

УДК 616-056.52-001.5

## НЕКОТОРЫЕ ИММУНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТИРЕОПАТОЛОГИИ

**Плескановская А.С., Оразалиева А.М., Ламанова Д.Б.**

*Туркменский государственный медицинский университет им. М. Гаррыева, Ашхабад,  
e-mail: pleskanovskaya\_s@mail.ru*

Аутоиммунная тиреоидная патология иммунологически характеризуется наличием в циркуляции анти-тиреоидных аутоантител, концентрацию которых рассматривают как один из ведущих признаков наличия аутоиммунного процесса в щитовидной железе. Наличие аутоантител в сыворотке больного в первую очередь свидетельствует о срыве толерантности организма к тканевым антигенам собственной ЩЖ и формировании «запрещенного пула» лимфоцитов, распознающего аутоантигены. Целью исследования являлось определение степени сенсибилизации циркулирующих лейкоцитов к антигенам ЩЖ в контексте морфологической характеристики тиреоидной патологии. Авторами в периферической крови практически здоровых лиц, больных с аутоиммунным тиреоидитом Хашимото, микро-макрофолликулярным зобом с гиперпластическим и гипопластическим процессами в фолликулах ЩЖ в реакции торможения миграции лейкоцитов выявлены лейкоциты, сенсибилизированные к растворимому тканевому антигену ЩЖ (РТАГ ЩЖ). Показано, что величина индекса миграции лейкоцитов (ИМЛ) в присутствии РТАГ ЩЖ соответствует морфологическим изменениям в ткани органа. Авторы считают, что внимание к гуморальным факторам иммунитета при тиреоидной патологии не должно исключать интерес к патогенетическому значению лимфоцитов, специфически сенсибилизированных к тканевым антигенам ЩЖ. По мнению авторов, ИМЛ может быть использован в качестве предиктора патологии ЩЖ.

**Ключевые слова:** патология щитовидной железы, морфологические особенности, специфически сенсибилизированные лейкоциты

## SOME IMMUNE-MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THYROID PATHOLOGY

**Pleskanovskaya A.S., Orazalieva A.M., Lamanova D.B.**

*Myrat Garryev State Medical University of Turkmenistan, Ashkhabad,  
e-mail: pleskanovskaya\_s@mail.ru*

Autoimmune thyroid pathology immunologically is characterized by the antithyroid autoantibodies presence in the patients' circulation, concentration of which is considered as one of the leading signs of the autoimmune process presence in the thyroid gland. The autoantibodies' presence in the patient's serum, first of all, indicates a breakthrough of the body's tolerance to its' own thyroid gland tissue antigens and the recognizing autoantigens "forbidden pool" lymphocytes formation. The aim of the study was patients' circulating leukocytes sensitization to the thyroid antigen degree determination in the context of the thyroid pathology morphological peculiarities. In the practically healthy persons' peripheral blood, patients with autoimmune Hashimoto's thyroiditis, micro-macrofollicular goiter with hyperplastic and hypoplastic processes in the leukocyte migration inhibition reaction, leukocytes, sensitized to the soluble tissue antigen of the thyroid gland (RTAG thyroid gland) have been identified. It has been shown that the value of the leukocyte migration index (IML) in the presence of thyroid RTAG corresponds to morphological changes in the organ tissue. Conclusion. The authors believe that attention to the humoral factors of immunity in thyroid pathology should not exclude interest in the pathogenetic significance of lymphocytes specifically sensitized to thyroid tissue antigens. According to the authors, IML can be used as a predictor of thyroid pathology.

**Keywords:** thyroid pathology, morphological features, specifically sensitized leukocytes

Статистика Всемирной организации здравоохранения свидетельствует, что среди эндокринных патологий заболевания щитовидной железы занимают второе место после сахарного диабета. Более 665 млн чел. в мире имеют эндемический зоб или страдают другими заболеваниями щитовидной железы, у 1,5 млрд отмечен риск развития йододефицитных заболеваний. При этом ежегодно эта цифра увеличивается на 5%. В связи с этим в 2008 г. по инициативе Европейской тиреологической ассоциации (European Thyroid Association, ETA) был утвержден Всемирный день щитовидной железы (ЩЖ) (World Thyroid Day) [1].

Одним из наиболее известных заболеваний ЩЖ является аутоиммунный тире-

оидит (АИТ) Хашимото, который встречается у 3–4% населения Земли. Но частота клинически выраженных форм заболевания составляет 1% [2].

Известно, что морфологически АИТ Хашимото (АИТХ) характеризуется диффузной лимфоплазмодитарной инфильтрацией стромы железы с образованием лимфоидных фолликулов, последующим разрушением тиреоидных фолликулов и развитием склероза ткани ЩЖ различной степени тяжести [3]. В результате разрушения фолликулов освобождается избыточная информация об их тканевых антигенах. Эта информация инициирует иммунный ответ, результатом которого является в первую очередь формирование пула специфически сенсибилизиро-

ванных лимфоцитов и последующий синтез антител к тканям собственной ЩЖ.

Аутоантитела к тиреоглобулину циркулируют в крови 70–80% пациентов с АИТХ [4], у 30–40% пациентов с диффузным токсическим зобом, 10–15% пациентов с неаутоиммунными заболеваниями щитовидной железы [2, 5].

Наличие аутоантител в первую очередь свидетельствует о срыве толерантности организма к тканевым антигенам собственного органа и формировании «запрещенного» пула лимфоцитов, распознающего аутоантигены [6]. В этой связи не вызывает сомнений наличие в кровотоке больных с тиреоидной патологией не только антитиреоидных антител, но и специфически сенсибилизированных к тканям ЩЖ лимфоцитов.

Однако в доступной литературе практически не рассматривается вопрос об идентификации специфически сенсибилизированных лимфоцитов в периферической крови при тиреоидной патологии, их диагностическом и прогностическом значении.

Целью настоящего исследования являлось определение степени сенсибилизации циркулирующих лейкоцитов к антигенам ЩЖ в контексте морфологической характеристики тиреоидной патологии.

#### Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на базе Научно-исследовательского центра Государственного медицинского университета Туркменистана им. М. Гаррыева и Центрального патологоанатомического бюро (ЦПАБ) г. Ашхабада.

Объектом исследования послужили 130 образцов ткани ЩЖ, полученных при тиреоидэктомии, и 30 образцов ткани ЩЖ практически здоровых лиц (ПЗЛ) обоего пола, погибших от случайных причин. Объектом исследования также служила периферическая кровь 120 больных с патологией ЩЖ и 120 практически здоровых лиц обоего пола в возрасте от 20 до 55 лет (в среднем  $37,8 \pm 5,3$  лет).

Материалом морфологического исследования служила ткань ЩЖ, удаленная во время тиреоидэктомии и присланная из профильных клиник г. Ашхабада в ЦПАБ для морфологической верификации диагноза «АИТ Хашимото». Образцы ткани фиксировали в 10% нейтральном формалине и жидкости Карнуа, традиционным способом готовили парафиновые блоки и препараты толщиной 5–6 мкм. Препараты окрашивали альциановым синим, гематоксилин – эозином, по Фельгену, Браше, ставили PAS-реакцию [7]. При морфометрии использовали окулярную сетку Г.Г. Автандилова [8].

Степень сенсибилизации лейкоцитов периферической крови к антигенам ЩЖ определяли в реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) в модификации [9]. Результаты выражали в виде индекса миграции лейкоцитов (ИМЛ), который вычисляли в процентах от количества клеток, мигрировавших в среду без антигена. ИМЛ определен у 120 ПЗЛ и 60 пациентов с тиреопатологией.

Для приготовления растворимого тканевого антигена (РТАГ) использован гомогенат пяти ЩЖ ПЗЛ обоего пола в возрасте от 20 до 40 лет, погибших от случайных причин. Антигены из гомогенатов ткани ЩЖ извлекали методом водно-солевой экстракции, определяли содержание белка и доводили его концентрацию до 20 мкг/мл [10]. Полученные РТАГ ЩЖ хранили в пробирках MULTIPLEX – ПРЕМИУМ по 1,0 мл при температуре  $-19^\circ\text{C}$ . Размораживали за 1 час до постановки РТМЛ.

Полученные цифровые данные математически обработаны с использованием программы SPSS (Statistics 20 USA).

#### Результаты исследования и их обсуждение

Исследование показало, что в периферической крови ПЗЛ циркулируют лейкоциты, специфически сенсибилизированные к РТАГ ЩЖ. Референсные значения ИМЛ колеблются от 74 до 156%. Величина ИМЛ, полученная на основании статистического и кластерного анализов результатов 120 исследований, составляет  $120,3 \pm 9,3\%$ . Она принята за региональную норму.

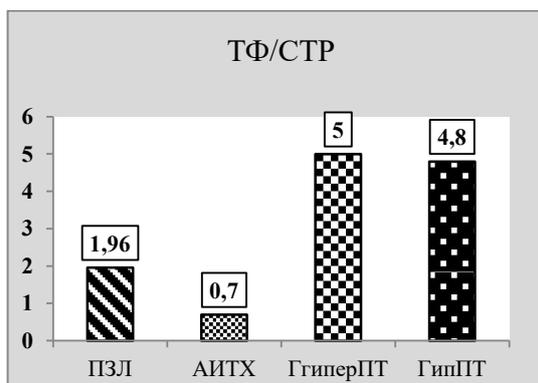
При тиреоидной патологии значения ИМЛ колеблются от 37 до 200%. Величина ИМЛ зависит от вида тиреоидной патологии и ее морфологической картины (таблица). Из таблицы видно, что у больных АИТ Хашимото (АИТХ) ИМЛ в среднем по группе составляет  $65,7 \pm 4,3\%$  ( $p < 0,01$  против уровня контроля).

При этом морфологическая картина характеризуется массивной лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией стромы с образованием лимфоидных фолликулов, местами со светлыми центрами. В очагах лимфо-плазмоцитарной инфильтрации в большом количестве имеются пиронинофильные плазмоциты. На фоне картины микро-макрофолликулярного зоба резко выражено разрушение тиреоидных фолликулов, в большом количестве встречаются поля склероза, разрастание плотных коллагеновых волокон с высоким содержанием кислых мукополисахаридов. При этом площадь стромы резко увеличена против нормы. На диаграмме (рисунок) представлено отношение площади тиреоидных фолликулов к площади стромы в зависимости от тиреопатологии.

Иммуно-морфологические показатели в зависимости от тиреоидной патологии

Тиреоидная патология	ИМЛ (%)	Объёмная плотность лимфоидной инфильтрации (%)	Объёмная плотность, занимаемая тиреоидными фолликулами (%)
Аутоиммунный тиреоидит	65,7±4,3**	61,8 ± 9,7 *	37,2 ± 2,1*
Гиперпластический процесс в фолликулах ЩЖ	168,3±9,6*	16,7 ±3,0** 1:4,9	83,4 ± 8,6*
Гиперпластический процесс с выраженным склерозом и гиалинозом стромы	52,7±4,2**	37,5 ± 2,3* 1:1,16	60,5 ± 7,6
ЩЖ ПЗЛ (контроль)	120,3±9,3	29,6±3,5 1:2	58,3±6,1

Примечание. \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,001.



Отношение площади, занимаемой тиреоидными фолликулами, к площади стромы в зависимости от тиреоидной патологии

Если в ЩЖ ПЗЛ это отношение составляет около 2:1, то при АИТХ – 0,7:1, что свидетельствует о высокой активности процесса лимфоидной инфильтрации фолликулярной ткани ЩЖ с разрушением тиреоидных фолликулов. В этой связи мы допускаем, что низкий ИМЛ у больных с АИТХ связан с уменьшением в циркуляции численности сенсibilизированных лейкоцитов, которые «заняты» атакой на тиреоидные фолликулы. По всей видимости, при АИТХ, чем ниже ИМЛ в присутствии РТАГ ЩЖ, тем более нарушена структура тиреоидных фолликулов и тем более тяжелым является аутоиммунный процесс в ткани железы.

В очагах лимфоидной инфильтрации стромы при тиреопатологии идентифицированы как Т-, так и В-лимфоциты. Т-клетки мигрируют с периферии в щитовидную железу и активно участвуют в процессе деструкции тиреоидных фолликулов [11]. Инфильтрирующие ЩЖ лимфоциты оказывают как прямой цитотоксический эффект по отношению к фолликулярным клеткам, так и косвенный, опосредованный продукцией цитокинов [12]. Фолликуляр-

ные Т-клетки хелперны (Т<sub>h</sub>), участвуют в формировании антиген-специфической популяции В-клеток за счет продукции IL-21 [13]. Известно, что синтез антител начинается в результате трансформации антиген-презентированной субпопуляции В-клеток в плазмочиты, которые впоследствии и синтезируют иммуноглобулины. Таким образом, в патогенезе аутоиммунного поражения ЩЖ в равной степени участвуют как клеточный, так и гуморальный тип иммунного ответа.

Роль аутоантител в патогенезе тиреоидитов чрезвычайно важна, но до конца не определена. Оказалось, что существует склерозирующее аутоиммунное заболевание ЩЖ, связанное с IgG4. При этом в ткани ЩЖ развивается массивная инфильтрация IgG4-позитивными плазматическими клетками. Морфологически наблюдается более высокая степень фиброза и более распространенная дегенерация фолликулярных клеток по сравнению с не-IgG4 тиреоидитом. [5]. Эти находки еще раз подчеркивают недостаточную изученность вопроса о роли аутоантител в патогенезе тиреоидной патологии, несмотря на то, что они присутствуют в сыворотке крови практически у всех больных с тиреоидной патологией и широко используются в диагностике и прогнозировании развития тиреопатологии, особенно в сочетании с измерением уровня ТТГ.

Но еще менее изучена степень участия в патогенезе тиреоидитов специфически сенсibilизированных к антигенам ЩЖ лимфоцитов. В 1997 г. эти исследования были начаты, но реакции клеточного иммунитета в присутствии тиреоидных антигенов трудоемки, поэтому в практической деятельности почти не использовались [14]. В периферической крови больных АИТХ нами выявлены лейкоциты, сенсibilизированные к РТАГ ЩЖ. Это заставило нас рассмотреть в данном контексте другие заболевания ЩЖ.

Так, при микро-макрофолликулярном зобе с выраженным гиперпластическим процессом в ЩЖ (ГиперпТ) выявлен очень высокий ИМЛ, который составляет  $168,3 \pm 9,6\%$  (таблица). Различие достоверно как по отношению к группе ПЗЛ, так и к группе больных АИТХ ( $p < 0,05$  и  $p < 0,001$  соответственно). При этом морфологическая картина ЩЖ характеризуется значительной гиперплазией паренхимы с узлообразованием, пролиферацией эпителия, полями скопления лимфоцитов, плотно прилегающих друг к другу в виде солидных клеточных тяжей, местами напоминающих структуру фолликула. В участках пролиферации в цитоплазме тиреоцитов увеличено количество зерен РНК, в ядрах – зерен ДНК. Одновременно выявлено наличие фолликулов различной величины, заполненных PAS-положительным коллоидом. Местами имеются признаки пролиферации многорядного эпителия с образованием выростов в просвет фолликула, то есть формированием подушечек Сандерсона. Другими словами наблюдаются признаки повышенной пролиферативной активности в участках пролиферации. При этом объемное отношение ТФ/СТР равно 5:1, то есть в 2,6 раза выше по сравнению с группой ПЗЛ и в 7 раз – по сравнению с группой больных АИТХ (таблица). Выброс в кровотоке большого числа сенсibilизированных лейкоцитов, на наш взгляд, свидетельствует о том, что в процессе деструкции ЩЖ при микро-макрофолликулярном зобе не участвуют. В данном случае активирован гуморальный ответ на аутоантигены ЩЖ и в процессах деструкции ткани участвуют специфические аутоантитела.

При микро-макрофолликулярном зобе с очаговой пролиферацией эпителия в виде сосочков, очагового склероза и гиалиноза стромы, атрофией фолликулярного эпителия ИМЛ составляет  $52,7 \pm 4,2$ , что достоверно ниже по сравнению с группой ПЗЛ ( $p < 0,001$ ), но отношение ТФ/СТР почти не отличается от такового в группе лиц с гиперпластическим тиреоидитом и составляет 4,5:1 ( $p > 0,05$ ). ИМЛ в этой группе больных практически не отличается от такового в группе больных с АИТХ (таблица), но объемная площадь тиреоидных фолликулов в 1,6 раза выше, а площадь стромы – в 4,6 раза ниже в сравнении с этой группой. Скорее всего, в данном случае в процессе деструкции ткани ЩЖ участвуют как гуморальный, так и клеточный тип иммунного ответа.

#### Заклучение

Аутоиммунная патология щитовидной железы характеризуется лимфоидной

инфильтрацией стромы, в том числе Т- и В-лимфоцитами [1, 11, 15]. Следовательно, в патогенезе аутоиммунного процесса участвуют как клеточный, так и гуморальный иммунитет. Клеточные механизмы деструкции щитовидной железы в настоящее время привлекают все большее внимание. Показано, что при АИТХ Т-клетки мигрируют с периферии в щитовидную железу и активно участвуют в процессе деструкции тиреоидных фолликулов. Причем дефекты Т-регуляторных клеток и повышенная активация фолликулярных Т-хелперов могут играть роль как в инициации, так и поддержании патологического процесса [15].

Инфильтрирующие ЩЖ лимфоциты могут как оказывать прямой цитопатогенный эффект по отношению к фолликулярным клеткам, так и косвенно влиять на жизне-способность и функцию ЩЖ за счет продукции цитокинов. Кроме того идентифицированы фолликулярные Т-клетки хелперы (Tfh), участвующие в формировании антиген-специфической популяции В-клеток за счет продукции IL-21 в [13]. В результате антигенформированная популяция В-клеток трансформируется в плазмоциты и начинается синтез специфических аутоантител, которые играют ключевую роль в диагностике тиреопатологии и прогнозе исхода специфической терапии.

На наш взгляд, столь пристальное внимание к гуморальным факторам иммунитета при тиреоидной патологии не должно исключать интерес к патогенетическому значению циркулирующих лимфоцитов, специфически сенсibilизированных к тканевым антигенам ЩЖ.

В соответствии с клонально-селекционной теорией Ф.М. Бернета в ответ на повреждение тканей ЩЖ в результате внешних или внутренних (например, генетических) факторов освобождаются аутоантигены, они распознаются Т-хелперами и инициируют иммунный ответ. Из классической иммунологии известно, что любой ответ на антиген формируется по двум основным путям – Th1 и Th2. При активации Th1 пути развивается клеточный тип ответа с последующей активацией Fas-рецепторов на тиреоцитах, что приводит к их апоптозу, гибели тиреоидных фолликулов и развитию аутоиммунного процесса, в данном случае аутоиммунного тиреоидита Хашимото. При активации Th2-пути развивается гуморальный тип иммунного ответа с выработкой аутоантител к TSH-рецепторам тиреоцитов с дальнейшей их блокадой или стимуляцией [16]. Процесс гуморальной стимуляции иммунного ответа на тиреоантигены неизбежно заканчивается развитием либо болезни

Грейвса, либо атрофического тиреоидита. Другими словами, тиреопатология иммунологически многокомпонентна и имеет различные пути активации иммунного ответа на тиреоидные антигены и различные варианты исхода этого ответа.

На наш взгляд, величина ИМЛ в присутствии РТА ГЩ довольно четко манифестирует эти процессы. Низкие значения ИМЛ при АИТХ, скорее всего, связаны с атакой тиреоидных фолликулов сенсibilизированными Т-лимфоцитами и резким снижением их выброса в кровоток. При усиленном гипертрофическом процессе в ткани железы (например, при болезни Грейвса) напротив, скорее всего, активируются В-лимфоциты (то есть иммунный ответ идет по Th2-пути), что приводит к усиленному синтезу антител, занятых в атаке на ткань ЩЖ. Сенсibilизированные лейкоциты устремляются в кровоток, и ИМЛ резко увеличивается. При гиперпластическом тиреоидите с выраженным склерозом и гиалинозом стромы иммунный ответ на антигены ЩЖ развивается одновременно по двум направлениям – Th1 и Th2. При этом наблюдается некоторое повышение процессов пролиферации в фолликулах на фоне гиалиноза стромы и самый низкий ИМЛ, что, на наш взгляд, может быть следствием малигнизации ткани железы или предиктором ее развития.

Таким образом, величина индекса миграции лейкоцитов в присутствии тканевого антигена ЩЖ в значительной степени отражает морфологические изменения в ней и может быть использована в качестве предиктора ее патологии. На наш взгляд, косвенным подтверждением данного допущения является выявленная корреляционная зависимость между эхографической картиной ЩЖ и уровнем анти-ТПО у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом Хашимото [17].

#### Список литературы

1. Won Sang Yoo and Hyun Kyung. Recent Advances in Autoimmune Thyroid Diseases. *Endocrinol Metab* (Seoul). 2016. Vol. (3). No. 31. P. 379–385. DOI: 10.3803/EnM.2016.31.3.379.
2. Gerenova J.B., Manolova I.M., Tzoneva V.I. Clinical significance of autoantibodies to parietal cells in patients with autoimmune thyroid diseases // *Folia Med* (Plovdiv). 2013. Vol. 55. P. 26–32.
3. Боташева В.С., Калоева А.А., Эркенова Л.Д. Характер морфологических изменений при эндемическом зобе // *Фундаментальные исследования*. 2015. № 1. Vol. 1. С. 36–40. URL: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=36761> (дата обращения: 25.08.2022).
4. Шагалова Н.Я. Особенности патогенеза аутоиммунных тиреопатий // *Современные проблемы науки и образования*. 2017. № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26124> (дата обращения: 24.08.2022).
5. Hiromatsu Y., Satoh H., Amino N. Hashimoto's thyroiditis: history and future outlook. *Hormones* (Athens) 2013. No. 12. P. 12–18.
6. Физиология иммунной системы: монография. Курган: Изд-во Курганского государственного университета, 2015. 150 с.
7. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. Руководство. СПб.: СОТИС, 2017. URL: <http://szgmu.ru/upload/files/ДПО> (дата обращения: 25.08.2022).
8. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: учеб. пособие. Медицина, 2002. 240 с.
9. Плескановская С.А. Клеточный и гуморальный иммунный ответ при кожном лейшманиозе (экспериментальные исследования и наблюдения на больных): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 1982. 20 с.
10. Фримель Г. Иммунологические методы. М.: Наука, 1987. 397 с.
11. Beń-Skowronek I., Szewczyk L., Kulik-Rechberger B., Korobowicz E. The differences in T and B cell subsets in thyroid of children with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *World Journal of Pediatrics*. 2013. No. 9. Vol. 3. P. 245–250. DOI: 10.1007/s12519-013-0398-0.
12. Juan-Sebastián Franco, Jenny Amaya-Amaya, and Juan-Manuel Anaya. Thyroid disease and autoimmune // *Autoimmunity: From Bench to Bedside* [Internet]. Chapter 30 Autoimmunity Bogota (Colombia): El Rosario University Press; 2013 Jul 18.
13. Dong Y.H., Fu D.-G. Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2014. No. 18. P. 3611–3618.
14. Петунина Н.А., Герасимов Г.А. Аутоиммунный тиреоидит: современные представления об этиологии, патогенезе, диагностике и лечении (лекция) // *Проблемы эндокринологии* 1997. № 4. Т. 43. DOI: 10.14341/prob199743430-33.
15. Ajjan R.A., Weetman A.P. The Pathogenesis of Hashimoto's Thyroiditis. *Horm. Metab. Res* 2015. № 47. P. 702–710.
16. Terry F. Davies and Rauf Latif TSH Receptor and Autoimmunity. *Front. Endocrinol*, 30 January 2019. DOI: 10.3389/fendo.2019.00019.
17. Aleksandra Pyzik, Ewelina Grywalska, Beata Matyjaszek-Matuszek, I and Jacek Roliński Immune Disorders in Hashimoto's Thyroiditis: What Do We Know So Far? *J Immunol Res*. 2015. 2015:979167. Published online 2015 Apr 27. DOI: 10.1155/2015/979167PMCID.