекты аутоиммунных процессов» // Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1983, 178 с.
- 26.Iijima N., Iwasaki A. «Tissue instruction for migration and retention of TRM cells» // Trends Immunol, 2015, 36, 556–564. doi: 10.1016/j.it.2015.07.002
- 27.Farber D., Yudanin N., Restifo N.P. «Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis» // Nat. Rev. Immunol., 2014, 14, 24–35. doi: 10.1038/nri3567
- 28.Schenkel J.M., Masopust D. «Tissue-resident memory T cells» // Immunity, 2014, 41, 885–897. doi: 10.1016/j.immuni.2014.12.007
- 29.D'Ambrosio D., Albanesi C., Lang R., Girolomoni G., Sinigaglia F., Laudanna C. «Quantitative differences in chemokine receptor engagement generate diversity in integrin-dependent lymphocyte adhesion» // J. Immunol., 2002, 169, 2303–2312.
- 30.Dieu M.C., Vanbervliet B., Vicari A., Bridon J.M., Oldham E., Ait-Yahia S., Briere F., Zlotnik A., Lebecque S., Caux C. «Selective recruitment of immature and

mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites» // *J. Exp. Med.*, 1998, 188(2), 373-386.

31.Groom J.R., Luster A.D. «CXCR3 ligands: redundant, collaborative and antagonistic functions» // *Immunol. Cell Biol.*, 2011, 89(2), 207-215.

32.Groom J.R., Luster A.D. «CXCR3 in T cell function» // *Exp. Cell Res.*, 2011, 317(5), 620-631.

33.Schaerli P., Willimann K., Lang A.B., Lipp M., Loetscher P., Moser B. «CXC chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function» // *J. Exp. Med.*, 2000, 192(11), 1553-1562.

34.Paulissen S.M., van Hamburg J.P., Dankers W., Lubberts E. «The role and modulation of CCR6⁺ Th17 cell populations in rheumatoid arthritis» // *Cytokine.*, 2015, 74, 43-53.

35.Sallusto F., Zielinski C.E., Lanzavecchia A. «Human Th17 subsets» // *Eur. J. Immunol.*, 2012, 42(9), 2215-2220. doi: 10.1002/eji.201242741

36. Annunziato F., Cosmi L., Santarlasci V., Maggi E., Liotta F., Mazzinghi B., Parente E., Fiumani L., Ferri S., Frosali F., Giudizi F., Romagnani P., Parronchi P., Tonelli F., Maggi E., Romagnani S. «Phenotypic and functional features of human Th17 cells» // *J. Exp. Med.*, 2007, 204(8), 1849-1861.

37.Ramesh R., Kozhaya L., McKeivitt K., Djuretic I.M., Carlson T.J., Quintero M.A., McCauley J.L., Abreu M.T., Unutmaz D., Sundrud M.S. «Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are refractory to glucocorticoids» // *J. Exp. Med.*, 2014, 211, 89-104.

38.Hu D., Notarbartolo S., Croonenborghs T., Patel B., Cialic R., Yang T.H., Aschenbrenner D., Andersson K.M., Gattorno M., Pham M., Kivisakk P., Pierre I.V., Lee Y., Kiani K., Bokarewa M., Tjon E., Pochet N., Sallusto F., Kuchroo V.K., Weiner H.L. «Transcriptional signature of human pro-inflammatory TH17 cells identifies reduced IL10 gene expression in multiple sclerosis» // *Nat. Commun.*, 2017, 8, 1600.

39. Wacleche V.S., Goulet J.P., Gosselin A., Monteiro P., Soudeyns H., Fromentin R., Jenabian M.A., Vartanian S., Deeks S.G., Chomont N., Routy J.P., Ancuta P. «New insights into the heterogeneity of Th17 subsets contributing to HIV-1 persistence during antiretroviral therapy» // *Retrovirology*, 2016, 13, 59.
40. Morita R., Schmitt N., Bentebibel S.E., Ranganathan R., Bourdery L., Zurawski G., Foucat E., Dullaers M., Oh S., Sabzghabaei N., Lavecchio E.M., Punaro M., Pascual V., Banchereau J., Ueno H. «Human blood CXCR5(+)CD4(+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion» // *Immunity*, 2011, 34(1), 108-21.
41. Хаитов Р.М. «Иммунология. Структура и функции иммунной системы» // М.: ГЭОТАР «Медиа», 2013, 280 с.
42. Bennett C.L., Yoshioka R., Kiyosawa H., Barker D.F., Fain P.R., Shigeoka A.O., et al. «X-Linked Syndrome of Polyendocrinopathy, Immune Dysfunction, and Diarrhea Maps to Xp11.23-Xq13.3» // *Am. J. Hum. Genet.*, 2000, 66(2), 461-468. doi: 10.1086/302761
43. Строев Ю.И., Чурилов Л.П. «Эндокринология подростков» // СПб: «Медкнига ЭЛБИ», 2004, 384 с.
44. Hashimoto H. «Zur Kenntnis der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (struma lymphomatosa)» // *Arch. Klin. Chir.*, 1912, 97, 219-248.
45. Abalovich M., Nobuyuki A., Linda A. «Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: An endocrine society clinical practice guideline» // *J. Clin. Metab.*, 2007, 92(8), 1-47.
46. Lincoln S.R., Ke R.W., Kutteh W.H. «Screening for hypothyroidism in infertile women» // *J. of Reprod. Med.*, 1999, 44, 455-457.
47. Твердова Л.В. Лекция «Аутоиммунный тиреоидит» // «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова», Кафедра факультетской терапии с курсом эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней. <https://www.rzgmu.ru/images/upload/lectures/facultytherapy/autoimmuneter.pdf>

- 48.Li Q., Wang B., Mu K., Zhang J.A. «The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases: New T lymphocytes – Cytokines circuits beyond the Th1/Th2 paradigm» // J. Cell. Physiol., 2019, 234(3), 2204-2216.
- 49.Nanba T., Watanabe M., Inoue N., Iwatani Y. «Increases of the Th1/Th2 cell ratio in severe Hashimoto's disease and in the proportion of Th17 cells in intractable Graves' disease» // Thyroid., 2009, 19(5), 495-501.
- 50.Vukovic R., Zeljkovic A., Bufan B., Spasojevic-Kalimanovska V., Milenkovic T., Vekic J. «Hashimoto Thyroiditis and Dyslipidemia in Childhood: A Review» // Front. Endocrinol. (Lausanne), 2019, 1-11.
- 51.Charcot M. «Myxedeme, cachexie pachydermiqueon etet cretin-oide» // Gaz. Hop. Paris, 1881, 54, 73.
- 52.Herbert V. «Thyroid disease: disorders that cause hypothyroidism» // The blood. In: Ingbar S. H., Braverman L. E., eds. Werner's the thyroid: A fundamental and clinical text., 1986, 1162-1168.
- 53.Hall R., Scanlon M. F. «Hyperthyroidism: Clinical features and complications» // Clin. Endocrinol. Metab., 1979, 8, 29.
- 54.Herbert V. «Thyroid disease: disorders that cause thyrotox-icosis» // The blood. In: Ingbar S.H., Braverman L.E., eds. Werner's the thyroid: A fundamental and clinical text, 1986, 878-884.
- 55.Мышкин К.И., Денисова Л.А. «Базофильные лейкоциты» // Саратов: Издательство Саратовского университета, 1979, 32-43.
- 56.Hrycek A. «Functional characterization of peripheral blood neutrophils in patients with hyperthyroidism» // Folia Biologica (Praha), 1995, 41(2), 79-87.
- 57.Marino F., Guasti L., Cosentino M., De Piazza D., Simoni C., Piantanida E., Cimpanelli M., Klersy C., Bartalena L., Venco A., Lecchini S. «Thyroid hormone regulation of cell migration and oxidative metabolism in polymorphonuclear leukocytes: Clinical evidence in thyroidectomized subjects on thyroxine replacement therapy» // Life Sciences, 2006, 78(10), 1071-1077.

- 58.Бешагина В.Н. «Реактивность нейтрофильных гранулоцитов крови при аутоиммунных тиреопатиях» // Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. - Томск, 2010, 25 с.
- 59.Иванчак А.А., Строев Ю.И., Чурилов Л.П. «Лимфоциты периферической крови и аутоиммунный тиреоидит» // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения, 2019, 14(2), 585-605.
- 60.Churilov L.P., Stroeve Yu.I., Serdyuk I.Yu., Kaminova-Mudzhikova O.M., Belyaeva I.V., Gvozdetsky A.N., Nitsa N.A., Mikhailova L.R. «Autoimmune thyroiditis: Centennial jubilee of a social disease and its comorbidity» // Pathophysiology, 2013, 21, 135-145.
- 61.Ница Н.А., Чурилов Л.П. «Лейкоцитарная формула при эндокринопатиях» // Медицина-XXI век, 2009, 14, 54-59.
- 62.Blalock J.E. «Proopiomelanocortin and the immune-neuroendocrine connection» // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1999, 885, 161-172.
- 63.Истаманова Т.С., Алмазов В.А., Канаев С.В. «Функциональная гематология» // Ленинград: «Медицина», 1973, 312 с.
- 64.Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. «Cellular and Molecular Immunology» // 9th ed. Elsevier: Amsterdam a.e., 2017, 608 p.
- 65.Kidd A., Okita N., Row V.V., Volpé R. «Immunologic aspects of Graves' and Hashimoto's diseases» // Metabolism, 1980, 29(1), 80-99.
- 66.Tanaka T. «Changes of peripheral mononuclear cell subpopulations in autoimmune thyroid diseases» // Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi, 1985, 61(7), 711-723.
- 67.Urbaniak S.J., Penhale W.J., Irvine W.J. «Peripheral blood T and B lymphocytes in patients with thyrotoxicosis and Hashimoto's thyroiditis and in normal subjects» // Clin. Exp. Immunol., 1974, 18(4), 449-459.
- 68.Astorga G., Sepúlveda C., Conte G. «Neutropenia y linfocitosis T granular en un paciente con síndrome de Sjögren» // Rev. Med. Chil., 1988, 116(4), 369-370.

69. Bauduer F., Archambaud F., Mazères F., Ellie E., Ducout L. «Hyperlymphocytose T associée à un thymome et une myasthenia» // *Rev. Méd. Intern.*, 2002, 23(11), 951-952.
70. Gru A.A., O'Malley D.P. «Autoimmune and medication-induced lymphadenopathies» // *Seminars in Diagnostic Pathology*, 2018, 35(1), 34-43.
71. Tsikrikoni A., Rigopoulou E.I., Zachou K., Liaskos C., Kyriakou D., Dalekos G.N. «Bone marrow findings in patients with autoimmune liver diseases» // *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2008, 23(2), 416-421. doi: 10.1111/j.14401746.2008.05309.x.
72. Trepanier L.A. «Medical management of hyperthyroidism» // *Clin. Tech. Small Anim. Pract.*, 2006, 21, 22-28.
73. Akamizu T., Amino N.N., De Groot L.J. «Hashimoto's Thyroiditis» // 2013, Интернет-ресурс: www.thyroidmanager.org (дата доступа: 01.11.2019).
74. Шенфельд И. «Руководство по аутоиммунным заболеваниям для врачей общей практики» // СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2017, 416 с.
75. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А. А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект) // *Медицинская иммунология*, 2012, 14 (3), 255-268. doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268
76. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. «Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестицветного цитофлуориметрического анализа» // *Медицинская иммунология*, 2015, 17(1), 19-26. doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26
77. Kudryavtsev I., Serebriakova M., Starshinova A., Zinchenko Y., Basantsova N., Malkova A., Soprun L., Churilov L.P., Toubi E., Yablonskiy P., Shoenfeld Y. «Imbalance in B cell and T Follicular Helper Cell Subsets in Pulmonary Sarcoidosis» // *Sci. Rep.*, 2020, 10(1), 1059. doi: 10.1038/s41598-020-57741-0

- 78.Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. «Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований» // СПб: ВМедА, 2002, 266 с.
- 79.Казакова М.С., Луговская С.А., Долгов В.В. «Референтные значения показателей общего анализа крови взрослого работающего населения» // Клиническая лабораторная диагностика, 2012, 6, 48-49.
- 80.Розенберг В.Я., Бутыльский А.Н., Кузник Б.И. «Возрастная динамика гемограммы у детей различного возраста» // Медицинская иммунология. 2011, 2-3, 261-266.
- 81.Тропская М.С., Луговская С.А., Данилова Е.М., Волкова Е.Н. «Референтные значения показателей клинического анализа крови доноров» // Клиническая лабораторная диагностика, 2011, 6, 26-32.
- 82.Akbar A.N., Henson S.M., Lanna A. «Senescence of T-lymphocytes: Implications for enhancing human immunity» // Trends Immunol., 2016, 37(12), 866-867.
- 83.Jara E.L., Muñoz-Durango N., Llanos C., Fardella C., González P.A., Bueno S.M., Kalergis A.M., Riedel C.A. «Modulating the function of the immune system by thyroid hormones and thyrotropin» // Immunol. Lett., 2017, 184, 76-83. doi: 10.1016/j.imlet.2017.02.010
- 84.Karandikar N.J., Hotchkiss E.C., McKenna R.W., Kroft S.H. «Transient stress lymphocytosis: an immunophenotypic characterization of the most common cause of newly identified adult lymphocytosis in a tertiary hospital» // Am. J. Clin. Pathol., 2002, 117(5), 819-825.
- 85.Костарева О.С., Габдулхаков А.Г., Коляденко И.А., Гарбер М.Б., Тищенко С.В. «Интерлейкин-17: функциональные и структурные особенности; использование в качестве терапевтической мишени» // Успехи биологической химии, 2019, 59, 393-418.
- 86.Kleinstern G., Maurer M.J., Liebow M., Habermann T.M., Koff J.L., Allmer C., Witzig T.E., Nowakowski G.S., Micallef I.N., Johnston P.B., Inwards D.J., Thompson C.A., Feldman A.L., Link B.K., Flowers C., Slager S.L., Cerhan J.R.

«History of autoimmune conditions and lymphoma prognosis» // Blood Cancer J., 2018, 8(8), 73.

87.Рябкова В.А., Чурилов Л.П., Шенфельд И. «Гиперстимуляция иммунной системы как причина аутоиммунных заболеваний» // Вестник РАМН, 2020 N3 (в печати).

88.Трубникова Е.В., Котова Е.В., Белоус А.С., Березуцкая Т.В., Шульгин И.Ю., Белов А.А., Иванов В.П. «Анализ заболеваемости злокачественными лимфомами в Курской области с 2007 г. по 2014 г.» // Кубанский научный медицинский вестник, 2016, 3(158), 130-133.

Благодарности

Выражаю особую благодарность своему научному руководителю Строеву Юрию Ивановичу за опыт, переданный мне в процессе проведения исследования, предоставление (обезличенных) данных историй болезни пациентов для возможности проведения статистического анализа и неоценимую помощь при написании дипломной работы. Благодарю Чурилова Леонида Павловича за ценные советы по выполнению исследования и помощь в анализе полученных данных. Также хочу выразить благодарность Кудрявцеву Игорю Владимировичу за помощь в проведении иммунофенотипирования и интерпретации его результатов

ПРИЛОЖЕНИЯ.

Опубликованные научные работы по теме ВКР

**Министерство науки и высшего образования РФ
Министерство здравоохранения РФ
Российская академия наук
Петровская академия наук и искусств
Санкт-Петербургская профессиональная ассоциация медицинских
работников
Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических
ресурсов растений им. Н.И. Вавилова
Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья
Агрофизический научно-исследовательский институт
Национальный государственный университет физической культуры,
спорта и здоровья им. П. Ф. Лесгафта
Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена
Санкт-Петербургская Духовная Академия Русской Православной Церкви
Санкт-Петербургский национальный исследовательский академический
университет Российской Академии Наук
Санкт-Петербургский государственный университет
Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого**

«ЗДОРОВЬЕ – ОСНОВА ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА: ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ»

**ТРУДЫ XIV ВСЕРОССИЙСКОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

Том 14, часть 2

21 – 23 ноября 2019 г.

А.А. Иванчак, Ю.И. Строев, Л.П. Чурилов

**ЛИМФОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
И АУТОИММУННЫЙ ТИРОИДИТ**

*Санкт-Петербургский государственный университет; кафедра
патологии.*

Лаборатория мозаики аутоиммунитета; Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Изучено абсолютное и относительное содержание лимфоцитов периферической крови, исследованной методом проточной цитофлуориметрии на автоматическом гематологическом анализаторе ХН-9000, Sysmex (Япония) у 198 пациентов, страдающих аутоиммунным тироеидитом (АИТ) Хасимото. У 92 пациентов была клиника гипотироза различной тяжести, у 74 был эутироз, и у 32 –хаситоксикоз или легкая передозировка левотироксина. Средние уровни относительного и абсолютного количества лимфоцитов во всех группах пациентов с АИТ достоверно превышали показатели здоровых лиц, живущих в РФ. Исследовали связь уровней лимфоцитов с концентрациями ТТГ, пролактина, свободного тироксина (св. Т4), свободного трийодтиронина (св. Т3), аутоантител (ААТ) к тироглобулину (ТГ) и ААТ к рецептору тиротропина (РТТГ). По мере старения пациентов наблюдалось достоверное снижение абсолютного и относительного количества лимфоцитов при сохранении лимфоцитоза. Содержание лимфоцитов в крови не коррелировало с уровнями ААТ, однозначной корреляции с уровнем тиреоидных гормонов не было, в ряде групп прослеживались корреляции с уровнями кортизола и гипофизарных гормонов, пол пациентов не влиял на наблюдаемые соотношения. Рассмотрена также история учения о регуляторных функциях

лимфоцитов в отношении клеточного роста и функций. [1 рисунок, 1 таблица, библиография: 50 источников].

Ключевые слова: антитироидные аутоантитела, аутоиммунный тиреоидит (тиреоидит), гипотироз (гипотиреоз), кортизол, лейкоцитарная формула, лимфоциты, пролактин, тироидные (тиреоидные) гормоны, тиротропин (тиреотропин), хаситоксикоз.

Summary.

The absolute and relative contents of peripheral blood lymphocytes were studied in 198 patients suffering from Hashimoto's autoimmune thyroiditis (AIT) by flow cytofluorimetry using an XN-9000, Sysmex automatic hematologic analyzer (Japan). Among them 92 patients had the manifestations of hypothyroidism of varying severity, 74 were euthyroid, and 32 had either hashitoxicosis or a mild overdosage of levothyroxine. The average relative and absolute numbers of lymphocytes in all groups of patients with AIT were significantly higher than those of healthy residents of the Russian Federation. A correlations were checked between the levels of lymphocytes and serum concentrations of TSH, prolactin, free T4, free T3 and autoantibodies against thyroglobulin and TSH receptor. As patients aged, a significant decrease in the absolute and relative number of lymphocytes was observed. The content of lymphocytes in the blood did not correlate with antithyroid autoantibodies' levels, there was no unambiguous correlation with the levels of thyroid hormones, in some groups correlations of lymphocyte contents with levels of cortisol and pituitary hormones were observed, the gender of the patients did not affect the observed ratios. Also the history of the doctrine of lymphocyte-mediated regulation of cell growth and function is reviewed. (1 figure, 1 table, bibliography – 50 references).

Dear Ivanchak A.A., Stroev Yu.I., Churilov L.P., Kudryavtsev I.V.

Thank you very much for using the AUTO 2020 Late Breaking Abstract Submission System.

Your Abstract has been successfully submitted.

Abstract ID: 1586

Type: Late Breaking Abstract Submission

Topic: AS37 THYROID AUTOIMMUNITY

Title:

„ BLOOD LYMPHOCYTES IN HASHIMOTO'S THYROIDITIS „

Authors: Ivanchak A.A.¹, Stroev Yu.I.¹, Churilov L.P.¹, Kudryavtsev I.V.².

¹SPbU, Saint-Petersburg, Saint-Petersburg, Russian Federation, ²Saint Petersburg State University, Laboratory of the Mosaic of Autoimmunity, Saint-Petersburg, Russian Federation

BLOOD LYMPHOCYTES IN HASHIMOTO'S THYROIDITIS

Ivanchak A.A.¹, Stroev Yu.I.¹, Churilov L.P.¹ Kudryavtsev I.V.².

¹*Saint Petersburg State University,*

²*Institute of Experimental Medicine;*

Saint Petersburg, Russia

Hashimoto's thyroiditis is the most prevalent autoimmune disease of nowadays. It involves lymphoid cells, playing a decisive role in autoimmunity. The disease increases the risk of lymphomas. [Kleinstern G. et al. 2018]. 7950 outpatients with Hashimoto's thyroiditis aged 6 to 89 years were under our dynamic medical follow-up from 2011 till 2019. Leukocyte formula and profile were studied using XN-9000 analyzer (Sysmex, Japan), while lymphocyte subpopulations were investigated by means of multicolor flow cytometry. The share of lymphocytes ranged from 15,7% to 94,5% (35,64±9,0%), the absolute count – from 1,7 to 4,94×10⁹/L (2,31±0,7×10⁹/L). Compared to normal range, 41% of patients displayed lymphocytosis, but lymphopenia was observed only in 2.7% of cases. Sex differences in lymphocyte count as well as any correlations between the percentage of lymphocytes and level of antithyroid autoantibodies or thyroid hormones – were absent, however, the positive correlation with cortisol and negative with prolactin levels was found. Absolute and relative lymphocyte count decreased with age. The content of CCR6⁺CXCR3⁺ follicular T-helpers (Tfh1), among CXCR5⁺CD45RA⁺ Th cells was decreased compared to healthy controls [27.56% (24.27; 30.45) vs. 32.26% (25.25; 37.36), p=0.037], while the frequency of double-positive CCR6⁺CXCR3⁺ Tfh was increased in thyroiditis group [20.92% (18.06; 23.55) vs. 18.12% (13.43; 22.28), p=0.048]. Our data described an altered circulating Tfh subset distribution and point out that Tfh cells might play an important role in the pathogenesis of autoimmune thyroiditis. Among 7950 patients we revealed 10 persons with lymphomas (0.14%): including cases of lymphogranulomatosis (4), chronic lymphocytic leukemia (2, one of them – hairy cell leukemia), acute lymphoblastic leukemia (1), and non-Hodgkin's lymphomas of various locations (3). The data witness for increased risk of lymphomas in to autoimmune thyroiditis accompanied by obvious lymphocytosis.

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский
университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
БИОМЕДИЦИНЫ – 2020**

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ
XXVI ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

26-27 марта 2020 года

**Санкт-Петербург
РИЦ ПСПбГМУ
2020**

Иванчак А.А.

**ЗНАЧЕНИЕ СИСТЕМАТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
ГЕМОГРАММЫ У ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМ
ТИРОИДИТОМ ХАСИМОТО**

(Научный руководитель – к.м.н., доц. Строев Ю.И.)

Санкт-Петербургский государственный университет

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Введение. Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) Хасимото – самая частая аутоиммунная болезнь человека. Наблюдается стремительный рост частоты АИТ. Установлено повышение риска развития лимфом в 3-37 раз при аутоиммунопатиях, в том числе – при АИТ. Взаимосвязь лимфоидной неоплазии с аутоиммунными заболеваниями сих пор не ясна, однако, например, хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – самая частая причина аутоиммунных гемоцитопений.

Цель. Изучить диагностическое значение лимфоцитоза крови при аутоиммунном тиреоидите.

Материал и методы. Нами проанализированы и/б 7930 лиц с АИТ, которые систематически наблюдались в Клинике «БалтМед Гавань» с 2011 по 2019 гг. Практически у всех были стигмы дисплазии марфанопо-добного фенотипа. У них в динамике проанализированы уровни ТТГ, св. Т3, св. Т4, анти tiroидных аутоантител и гемограммы. Среди 7030 пациентов с АИТ оказалось 10 лиц (0,13%) с лимфомами. Трое из них обратились к эндокринологу по поводу патологии щитовидной железы (ЩЖ) после лечения лимфогранулематоза, в фазе его ремиссии. У двух была ремиссия острого лимфобластного лейкоза. В одном случае была ампутация правой верхней конечности по поводу лимфосаркомы плечевой кости. В четырёх случаях был хронический лимфолейкоз, причём у двух из них он был выявлен уже на фоне страдания АИТ. Поводом к их углублённому гематологическому обследованию послужили высокие показатели уровня лимфоцитов в гемограмме при плановом посещении эндокринолога.

Результаты. В первом случае тяжелая форма ХЛЛ (волосатоклеточного) развилась у мужчины Ц-ля В.П, 56 лет, который наблюдался с 2008 г. с диагнозом: АИТ (ААТ к ТГ > 1000, ААТ к ТПО – 76,08), гипотироз II, вторичная гиперпролактинемия (787 мкЕД/мл), гинекомастия, пролакт-тинома гипофиза, метаболический синдром. В апреле 2016 г. (через 10 лет лечения левотироксином и достинексом) в гемограмме – лимфоцитоз (84%), тени Боткина-Гумпрехта. Во втором случае ХЛЛ (опухолевая форма) пациентку К-ву А.В., 81 года, привела в клинику «БалтМед Га-вань» её дочь, сама страдающая АИТ, по поводу быстрого развития «зоба» (огромные узлы в области ЩЖ, в печени, в средостении, спленомегалия). В гемограмме – лимфоцитоз (94,5%) и тени Боткина-Гумпрехта. ТТГ – 10 мкМЕ/мл, ААТ к ТГ – 479,6 МЕ/мл, ААТ к ТПО – 8,15 МЕ/мл. Направлена в РНИИ гематологии и трансфузиологии.

Выводы. Гемограммы лиц с АИТ отличаются лимфоцитозом. Пациенты составляют группу риска по лимфомам. У них необходимо не менее 2-х раз в год одновременно с уровнями ТТГ и тиреоидных гормонов контролировать гемограмму, обращая особое внимание на содержание в ней лимфоцитов