

А.А. ФАТЕЕВА^{1,2}, Н.С. МАРТИРОСЯН¹, к.м.н., Н.А. ПЕТУНИНА¹, д.м.н., профессор

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России

² Казахский национальный университет им. С.Д. Асфендиярова, Алма-Ата

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ПРИ СОЧЕТАНИИ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Проведен сравнительный анализ изменений иммунного и генетического статуса у пациентов с коморбидным течением метаболического синдрома (МС) и тиреоидной патологии в сравнении с пациентами, имеющими только МС или только патологию щитовидной железы (ЩЖ).

Материалы и методы: В исследование включено 90 пациентов, отнесенные в одну из трех групп: группа пациентов с МС и патологией ЩЖ; группа пациентов только с МС; группа пациентов только с патологией ЩЖ. Всем пациентам проводилась оценка иммунного статуса – CD3, CD4, CD8, CD16, CD4+/CD8+, уровень фактора некроза опухолей (ФНО) и С-реактивного белка (СРБ) исследовался при проведении биохимического анализа крови. Генетический анализ состоял в определении частот аллелей и генотипов четырех полиморфных маркеров: rs10865710 гена PPARG3, rs1042713 и rs1042711 гена ADRB2 и rs5443 гена GNB3. **Результаты:** Сочетание МС с патологией ЩЖ вне зависимости от наличия или отсутствия аутоиммунных заболеваний ЩЖ характеризовалось усугублением нарушений в Т- и В-клеточном звене иммунитета, увеличением уровня IgG, СРБ и ФНО. Генетический анализ показал частую выявляемость аллеля А, генотипа АА полиморфного маркера rs1042713 гена ADRB2, кодирующего β2-адренорецептор в популяции у казахов.

Ключевые слова: метаболический синдром, патология щитовидной железы, иммунный статус, сердечно-сосудистые осложнения.

A.A. FATEEVA^{1,2}, N.A. MARTIROSYAN¹, PhD in medicine, N.A. PETUNINA¹, MD, Prof.

¹ Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia

² Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Alma-Ata

IMMUNOGENETIC FEATURES OF THYROID GLAND DYSFUNCTION COMBINED WITH METABOLIC SYNDROME

A comparative analysis of the changes in the immune and genetic status in patients with metabolic syndrome (MetS) combined with thyroid pathology has been performed in comparison with patients only with MetS or thyroid gland (TG) dysfunction.

Materials and methods: 90 patients were recruited and assigned to one of three groups: A group of patients with MetS and TG dysfunction; a group of patients only with MetS; group of patients only with TG dysfunction. All patients underwent immune status assessment – CD3, CD4, CD8, CD16, CD4 +/CD8 +, and tumour necrosis factor (TNF) and C-reactive protein (CRP) levels were studied in a biochemical blood test. Genetic analysis consisted in determining the frequencies of alleles and genotypes of four polymorphic markers: rs10865710 of the PPARG3 gene, rs1042713 and rs1042711 of the ADRB2 gene and rs5443 of the GNB3 gene. **Results:** The combination of MetS with TG dysfunction regardless of the presence or absence of autoimmune thyroid diseases was characterized by aggravation of disorders in the T- and B-cell components of immune system, an increase in IgG, CRP, and TNF levels. Genetic analysis showed frequent detection of the A allele, the AA genotype of the polymorphic marker rs1042713 of the ADRB2 gene, coding β2-adrenoreceptor in the Kazakh population.

Keywords: metabolic syndrome, thyroid gland dysfunction, immune status, cardiovascular complications.

Известно, что недостаток гормонов щитовидной железы (ЩЖ), в частности при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы (АЗЩЖ), ассоциирован с явлением инсулинорезистентности, дислипидемией, а уровень тиреотропного гормона (ТТГ) коррелирует с фатальными сердечно-сосудистыми событиями [1]. В свою очередь, как для метаболического синдрома (МС), так и для АЗЩЖ характерно снижение субпопуляций Т-лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+ и увеличение хелперно-супрессорного отношения CD 4+/8+ [2]. Также имеются данные о том, что при достижении эутиреоза средние показатели содержания иммунокомпетентных клеток не отличаются от таковых у здоровых лиц [3]. Доказано, что системные воспалительные реакции при непосредственном воздействии медиаторов воспаления негативно сказываются на состоянии липидного обмена с

появлением его патологического профиля и активацией свободно радикального окисления липидов [4].

Генетическая предрасположенность к возникновению нарушений как углеводного, так и липидного обменов, принимающих участие в патогенезе ожирения, сахарного диабета 2-го типа (СД 2-го типа), ишемической болезни сердца (ИБС) и артериальной гипертензии (АГ) на сегодняшний день не вызывает сомнений. Также изучаются и гены-кандидаты, предрасполагающие к развитию АЗЩЖ [5]. Для изучения ассоциации генов-кандидатов для компонентов МС (ожирение, СД 2-го типа, АГ и ИБС), а также АЗЩЖ используются такие полиморфные маркеры, как PPARG3, кодирующий белок-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом типа γ3, – однонуклеотидная замена С(-681)G (rs10865710); ADRB2, кодирующий бета-2-адренергический рецептор, – мутация Arg 16/Gly

(rs 1042713) и однонуклеотидная замена Т(-47)С (rs1042711) [6]; GNB3, кодирующий гуанин нуклеотид-связывающий белок бета-3, – синонимичная замена С825Т (rs5443) [7]. Однако недостаточно исследованы механизмы иммунных и генетических нарушений при коморбидном течении МС и патологии ЩЖ, особенно в зависимости от наличия или отсутствия АЗЩЖ. Выявление иммунологических и генетических нарушений при коморбидности важно для понимания общих патогенетических механизмов возникновения этих патологий.

Цель исследования: установление иммуногенетических особенностей патологии ЩЖ при коморбидном течении с МС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования представляет собой когортное поперечное проспективное исследование. В научную работу было включено 90 пациентов обоего пола от 18 лет и старше. Все больные были разделены на три группы по 30 человек: группа пациентов с МС и патологией ЩЖ; группа пациентов только с МС; группа пациентов только с патологией ЩЖ. Оценивались показатели клеточного и гуморального иммунитета: CD3, CD4, CD8, CD 16. Также определялся иммунорегуляторный индекс через соотношение CD4+/CD8+. С помощью иммуноферментного анализа определялся уровень специфического маркера воспаления фактора некроза опухолей (ФНО). Неспецифический показатель воспаления С-реактивный белок (СРБ) исследовался при проведении биохимического анализа крови.

Геномную ДНК выделяли из 50 мкл периферической крови с использованием набора «MagMax-96 DNA Multi-Sample Kit» (Applied Biosystems, США) и автоматической станции для выделения ДНК MagMax Express 96 (Applied Biosystems, США), методика с использованием магнитных твердых носителей. Выделение проводили согласно рекомендациям производителя. Определение концентрации ДНК в образцах производили на приборе «NanoDrop» (Thermo Scientific, США). Для контроля продукты амплификации визуализировались электрофорезом в агарозном геле.

Статистическую обработку проводили при помощи дисперсионного и корреляционного анализов с использованием пакета программ Statistica 10.0.

Для определения различий частот значений качественных показателей между группами и подгруппами, распределения аллелей и генотипов изученных локусов в группах и оценки статистической значимости этих различий применяли критерий χ^2 , при небольшом объеме наблюдений рассчитывался точный критерий Фишера с использованием таблиц сопряженности 2x2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе распределения тиреоидной патологии было выявлено, что в группе с коморбидностью преобладали пациенты с АЗЩЖ (46,6%), тогда как в группе только с патологией ЩЖ – с диффузным нетоксическим зобом (40%). Узловой коллоидный зоб встречался в 16,7% случаев с коморбидным течением и в 26,8% случаев с изолированным течением патологии ЩЖ. Важнейшие компоненты МС, такие как артериальная гипертония (АГ), сахарный диабет 2-го типа (СД 2-го типа) и ожирение, встречались с сопоставимой частотой в группах пациентов только с МС и коморбидным течением МС и патологией ЩЖ. Однако в группе пациентов только с МС встречались и другие формы нарушений углеводного обмена – нарушение толерантности к углеводам в 3% случаев и нарушение гликемии натощак в 1% случаев.

Доказано, что системные воспалительные реакции при непосредственном воздействии медиаторов воспаления негативно сказываются на состоянии липидного обмена с появлением его патологического профиля и активацией свободно радикального окисления липидов

При сравнительной оценке показателей клеточного и гуморального иммунитета по данным иммунограммы выявлено, что в группе пациентов с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ наблюдается угнетение Т-клеточного звена иммунитета (снижение CD4+, Т-хелперов), а также активация В-лимфоцитов в сравнении с другими группами исследования ($p < 0,01$). Таким образом, в группе пациентов с сочетанным течением МС и патологией ЩЖ имеется нарушение как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета (табл. 1).

Таблица 1. Сравнительная характеристика показателей иммунограммы в исследуемых группах

№	Показатели	Группа с МС и патологией ЩЖ (n = 30)	Группа только с МС (n = 30)	Группа только с патологией ЩЖ (n = 30)	P(1–2)	P(2–3)	P(1–3)
1	Т-лимфоциты, %	52,9 ± 0,9	54,97 ± 1,06	57,3 ± 0,8	P = 0,2	P = 0,06	P = 0,001
2	В-лимфоциты (CD3+), %	18,6 ± 0,6	1,97 ± 0,8	17,1 ± 1,1	P = 0,000	P = 0,001	P = 0,2
3	CD4+(Т-хелперы), %	26,2 ± 0,7	29,5 ± 1,24	28,4 ± 1,5	P = 0,03	P = 0,46	P = 0,012
4	CD8+(Т-цитотоксические), %	17,9 ± 0,64	18,8 ± 0,6	20,8 ± 1,5	P = 0,54	P = 0,16	P = 0,004
5	CD4+/CD8+, %	1,6 ± 0,05	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,07	P = 0,63	P = 0,29	P = 0,57
6	CD16+(NK-киллеры), %	11,97 ± 0,6	12,7 ± 0,5	11,3 ± 0,6	P = 0,39	P = 0,29	P = 0,41

Таблица 2. Сравнительная характеристика иммуноглобулинов в исследуемых группах

№	Показатели	Группа с МС и патологией ЩЖ (n = 30)	Группа только с МС (n = 30)	Группа только с патологией ЩЖ (n = 30)	P(1-2)	P(2-3)	P(1-3)
1	Ig A, г/л	2,3 ± 0,2	1,41 ± 0,2	1,95 ± 0,2	P = 0,003	P = 0,22	0,061
2	Ig M, г/л	1,9 ± 0,2	1,42 ± 0,2	2,1 ± 0,2	P = 0,095	P = 0,02	P = 0,48
3	Ig G, г/л	21,99 ± 0,8	15,7 ± 1,5	21,54 ± 0,9	P = 0,000	P = 0,001	P = 0,71

Таблица 3. Сравнительная характеристика неспецифического и специфического маркера воспаления в исследуемых группах

№	Показатели	Группа с МС и патологией ЩЖ (n = 30)	Группа только с МС (n = 30)	Группа только с патологией ЩЖ (n = 30)	P(1-2)	P(2-3)	P(1-3)
1	СРБ, мг/л	7,6 ± 0,5	4,3 ± 0,06	4,07 ± 0,04	P = 0,000	P = 0,000	P = 0,000
2	ФНО, пг/мл	9,31 ± 2,2	6,1 ± 1,6	6,1 ± 1,3	P = 0,02	P = 0,19	P = 0,099

Оценивая уровни иммуноглобулинов сыворотки крови, которые являются основными показателями функциональной активности В-лимфоцитов, выявлено, что в группе пациентов с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ IgG существенно превышает нормативные значения в сравнении с группой пациентов с МС и группой больных только с патологией ЩЖ ($p < 0,01$). Именно IgG в цепи иммунологических реакций играет важную роль в развитии аутоиммунного воспаления, что в сочетании с нарушением клеточного звена иммунитета в группе пациентов с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ говорит о развитии у таких пациентов аутоиммунных реакций (табл. 2).

При сравнительной оценке показателей клеточного и гуморального иммунитета по данным иммунограммы выявлено, что в группе пациентов с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ наблюдается угнетение Т-клеточного звена иммунитета (снижение CD4+, Т-хелперов), а также активация В-лимфоцитов в сравнении с другими группами исследования ($p < 0,01$)

Оценивались показатели специфического (ФНО) и неспецифического (СРБ) провоспалительного потенциала крови в исследуемых группах. Провоспалительный потенциал крови у больных с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ статистически значимо был выше по сравнению с пациентами других групп исследования ($p < 0,01$). В связи с этим можно предположить, что при сочетанном течении МС и патологии ЩЖ увеличивается цитотоксическое действие иммунных воспалительных маркеров на клеточные мембраны, которые впоследствии способствуют образованию антител, реагирующих с фосфолипидами собственных мембран клеток (табл. 3).

Таким образом, при коморбидном течении МС и патологии ЩЖ наблюдается угнетение клеточного звена иммунитета, что в сочетании с активацией гуморального иммунитета и повышенного провоспалительного потенциала крови увеличивает цитотоксическое действие иммунных воспалительных маркеров на клеточные мембраны. В связи с этим был проведен субпопуляционный анализ иммунологических показателей и провоспалительного потенциала крови в зависимости от наличия или отсутствия АЗЩЖ. Для этого были выделены группы пациентов с коморбидным течением МС и АЗЩЖ, больные с изолированным течением АИЗЩЖ и группа пациентов с МС без АЗЩЖ. При сравнительном анализе показателей иммунограммы группа пациентов с коморбидностью и с АЗЩЖ имела статистически значимые различия по показателю Т-цитотоксических лимфоцитов, которые играют важнейшую роль в регуляции клеточного иммунитета, $17,8 \pm 0,9\%$ и $23,5 \pm 1,4\%$, соответственно, по сравнению с группой пациентов только с АЗЩЖ ($p < 0,01$). Таким образом, наличие МС у пациентов с АЗЩЖ усугубляет нарушения клеточного звена иммунитета. При сравнении пациентов без АЗЩЖ в группе пациентов с коморбидностью и без АЗЩЖ статистически значимо отличалось угнетение Т-клеточного звена иммунитета ($51,3 \pm 0,9\%$, $59,2 \pm 0,8\%$ и $54,97 \pm 1,06\%$, соответственно, $p < 0,01$). Уровень IgG был достоверно выше в группе с коморбидным течением независимо от наличия или отсутствия АЗЩЖ ($p < 0,01$).

Пациенты с коморбидным течением достоверно чаще были носителями аллеля А и генотипа АА полиморфного маркера rs1042713 гена ADRB2, кодирующего $\beta 2$ -адренорецептор

При оценке провоспалительного потенциала крови группа с коморбидностью и с АЗЩЖ имела достоверно выше уровни СРБ ($6,9 \pm 0,9$ мг/г, $4,5 \pm 0,8$ мг/г и $4,3 \pm 0,06$ мг/г, соответственно, $p < 0,01$) и ФНО ($13,33 \pm 2,7$, $4,5 \pm 1,9$

Таблица 4. Генетический анализ полиморфного маркера ADRB2 (rs 1042713)

Аллели и генотипы	Группа с МС (n = 30)	Группа с МС и патологией ЩЖ (n = 30)	Группа с патологией ЩЖ (n = 30)	χ^2	p	OR	95 % CI
Аллель А	17(28%)	32(53%)	13(22%)	6,76	0,0093	0,36	0,16-0,74
Аллель G	43(72%)	28(47%)	47(78%)			2,89	1,36-6,16
AA	1(3%)	16(53%)	0	28,24	<0,0001	0,030	0,004-0,25
AG	15(50%)	0(0%)	13(43%)			1,3	0,47-3,62
GG	14(47%)	14(47%)	17(57%)			1,0	0,36-2,6
AA+AG	16(53%)	16(53%)	13(43,3%)	0,07	0,80	1,0	0,362-2,76

и $6,1 \pm 1,6$ пг/мл, соответственно, $p < 0,01$). Таким образом, было показано, что наиболее выраженное угнетение Т-клеточного звена иммунной системы (CD4+, CD 8+) в сочетании с признаками активации гуморального звена иммунитета (В-лимфоциты, Ig G) и провоспалительного потенциала крови (СРБ, ФНО) наблюдается в группе пациентов с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ как с АЗЩЖ, так и без АЗЩЖ.

Именно IgG в цепи иммунологических реакций играет важную роль в развитии аутоиммунного воспаления, что в сочетании с нарушением клеточного звена иммунитета в группе пациентов с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ говорит о развитии у таких пациентов аутоиммунных реакций

Проводился анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов *PPARG3*, *ADRB2* и *GNB3* в казахской популяции больных. Было показано, что пациенты с коморбидным течением достоверно чаще были носителями аллеля А и генотипа АА полиморфного маркера *rs1042713* гена *ADRB2*, кодирующего β_2 -адренорецептор (табл. 4). Полиморфный маркер Arg 16/Gly (*rs1042713*) гена *ADRB2* представляет собой мутацию – замену нуклеотида ДНК, приводящую к замене аргинина

на глицин в белковом продукте гена. Этот маркер связан с особенностями работы нейронных рецепторов, ассоциирован с предрасположенностью к метаболическому синдрому, ожирению, бронхиальной астме, риску развития артериальной гипертензии у больных сахарным диабетом 2-го типа. Таким образом, нами показана ассоциация аллеля А и генотипа АА полиморфного маркера Arg 16/Gly (*rs1042713*) гена *ADRB2* с сочетанным течением заболевания щитовидной железы с метаболическим синдромом.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что у пациентов с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ сопоставимо угнетен Т-клеточный и активирован гуморальный иммунитет, а также наблюдаются иммунопатологические сдвиги (увеличение Ig G, СРБ, ФНО) вне зависимости от наличия или отсутствия АЗЩЖ.
2. Обнаружено, что полиморфный маркер *rs1042713* гена *ADRB2*, кодирующего β_2 -адренорецептор, ассоциируется с коморбидным течением МС и патологией ЩЖ в казахской популяции. Причем чаще выявлялся аллель А, генотипа АА.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в ходе написания данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roos R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999, 340: 115-26.
2. Белоусова С.В. Параметры иммунного статуса у женщин с аутоиммунным тиреоидитом с различным состоянием функции щитовидной железы. *Мед. Иммунология*, 2003, 5(3-4): 246-247./ Belousova S.V. Parameters of immune status in women with autoimmune thyroiditis with different states of thyroid function. *Med. Immunologiya*, 2003, 5 (3-4): 246-247.
3. Кузьминок О.И. и др. Нарушения Т-клеточного звена иммунитета у больных аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. *Иммунология*, 2002, (2): 44-48./ Kuzminok OI, et al. Disturbances of the T-cell link of immunity in patients with autoimmune thyroid diseases. *Immunologiya*, 2002, (2): 44-48
4. Забелина В.Д. Особенности состояния иммунной системы у больных с метаболическим синдромом. *Тер. Архив*, 2004, (5): 66-72./ Zabelina V.D. Features of the immune system state in patients with metabolic syndrome. *Ter. Arkhiv*, 2004, (5): 66-72.
5. Мамедов М.Н. Тканевая инсулинорезистентность: степень выражения и взаимосвязь с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. *Рос. кардиол. журн.*, 2000, (1): 44-47./ Mamedov MN. Tissue insulin resistance: severity level and relationship with risk factors for cardiovascular disease. *Ros. Kardiol. Zhurn.* 2000, (1): 44-47.
6. Michalik L, Auwerx J, Berger JP, Chatterjee VK, Glass CK, Gonzalez FJ, Grimaldi PA, Kadowaki T, Lazar MA, O'Rahilly S, Palmer CN, Plutzky J, Reddy JK, Spiegelman BM, Staels B, Wahli W. International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol. Rev.*, 2006, 58(4): 726-41.
7. Siffert W, Rosskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wichmann H-E, Jakobs KH, Horsthemke B. Association of a human G-protein beta-3 subunit variant with hypertension. *Nature Genet*, 1998, 18: 45-48.