

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ ЛЕВОТИРОКСИНОМ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ГОРМОНАЛЬНОГО И ИММУННОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С СУБКЛИНИЧЕСКИМ И МАНИФЕСТНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ

Сарвилина И.В., Шин Е.Ф., Горшкова Ю.В.

Лаборатория информации и стандартизации в области лекарственных технологий,

Междисциплинарная аналитическая лаборатория Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону

Резюме. Целью исследования явилась комплексная оценка и анализ состояния гормонального и иммунного профиля у пациентов с субклиническим и манифестным гипотиреозом с учетом данных терапевтического лекарственного мониторинга для оптимизации лечения левотироксином. В исследование включено 40 пациентов с гипотиреозом: I группа – пациенты с субклиническим гипотиреозом (n=19) с уровнем ТСГ >700 нмоль/л, принимавшие левотироксин в дозе 50 мкг в сутки после периода отсутствия лекарственного влияния в течение 10 дней; II группа – пациенты с манифестным гипотиреозом (n=21), принимавшие левотироксин в дозе 100 мкг в сутки. Обнаружен достоверный регресс клинической симптоматики гипотиреоза в обеих группах через 3 месяца приема оптимизированного режима дозирования левотироксина. Показано наличие иммуно-эндокринной составляющей в механизме действия левотироксина, которая способствует возникновению максимального эффекта гормона в отношении улучшения качества жизни у пациентов с гипотиреозом при оптимизации терапии на основе терапевтического лекарственного мониторинга с помощью ВЭЖХ/МС-анализа.

Ключевые слова: терапия, гипотиреоз, левотироксин, фармакокинетика, дозирование.

Sarvilina I.V., Shin E.F., Gorshkova Yu.V.

OPTIMIZATION OF LEVOTHYROXINE THERAPY BASED UPON COMPLEX EVALUATION OF HORMONAL AND IMMUNE STATUS IN THE PATIENTS WITH SUB-CLINICAL AND MANIFESTING HYPOTHYREOSIS

Abstract. The aim of present study was complex evaluation and analysis of hormone and immune profiles in the patients with subclinical and manifesting thyroid hypofunction, taking into account a therapeutic drug monitoring for optimization of levothyroxine treatment. Forty patients with thyroid hypofunction are included into the study: I group, patients with subclinical hypothyreosis (n=19) and the levels of thyroxine-binding globuline exceeding 700 nmol/l, who received levothyroxine at 50 µg daily after withdrawal of drugs for 10 days; II group, the patients with manifesting hypothyreosis (n=21), who received levothyroxine at 100 µg daily. A significant regress of clinical signs of hypothyreosis was registered in both groups following 3 months of receiving levothyroxine, employing an optimized mode of dosage. An immune/endocrine component is shown for the mechanism of levothyroxine action, which promotes the development of maximal hormonal effect, with respect to improvement of life quality in the patients with hypothyreosis upon optimization of therapy based on the therapeutic drug monitoring using liquid chromatography/mass-spectrometry. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 5-6, pp 697-706)

Адрес для переписки:

Сарвилина Ирина Владиславовна,
344022, г.Ростов-на-Дону, ул.Горького 186, кв.55.
Тел.: 8(863) 250-98-12.
E-mail: isarvilina@mail.ru

Введение

Сегодня среди проблем тиреодологии особую актуальность приобретает гипотиреоз. По данным зарубежных исследований, общая распространенность манифестного гипотиреоза (МГ) в популяции со-

ставляет 0,2 – 2%, субклинического гипотиреоза (СГ) – 7 – 10% среди женщин и 2 – 3% среди мужчин [3, 4]. В настоящее время не существует научно обоснованных клинических рекомендаций, касающихся методов лекарственной профилактики аутоиммунного тиреоидита (АИТ), являющегося основной причиной гипотиреоза, за исключением заместительной терапии уже развившегося гипотиреоза [1]. При этом эффективная лекарственная профилактика острого АИТ заключается в снижении титра аутоантител (аутоАт) и быстром подавлении воспалительной активности. При хроническом АИТ необходимо предотвратить дальнейшее образование клеточных клонов, новое производство аутоАт, высвобождение медиаторов воспаления [13].

Мнение о том, что большинству пациентов с СГ необходимо назначать левотироксин, сегодня является достаточно спорным [2]. В настоящее время выполнено несколько небольших по численности респондентов рандомизированных плацебо-контролируемых исследований, в ходе которых было выявлено, что терапия левотироксином может уменьшать клинические проявления СГ [14,15]. При этом существует много плацебо-контролируемых рандомизированных исследований, не выявивших уменьшения проявления симптомов СГ на фоне приема левотироксина [7]. Важными являются немногочисленные исследования, показавшие необходимость назначения левотироксина пациентам с СГ, у которых уровень концентрации тироксин-связывающего глобулина (ТСГ) в сыворотке крови превышает 10мЕд/л [6, 17].

Назначение левотироксина пациентам с МГ не подвергается сомнению. Целью лечения МГ является стойкое поддержание в организме уровня тиреоидных гормонов, соответствующего физиологическим потребностям: тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3). Эта рекомендация базируется на том факте, что у подавляющего большинства людей уровень ТТГ в норме составляет 0,5-1,5 мМЕ/л [8]. В медицинской литературе значение различных групп антител (Ат) в возникновении гипотиреоза убедительно доказано. Однако до сих пор отсутствует оценка влияния левотироксина на молекулярные звенья, лежащие в основе аутоиммунного процесса.

В связи с этим целью настоящего исследования явилась комплексная оценка и анализ состояния гормонального и иммунного профиля у пациентов с СГ и МГ с учетом данных терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) для оптимизации лечения левотироксином.

Материалы и методы

В исследование включено 40 пациентов с гипотиреозом, составивших две клинические группы:

I группа – пациенты с СГ (n=19, средний возраст $51\pm0,6$ лет, соотношение мужчин и женщин 1:5) с уровнем $ТСГ>700$ нмоль/л, принимавшие левотироксин (Berlin-Chemie, Германия) в среднесуточной дозе 50 мкг после периода отсутствия лекарственного влияния в течение 10 дней; II группа – пациенты с МГ (n=21, средний возраст $52\pm1,7$ лет, соотношение мужчин и женщин 1:5), принимавшие левотироксин в среднесуточной дозе 100 мкг. Левотироксин натрия относится к группе лекарственных средств, восполняющих дефицит гормонов щитовидной железы. После частичного превращения в лиотиронин в печени и почках и перехода в клетки организма препарат оказывает влияние на развитие и рост тканей, на обмен веществ, повышает потребность тканей в кислороде, угнетает выработку тиреотропин-рилизинг гормона гипоталамуса и ТТГ. Последний факт может рассматриваться как звено нейроиммуноэндокринных сетевых взаимодействий в организме пациента. Коррекция режима дозирования проводилась на основе ТЛМ, который проводился по показанию - узкий терапевтический диапазон левотироксина. Контрольную группу (n=14, средний возраст $55\pm1,5$ лет, соотношение мужчин и женщин 1:5) составили здоровые лица. Наблюдение за пациентами, мониторинг и оценка данных исследования проводились в «нулевой» точке исследования, через 1 месяц исследования и через 3 месяца исследования. Качество жизни (КЖ) и клиническая симптоматика в исследуемых группах оценивались по шкале Zulewski-Bulewicz [18].

Оценка содержания ТТГ, T_4 , T_3 , ТСГ, концентрации левотироксина

Всем пациентам проводилось исследование содержания ТТГ, T_4 , T_3 и ТСГ в крови, а также концентрации левотироксина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС-анализа) (SURVEYOR LC/SURVEYOR MSQ, «Thermo Finnigan»). Моменты взятия крови у пациентов определялись в соответствии со стратегией «пик-спад»: непосредственно перед очередным введением (минимум) и в момент предполагаемого максимума концентрации препарата в крови (T_{max}). В программе ADAPT II рассчитывались индивидуальные значения оптимальных моментов последующих измерений концентрации левотироксина в крови в популяции.

Подготовка образца крови для определения содержания ТТГ, T_4 , T_3

Образцы сывороток крови пациентов собирались в течение 2 недель и хранились при темпе-

ратуре -20°C . В исследовании использовался внутренний стандарт тироксина L-thyroxine- d_5 (Sigma-Algrich, США). Использовалась хроматографическая колонка Hypersil BDS-C18 (3 мкм, 50x4,6 мм). В каждый образец объемом 3,0 мл был добавлен L-thyroxine- d_5 (1:1) в микропробирку, содержащую 5 мг диодитиозина, доводя раствор до pH 2 с помощью 1 моль/л HCl. Выдерживали полученную смесь при температуре 37°C в течение 2 часов. Для депротенизации добавляли 5 мл 150 г/л трихлоруксусной кислоты, выдерживали в ледяной бане 30 минут. Т₄ был извлечен из образца добавлением 5 мл этилацетата и обработкой на вибромиксере в течение 10 минут, центрифугирование 2000 об/мин, 10 минут. Отбирали верхний этилацетатный слой дважды в микропробирку, содержащую 5 мг диодитиозина. Экстракт был упарен в токе азота при 40°C до 0,5 мл, к которому добавлен 1 мл метанола и 4 мл 0,01 моль/л хлорной кислоты. Поддержание pH $1,5 \pm 0,5$ моль/л KOH. Условия LC/MS-анализа. Электроспрейная ионизация (ESI), скорость потока через колонку 0,3 мл/мин, температура генератора азота 3500C со скоростью потока азота 12 л/мин, давление распылителя 172 кПа, хроматографическая колонка Hypersil Amino Acid (5 мм, 250x4,6 мм), подвижные фазы для положительных ионов – 1 мл/л уксусной кислоты в ацетонитриле:воде (32:68), для отрицательных ионов-2 мл/л гидроокиси аммония в метаноле:воде (Sigma Aldrich, США) (32:68 от объема соответственно).

Подготовка образца для определения левотироксина в крови

К 1 мл сыворотки крови добавляли 5М NaOH, встряхивали 2 минуты на вибромиксере, добавляли 1 мл этилацетата, раствор центрифугировали 15 минут, 5000 об/мин. Применялись калибровочные растворы с концентрациями левотироксина 2,5 мкг/мл, 5 мкг/мл. Условия LC/MS-анализа. ESI, температура ионного источника 100°C ; хроматографическая колонка Hypersil Amino Acid (5 мм, 250x4,6 мм); подвижные фазы – вода/ацетонитрил/трифторуксусная кислота (600:400:4,5 от объема) (Sigma Aldrich, США), скорость подачи образца 1 мл/мин, температура 20°C .

Оценка иммунного статуса пациентов

Оценка иммунного статуса пациентов включала определение дифференцировочных антигенов Т- и В-лимфоцитов, уровня IgG, IgA, IgM, содержания цитокинов TNF- α , IL-1 в сыворотке крови. Для определения дифференцировочных антигенов

Т- и В-лимфоцитов применялся метод иммунофлуоресценции с использованием моноклональных Ат на проточном цитофлуориметре «Coulter Epics» фирмы «Beckman Coulter» (США). Определение IgG, IgA и IgM проводилось методом радиальной иммунодиффузии по Mancini et al. Для определения содержания цитокинов - TNF- α , IL-1 в сыворотке крови использовали иммуноферментные тест-системы производства ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург, Россия).

Оценка спектра аутоАТ к щитовидной железе и уровня ТСГ

Оценка уровня Ат к тиреоглобулину (ТГ) и к тиреопероксидазе (ТПО), а также концентрации тироксин-связывающего глобулина (ТСГ) реализована на биохимическом анализаторе BioStatFax+(США).

Статистическая обработка результатов

Статистический анализ результатов исследования проводился на основе программы Statistica 6.0 с расчетом выборочного среднего (М), стандартной ошибки среднего (SEM). Оценка нормальности распределения включала критерий Колмогорова-Смирнова. Сравнение двух независимых выборок выполнено с помощью непарного критерия Стьюдента и критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты

Обнаружен достоверный регресс клинической симптоматики гипотиреоза в I и II исследуемых группах пациентов через 3 месяца приема нового режима дозирования левотироксина, оптимизированного на основе результатов биоаналитических методов исследования (рис.1).

Анализ фармакокинетики левотироксина у пациентов с СГ через месяц после приема препарата позволил обнаружить максимальную концентрацию (С_{max}) препарата в крови через 4,4 часа после приема, соответствующую аналогичному показателю в контрольной группе (табл.1).

Значения показателя площади под кривой «концентрация-время» (AUC_{0-24}) для левотироксина в этой группе не отличались от значений аналогичного показателя в контрольной группе. В группе пациентов с МГ в первой точке исследования фармакокинетических параметров обнаружено достоверное снижение С_{max} левотироксина в крови и значения площади под кривой «концентрация-время» (AUC_{0-24}) по сравнению с лицами контрольной группы. Значительно увеличивалось время достижения максимальной концентрации (Т_{max}) препа-

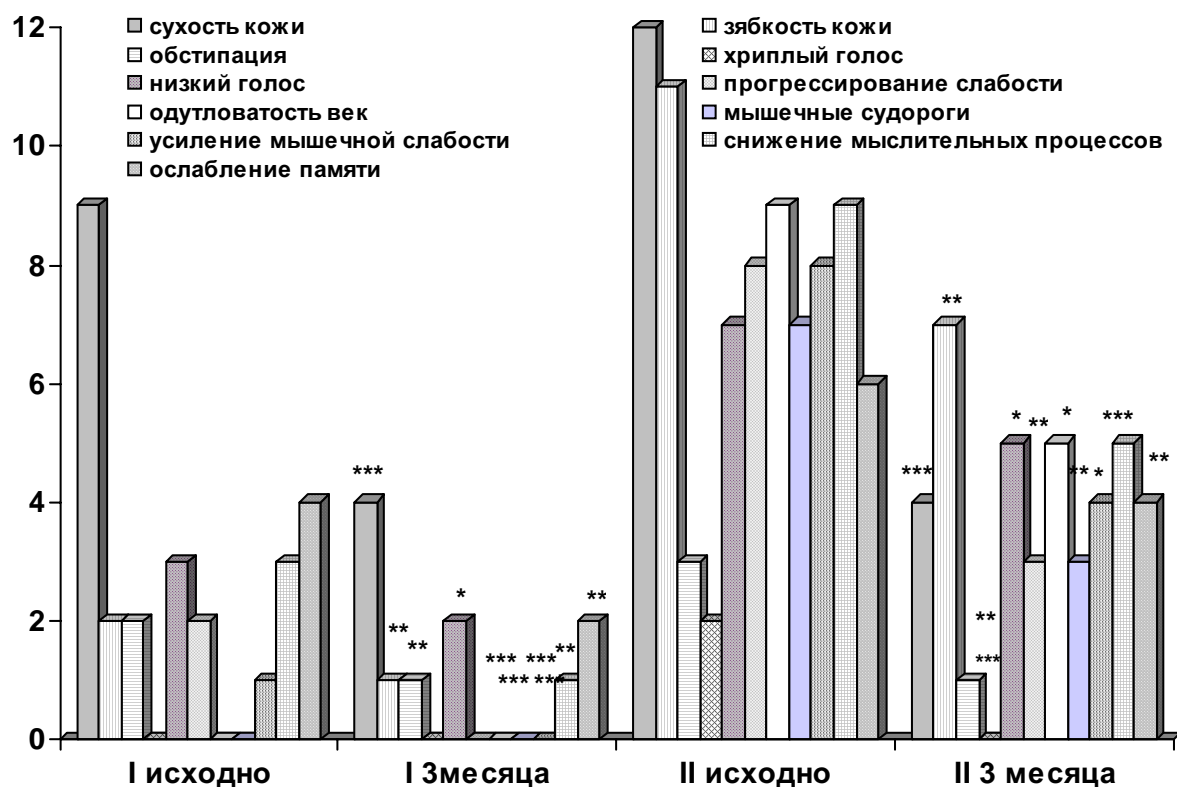


Рис. 1. Динамика клинических симптомов гипотиреоза в исследуемых группах пациентов на фоне приема левотироксина.

Примечание. Достоверность различий * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Табл. 1. ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЛЕВОТИРОКСИНА У ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

Параметр	Контрольная группа (n=14) M±SEM	СГ (n=19)		МГ (n=21)	
		через месяц M±SEM	через 3 месяца M±SEM	через месяц M±SEM	через 3 месяца M±SEM
Положительные ионы: концентрация L-тироксина, мкг/мл	7,7±0,6	7,8±0,6 1) 2)	7,7±0,4 1) 2) 3) 4)	4,9±0,5 1) ** 2)	7,6±0,7 1) 2) 3) ** 4) **
Отрицательные ионы: концентрация тироксина, мкг/мл	7,9±0,7	8,1±0,6 1) 2)	8,0±0,3 1) 2) 3) 4)	5,4±0,6 1) * 2)	8,0±0,7 1) 2) 3) ** 4) **
Максимальная концентрация левотироксина, C _{max} , мкг/мл	7,8±0,9	7,9±0,9 1) 2)	7,8±0,7 1) 2) 3) 4)	5,2±0,9 1) ** 2) **	7,8±0,9 1) 2) 3) ** 4) **
Время достижения максимальной концентрации левотироксина в крови, T _{max} , ч	4,5±0,4	4,4±0,4 1) 2)	4,5±0,5 1) 2) 3) 4)	6,1±0,7 1) ** 2) **	4,9±0,8 1) 2) 3) ** 4) **
T ₄ , AUC ₀₋₂₄	174,8±4,6	173,7±5,2 1) 2)	174,2±4,8 1) 2) 3) 4)	158,9±4,8 1) *** 2) ***	171,4±5,7 1) 2) 3) *** 4) ***

Примечания. 1) 2) различия по t-критерию Стьюдента и в тесте Манна-Уитни между группами пациентов контрольная/СГ, контрольная/МГ, контрольная/IIb. 3) 4) различия по t-критерию Стьюдента и в тесте Манна-Уитни в группе пациентов с МГ через месяц лечения/через 3 месяца лечения. - нет различий; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Табл. 2. ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ТСГ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЛЕВОТИРОКСИНОМ

Параметр	Контрольная группа (n=14) M±SEM	СГ (n=19)		МГ (n=21)	
		Исходно M±SEM	через 3 месяца M±SEM	Исходно M±SEM	Через 3 месяца M±SEM
Концентрация Т ₄ , мкг/л	116,7±2,5	115,8±2,3 1) 2) \	116,4±2,2 1) 2) \ 3) 4) \	69,7±1,0 1)***2)***	83,3±2,3 1)***2)*** 3)**4)**
Концентрация ТТГ, мг/л	0,15±0,001	1,7±0,001 1)**2)**	1,2±0,02 1)**2)* 3)***4)***	1,6±0,01 1)***2)***	1,1±0,02 1)***2)*** 3)**4)**
Концентрация ТСГ, нмоль/л	524,1±15,1	729,9±17,4 1)***2)***	574,4±12,5 1)*2)* 3)***4)***	738,7±13,2 1)***2)***	518,7±10,7 1)**2)** 3)***4)***
Концентрация Т ₃ , мкг/л	38,7±0,9	37,9±1,2 1) 2) \	41,0±1,1 1) 2) \ 3) 4) \	18,5±0,7 1)**2)**	32,4±1,1 1)**2)** 3)***4)***

Примечания. 1)2)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами исходно СГ/контрольная, исходно МГ/контрольная, СГ ч/3 месяца/контрольная, МГ ч/3 месяца/контрольная; 3)4)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами СГ ч/3 месяца/исходно, МГ ч/3 месяца /исходно.

Табл. 3. ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ У ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЛЕВОТИРОКСИНОМ

Параметр	Контрольная группа (n=14) M±SEM	СГ (n=19)		МГ (n=21)	
		Исходно M±SEM	через 3 месяца M±SEM	Исходно M±SEM	через 3 месяца M±SEM
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	4,86±0,05	4,71±0,06 1) 2) \	4,8±0,07 1) 2) \ 3) 4) \	4,2±0,04 1)**2)**	4,6±0,07 1)*2)* 3)***4)***
CD3 ⁺ , %	1,37±0,004	0,85±0,004 1)*2)*	1,15±0,01 1)**2)** 3)**4)**	0,85±0,002 1)*2)*	1,21±0,003 1)*2)* 3)***4)***
CD4 ⁺ , %	0,93±0,001	0,78±0,002 1)**2)**	0,86±0,004 1)**2)** 3)***4)***	0,79±0,002 1)**2)**	0,91±0,004 1)**2)** 3)***4)***
CD8 ⁺ , %	0,56±0,002	0,23±0,001 1)**2)**	0,42±0,002 1)*2)* 3)**4)**	0,23±0,0003 1)**2)**	0,48±0,002 1)**2)** 3)**4)**
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,56±0,01	3,06±0,02 1)**2)**	2,35±0,02 1)**2)** 3)*4)*	3,09±0,07 1)**2)**	1,75±0,02 1)*2)* 3)***4)***
CD16 ⁺ , %	13,27±0,9	9,49±0,2 1)***2)***	12,43±1,2 1) 2) \ 3)**4)**	10,05±0,2 1)**2)**	12,2±0,9 1)*2)* 3)*4)*
CD25 ⁺ , %	30,4±0,8	9,3±0,1 1)***2)***	28,1±2,4 1)*2)* 3)***4)***	8,9±0,1 1)***2)***	26,4±1,9 1)**2)** 3)***4)***
CD72 ⁺ , %	0,4±0,001	0,5±0,003 1)*2)*	0,5±0,001 1)**2)** 3)***4)***	0,6±0,002 1)**2)**	0,4±0,001 1)**2)** 3)***4)***
CD95 ⁺ , %	0,6±0,001	1,03±0,004 1)**2)**	6,8±0,003 1)***2)*** 3)***4)***	1,1±0,01 1)*2)*	0,6±0,001 1) 2) \ 3)***4)***

Примечания. 1)2)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами исходно СГ/контрольная, исходно МГ/контрольная, СГ ч/3 месяца/контрольная, МГ ч/3 месяца/контрольная; 3)4)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами СГ ч/3 месяца/исходно, МГ ч/3 месяца /исходно

рата в крови пациентов этой группы. Проведение ТЛМ и повторный анализ фармакокинетических показателей левотироксина в группе пациентов с СГ показал отсутствие достоверных различий со значениями аналогичных параметров в контрольной группе лиц. При этом не проводилось коррекции дозы левотироксина (среднесуточная доза составила 50 мкг).

Выполнение ТЛМ у пациентов с МГ через 3 месяца приема новой дозы левотироксина способствовало значимому увеличению C_{\max} левотироксина в крови с достоверным уменьшением T_{\max} по сравнению с аналогичными показателями, полученными в этой группе через месяц терапии. Отмечено достоверное увеличение значения AUC_{0-24} в этой группе пациентов. Проведение ТЛМ у пациентов с МГ способствовало увеличению и уменьшению дозы левотироксина в среднем на 20 мкг (9 и 3 человека соответственно). Тактика проведения ТЛМ у пациентов с СГ и МГ по стратегии «пик-спад» заключалась в следующем: 1 точка – всем пациентам перед принятием дозы; 2 точка – через 4,5 ч (пациентам с СГ) и 6 ч (пациентам с МГ) после приема левотироксина; 3 точка – через 9 ч (пациентам с СГ) и 11 ч (пациентам с МГ) после приема левотироксина.

Анализ результатов LC/MS-исследования T_4 в состоянии покоя в утреннее время суток в контрольной группе пациентов выявил, что уровень тироксина соответствовал диапазону показателей здоровых лиц.

Статистический анализ исходного содержания тиреоидных гормонов и ТСГ в сыворотке крови показал значимое увеличение средних значений концентрации ТСГ, ТТГ в I группе пациентов с СГ, однако среднее значение концентраций T_4 и T_3 не претерпевали существенных изменений по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы. Через 3 месяца приема левотироксина у пациентов с СГ наблюдалось достоверное снижение ТТГ и ТСГ при отсутствии существенных изменений со стороны T_3 и T_4 в крови по сравнению с исходными показателями (табл. 2).

Сравнительный анализ содержания тиреоидных гормонов и ТСГ в сыворотке крови в нулевой точке исследования показал достоверное снижение T_4 и T_3 при значимом увеличении ТТГ и ТСГ в группе пациентов с МГ по сравнению со значениями аналогичных показателей контрольной группы. На фоне оптимизации терапии левотироксином в группе пациентов с МГ зарегистрировано статистически значимое увеличение T_4 и T_3 при достоверном снижении ТТГ и ТСГ по сравнению со значениями аналогичных показателей в начале исследования. Однако полученные результаты не соответствовали значениям аналогичных показателей в контрольной группе (табл.2).

При оценке иммунного статуса в группе пациентов с СГ до проведения лечения левотироксином отмечены тенденция к снижению лейкоцитов, достоверное уменьшение $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$, $CD16^+$, $CD25^+$ при статистически зна-

Табл. 4. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И АНТИТЕЛ К ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЛЕВОТИРОКСИНОМ

Параметр	Контрольная группа (n=14) M±SEM	СГ (n=19)		МГ (n=21)	
		Исходно M±SEM	через 3 месяца M±SEM	Исходно M±SEM	через 3 месяца M±SEM
Ig A, г/л	1,9±0,001	1,8±0,001 1)*2)*	1,9±0,003 1)*2)*3)*4)*	1,8±0,001 1)*2)*	1,9±0,001 1)*2)*3)*4)*
Ig M, г/л	1,1±0,001	1,8±0,004 1)**2)**	1,2±0,001 1)*2)* 3)**4)**	1,8±0,001 1)**2)**	1,1±0,001 1)*2)* 3)**4)**
Ig G, г/л	11,8±0,1	13,9±0,2 1)**2)**	11,7±0,1 1)*2)* 3)**4)**	15,7±0,2 1)**2)**	11,6±0,1 1)*2)* 3)**4)**
Ат к ТГ, МЕ/мл	2,1±0,5	31,2±3,7 1)*** 2)***	18,4±3,2 1)***2)*** 3)***4)***	62,7±3,8 1)*** 2)***	54,3±3,5 1)***2)*** 3)***4)***
Ат к ТПО, МЕ/мл	1,7±0,3	28,4±4,2 1)*** 2)***	11,3±2,5 1)***2)*** 3)***4)***	84,3±5,1 1)*** 2)***	75,8±4,9 1)***2)*** 1)*2)*

Примечания. 1)2)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами исходно СГ/контрольная, исходно МГ/контрольная, СГ ч/3 месяца/контрольная, МГ ч/3 месяца/контрольная; 3)4)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами СГ ч/3 месяца/исходно, МГ ч/3 месяца /исходно.

чимом увеличении CD72⁺, апоптотического CD95⁺ (табл. 3).

Одновременно обнаружено достоверное уменьшение Ig A при статистически значимом увеличении Ig M, Ig G и провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1 (табл. 4, 5).

Оптимизация лечения левотироксином в данной группе пациентов способствовала достоверному увеличению CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD16⁺, CD25⁺, IgA и снижению CD72⁺, апоптотического CD95⁺, Ig M, Ig G, провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1 при отсутствии изменений со стороны количества лейкоцитов.

Исходно в группе пациентов с МГ на фоне приема левотироксина обнаружено достоверное уменьшение количества лейкоцитов, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD16⁺, CD25⁺ и увеличение CD72⁺, апоптотического CD95⁺ по сравнению с контрольной группой лиц (таблица 3). Параллельно выявлено достоверное уменьшение Ig A при значимом увеличении Ig M, Ig G и провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1 (табл. 4, 5). Оптимизация лечения левотироксином в данной группе пациентов способствовала достоверному увеличению CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD16⁺, CD25⁺, IgA и снижению CD72⁺, апоптотического CD95⁺, Ig M, Ig G, провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1 при отсутствии изменений со стороны количества лейкоцитов. Необходимо отметить, что в обеих исследуемых группах пациентов в «нулевой точке» исследования обнаружено повышенное содержание Ат к ТГ и Ат к ТПО (таблица 4). Оптимизация режима дозирования левотироксина сопровождалась достоверным уменьшением Ат к ТГ и Ат к ТПО в обеих исследуемых группах пациентов, что косвенно может свидетельствовать о влиянии индивидуальных доз левотироксина на

выраженность аутоиммунного процесса в ткани щитовидной железы (ЩЖ).

Таким образом, в ходе настоящего исследования показано наличие иммуно-эндокринной составляющей в механизме действия левотироксина, которая способствует возникновению максимального эффекта гормона в отношении улучшения КЖ у пациентов с СГ и МГ в условиях оптимизации терапии на основе ТЛМ с помощью ВЭЖХ/МС-анализа.

Обсуждение

Полученные нами результаты обнаружили факт наличия иммунодепрессивного эффекта у левотироксина при назначении его пациентам с СГ и МГ. Механизм иммунодепрессивного эффекта левотироксина может быть связан со следующими ключевыми звеньями. Подавление уровня ТТГ, зарегистрированное при приеме левотироксина пациентами с СГ, МГ, у которых были обнаружены циркулирующие Ат к ТПО и Ат к ТГ, вероятно, уменьшало презентацию Ag клетками ЩЖ и, таким образом, блокировало Т-клеточную аутоиммунную агрессию. Уменьшение деструкции тиреоцитов Т-клетками сопровождалось достоверным уменьшением уровня антитиреоидных антител (Ат к ТГ и Ат к ТПО). Например, уменьшение уровня поверхностно-клеточного антигена ТПО отражает уменьшение активности процесса комплемент-зависимой цитотоксичности [9]. По данным многих авторов известно, что иммуногенные свойства у ТПО оказываются значительно меньше, чем у ТГ, однако Ат против ТПО при аутоиммунных заболеваниях ЩЖ встречаются чаще, чем Ат к ТГ и являются их более чувствительным маркером [5,10,16]. Необходи-

Табл. 5. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЛЕВОТИРОКСИНОМ

Параметр	Контрольная группа (n=14) M±SEM	СГ (n=19)		МГ (n=21)	
		Исходно M±SEM	через 3 месяца M±SEM	Исходно M±SEM	через 3 месяца M±SEM
TNF-α, нг/мл	103,2±1,1	129,9±3,3 1)**2)** 3)***4)***	109,7±4,7 1)**2)** 3)***4)***	127,4±3,3 1)**2)**	109,7±3,4 1)**2)** 3)***4)***
IL-1, нг/мл	32,8±0,2	40,2±0,4 1)**2)**	37,2±0,4 1)**2)** 3)***4)***	41,2±0,4 1)**2)**	33,9±0,2 1)**2)* 3)***4)***

Примечания. 1)2)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами исходно СГ/контрольная, исходно МГ/контрольная, СГ ч/3 месяца/контрольная, МГ ч/3 месяца/контрольная; 3)4)-различия по t-критерию Стьюдента и тесту Манна-Уитни между группами СГ ч/3 месяца/исходно, МГ ч/3 месяца /исходно.

димо обратить внимание, что в группе пациентов с СГ статистически достоверные изменения уровня Ат к ТГ и Ат к ТПО происходило в пределах нормальных значений, что, вероятно, доказывает существование субпороговых концентраций Ат, которые при достижении срыва адаптации в условиях формирующегося аутоиммунного процесса становятся патологическими.

На фоне приема левотироксина, вероятно, снижается активность процесса узнавания рецепторами Т-хелперов чужеродного Аг, ассоциированного с презентующей клеткой HLA-II с последующим снижением активации Т-лимфоцита, которая, как известно, складывается из следующих процессов: активации тирозинкиназы, стимулирующей активности фосфолипазы С, гидролиза мембранных фосфолипидов с образованием диацилглицерола и инозитол-3-фосфата. В результате уменьшается откачивание Ca^{2+} из его клеточного депо (из митохондрий и гладкого эндоплазматического ретикула), который, взаимодействуя с кальмодулином, активирует фермент протеинкиназу С. Уменьшается активация С-киназой транскрипционного фактора гена, кодирующего синтез IL-2, который выполняет функцию фактора роста в иммунной системе. Устранение дисбаланса между Th1 и Th2 на фоне приема ин-

дивидуально подобранной дозы левотироксина уменьшает пролиферацию хелперных Т-лимфоцитов, в результате чего аутореактивный иммунный ответ снижается. Кроме того, происходит уменьшение пролиферации другого пула Т-лимфоцитов – цитотоксических, которые способны узнавать чужеродный антиген, ассоциированный с HLA-I на поверхности тиреоцитов. В результате уменьшения активации цитотоксических Т-лимфоцитов подавляется выделение перфорина и снижается пористость структуры мембраны тиреоцитов. Последние события уменьшают вход в клетки ионов Ca^{2+} и Na^{+} , связывание ими воды и набухание митохондрий. В результате сохраняется клеточная энергетика в митохондриях, сохраняется клеточная осмолярность и клетки не гибнут путем гидропического перерождения. Эффективное уменьшение экспрессии CD95⁺ на фоне приема левотироксина может свидетельствовать о том, что часть тиреоцитов не гибнет путем апоптоза, когда через пористую мембрану в клетки проникают гранзимы, выделяемые активированными цитотоксическими Т-лимфоцитами.

При исследовании динамики спектра иммуноглобулинов в крови пациентов с СГ и МГ зарегистрировано достоверное снижение уровня IgG на фоне приема левотироксина. Этот факт требует



Рис. 2. Алгоритм ведения пациентов с субклиническим гипотиреозом

дальнейших детальных исследований изотипического спектра аутоАт, так как установлено, что аутоАт к ТПО и к ТГ представлены всеми изотипами IgG₁, G₄, Ат к ТГ- к IgG₂, G₄. При этом отличия в распределении подклассов Ат к ТПО и ТГ могут ассоциироваться с их разной патологической значимостью [11,12].

В конечном итоге происходит нормализация уровня гормонов ЩЖ в группе пациентов с МГ при сохранении их концентрации на уровне здоровых лиц в группе пациентов с СГ. Еще одним косвенным свидетельством, отражающим эффективное уменьшение активности аутоиммунного процесса при коррекции дозы левотироксина с помощью ВЭЖХ/МС, является статистически значимое уменьшение уровня TNF-α и IL-1 с возможным устранением дисбаланса между Th1 и Th2.

Важным заключением является то, что на терапию левотироксином хорошо отвечают пациенты с СГ, у которых концентрация ТСГ в сыворотке крови превышает 700 нмоль/л. Левотироксин - это препарат выбора для пациентов с МГ, где он назначается в среднесуточной дозе от 75 до 125 мг, или от 50 до 100 мг у пожилых лиц, или около 1,6 мг/кг в день. Пациенты с СГ, имеющие минимальные проявления гормональной недостаточности, могут принимать левотироксин в среднесуточной дозе 25-50 мг. Начальная доза левотироксина назначается под контролем уровня ТТГ в течение 6-8 недель. Основной целью лечения является достижение нормальных значений уровня ТТГ. Доза левотироксина может быть увеличена при повышении показателя ТТГ в крови на фоне проводимого лечения или снижена при уменьшении этого параметра ниже предельно допустимых значений. После установки корректной дозы левотироксина с помощью ТЛМ измерение показателя ТТГ должно проводиться каждые 6-12 месяцев (рис. 2).

Таким образом, настоящее исследование продемонстрировало тот факт, что пациентам с СГ и МГ необходимо назначать левотироксин с учетом группы диагностических критериев, включающих комплексную оценку иммунологических показателей и параметров гормонального профиля при условии проведения процедуры ТЛМ.

Список литературы

1. Герасимов Г.А., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Мифы отечественной тиреодологии и аутоиммунный тиреоидит // Consilium Medicum. - 2001. - Т.3. - №11. - С.37-46.
2. Кандор В.И. Современные проблемы тиреодологии // Пробл. эндокринологии. - 1999. - №1. - С. 3-5.
3. Arem R., Escalante D. Subclinical hypothyroidism: epidemiology, diagnosis, and significance // Adv. Int. Med. - 1996. - Vol.41. - P.213-250.
4. Canaris G.J., Manowitz N.R., Mayor G., Ridgway E.C. The Colorado thyroid disease prevalence study // Arch Intern Med. - 2000. - Vol.160 - №4. - P.526-34.
5. Caturegli P., Mariotti S., Kupperts R.C., Burek C.L., Pinchera A., Rose N.R. Epitops on thyroglobulin: a study of patients with thyroid diseases // Autoimmunity. - 1994. - Vol.18. - P.41-49.
6. Cooper D.S., Halpern R., Wood L.C., Levin A.A., Ridgway E.C. L-thyroxine therapy un subclinical hypothyroidism. A double-blind, placebo-controlled trial // Ann. Intern. Med. - 1984. - Vol.101. - P.18-24.
7. Hak A.E., Pols H.A., Visser T.J., Drexhage H.A., Hofman A., Witteman J.C. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study // Ann. Intern. Med. - 2000. - Vol. 132. - № 4. - P. 270-278.
8. Helfand M., Redfern C.C. Clinical guideline, part 2. Screening for thyroid disease: an update // Ann. Intern. Med. - 1998. - Vol. 129. - № 2. - P.144-158.
9. Mariotti S., Caturegli P., Piccolo P., Barbesino G., Pinchera A. Antithyroid peroxidase antibodies thyroid diseases // J.Clin. Endocrinol. Metab. - 1990. - Vol.71. - P.661-669.
10. Mc Lachlan S.M., Rapoport B. The molecular biology of thyroid peroxidase: cloning, expression, and role as autoantigen in autoimmune thyroid disease // Endocrine Rev. - 1992. - Vol.13. - P.192-206.
11. Nystrom E., Bengtsson C., Lindquist O., Noppa H., Lindstedt G., Lundberg P.A. Thyroid disease and high concentration of serum thyrotropin in a population sample of women // Acta Med. Scand. - 1981. - Vol.210. - P.39-46.
12. Permantier M., Libert F., Meanhaut C., Lefort A., Gerard C., Perret J., Van. Sande. J., Dumont J.E., Vassart G. Molecular cloning of the thyrotropin receptor // Science. - 1989. - Vol.246. - P.1620-1622.
13. Slatosky J., Shipton B., Wahba Haney. Thyroiditis: Differential Diagnosis and Management // American Family Physical. - 2000. - Vol.59. - P.615-621.
14. Tunbridge W.M., Evered D.C., Hall R., Appleton D., Brewis M., Clark F., Evans J.G., Young E., Bird T., Smith P.A. The spectrum of thyroid disease in a community: the Wickham survey // Clin. Endocrinol. - 1977. - №7. - P.481-490.
15. Vanderpump M.P.J., Tunbridge W.M.G., French J.M., Appleton D., Bates D., Clark F., Grimley Evans J., Hasan D.M., Rodgers H., Tunbridge F., Young E.T. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey // Clin. Endocrinol. - 1995. - Vol.43. - P.55-68.
16. Vassart G., Dumont J.E. The thyrotropin receptor and the regulation of thyroid function and growth // Endocrine Rev. - 1992. - Vol.13. - P.596-611.
17. Woeber K.A. Subclinical thyroid dysfunction //

Arch. Intern. Med. – 1997. – Vol. 157. – 1065-1068.

18. Zulewski H., Muller B., Exer P., Miserez A.R., Staub J.J. Estimation of tissue hypothyroidism by a new clinical score: evaluation of patients with vari-

ous grades of hypothyroidism and controls // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1997. – Vol.82. – №3. – P. 771-776.

поступила в редакцию 17.02.2006

отправлена на доработку 25.03.2006

принята к печати 14.06.2006