

ИССЛЕДОВАНИЕ АУТОАНТИТЕЛ К ТИРЕОГЛОБУЛИНУ ПРИ ЛЕЧЕНИИ АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА L-ТИРОКСИНОМ

Шашкова О.А., Руденко И.Я., Пиневиц А.А.,
Волкова А.Р. *, Дора С.В. *, Климович В.Б.

ГУ Центральный научно-исследовательский Рентгено-Радиологический институт, Санкт-Петербург;

* Центр Эндокринологии Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета
им. И.П.Павлова, Санкт-Петербург

Резюме. В сыворотках крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) до и после лечения L-тироксина и у людей без патологии щитовидной железы (доноров) исследованы содержание и эпитопная специфичность аутоантител (аА) к тиреоглобулину (ТГ, аАТГ). аАТГ обнаружены в сыворотке всех обследованных лиц. У пациентов с АИТ их концентрация была достоверно выше, чем у доноров. Через 0,5 года у пациентов, принимавших L-тироксин, титр аАТГ снизился, но оставался выше, чем у доноров. У больных, не получавших L-тироксин, изменений в содержании аАТГ не наблюдали. В сыворотках доноров не выявлено аАТГ, направленных против тех 15-ти антигенных участков ТГ, которые распознают использованные в работе моноклональные антитела (МКАТ). У пациентов были выявлены аАТГ против эпитопа, связывающего МКАТ 1F10. Присутствие таких аАТГ коррелировало с повышенным суммарным титром аАТГ. Через 0,5 года количество больных, имеющих аАТГ против эпитопа 1F10, возросло как среди пациентов, проходивших курс лечения L-тироксина, так и среди нелеченных лиц. Вероятно, появление аАТГ к эпитопу 1F10 ассоциировано с патологическим процессом в щитовидной железе, а лечение L-тироксина не препятствует повышению их концентрации.

Ключевые слова: тиреоглобулин, аутоантитела к тиреоглобулину, аутоиммунный тиреоидит.

Shashkova O.A., Rudenko I.Ya., Pinevich A.A., Volkova A.R., dora S.V., Klimovich V.B.

ANTI-THYROGLOBULIN ANTIBODIES IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE THYROIDITIS DURING L-THYROXINE TREATMENT

Abstract. The presence of anti-thyroglobulin antibodies (AbTg) and their epitope specificity were investigated in sera of healthy people and patients with autoimmune thyroiditis (before and after L-thyroxine treatment). In sera samples AbTg were detected. It was shown that: (i) the level of AbTg in patients with autoimmune thyroiditis was significantly higher as compared with healthy individuals. After 6 months the level of AbTg of treated patients decreased but was higher than in healthy people. In serum samples of patients without L-thyroxine treatment the level of AbTg did not change. (ii) In healthy individual serum samples AbTg to antigenic regions of Tg recognized by monoclonal antibodies used in the work were not found. In patients serum samples monoclonal antibodies directed to 1F10 epitope were detected. Moreover the presence of monoclonal antibodies of the current specificity correlated with the increased level of AbTg. In 6 months the number of patients with AbTg to 1F10 epitope increased both in L-thyroxine treated and control group of patients. It is possible that the presence of AbTg to 1F10 epitope is associated with the pathological process in thyroid gland. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 5-6, pp 511-516)

Адрес для переписки:

Климович Владимир Борисович,
ГУ ЦНИ рентгено-радиологический институт,
Лаборатория гибридной технологии,
197758, Санкт-Петербург, Песочный 2,
Ленинградская ул., д.70/4.
Тел./факс: 596-87-21. E-mail: vklim@sertolovo.ru

Введение

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ)- воспалительное заболевание щитовидной железы, при котором инфильтрация ткани щитовидной железы клетками лимфоидного и макрофагального ряда приводит к ослаблению функции, повреждению структуры, в ряде случаев – к увеличению объема органа, а в даль-

нейшем – к разрушению железистой ткани и замещению ее соединительной [6]. Воспалительный процесс обусловлен клеточно-опосредованной и гуморальной реакцией иммунной системы на антигены щитовидной железы, среди которых основным является белок-предшественник тиреоидных гормонов тиреоглобулин (ТГ). Диагноз АИТ устанавливают на основании результатов ультразвукового исследования, тонкоигольной аспирационной биопсии, определения в сыворотке содержания тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) и тиреоидных гормонов (Т3 и Т4), аутоантител против ТГ (аАТГ) и других тиреоидных антигенов [2,15].

У пациентов с АИТ аАТГ были впервые обнаружены в середине 50-х годов XX века [23]. В настоящее время установлено, что в сыворотке крови 60-100% больных АИТ циркулируют повышенные количества аАТГ [8, 16, 22]. По данным ряда авторов число здоровых лиц, в крови которых находят аАТГ, колеблется от 4 до 27% [22].

В большинстве исследований не выявлено корреляции между присутствием в крови большого количества аАТГ, лимфоцитарной инфильтрацией и степенью повреждения щитовидной железы [1, 24]. Несмотря на многочисленные продолжающиеся исследования роль аАТГ в здоровом организме и патогенезе АИТ до сих пор не ясна.

Использование моноклональных антител (МКАТ) против ТГ позволило провести анализ антигенных детерминант (эпитопов), распознаваемых аАТГ [14]. Исследования, основанные на конкуренции МКАТ против ТГ и аАТГ сыворотки крови, показали, что у здоровых лиц аАТГ направлены к ряду антигенных участков ТГ. Сочетание распознаваемых эпитопов варьирует индивидуально, а число их, вероятно, близко к 10-ти. Однако, оно может оказаться и больше, так как согласно некоторым оценкам общее количество антигенных детерминант ТГ составляет около 4 десятков [9, 11, 12, 17, 21]. В противоположность этому у пациентов с АИТ и диффузно-токсическим зобом аАТГ обладают ограниченной гетерогенностью и направлены к ограниченному числу эпитопов. Предполагают, что для каждого заболевания характерно распознавание определенных эпитопов ТГ [14,17, 20].

Поскольку возможным исходом АИТ является гипотиреоз, для лечения этого заболевания применяют гормоны щитовидной железы, которые нормализуют тиреоидный статус больного. В большинстве случаев применяют L-тироксин (левотироксин). Влияние этого препарата на показатели тиреоидного статуса, в том числе на продукцию аАТГ, изучено недостаточно [7, 18].

Цель настоящей работы состояла в изучении содержания аАТГ и их эпитопной специфичности у пациентов с АИТ, проходивших курс лечения L-тироксином, у пациентов, не получавших такого лечения, и у людей без патологии щитовидной железы (доноров).

Материал и методы

Образцы сыворотки крови были получены от 30 доноров и 42 пациентов с АИТ, проходивших обследование и лечение в центре эндокринологии Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета им.И.П.Павлова. Все доноры и больные АИТ – женщины, средний возраст – 32 года. Диагноз АИТ был установлен впервые на основании клинических и лабораторных данных. У всех пациентов было проведено ультразвуковое исследование объема и структуры щитовидной железы, определена концентрация свободного тироксина (Т4) и ТТГ в сыворотке крови, выполнена тонкоигольная аспирационная биопсия щитовидной железы. У доноров было проведено ультразвуковое исследование и определен уровень ТТГ.

Лечение L-тироксином. Все пациенты с АИТ были разделены на две группы методом открытой рандомизации. Первую группу составили 29 больных, получавших левотироксин (100 мкг/день). Во вторую группу были включены 13 больных, не получавших указанный препарат. Группы были сопоставимы по возрасту и всем исходным показателям. Через 0,5 года все больные были обследованы повторно.

Антиген и антитела. В качестве антигена использовали препарат очищенного ТГ человека, полученный из гомогенатов ткани щитовидной железы методом гель-фильтрационной хроматографии [21]. Для выявления аАТГ использовали полученные в лаборатории меченые пероксидазой МКАТ против легких цепей иммуноглобулинов каппа- и лямбда-типа [5]. Изучение эпитопной специфичности аАТГ проводили при помощи полученных в лаборатории 15 МКАТ против ТГ человека, определяющих на поверхности ТГ 15 пространственно изолированных эпитопов [4].

Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА).

Для определения титра аАТГ использовали метод непрямого ИФА. Образцы сывороток крови вносили в лунки планшетов с адсорбированным ТГ и после инкубации и удаления несвязавшихся компонентов выявляли образовавшиеся иммунные комплексы с помощью смеси меченых пероксидазой МКАТ против легких цепей иммуноглобулинов каппа- и лямбда-типа.

Исследование эпитопной специфичности аАТГ проводили при помощи метода конкурентного ИФА. Образцы сыворотки крови разводили в 10 раз 0,05М раствором Трис-буфера (pH=7,4), содержащего 0,05% твина 20. В лунки планшета с иммобилизованным на твердой фазе ТГ вносили равные объемы разведенных образцов сыворотки и меченых пероксидазой МКАТ против ТГ. Позитивным контролем служила смесь меченых пероксидазой МКАТ и трис-буфера с твин 20 в соотношении 1:1. После инкубации и удаления несвязавшихся компонентов выявляли пероксидазную активность.

При оценке результатов для каждого меченого пероксидазой МКАТ оптическую плотность позитивного контроля принимали за 100%. Результаты выражали в процентах от оптической плотности позитивного контроля. При снижении этого показателя более чем на 60% считали, что образец сыворотки содержит аАТГ, направленные к тому же эпиглобу, что и МКАТ.

Во всех вариантах ИФА активность связавшейся с твердой фазой пероксидазы выявляли с помощью субстрат-хромогенной смеси, содержащей перекись водорода и о-фенилендиамин. Ферментативную реакцию останавливали добавлением в лунки планшета 2N H₂SO₄. Интенсивность окраски определяли на планшетном фотометре при длине волны 492 нм.

Статистическая обработка результатов. Для вычисления средних значений, их стандартных отклонений и медианы, а также при проведении сравнения с помощью U-теста Манна-Уитни, теста Вилкоксона и корреляционного анализа зависимости использовали компьютерные программы Microsoft Excel и Statistica for Windows.

Результаты

Объем и структура щитовидной железы, концентрации ТТГ и Т4. Данные о тиреоидном статусе обследованных доноров и пациентов приведены в таблице 1. У доноров объем щитовидной железы находился в пределах нормы (до 18 см³), изменений в структуре железы обнаружено не было.

При первичном обследовании пациентов с АИТ объем щитовидной железы колебался от нормально-го до умеренно увеличенного и в среднем составил

20,12±1,339 см³. При цитологическом исследовании биопсийных препаратов у всех больных была выявлена морфологическая картина АИТ.

У доноров значения концентраций ТТГ были в пределах нормы (0,24-3,5 мМЕ/л), среднее значение составляло 1,35±0,112 мМЕ/л. У 23 пациентов с АИТ содержание ТТГ и Т4 было в пределах нормальных значений, что соответствовало состоянию эутиреоза. У 19 человек был обнаружен субклинический гипотиреоз. У них отсутствовали клинические проявления гипотиреоза, уровень свободного тироксина (Т4) был в пределах нормальных значений (10-25 пмоль/л), но содержание ТТГ превышало верхнюю границу нормы. При повторном обследовании через 0,5 года у лиц, получавших L-тироксин, было обнаружено достоверное снижение концентрации ТТГ и уменьшение объема щитовидной железы.

Титры аАТГ. У 80% доноров титры аАТГ находились в диапазоне от 1/90 до 1/270 (рис. 1). В 3% случаев титры составили 1/810. У 80% больных с эутиреозом значения титров аАТГ находились в диапазоне от 1/810 до 1/7290. У 70% пациентов с субклиническим гипотиреозом титр аАТГ варьировал от 1/810 до 1/48600. Сравнение полученных данных с помощью теста Манна-Уитни показало, что титры аАТГ у пациентов достоверно выше, чем у доноров (p<0,001). Титры аАТГ у пациентов с эутиреозом и субклиническим гипотиреозом достоверно не отличались.

Влияние лечения L-тироксином. У пациентов с эутиреозом и субклиническим гипотиреозом, прошедших курс лечения L-тироксином, через 0,5 года титр аАТГ достоверно снизился (p<0,05 – тест Вилкоксона), в то время как в группе больных, не подвергавшихся терапии, достоверных отклонений от

Табл. 1. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С АИТ

Обследованные лица				Показатели		
				ТТГ (мМЕ/л)	Объем железы (см ³)	Т4 (пмоль/л)
Доноры				1,35±0,112*	до 18 см ³	НД***
Пациенты	С эутиреозом	Леченные L-тирок- сином	исходно	2,23±0,292	21,17±2,118	13,87±0,900
			через 0,5 года	0,59±0,224	16,64±2,167	НД
			P**	<0,01	<0,001	НД
		Нелеченные	исходно	1,45±0,333	24,33±4,195	14,41±2,374
			через 6 мес	1,28±0,286	23,52±3,587	НД
			P	>0,05	>0,05	НД
	С субклиническим гипотиреозом	Леченные L-тирок- сином	исходно	5,25±0,702	18,75±1,751	13,75±1,052
			через 0,5 года	1,50±0,360	16,88±1,448	НД
			P	<0,01	<0,05	НД
		Нелеченные	исходно	6,98±1,739	14,02±3,406	12,54±1,460
			через 0,5 года	4,60±2,390	15,27±4,175	НД
			P	>0,05	>0,05	НД

Примечания: * - Указаны средние значения ± ошибка средней

** - P – уровень значимости различий. Сравнение проводили при помощи теста Вилкоксона для сопряженных пар

*** - «НД» – нет данных

исходного уровня в титрах аАТГ обнаружено не было (рис. 2).

Эпитопная специфичность аАТГ. В сыворотках доноров не выявлено аАТГ, направленных против тех 15-ти антигенных участков ТГ, которые распознают использованные в работе МКАТ. В сыворотках 10,3% больных, в дальнейшем проходивших лечение L-тироксинам, и у 8,3% у нелеченых были обнаружены аАТГ, направленные к эпитопу ТГ, который связывает МКАТ 1F10 (рис. 3). аАТГ такой специфичности были выявлены как у пациентов с эутиреозом, так и у больных с субклиническим гипотиреозом. Корреляций между наличием аАТГ, направленных к эпитопу 1F10, объемом щитовидной железы и концентрациями свободного Т4, ТТГ установлено не было.

Достоверных различий между частотой встречаемости аАТГ, направленных к эпитопу 1F10, в группах пациентов, проходивших лечение L-тироксинам, и не получавших его, выявлено не было (t-критерий Стьюдента). Сравнение с помощью теста Манна-Уитни показало, что у пациентов, имевших аАТГ против эпитопа 1F10, титры аАТГ были достоверно выше ($p < 0,01$). Через 0,5 года как в группе, проходивших курс лечения L-тироксинам, так и в контрольной возросло количество больных, имеющих аАТГ, направленные к эпитопу 1F10 (рис. 3). При этом следует отметить, что у 3,4% пациентов через 0,5 года после лечения L-тироксинам, аАТГ такой направленности перестали выявляться.

При проведении корреляционного анализа не выявлено зависимости между титром аАТГ и содержанием ТТГ и объемом щитовидной железы.

Обсуждение

Во всех образцах сыворотки крови доноров и пациентов с АИТ были выявлены аАТГ. Содержание аАТГ у пациентов с АИТ в большинстве слу-

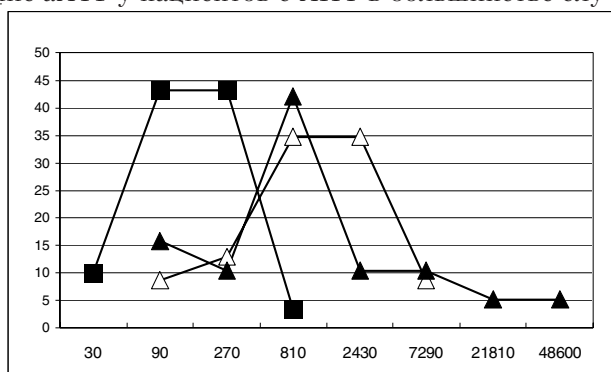


Рис. 1. Распределение значений обратных титров аАТГ у доноров и пациентов с АИТ.

Доноры - ■, больные АИТ с эутиреозом - △, больные АИТ с субклиническим гипотиреозом - ▲.

По оси абсцисс — значения обратных титров аАТГ, по оси ординат — доля образцов в процентах.

чаев было выше, чем у доноров. Тем не менее, у части больных наблюдали такой же уровень аАТГ, как и у здоровых людей. Диагностически значимым уровнем аАТГ можно считать титр 1/810. При разведении сыворотки в 810 раз аАТГ были выявлены у подавляющего числа пациентов с АИТ и только у 3,4 % доноров. Из этого следует, что использованный в работе метод определения уровня аАТГ позволяет с большой долей вероятности отличать пациентов, страдающих АИТ, от здоровых людей.

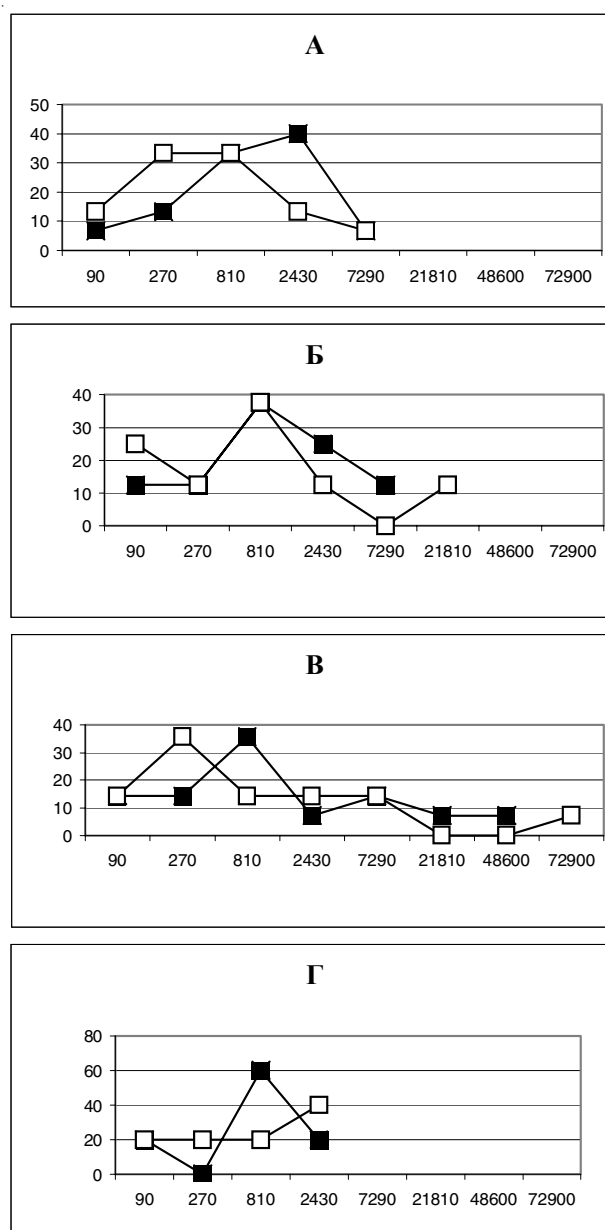


Рис. 2. Распределение значений обратных титров аАТГ у пациентов с эутиреозом, проходивших (А) или не проходивших (Б) курс лечения L-тироксинам; и у пациентов с субклиническим гипотиреозом, проходивших (В) или не проходивших (Г) курс лечения L-тироксинам.

В начале срока - ■, через 6 мес наблюдения - □.

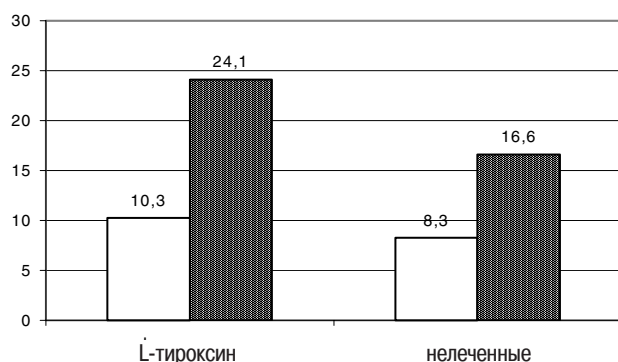


Рис.3. Частота встречаемости аАТГ, направленных к эпитопу 1F10 у пациентов с АИТ, нелеченных или подвергавшихся лечению L-тироксина.

По оси абсцисс — группы пациентов (□ - исходно, ■ - через 0,5 года), по оси ординат — количество сывороток в процентах.

Полученные результаты подтверждают наблюдения других авторов, согласно которым у пациентов с АИТ после прохождения курса лечения L-тироксина снижался уровень аАТГ [1]. Это, вероятно, можно объяснить тем, что Т4 тормозит продукцию ТТГ, в результате чего уменьшается синтез ТГ [13] и как следствие — ослабляется синтез направленных против него аутоантител.

Ранее при исследовании эпитопной специфичности аАТГ было установлено, что у людей без патологии щитовидной железы в крови присутствуют аАТГ, направленные против 9 антигенных детерминант ТГ из 15-ти, распознаваемых панелью МКАТ. В то же время у 34% больных с диффузно-токсическим зобом и АИТ доминировали аАТГ против одного эпитопа ТГ, связывающего МКАТ 1F10 [3]. В сыворотках крови доноров аАТГ такой специфичности встречались редко. Это наводило на мысль о связи синтеза этих аАТГ с патологическим процессом в щитовидной железе. Возможно, эпитоп 1F10 является одним из аутоантигенных участков ТГ, выявленных в ряде исследований [9, 10, 11, 12, 17, 20].

У пациентов, обследованных в ходе настоящей работы, аАТГ против эпитопа 1F10 были выявлены только у 8,3-10,3% пациентов. Различия в результатах, вероятно, связаны с тем, что пациенты, которые были под наблюдением в ходе настоящей работы, находились на ранних стадиях впервые выявленного заболевания. В группе ранее обследованных пациентов преобладали лица, которые в связи с длительным и осложненным течением АИТ или диффузно-токсическим зобом подверглись хирургическому лечению (тиреоидэктомии).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что:

1. У пациентов с АИТ достоверно выше содержание аАТГ по сравнению с людьми без патологии щитовидной железы.

2. После прохождения лечения L-тироксина достоверно снижается содержание аАТГ.

3. Наличие аАТГ, направленных к тому же эпитопу, что и МКАТ 1F10, ассоциировано с АИТ и коррелирует с повышенным титром аАТГ.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант № 01-04-49781).

Список литературы

1. Вольпе Р. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы // Болезни щитовидной железы. Под ред. Бравермана Л.И. - М.: Медицина, 2000. - С.140-172.
2. Кейн Л.А., Гариб Х. Исследование состояния щитовидной железы. Клинический подход // Болезни щитовидной железы. Под ред. Бравермана Л.И. - М.: Медицина, 2000. - С.38-54.
3. Климович В.Б., Руденко И.Я., Василевский Д.И., Львова О.А. Изотипический состав и эпитопная специфичность аутоантител против тиреоглобулина // Медицинская иммунология. - 2000. - Т.2. - № 4. - С.377-383.
4. Климович В.Б., Руденко И.Я., Грязева И.В. Моноклональные антитела против тиреоглобулина человека: исследование специфичности // Биотехнология. - 1998. - № 4. - С.51-56.
5. Климович В.Б., Самойлович М.П., Грязева И.В., Крутецкая И.Ю., Пашкова С.Ф., Руденко И.Я. Моноклональные антитела на основе репертуара иммунного ответа мышей линии SJL/J // Медицинская иммунология. - 1999. - Т.1. - № 1-2. - С.47-58.
6. Клиническая эндокринология (руководство). Заболевания щитовидной железы / Под ред. Н.Т. Старковой. - М.: Медицина, 1991. - С.108-116.
7. Окампо Э.Л., Серкс М.И. Вопросы терапии гипотиреоза // Болезни щитовидной железы. Под ред. Бравермана Л.И. - М.: Медицина, 2000. - С.173-193.
8. Рябчун М.В., Агейкин В.А. Аутоиммунные процессы при заболеваниях щитовидной железы // Пробл. эндокринол. - 1992. - Т.38. - № 4. - С.15.
9. Bouanani M., Bataille R., Piechaczyc M., Salhi S.L., Pau B., Bastide M. Autoimmunity to human thyroglobulin // Arthritis and rheumatism. - 1991. - Vol.34. - №12. - P.1585-1593.
10. Bouanani M., Hanin V., Bastide M., Pau B. New antigenic clusters on human thyroglobulin defined by an expanded panel of monoclonal antibodies // Immunol.Lett. - 1992. - Vol.32. - P.256-264.
11. Bouanani M., Piechaczyc M., Pau B., Bastide M. Significance of the recognition of certain antigenic regions on the human thyroglobulin molecule by natural autoantibodies from healthy subjects // J.Immunol. - 1989. - Vol.143. - P.1129-1132.

12. Bresler H.S., Burek C.L., Hoffman W.H., Rose N.R. Autoantigenic determinants on human thyroglobulin. II. Determinant recognized by autoantibodies from patients with chronic autoimmune thyroiditis compared to autoantibodies from healthy subjects // Clin. Immunol. Immunopathol. - 1990. - Vol.54. - P.76-86.
13. Burmeister L.A. Thyroid hormone in the treatment of thyroid cancer // Thyroid Today. - 1994. - Vol.17. - № 1. - P.1-9.
14. Caturegli P., Mariotti S., Kuppers R.C., Burek C.L., Pinchera A., Rose N.R. Epitopes on thyroglobulin: a study of patients with thyroid disease // Autoimmunity. - 1994. - Vol.18. - P.41-49.
15. Feldt-Rasmussen U. Analytical and clinical performance goals for testing autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin, and thyrotropin receptor // Clin.Chem. - 1996. - Vol.42. - №1. - P.160-163.
16. Mariotti S., Borbesino G., Caturegli P. et al. Assay of thyroglobulin in serum with thyroglobulin autoantibodies: an unobtainable goal // J.Clin.Endocrinol.Metab. - 1995. - Vol.80. - P.468-472.
17. Piechaczyc M., Bouanani M., Salhi S.L., Baldet L., Bastide M., Pau B., Bastide G.-M. Antigenic domains on the human thyroglobulin molecule recognized by autoantibodies in patient's sera and by natural autoantibodies isolated from the sera of healthy subjects // Clin.Immunol.Immunopathol. - 1987. - Vol.45. - P.114-121.
18. Romaldini J.H., Diancalana M.M., Figueiredo D.I., Farah C.S., Mathias P.C. Effect of L-thyroxine administration on antithyroid antibody levels, lipid profile, and thyroid volume in patients with Hashimoto's thyroiditis // Thyroid. - 1996. - Vol.6. - № 3. - P.183-188.
19. Rose N.R. The discovery of thyroid autoimmunity // Immunol.Today. - 1991. - Vol.12. - № 5. - P.167-168.
20. Ruf J., Carayon P., Lissitzky S. Various expressions of a unique anti-human thyroglobulin antibody repertoire in normal state and autoimmune disease // Eur.J.Immunol. - 1985. - Vol.15. - P.268-272.
21. Ruf J., Henry M., De Micco C., Carayon P. Characterization of monoclonal and autoimmune antibodies to thyroglobulin. Application to clinical investigations. In: Thyroglobulin and thyroglobulin antibodies in the follow-up of thyroid cancer and endemic goitre. Ed. by M.Hufher, S.Reiners // Stuttgart: G. Thieme Verlag. - 1987. - P. 21-30.
22. Spencer C.A., Wang C.C. Thyroglobulin measurement. Techniques, clinical benefits, and pitfalls // Endocrinol.Metab.Clin.N.A. - 1995. - Vol.24. - P.841-863.
23. Vali M., Rose N.R., Caturegli P. Thyroglobulin as autoantigen: structure-function relationships // Rev. Endocrinol. Metab. Disord. // 2000. - Vol.1. - P.69-77.
24. Wang L., Zheng W.F. Measurement and clinical significance of thyroid microsomal and thyroglobulin antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. - 1989. - Vol.102. - № 4. - P.282-289.

поступила в редакцию 29.05.2005
принята к печати 15.09.2005