

Буковинський державний медичний університет



**Міжнародний
ендокринологічний журнал**

**Международный
эндокринологический журнал**

**International
journal of endocrinology**

Mìžnarodnij endokrinologičnij žurnal

Спеціалізований рецензований науково-практичний журнал

Заснований у вересні 2005 року

Періодичність виходу: 8 разів на рік

Том 14, № 3, 2018

Включений в наукометричні і спеціалізовані бази даних Ulrichsweb Global Serials Directory, WorldCat, РИНЦ (Science Index), Google Scholar, «Джерело», «КіберЛенінка», НБУ ім. В.І. Вернадського, CrossRef, International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), SHERPA/RoMEO, Bielefeld Academic Search Engine (BASE), «Наукова періодика України», Directory of Open Access Journals (DOAJ), ROAD, NLM-catalog, OpenAIRE

Імпакт-фактор РИНЦ: 0,227





Міжнародний ендокринологічний журнал

Спеціалізований рецензований
науково-практичний журнал

Том 14, № 3, 2018

DOI: 10.22141/2224-0721.14.3.2018
ISSN 2224-0721 (print)
ISSN 2307-1427 (online)

Передплатний індекс: 94553



Співзасновники:

*Буковинський державний медичний університет,
Заславський О.Ю.*

Завідуюча редакцією
Купріненко Н.В.

Адреса для звертань:

Із питань передплати:

info@mif-ua.com,
тел. +38 (044) 223-27-42,
+38 (067) 325-10-26

*З питань розміщення реклами
та інформації про лікарські засоби:*

reclama@mif-ua.com,
office@zaslavsky.kiev.ua
selezneva@mif-ua.com
v_ilijna@ukr.net

*Журнал внесено до переліку наукових фахових видань України,
в яких можуть публікуватися результати дисертаційних
робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата
наук. Наказ МОН України від 15.04.2014 р. № 455.*

*Рекомендується до друку та до поширення через мережу
Інтернет вченою радою Вищого державного навчального за-
кладу IV рівня акредитації «Буковинський державний медичний
університет» МОЗ України від 26 квітня 2018 р., протокол № 8.*

Українською, російською та англійською мовами

*Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу
масової інформації КВ № 19313-9/13 ПР. Видано Державною
реєстраційною службою України 06.09.2012 р.*

*Формат: 60×84/8. Ум. друк. арк. 13,02
Зам. 2018-iej-91. Тираж 3000 прим.*

Адреса редакції:
а/с 74, м. Київ, 04107, Україна
Тел./факс: +38 (044) 223-27-42
E-mail: medredactor@i.ua

*(Тема: До редакції «Міжнародного
ендокринологічного журналу»
http://iej.zaslavsky.com.ua*

Видавець Заславський О.Ю.
Адреса для листування: а/с 74, м. Київ, 04107
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
ДК № 2182 від 13.05.2005 р.

Друк: ТОВ «Ландпресс»
вул. Алчевських, 2, м. Харків, 61002

Головний редактор
Володимир Іванович ПАНЬКІВ

Науковий редактор
Тарас Миколайович БОЙЧУК

Редакційна колегія

Бобирьова Л.Є. (Полтава)	Маньківський Б.М. (Київ)
Большова О.В. (Київ)	Мігченко О.І. (Київ)
Бондаренко В.О. (Харків)	Пасечко Н.В. (Тернопіль)
Вернигородський В.С. (Вінниця)	Поворознюк В.В. (Київ)
Веселовська З.Ф. (Київ)	Пашковська Н.В. (Чернівці)
Власенко М.В. (Вінниця)	Перцева Т.О. (Дніпро)
Генделека Г.Ф. (Одеса)	Полторак В.В. (Харків)
Гончарова О.А. (Харків)	Резніков О.Г. (Київ)
Зелінська Н.Б. (Київ)	Сергієнко О.О. (Львів)
Іващук О.І. (Чернівці)	Сидорчук Л.П. (Чернівці)
Караченцев Ю.І. (Харків)	Сіренко Ю.М. (Київ)
Кирилюк М.Л. (Київ)	Скрипник Н.В. (Івано-Франківськ)
Козаков О.В. (Харків)	Соколова Л.К. (Київ)
Комісаренко Ю.І. (Київ)	Тронько М.Д. (Київ)
Корпачов В.В. (Київ)	Урбанович А.М. (Львів)
Кравченко В.І. (Київ)	Хижняк О.О. (Харків)
Кравчун Н.О. (Харків)	Черенько С.М. (Київ)
Ларін О.С. (Київ)	Юзвенко Т.Ю. (Київ)
Лучицький Є.В. (Київ)	

Редакційна рада

Аметов О.С. (Москва, Росія)	Agacı F. (Тірана, Албанія)
Арістархов В.Г. (Рязань, Росія)	Alekna V. (Вільнюс, Литва)
Базарбекова Р.Б. (Алмати, Казахстан)	Czupryniak L. (Варшава, Польща)
Данилова Л.І. (Мінськ, Білорусь)	Holick M.F. (Бостон, США)
Дєдов І.І. (Москва, Росія)	Mascarenhas M.R. (Лісабон, Португалія)
Зельцер М.Ю. (Алмати, Казахстан)	Nikberg I. (Мельбурн, Австралія)
Ісмаїлов С.І. (Ташкент, Узбекистан)	Radzeviciene L. (Каунас, Литва)
Мельниченко Г.А. (Москва, Росія)	Rurik I. (Дебрецен, Угорщина)
Мохорт Т.В. (Мінськ, Білорусь)	Standl E. (Мюнхен, Німеччина)
Свириденко Н.Ю. (Москва, Росія)	Taton J. (Варшава, Польща)
Шестакова М.В. (Москва, Росія)	Tkač I. (Кошице, Словаччина)

Відповідальні секретарі: *Іван Іванович ПАВЛУНИК,
Іван Володимирович ПАНЬКІВ*

Редакція не завжди поділяє думку автора публікації. Відповідальність за вірогідність фактів, власних імен та іншої інформації, використаної в публікації, несе автор. Передрук та інше відтворення в якій-небудь формі в цілому або частково статей, ілюстрацій або інших матеріалів дозволені тільки при попередній письмовій згоді редакції та з обов'язковим посиланням на джерело. Усі права захищені.

© Буковинський державний медичний університет, 2018
© Заславський О.Ю., 2018



International Journal of Endocrinology

Ми́жнародний ендокринологі́чний жу́рнал

*Specialized reviewed
practical-scientific journal of endocrinology*

Volume 14, № 3, 2018

DOI: 10.22141/2224-0721.14.3.2018

ISSN 2224-0721 (print)

ISSN 2307-1427 (online)

Subscription index: 94553 (in Ukraine)



Co-founders:

*Bukovinian State Medical University,
Zaslavsky O. Yu.*

Managing Editor

Kuprinenko N.V.

Correspondence addresses:

Subscription department:

info@mif-ua.com,
Tel. +38 (044) 223-27-42,
+38 (067) 325-10-26

Advertising and Drug Promotion Department

reclama@mif-ua.com,
office@zaslavsky.kiev.ua
selezneva@mif-ua.com
v_iliyina@ukr.net

*The journal is entered into the list of specific scientific publishings
of Ukraine and can include doctoral and candidate thesis.*

Order of Ministry of Health of Ukraine dated 15/04/2014 № 455.

*Recommended for publication and circulation via the Internet
on the resolution of Scientific Council of State Higher Educa-
tion Institution «Bukovinian State Medical University of Ministry
of Health of Ukraine» (26 April 2018, Protocol № 8).*

In Ukrainian, Russian and English

*Registration certificate KB № 19313-9113IIP. Issued by State
Registration Service of Ukraine 06/09/2012*

*Folio: 60×84/8. Printer's sheet 13,02
Order 2018-iej-91. Circulation 3000.*

Editorial office address:

P.O.B. 74, Kyiv, Ukraine, 04107

Tel./Fax: +38 (044) 223-27-42

E-mail: medredactor@i.ua

(Subject: Editorial board

of the International Journal of Endocrinology)

http://iej.zaslavsky.com.ua

Publisher Zaslavsky O. Yu.

Correspondence address: P.O.B. 74, Kyiv, 04107

Publishing entity certificate

ДК № 2182 dated 13/05/2005

Print: Landpress Ltd.

Alchevskyykh str., 2, Kharkiv, 61002

Editor-in-Chief

Volodymyr PANKIV

Science Editor

Taras BOYCHUK

Editorial Board

Bobyriova L.Ye. (Poltava)	Mankovsky B.M. (Kyiv)
Bolshova O.V. (Kyiv)	Mitchenko O.I. (Kyiv)
Bondarenko V.O. (Kharkiv)	Pasiechko N.V. (Ternopil)
Vernyhorodskiy V.S. (Vinnytsia)	Povorozniuk V.V. (Kyiv)
Veselovska Z.F. (Kyiv)	Pashkovska N.V. (Chernivtsi)
Vlasenko M.V. (Vinnytsia)	Pertseva T.O. (Dnipro)
Gendeleka H.F. (Odesa)	Poltorak V.V. (Kharkiv)
Goncharova O.A. (Kharkiv)	Reznikov O.H. (Kyiv)
Zelinska N.B. (Kyiv)	Sergienko O.O. (Lviv)
Ivashchuk O.I. (Chernivtsi)	Sydorchuk L.P. (Chernivtsi)
Karachentsev Yu.I. (Kharkiv)	Sirenko Yu.M. (Kyiv)
Kyryliuk M.L. (Kyiv)	Skrypnyk N.V. (Ivano-Frankivsk)
Kozakov O.V. (Kharkiv)	Sokolova L.K. (Kyiv)
Komisarenko Yu.I. (Kyiv)	Tronko M.D. (Kyiv)
Korpachev V.V. (Kyiv)	Urbanovych A.M. (Lviv)
Kravchenko V.I. (Kyiv)	Khyzhniak O.O. (Kharkiv)
Kravchun N.O. (Kharkiv)	Cherenko S.M. (Kyiv)
Larin O.S. (Kyiv)	Yuzvenko T.Yu. (Kyiv)
Luchytskyi Ye.V. (Kyiv)	

Editorial Council

Ametov O.A. (Moscow, Russia)	Agaci F. (Tirana, Albania)
Aristarkhov V.G. (Ryazan, Russia)	Alekna V. (Vilnius, Lithuania)
Bazarbekova R.B. (Almaty, Kazakhstan)	Czupryniak L. (Warsaw, Poland)
Danilova L.I. (Minsk, Belarus)	Holick M.F. (Boston, USA)
Dedov I.I. (Moscow, Russia)	Mascarenhas M.R. (Lisbon, Portugal)
Zeltser M.Yu. (Almaty, Kazakhstan)	Nikberg I. (Melbourne, Australia)
Ismailov S.I. (Tashkent, Uzbekistan)	Radzeviciene L. (Kaunas, Lithuania)
Melnichenko G.A. (Moscow, Russia)	Rurik I. (Debrecen, Hungary)
Mokhort T.V. (Minsk, Belarus)	Standl E. (Munich, Germany)
Sviridenko N.Yu. (Moscow, Russia)	Taton J. (Warsaw, Poland)
Shestakova M.V. (Moscow, Russia)	Tkáč I. (Košice, Slovakia)

Executive secretary *Ivan PAVLUNYK, Ivan PANKIV*

The editorial board not always shares the author's opinion. The author is responsible for the significance of the facts, proper names and other information used in the paper. No part of this publication, pictures or other materials may be reproduced or transmitted in any form or by any means without permission in writing form with reference to the original. All rights reserved.

© Bukovinian State Medical University, 2018
© Zaslavsky O.Yu., 2018

УДК 612.017.1:616.441

DOI: 10.22141/2224-0721.14.3.2018.136421

Шеремет М.І.

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна

Апоптоз лімфоцитів крові у хворих на автоімунний тиреоїдит і шляхи корекції

For cite: Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal. 2018;14(3):252-257. doi: 10.22141/2224-0721.14.3.2018.136421

Резюме. Мета — дослідити деякі ланки патогенезу розвитку вузлового зоба на тлі автоімунного тиреоїдиту (АІТ) шляхом вивчення активності процесів пероксидного окиснення ліпідів і білків, апоптозу лімфоцитів периферичної крові та рівня деяких цитокінів до та після оперативного втручання, розробити ефективні методи їх корекції. **Матеріали та методи.** Обстежено 80 жінок із вузловим зобом на тлі АІТ. **Результати.** Показано, що порушення програмованої загибелі лімфоцитів при АІТ проявляється збільшенням вмісту фактора некрозу пухлини α і CD95+ лімфоцитів на тлі зниження числа апоптичних клітин. **Висновки.** Після проведеного комплексного лікування відзначена позитивна динаміка порушених показників імунного статусу, насамперед нормалізація порушеного балансу субпопуляції апоптичних Т-лімфоцитів та антитіл до тиреоглобуліну та тиреоїдної пероксидази, зниження вмісту цитокінів і повернення в межі нормальних значень рівнів гормонів щитоподібної залози.

Ключові слова: вузловий зоб; автоімунний тиреоїдит; апоптоз; CD95; фактор некрозу пухлини α ; інтерлейкін-1 β ; лікування

Вступ

Поширеність автоімунного тиреоїдиту (АІТ) як найчастішої причини гіпотиреозу за останні 10 років зростає на 68 % [1]. Основне місце в структурі захворювань ендокринної системи належить патології щитоподібної залози (ЩЗ). Це зумовлено, з одного боку, погіршенням екологічної ситуації в країні, а з іншого — поліпшенням діагностики даних захворювань [2, 3]. Незважаючи на те, що їх вивченню постійно приділяється належна увага провідними тиреоїдологами світу, ця проблема залишається досить актуальною і потребує подальшого дослідження.

Однією з причин цього є те, що до цього часу багато аспектів патогенезу вузлоутворення й особливо розвитку післяопераційних ускладнень вивчені недостатньо повно.

За даними літератури, найбільш раннім етапом в патогенезі АІТ є окиснення ліпідів і білків клітинних мембран під впливом надлишкової продукції активних форм кисню. В результаті відбувається посилення деструктивних процесів, що можуть

бути патогенетичним фактором захворювання [4]. Активація процесів пероксидного окиснення залежно від місця генерації, поширеності, типу вільних радикалів, тривалості й сили їх дії, а також від редокс-статусу клітини можуть мати різні ефекти на сигнальні каскади клітини, транскрипційні фактори, окремі білки-ферменти. Це призводить до виживання клітин, їх проліферації чи загибелі шляхом апоптозу [5].

Насамперед це стосується вузлових форм зоба та пухлин, вузлового зоба на тлі АІТ [4, 5]. Зі збільшенням кількості пролікованих хірургічним методом хворих зростає і кількість випадків післяопераційного гіпотиреозу [6]. Застосування синтетичних препаратів тиреоїдних гормонів хоча й вирішує проблему компенсації функції ЩЗ, але досягає цього не завжди [7]. Головним недоліком замісної терапії гіпотиреозу препаратами гормонів ЩЗ є відсутність зворотного зв'язку в системі гормональної регуляції, що може бути досягнуте лише функціонуючою тиреоїдною паренхімою [8].

Розвиток післяопераційного гіпотиреозу давно залишається в центрі уваги дослідників. Більшість з них акцентують увагу на автоімунних процесах у паренхімі залози та об'ємі залишеної паренхіми [9]. Інші патогенетичні чинники гіпофункції ЩЗ при резекційних операціях залишаються маловідомими, так само як і механізми вузлуотворення [10, 11].

У зв'язку з цим актуальність вивчення патогенетичних процесів при вузловому зобі на тлі АІТ шляхом дослідження активності процесів пероксидного окиснення та апоптичних процесів при даній патології не викликає сумнівів. Це допоможе розкрити особливості патогенезу АІТ і розробити патогенетично обґрунтовані підходи до оптимізації терапії цього захворювання.

Мета дослідження: дослідити деякі ланки патогенезу розвитку вузлового зоба на тлі автоімунного тиреоїдиту шляхом вивчення активності процесів пероксидного окиснення ліпідів і білків, апоптозу лімфоцитів периферичної крові та рівня деяких цитокінів до та після оперативного втручання і розробити ефективні методи їх корекції.

Матеріали та методи

Упродовж 2013–2017 рр. на базі Чернівецької обласної клінічної лікарні обстежено 80 жінок із вузловим зобом на тлі АІТ. Контрольна і основна групи були порівнянні за віком (відповідно $34,20 \pm 10,33$ і $38,00 \pm 10,62$ року, $p = 0,12$), антропометричними даними (індекс маси тіла — відповідно $23,50 \pm 2,71$ і $24,30 \pm 4,88$ кг/м², $p = 0,43$) та рівнем вільного трийодтироніну (T_3) ($4,40 \pm 0,91$ і $4,40 \pm 0,93$ нг/л, $p = 0,93$), але розрізнялися за рівнем вільного тироксину (vT_4) ($16,60 \pm 2,02$ і $12,90 \pm 3,42$ пмоль/л, $p < 0,0001$), тиреотропно-го гормона (ТТГ) ($1,90 \pm 0,76$ і $4,90 \pm 3,51$ мМО/л, $p < 0,0001$) і антитіл до тиреоїдної пероксидази ($11,90 \pm 13,92$ і $255,70 \pm 340,58$ МО/мл, $p = 0,0009$). В цілому відмінності між групами були закономірні і підтверджували автоімунне ураження і тенденцію до зниження функції ЩЗ на тлі АІТ.

Контрольна (перша) група хворих у післяопераційному періоді отримувала лише знеболюючі препарати. Дослідна (друга) група хворих, крім цього лікування, за добу до операції та щоденно після неї (протягом 4–5 діб) внутрішньовенно отримувала альфа-ліпоєву кислоту по 300 мг, а після виписки — у таблетках по 300 мг протягом одного місяця.

Хворі обох груп не відрізнялись за обсягом оперативного втручання та методом інтраопераційного знеболювання. Слід відзначити, що хворі обох груп до операції отримували замісну терапію левотироксином (з розрахунку 1,6 мкг/кг/добу). Сім пацієнток дослідної групи були репродуктивного віку.

Матеріалом для дослідження слугувала периферична кров, забрана з ліктьової вени вранці натще в кількості 5 мл.

До операції та на першу, третю і п'яту добу після неї у всіх хворих оцінювали активність пероксидного окиснення та стан антиоксидантних систем

шляхом визначення в сироватці крові ступеня окислювальної модифікації білків (ОМБ), активність церулоплазміну (ЦП); в еритроцитах — вміст маломолекулового альдегіду (МА), активність глутатіонпероксидази (ГП) і каталази (КТ) за загальноприйнятими методиками.

Виділення лімфоцитів здійснювали методом центрифугування на градієнті щільності фікол-урографіну $1,077$ г/см³. Визначення вмісту лімфоцитів, що несуть маркер апоптозу — CD95+ рецептор, проводилося в екстракорпоральних умовах з використанням моноклональних антитіл CD95 (Caltag, Австрія) в лімфоцитотоксичному тесті. Рівень апоптозу в популяції лімфоцитів периферичної крові визначали шляхом встановлення екс-депресії на зовнішньому шарі плазматичної мембрани молекул фосфатидилсерину методом флуоресцентної мікроскопії з використанням FITC-міченого анексину V за допомогою набору Annexin V FITC (Beckman Coulter, Франція).

Визначення вмісту в плазмі крові фактора некрозу пухлини α (ФНП- α) та інтерлейкіну- 1β (ІЛ- 1β) встановлювали за допомогою стандартних діагностичних наборів фірми Medgenix (Бельгія) згідно з технологією, рекомендованою виробником. Вивчали ці ж показники у крові та плазмі 30 практично здорових донорів.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за програмою Statgraphics (2010) з вирахуванням критерію Стьюдента. Відмінності вважали вірогідними при рівні значимості $p < 0,05$.

Результати

Встановлено, що у хворих на вузловий зоб на тлі АІТ спостерігалася значна активація процесів пероксидного окиснення: рівень МА в еритроцитах у хворих першої групи був вірогідно вищий (на 23,3 %), ніж у донорів. Відзначалося також зростання (на 21,8 %) у них активності ОМБ.

У хворих дослідної групи після курсу альфа-ліпоєвої кислоти рівень МА був вище лише на 11,4 %, а ОМБ — на 14,3 % (табл. 1).

Виявлено, що у хворих на вузловий зоб активність ферментів антиоксидантного захисту вірогідно знижувалася: активність ЦП — на 11,2 %, ГП — на 3,6 % та КТ — на 8,2 %. Введення альфа-ліпоєвої кислоти призводило до високовірогідного (на 11,5 %) зростання активності ЦП. Активність КТ при цьому зменшувалась на 8,9 %, а ГП майже не змінювалась (табл. 2).

На першу добу після операції у хворих контрольної групи спостерігалось зростання рівня МА на 37,3 % і ОМБ на 29,7 %, а у хворих дослідної групи зниження рівня цього показника на 35,2 %, а ОМБ майже не змінювалась. На третю добу після операції у хворих контрольної групи відзначалося вірогідне зростання рівня МА і ОМБ (відповідно на 31,1 і 42,3 %), а у хворих дослідної групи ці показники майже не змінювались порівняно з першою добою. На п'яту добу після операції у крові хворих контрольної групи активність процесів пероксидного

окиснення залишалась вищою від таких до операції, а у хворих дослідної групи ці показники були значно нижчими (табл. 1).

Встановлено, що активність ЦП у плазмі крові хворих контрольної групи прогресивно знижувалась з першої до п'ятої доби післяопераційного періоду з $77,20 \pm 5,61$ до $59,32 \pm 4,42$ о.о.г./г білка, а у хворих дослідної групи вірогідно зростала з $77,20 \pm 5,61$ до $97,31 \pm 4,42$ о.о.г./г білка ($p < 0,001$). Така ж закономірність характерна для активності КТ. Активність ГП у хворих обох груп суттєво знижувалась до третьої доби після операції і зростала на п'яту добу, причому більш виражено у хворих дослідної групи (табл. 2).

У процесі проведеного дослідження у хворих виявлено вірогідне збільшення середнього вмісту CD95+ лімфоцитів у периферичній крові відносно аналогічного параметра у здорових донорів (табл. 3).

Середнє значення апоптичної активності лімфоцитів (кількість анексин-V-презентуючих клітин) у хворих на вузловий зоб, навпаки, було істотно нижче норми (табл. 3). Поряд із цим у пацієнтів виявляли підвищення рівня TNF- α та ІЛ-1 β у сироватці крові порівняно з контролем.

Після проведення комплексної терапії у пацієнтів відзначалося вірогідне зниження рівня цитокінів — концентрація TNF- α та ІЛ-1 β в сироватці крові зменшилась майже удвічі. Разом із тим кіль-

Таблиця 1. Показники оксидантного захисту крові хворих на вузловий зоб на тлі АІТ у найближчому післяопераційному періоді

Показник	Донори (n = 30)	Перша доба		Третя доба		П'ята доба	
		I група (n = 30)	II група (n = 50)	I група (n = 30)	II група (n = 50)	I група (n = 30)	II група (n = 50)
	1	2	3	4	5	6	7
МА, мкмоль/л еритроцитів	$8,17 \pm 1,21$	$13,27 \pm 1,46$ p 1-2***	$9,86 \pm 1,17$ p 2-3***	$12,66 \pm 1,12$ p 1-4***	$9,11 \pm 1,23$ p 4-5***	$12,17 \pm 1,52$ p 1-6***	$8,37 \pm 0,96$ p 6-7***
ОМБ, о.о.г./г білка	$39,61 \pm 1,23$	$56,63 \pm 1,77$ p 1-2***	$49,93 \pm 1,63$ p 1-3*** p 2-3**	$61,03 \pm 1,72$ p 1-4*** p 2-4*	$42,97 \pm 1,92$ p 3-5** p 4-5***	$59,33 \pm 2,11$ p 1-6***	$40,71 \pm 1,74$ p 3-7** p 6-7***

Примітки: коефіцієнт вірогідності p між вказаними групами: * — $< 0,05$; ** — $< 0,01$; *** — $< 0,001$ (наведені тільки статистично вірогідні відмінності).

Таблиця 2. Показники антиоксидантного захисту крові хворих на вузловий зоб на тлі АІТ у найближчому післяопераційному періоді

Показник	Донори (n = 30)	Перша доба		Третя доба		П'ята доба	
		I група (n = 30)	II група (n = 50)	I група (n = 30)	II група (n = 50)	I група (n = 30)	II група (n = 50)
	1	2	3	4	5	6	7
КТ, мкмоль/хв \times г Нb	$168,73 \pm 14,40$	$152,51 \pm 12,69$	$162,27 \pm 11,07$	$149,88 \pm 10,19$	$179,28 \pm 16,33$	$138,96 \pm 11,43$	$181,41 \pm 13,72$ p 6-7***
ГП, мкмоль/хв \times г Нb	$205,0 \pm 17,0$	$181,32 \pm 12,68$	$197,81 \pm 13,73$	$183,55 \pm 11,81$	$219,83 \pm 13,67$ p 4-5*	$201,13 \pm 10,34$	$236,82 \pm 14,72$ p 1-7* p 6-7**
ЦП, о.о.г./г білка	$77,20 \pm 5,61$	$62,12 \pm 3,87$ p 1-2*	$81,64 \pm 4,16$ p 2-3***	$61,88 \pm 3,42$ p 1-4**	$85,62 \pm 3,78$ p 4-5***	$58,16 \pm 2,78$ p 1-6***	$93,39 \pm 4,07$ p 1-7* p 6-7**

Примітки: коефіцієнт вірогідності p між вказаними групами: * — $< 0,05$; ** — $< 0,01$; *** — $< 0,001$ (наведені тільки статистично вірогідні відмінності).

Таблиця 3. Показники апоптозу лімфоцитів периферичної крові та концентрація ФНП- α та ІЛ-1 β в сироватці крові у здорових донорів і хворих на АІТ до та після лікування, $M \pm m$

Група дослідження	CD95+ лімфоцитів, %	Кількість анексин-V+ лімфоцитів, %	Концентрація ФНП- α , пг/мл	ІЛ-1 β , пг/мл	
Контроль (n = 30)	$11,61 \pm 0,58$	$17,58 \pm 2,69$	$1,69 \pm 0,27$	$1,96 \pm 1,13$	
Хворі на вузловий зоб (n = 80)	I група (n = 30)	$18,64 \pm 3,11$ p $< 0,05$	$9,52 \pm 2,14$ p $< 0,05$	$10,11 \pm 1,61$ p $< 0,001$	$11,82 \pm 2,39$ p $< 0,001$
	II група (n = 50)	$13,07 \pm 2,41$ p $< 0,01$ p ₁ $< 0,05$	$15,58 \pm 1,28$ p ₁ $< 0,001$	$5,14 \pm 1,79$ p $< 0,05$ p ₁ $< 0,05$	$4,79 \pm 1,14$ p $< 0,05$ p ₁ $< 0,001$

Примітки: p — рівень статистичної відмінності порівняно з аналогічними параметрами у здорових донорів; p₁ — рівень статистичної відмінності між групами з традиційною терапією та дослідною групою.

кість анексин-V-презентуючих клітин лімфоцитів і середній вміст CD95+ лімфоцитів наближались до контрольних показників.

При ультразвуковому дослідженні вже через один місяць у пацієнтів обох груп відзначається вірогідне зниження загального об'єму ЩЗ. Проте стандартна терапія призвела до зниження загального обсягу ЩЗ на 17 % у пацієнтів першої групи, зберігаючи ці показники вище верхньої межі вікової норми (на 55 і 81 % відповідно). Комплексна терапія вірогідно знизилася показники об'єму ЩЗ на 34,4 %, що перевищує показники в першій групі і при цьому супроводжується значним клінічним поліпшенням і зниженням інтенсивності скарг на дискомфорт в ділянці шиї. Продовження стандартної терапії протягом трьох місяців вірогідно знизило обсяги ЩЗ на 28,7 %. Комплексна терапія в ті ж терміни вірогідно знизилася об'єм ЩЗ на 42 % і наблизила середні показники до верхньої межі вікової норми (перевищуючи їх лише на 16 %).

Стандартна терапія протягом шести місяців призвела до вірогідного зниження об'єму ЩЗ на 34 % у пацієнтів другої групи, що перевищує дані в першій групі на 22 %. Через 6 місяців комплексної терапії середні показники об'єму ЩЗ вірогідно зменшилися на 46 % порівняно з початковими у пацієнтів другої групи, що знаходиться в межах значень вікової норми і практично відповідає даним у групі контролю.

Стандартна терапія у пацієнтів протягом шести місяців призвела до вірогідного підвищення рівня вТ₄ на 20 %, що відповідає нижній межі вікової норми і нижче даних у другій групі на 31,5 %. У ці ж самі терміни відзначено вірогідне підвищення рівня вТ₄ на 66,7 %, перевищення цих показників даних у другій групі на 42 % і практично відповідність еутиреїдному стану.

На тлі стандартної терапії у пацієнтів першої групи через 3 місяці відзначено вірогідне зниження рівня ТТГ на 51,2 %, але абсолютні значення перевищують середню популяційну норму у 3,3 раза, що вище верхньої межі вікової норми, і, з огляду на кореляцію з даними вТ₄ у цих пацієнтів, в клінічних проявах зберігаються скарги, характерні для перебігу явного гіпотиреозу.

На тлі комплексної терапії через 3 місяці спостерігається вірогідне зниження рівня ТТГ на 65,8 % у пацієнтів другої групи, що перебувало в межах вікових норм, хоча і перевищує дані в контрольній групі на 0,85 мМО/л, все ж відповідає еутиреїдним значенням.

Через 6 місяців після лікування рівень ТТГ знизився у пацієнтів обох груп і клінічно відповідав еутиреїдному стану, але якщо на тлі стандартної терапії вони перевищували дані в другій групі на 0,94 мМО/л, то на тлі комплексної терапії дані ТТГ у пацієнтів другої групи практично відповідали показникам у групі контролю.

Через 2–3 роки після оперативного втручання рівень ТТГ практично не відрізнявся від показника у донорів, а у п'яти жінок репродуктивного віку вагітність та пологи пройшли без ускладнень.

Обговорення

CD95 (Fas/APO-1 або FasR) експресується в найрізноманітніших тканинах і клітинах, включаючи лімфоцити. Підвищення числа лімфоцитів, що презентують CD95, є закономірним проявом активації імунної системи, що характерно для імунозапального процесу. FasR, який, безумовно, є основним апоптогенним рецептором, необхідний як для реалізації програми рецепторного апоптозу, так і для мітозу клітин [12]. Крім того, підвищена експресія FasR клітинами робить їх доступними для цитотоксичних CD8+ лімфоцитів, що експресуються за умов активації FasL. Встановлено, що саме Fas-опосередкований шлях індукції апоптозу відіграє ключову роль у запобіганні розвитку автоімунної агресії за допомогою знешкодження налаштованих «проти свого» (автореактивних) Т-лімфоцитів і запобіганню надмірного їх накопичення в організмі [13].

За результатами проведеного дослідження, збільшення рівня експресії CD95 на лімфоцитах, виявлене у хворих на АІТ із еутиреозом, було менш вираженим, ніж при гіпотиреозі. Ймовірно, це обумовлено тим, що при еутиреїдному стані ЩЗ активація імунної системи відбувається меншою мірою та компенсується захисними механізмами.

Однак наявність на поверхні Fas-рецептора зовсім не означає обов'язкової реалізації клітиною закладеної програми загибелі. Для цього необхідно зв'язування рецептора зі специфічним лігандом, в якості якого можуть виступати FasL лімфоцитів з кілерною активністю, а також деякі цитокини та антигени. Зв'язуючись зі своїм рецептором, CD95L (або інший подібний цитокін, антиген) запускає ланцюг передачі сигналу, що призводить до апоптозу [14].

Ймовірно, саме через зрив зазначеного механізму, незважаючи на кількісне збільшення вмісту CD95+ лімфоцитів, при АІТ нами не було виявлено посилення апоптозу лімфоцитів. Навпаки, у хворих на АІТ при проведенні анексинового тесту було зареєстровано вірогідне зниження вмісту анексин-V-презентуючих (апоптичних) лімфоцитів, що свідчить про порушення реалізації їх рецепторзалежного апоптозу. Допустимою причиною цьому могла бути посилена продукція розчинної форми Fas-рецептора (sFas), здатної накопичуватися в лімфоцитах і конкурувати з локалізованим на мембрані рецептором у зв'язуванні ліганди. Існує точка зору, що sFas пригнічує рецептор-опосередкований апоптоз і елімінацію активованих лімфоцитів, сприяє формуванню автоагресивних клонів клітин та прогресуванню автоімунного процесу [15].

Необхідно зазначити, що важливу роль у здійсненні апоптозу відіграє тироксин. Він регулює функціонування протеїнової тирозинкінази, важливого елемента реалізації сигналу смерті [16]. При нестачі цього гормону відбувається пригнічення апоптозу. Можливо, це є ще однією причиною зниження числа апоптичних клітин у пацієнтів з вузловим зобом на тлі АІТ.

Отримані результати дозволяють допустити кілька можливих пояснень CD95-резистентності при

АІТ. По-перше, наявність рецепторного дефекту, що (як вже обговорювалося вище) відображається в порушенні трансмембранної передачі апоптозного сигналу [17]. По-друге, наявність або відсутність клітинних і гуморальних факторів, контролюючих процес апоптозу, що виникає після активації CD95. Дане припущення може стосуватися, наприклад, експресії білків сімейства Bcl-2, яке знаходиться в зворотній кореляційній залежності із чутливістю клітин до Fas-індукованого апоптозу. При різних станах, у тому числі аутоімунних, експресія даного білка може змінюватись, що послаблює процеси запрограмованої клітинної загибелі [18]. По-третє, специфічний вплив набору цитокінів, яким відводиться значна роль у патогенезі та розвитку аутоімунної патології ЩЗ. При цьому ФНП- α (важливий прозапальний цитокін), гомолог FasL, є найбільш апоптогенним із цитокінів. Сімейство ФНП- α займає друге місце за значимістю в регуляції рецепторного шляху запрограмованої клітинної загибелі [11, 15].

У хворих на АІТ встановлено значне збільшення концентрації ФНП- α в сироватці крові, при чому більш виражене при АІТ у стані еутиреозу.

Імовірно, це пояснюється тим, що продукція даного цитокіну пов'язана як з активністю імунних процесів, так і з рівнем тиреоїдних гормонів. Відомо, що ФНП- α продукується макрофагами, а також Т-клітинами, які перебувають в стані спокою, але стає одним із головних чинників, що секретуються активованими Т-лімфоцитами [16]. При АІТ відбувається активація імунної системи, і підвищення рівня ФНП- α є її типовим наслідком. Поряд із цим під дією даного цитокіну відбувається пригнічення Na^+/K^+ -АТФази, яка здійснює транспорт йодидів в тиреоцитах для синтезу тиреоїдних гормонів, що в результаті призводить до роз'єднання ефективної клітинної працездатності і пригнічення синтезу гормонів [17].

У свою чергу, трийодтиронін сприяє збільшенню в сироватці крові рівня ФНП- α [10]. Цей факт пояснює більш високий вміст цитокіну у пацієнтів з еутиреоїдним станом ЩЗ (при нормальному вмісті тиреоїдних гормонів в крові), ніж у пацієнтів з гіпотиреозом, при якому відзначається зниження вмісту T_3 . До того ж цей прозапальний цитокін підвищує цитотоксичну активність лімфоцитів, які інфільтрують ЩЗ, а також беруть участь в процесах їх апоптичноопосередкованої загибелі, тобто являє собою певний компонент захисної реакції макроорганізму, що контролює силу аутоімунного процесу [14].

Вивільнення ФНП- α з тиреоїдстимульованих лімфоцитів при АІТ відіграє важливу роль у прогресуванні захворювання та розвитку кінцевої його стадії — гіпотиреозу [10, 16]. Це наводить на думку про те, що при АІТ виробляються фактори, що роз'єднують апоптичні сигнали, генеровані ФНП- α .

Передбачається, що одним із механізмів зниження чутливості клітини до індукції апоптозу, здійснюваної під дією ФНП- α , може бути секреція розчинної форми рецептора ФНП- α (sTNFR), яка

перешкоджає зв'язуванню цитокіну зі специфічним мембранним рецептором. Потенційним патогенетичним чинником підвищення концентрації sTNFR є індукована гіперпродукція прозапальних цитокінів (у тому числі і самим ФНП- α) і, що особливо важливо, інтенсифікація окисної модифікації білків і ліпідів [16].

У зв'язку з цим можна допустити, що одним із механізмів виникнення гіпотиреозу є аутоімунна агресія проти тиреоїдних гормонів, структура яких змінюється під впливом активації процесів пероксидного окиснення. Включення в процес лікування альфа-ліпоєвої кислоти призводить до нормалізації гормонального гомеостазу і відновлення повноцінної роботи лімфатичної тканини.

Висновки

1. У хворих на вузловий зоб на тлі аутоімунного тиреоїдиту в крові відзначається активація процесів пероксидного окиснення та зниження функціональної спроможності ферментів антиоксидантного захисту.

2. Порушення запрограмованої загибелі лімфоцитів при аутоімунному тиреоїдиті проявляється збільшенням вмісту фактора некрозу пухлини і CD95+ лімфоцитів на тлі зниження числа апоптичних клітин.

3. Після проведеного комплексного лікування відзначена позитивна динаміка порушених показників імунного статусу, насамперед нормалізація порушеного балансу субпопуляції апоптичних Т-лімфоцитів та антитіл до тиреоглобуліну та тиреоїдної пероксидази, зниження вмісту цитокінів і повернення в межі нормальних значень рівнів гормонів щитоподібної залози.

Конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

References

1. Vecchiatti SM, Lin CJ, Capelozzi VL, Longatto-Filho A, Bisi H. Prevalence of thyroiditis and immunohistochemistry study searching for a morphologic consensus in morphology of autoimmune thyroiditis in a 4613 autopsies series. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2015;23(6):402-8. doi: 10.1097/PAL.000000000000094.
2. Carney JA, Lyssikatos C, Seethala RR, et al. The Spectrum of Thyroid Gland Pathology in Carney Complex: The Importance of Follicular Carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(5):587-594. doi: 10.1097/PAS.0000000000000975.
3. Durante C, Grani G, Lamartina L, Filetti S, Mandel SJ, Cooper DS. The Diagnosis and Management of Thyroid Nodules: A Review. *JAMA.* 2018;319(9):914-924. doi: 10.1001/jama.2018.0898.
4. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far? *J Immunol Res.* 2015;2015:979167. doi: 10.1155/2015/979167.
5. Kawashima ST, Tagami T, Nakao K, et al. Serum levels of IgG and IgG4 in Hashimoto thyroiditis. *Endocrine.* 2014;45(2):236-243. doi: 10.1007/s12020-013-9988-9.
6. Park S, Jeon MJ, Song E, et al. Clinical Features of Early and Late Postoperative Hypothyroidism After Lobectomy. *J Clin Endocri-*

nol Metab. 2017;102(4):1317-1324. doi: 10.1210/jc.2016-3597.

7. Xia Q, Dong S, Bian PD, Wang J, Li CJ. Effects of endocrine therapy on the prognosis of elderly patients after surgery for papillary thyroid carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016;273(4):1037-43. doi: 10.1007/s00405-015-3564-2.

8. Ito M, Miyauchi A, Hisakado M, et al. Biochemical Markers Reflecting Thyroid Function in Athyreotic Patients on Levothyroxine Monotherapy. *Thyroid.* 2017;27(4):484-490. doi: 10.1089/thy.2016.0426.

9. Rojas-Villarraga A, Amaya-Amaya J, Rodriguez-Rodriguez A, Rubén D, Mantilla RD, Juan-Manuel Anaya JM. Introducing polyautoimmunity: secondary autoimmune diseases no longer exist. *Autoimmune Dis.* 2012;2012:254319. doi: 10.1155/2012/254319.

10. Figueroa-Vega N, Alfonso-Pérez M, Benedicto I, Sánchez-Madrid F, González-Amaro R, Marazuela M. Increased circulating pro-inflammatory cytokines and Th17 lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(2):953-62. doi: 10.1210/jc.2009-1719.

11. Ramos-Leví AM, Marazuela M. Pathogenesis of thyroid autoimmune disease: the role of cellular mechanisms. *Endocrinol Nutr.* 2016;63(8):421-9. doi: 10.1016/j.endonu.2016.04.003.

12. Morris GP, Brown NK, Kong YM. Naturally-existing CD4(+) CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells are required for tolerance to experimental autoimmune thyroiditis induced by either exogenous or endogenous autoantigen. *J Autoimmun.* 2009;33(1):68-76. doi: 10.1016/j.jaut.2009.03.010.

13. González-Amaro R, Marazuela M. T regulatory (Treg) and T helper 17 (Th17) lymphocytes in thyroid autoimmunity. *Endocrine.* 2016;52(1):30-8. doi: 10.1007/s12020-015-0759-7.

14. Kristensen B, Hegedüs L, Madsen HO. Altered balance between self-reactive T helper (Th)17 cells and Th10 cells and between full-length forkhead box protein 3 (FoxP3) and FoxP3 splice variants in Hashimoto's thyroiditis. *Clin Exp Immunol.* 2015;180(1):58-69. doi: 10.1111/cei.12557.

15. Weetman AP. The immunopathogenesis of chronic autoimmune thyroiditis one century after Hashimoto. *Eur Thyroid J.* 2013;1(4):243-50. doi: 10.1159/000343834.

16. Chen JQ, Papp G, Szodoray P, Zeher M. The role of microRNAs in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 2016;15(12):1171-80. doi: 10.1016/j.autrev.2016.09.003.

17. Lepéz T, Vandewoestyne M, Deforce D. Fetal microchimeric cells in autoimmune thyroid diseases: harmful, beneficial or innocent for the thyroid gland? *Chimerism.* 2013;4(4):111-8. doi: 10.4161/chim.25055.

18. Boelaert K, Newby PR, Simmonds MJ, et al. Prevalence and relative risk of other autoimmune diseases in subjects with autoimmune thyroid disease. *Am J Med.* 2010;123(2):183.e1-9. doi: 10.1016/j.amjmed.2009.06.030.

Отримано 16.03.2018 ■

Шеремет М.И.

ВГУЗ України «Буковинський державний медичний університет», г. Чернівці, Україна

Апоптоз лимфоцитов крови у больных аутоиммунным тиреоидитом и пути коррекции

Резюме. *Цель* — исследовать некоторые звенья патогенеза развития узлового зоба на фоне аутоиммунного тиреоидита (АИТ) путем изучения активности процессов перекисного окисления липидов и белков, апоптоза лимфоцитов периферической крови и уровня некоторых цитокинов до и после оперативного вмешательства, разработать эффективные методы их коррекции. *Материалы и методы.* Обследовано 80 женщин с узловым зобом на фоне АИТ. *Результаты.* Показано, что нарушение программируемой гибели лимфоцитов при АИТ проявляется увеличением содержания фактора некроза опухоли α и CD95+ лимфо-

цитов на фоне снижения числа апоптотических клеток. *Выводы.* После проведенного комплексного лечения отмечена положительная динамика нарушенных показателей иммунного статуса, прежде всего нормализация нарушенного баланса субпопуляции апоптотических Т-лимфоцитов и антител к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе, снижение содержания цитокинов и возвращение в пределы нормальных значений уровня гормонов щитовидной железы.

Ключевые слова: узловой зоб; аутоиммунный тиреоидит; апоптоз; CD95; фактор некроза опухоли α ; интерлейкин-1 β ; лечение

M.I. Sheremet

State Higher Education Institution of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

Apoptosis of blood lymphocytes in patients with autoimmune thyroiditis and its treatment

Abstract. *Background.* The purpose was to determine some links of pathogenesis of nodular goiter on the background of autoimmune thyroiditis (AT) by studying the activity of lipid and protein peroxidation processes, apoptosis of peripheral blood lymphocytes and level of some cytokines before and after surgical intervention, to develop the effective methods of its correction. *Materials and methods.* Eighty women were examined with nodular goiter on the background of AT. *Results.* This article presents results of apoptosis detection in blood lymphocytes of patients with AT in euthyroid and hypothyroid state. *Conclusions.* Contents of CD95+, annexin

V-positive (apoptotic) cells and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the blood were analyzed. It was shown that altered regulation of programmed lymphocyte death in autoimmune thyroiditis is manifested by increased content of TNF- α and CD95+ lymphocytes associated with decreased number of apoptotic cells in the blood. Meanwhile, this pathology is more expressed in patients with AT with euthyroid state than in thyroid hypofunction. Possible mechanisms of the revealed disturbances are discussed.

Keywords: nodular goiter; autoimmune thyroiditis; apoptosis; CD95; tumor necrosis factor- α ; interleukin-1 β ; treatment