

## Abstract

N. I. Chekalina,

State Higher Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", 23 Shevchenka str, Poltava, 36011

### INDICATORS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE THYROIDITIS CONCURRENT WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

**Introduction.** The prevalence of autoimmune thyroiditis in Ukraine, which is the most common cause of hypothyroidism, in the past 10 years has increased by 68 %. Endothelial dysfunction formed under conditions of inflammation, today is regarded as the main pathogenic factor in atherosclerosis — morphological bases of coronary heart disease.

**Purpose:** To investigate the indicators of endothelial dysfunction in patients with autoimmune thyroiditis in combination with coronary heart disease.

**Materials and methods.** The study involved 75 people of both sexes aged 48 to 72 years: 55 patients with coronary heart disease (angina stable, II FC) were included to the group of comparison, 20 persons (study group) had additionally autoimmune thyroiditis, euthyroidism, 5 of which had subclinical hypothyroidism previously treated by L-thyroxine. 15 volunteers made up a group of healthy individuals. All participants in the study identified the blood circulating endothelial microparticles by identifying specific surface membrane molecules using monoclonal antibodies against the antigens CD32 and CD40 with cytofluometry. Like an additional marker that causes damage to the endothelium, blood level of tumour necrosis factor  $\alpha$  by enzyme immunoassay was measured. Statistical analysis was performed using non-parametric test of Wilkoxon for pairs data, correlations examined using nonparametric method of Spearman.

**Results:** The contents of microparticles CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> in peripheral blood were significantly higher in patients of study group than in patients of comparison group. This demonstrates the high level of endothelial dysfunction in chronic autoimmune inflammation. The number of microparticles CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> in patients of both groups was significantly higher than in healthy individuals. In cases of combination of coronary heart disease and autoimmune thyroiditis the level of tumour necrosis factor  $\alpha$  was significantly higher than in the comparison group. We have identified a strong correlation between the number of circulating endothelial microparticles CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> and content of tumour necrosis factor  $\alpha$  in peripheral blood. The sensitivity and specificity for the said pair of indices as markers of endothelial dysfunction was calculated.

**Discussion.** In cases of combination of autoimmune thyroiditis with coronary heart disease found significantly more pronounced signs of endothelial dysfunction than patients only with coronary heart disease, due to the influence of immune inflammation. Determination of the number of circulating endothelial microparticles by antigenic markers of endothelial activation CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> in combination with a tumor necrosis factor  $\alpha$  in blood is highly informative method of verification of endothelial dysfunction in patients with autoimmune thyroiditis.

**Keywords:** endothelial dysfunction, autoimmune thyroiditis, coronary heart disease, circulating endothelial microparticles, systemic inflammation.

**Corresponding author:** chekalina.ni.med@mail.ru

#### Резюме

**Н. І. Чекаліна,**

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011

#### ПОКАЗНИКИ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ХВОРИХ НА АВТОІМУННИЙ ТИРЕОЇДИТ У ПОЄДНАННІ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

Поширеність аутоімунного тиреоїдиту в Україні за останні 10 років зросла на 68 %. Ендотеліальна дисфункція, що формується в умовах запального процесу, є основним патогенетичним компонентом атеросклерозу — морфологічної основи ішемічної хвороби серця. **Мета** — дослідити показники ендотеліальної дисфункції у хворих на аутоімунний тиреоїдит у поєднанні з ішемічною хворобою серця.

**Матеріали і методи.** Обстежено 75 хворих на ішемічну хворобу серця: стенокардію напруження стабільну, I–II ФК. Групу порівняння становили 55 хворих; 20 хворих, що мали додатково аутоімунний тиреоїдит, еутиреоїдний варіант перебігу — групу дослідження; 15 добровольців склали групу здорових осіб. Усім учасникам дослідження у крові визначено кількість циркулюючих ендотеліальних мікрочастинок за антигенними маркерами CD32 та CD40 цитофлуориметричним методом та рівень фактора некрозу пухлини  $\alpha$  шляхом імуноферментного аналізу.

**Результати.** У хворих групи дослідження вміст мікрочастинок CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> у периферичній крові був вірогідно вищим за показники хворих групи порівняння. У хворих обох груп кількість мікрочастинок CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> була вірогідно вищою, ніж у здорових осіб. При поєднанні ішемічної хвороби серця з аутоімунним тиреоїдитом рівень фактора некрозу пухлини  $\alpha$  був вірогідно вищим, ніж в групі порівняння. Виявлено тісний кореляційний зв'язок між кількістю циркулюючих ендотеліальних мікрочастинок CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> та вмістом фактора некрозу пухлини  $\alpha$  у периферичній крові. Розраховано чутливість та специфічність для зазначеної пари показників як маркерів ендотеліальної дисфункції.

**Висновки.** За умов коморбідності (аутоімунний тиреоїдит та ішемічна хвороба серця) виявлено вірогідно більш виражені ознаки ендотеліальної дисфункції, ніж у хворих на ішемічну хворобу серця, що обумовлено впливом імунного запалення. Визначення кількості циркулюючих ендотеліальних мікрочастинок CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> у поєднанні з вмістом фактора некрозу пухлини  $\alpha$  у крові є інформативним методом верифікації ендотеліальної дисфункції.

**Ключові слова:** ендотеліальна дисфункція, аутоімунний тиреоїдит, ішемічна хвороба серця, циркулюючі ендотеліальні мікрочастинки, системне запалення.

#### Резюме

**Н. И. Чекалина,**

Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», ул. Шевченко, 23, г. Полтава, 36011

#### ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ АУТОИМУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ В СОЧЕТАНИИ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Распространенность аутоиммунного тиреоидита в Украине за последние 10 лет возросла на 68 %. Эндотелиальная дисфункция, которая формируется в условиях иммунного воспаления, является



основным патогенетическим компонентом атеросклероза — морфологической основы ишемической болезни сердца.

**Цель** – исследовать показатели эндотелиальной дисфункции у больных аутоиммунным тиреоидитом в сочетании с ишемической болезнью сердца.

**Материалы и методы.** Обследовано 75 больных ишемической болезнью сердца (стенокардия напряжения стабильная, I–II ФК). Группу сравнения 55 больных; 20 больных, имеющих дополнительно аутоиммунный тиреоидит, эутиреоидный вариант течения – группу исследования; 15 добровольцев составили группу здоровых лиц. Всем участникам исследования в крови определено количество циркулирующих эндотелиальных микрочастиц по антигенным маркерам CD32 и CD40 цитофлуориметрическим методом и уровень фактора некроза опухоли  $\alpha$  путем иммуноферментного анализа.

**Результаты.** У больных группы исследования содержание микрочастиц CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> в крови было достоверно выше показателей больных группы сравнения. У больных обеих групп количество микрочастиц CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> было достоверно выше, чем у здоровых лиц. При сочетании ишемической болезни сердца с аутоиммунным тиреоидитом уровень фактора некроза опухоли  $\alpha$  был достоверно выше, чем в группе сравнения. Выявлена тесная корреляционная связь между количеством циркулирующих эндотелиальных микрочастиц CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> и содержанием фактора некроза опухоли  $\alpha$  в периферической крови. Рассчитаны чувствительность и специфичность для указанной пары показателей как маркеров эндотелиальной дисфункции.

**Выводы.** В условиях коморбидности (аутоиммунный тиреоидит и ишемическая болезнь сердца) выявлены достоверно более выраженные признаки эндотелиальной дисфункции, чем у больных ишемической болезнью сердца, что обусловлено влиянием иммунного воспаления. Определение количества циркулирующих эндотелиальных микрочастиц CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> в сочетании с содержанием фактора некроза опухоли  $\alpha$  в крови является информативным методом верификации эндотелиальной дисфункции.

**Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, аутоиммунный тиреоидит, ишемическая болезнь сердца, циркулирующие эндотелиальные микрочастицы, системное воспаление.

**Автор, відповідальний за листування:** [chekalina.ni.med@mail.ru](mailto:chekalina.ni.med@mail.ru)

### Вступ

За даними ВООЗ, патологія ендокринної системи займає третє місце у світі за причинами смертності населення після серцево-судинних та онкологічних захворювань. В Україні в структурі ендокринної патології перше місце за поширеністю на сьогодні посідає патологія щитоподібної залози (ЩЗ) (44 %), а в західних регіонах, яким властивий дефіцит йоду, цей показник досягає 70 %. Кількість випадків цієї патології в Україні за останні 10 років збільшилася з 489 тис. до 1 млн 657 тис. [13]. Превалують у структурі захворювань ЩЗ вузловий колоїдний

зоб, злоякісні новоутворення та автоімунний тиреоїдит (АІТ), який в Україні становить 20–30 % тиреоїдної патології. Поширеність АІТ в Україні за останні 10 років зросла на 68 %, а в перерахунку на 100 тис. населення — на 82 % [5].

Частота клінічно виражених форм АІТ становить 1 %. Проте АІТ є найчастішою причиною гіпотиреозу (70–80 % випадків), оскільки хронічне автоімунне запалення призводить до апоптозу тиреоїдних клітин з подальшим фіброзом та втратою функціональної активності ЩЗ [21].



Майже всі ендокринні захворювання залучають до патологічного процесу серцево-судинну систему або обтяжують перебіг серцево-судинних захворювань (ССЗ) [12]. Перше місце у світі серед причин смертності населення посідає ішемічна хвороба серця (ІХС). В Україні смертність від ССЗ становить 67,3 %, в структурі яких переважає смертність від ІХС (68,8 %) [4].

Враховуючи поширеність зазначеної патології, а також частоту поєднання серцево-судинних та ендокринних захворювань, що обтяжують перебіг одне одного або складають патогенетичну основу для розвитку поєднаних патологічних станів, є необхідним пошук нових ефективних методів діагностики і лікування за умов коморбідності.

Автоімунний процес супроводжується підвищенням вільнорадикального окиснення (ВРО), що є неодмінним компонентом хронічного системного запалення (ХСЗ). ХСЗ зумовлює розвиток і прогресування атеросклерозу (АС), беручи участь у перекисному окисненні ліпідів, активації клітин, ураженні біологічних мембран, формуванні ендотеліальної дисфункції (ЕД) [1, 9, 10].

Саме ЕД на сьогодні розцінюється як основний патогенетичний чинник формування атеросклеротичного ураження судин, яке є морфологічною основою ІХС. ЕД, що формується в умовах ХСЗ, є найбільш раннім етапом атерогенезу, в той самий час відіграє провідну роль у прогресуванні судинних змін, формуванні атероматозної бляшки, її дестабілізації, розвитку атеротромбозу. Порушення вазомоторних, гемостатичних, адгезійних, ангіогенних властивостей ендотелію (ЕТ) виникає в результаті пошкодження клітинних мембран вільними радикалами, окиснювально-модифікованими ліпопротеїдами низької щільності (ЛПНЩ), імунними комплексами, моноцитами-макрофагами, цитокінами (ЦК), що призводить до активації ендотеліоцитів та апоптозу [8]. ЕТ виконує потужну паракринну функцію, опосередковує і реалізує прозапальні реакції, утворюючи замкнене коло формування судинного ушкодження [11, 19]. Тому є актуальним пошук показових маркерів ЕД як при АІТ, так і при АС для оптимізації діагностики, оцінювання перебігу та ефективності лікувальних заходів.

Методи дослідження функції ЕТ артерій переважно ґрунтуються на оцінюванні його здатності продукувати NO у відповідь на фармакологічні (ацетилхолін, брадикінін, гістамін) або фізичні (зміна швидкості кровотоку) впливи, а також на визначенні рівня опосередкованих показників

ендотеліальної функції. З цією метою застосовують інструментальні дослідження — оклюзійну плетизмографію, лазерну доплерівську флуометрію, двовимірне та дуплексне ультразвукове сканування, ультразвукову доплерографію, сфїгмографію, які поєднують з фармакологічними пробами (ацетилхолін, нітрати тощо), вивчають NO у видихуваному повітрі та за допомогою лабораторних методів дослідження визначають рівень ендотеліальних медіаторів у плазмі крові (фактора фон Віллебранда, аргініну, орнітину, цитруліну тощо) [7].

Останнім часом накопичено істотний науковий досвід щодо визначення ЕД за рівнем циркулюючих ендотеліальних мікрочастинок (ЦЕМ) в кров'яному руслі ЦЕМ — гетерогенна популяція мікроевезикул, що включають клітинні протеїнові молекули, які беруть участь у процесах міжклітинної сигналізації [21, 22, 23]. Мікрочастинок можуть утворюватися різними типами клітин внаслідок їх активації або апоптозу [24, 25, 26]. Ідентифікація циркулюючих мікрочастинок в біологічних рідинах можлива завдяки виявленню специфічних поверхневих мембранних молекул за системою CD (від англійського «cluster designation») [27]. За кількістю ЦЕМ з відповідними типами молекулярних антигенних маркерів можна зробити висновок про стан клітин, які їх продукують.

На ендотеліальних мікрочастинках, що виділяються внаслідок апоптозу, виявляються молекули CD31, CD105, які експресуються конститутивно. ЦЕМ, що продукуються активованими ендотеліоцитами, мають на своїй поверхні молекулярні маркери CD32 (FcγRII), CD40 (TNFRSF5), CD54 (ICAM-1), CD62 (E и P), CD64 (FCGR1B), CD146 [17, 20, 26]. ЦЕМ досліджують шляхом підрахунку у камері Горяєва [8, 18]. Для верифікації ендотеліоцитів у крові використовують також імуномагнітну ізоляцію з подальшою електронною мікроскопією. Більш сучасним методом, що дозволяє з високою точністю визначити ендотеліальну належність мікрочастинок крові, є проточна цитофлуометрія з використанням специфічних щодо антигенів ЕТ моноклональних антитіл [2,6].

Метою нашого дослідження було вивчення функції ЕТ у хворих на АІТ у поєднанні з ІХС шляхом виявлення ЦЕМ CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> за допомогою проточної імуноцитофлуометрії та зіставлення одержаних даних з рівнем системного запалення.



**Матеріал та методи.** Проведено обстеження 75 осіб. Дослідження здійснювали з додержанням норм національного та міжнародного законодавств. Всі пацієнти дали письмову згоду на участь в дослідженні відповідно до вимог Гельсінської декларації. Відбір хворих здійснювали за наявності ознак атеросклеротичного ураження судин шляхом визначення потовщення комплексу «інтима-медіа» (КІМ) загальних сонних артерій 0,9 мм і більше (з урахуванням віку) або, додатково, за наявності атеросклеротичних бляшок (АБ) та доведеної за допомогою тесту з дозованим фізичним навантаженням (велоергометрія) ІХС (стенікардія напруження стабільна, І–ІІ ФК). Таким чином, відібрано 55 пацієнтів обох статей (23 жінки та 32 чоловіки) віком від 48 до 72 років, що склали групу порівняння. Одночасно здійснювався відбір хворих за попередніми критеріями та, додатково, за наявності затверджених маркерів АІТ: клінічних даних (скарги, пальпаторне дослідження ЩЗ), даних ультразвукового дослідження ЩЗ, підвищення антитіл до тиреопероксидази > 250 МО/мл та за умов клінічного та субклінічного гіпотиреозу підвищення рівня тиреотропного гормону у сироватці крові. Критеріями виключення з дослідження були наявність супутньої патології (цукровий діабет та інші ендокринні захворювання, захворювання сполучної тканини, артеріальна гіпертензія II стадії та вище, хронічні захворювання внутрішніх органів на маніфестній стадії тощо). Також не були включені до дослідження хворі на АІТ на стадії тиреотоксикозу, оскільки патогенетично зумовлена трансформація перебігу АІТ у подальшому передбачає формування прогресуючої гіпофункції ЩЗ за рахунок апоптозу тиреоцитів та розвитку фіброзних змін ЩЗ в умовах аутоімунного запалення. Саме цей період захворювання робить найбільший внесок у формування запальних та дегенеративно-дистрофічних змін в організмі, зокрема розвиток та прогресування АС. За такими критеріями сформовано групу дослідження з 20 осіб (16 жінок та 4 чоловіки) віком 48–61 рік. За даними лабораторних аналізів, 4 хворих мали гіпотиреоз, 5 — субклінічний гіпотиреоз, решта — еутиреоїдний варіант перебігу АІТ. Напередодні запланованого визначення показників ЕД та ХСЗ було досягнуто еутиреоїдного стану в зазначених хворих шляхом призначення відповідних доз L-тироксину (25–75 мкг за 1 добу), що підтверджено даними лабораторних досліджень; 15 добровольців склали групу здорових осіб.

Усім учасникам дослідження проведено визначення маркера ушкодження ЕТ за допомогою виявлення ЦЕМ у кров'яному руслі за експресією антигенів CD32 та CD40 з використанням моноклональних антитіл шляхом проточної цитофлуориметрії. CD32 (FCγRIIB) — рецептор з суперсімейства імуноглобулінів, експресується на активованих лейкоцитах та ендотеліоцитах судин [17]. CD40 — рецептор, що належить до суперсімейства TNF-α, експресується на імунних та неімунних клітинах, зокрема на ендотелії, та відіграє важливу роль у запальній сигналізації [22]. Як маркер ХСЗ вивчали TNF-α імуноферментним методом.

Статистичне оброблення результатів дослідження проводили з використанням програми *KyPlot*. При порівнянні даних між групами використовували непарний Т-критерій Стьюдента та критерій Стілл – Двасс (непараметричний аналог Тьюки). Пошук взаємозв'язків між змінними проводили із застосуванням рангової кореляції за Спірменом і Кендаллом. Відмінності даних вважали достовірними за рівня значущості  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження.** У хворих групи порівняння (ІХС) та групи дослідження (АІТ у поєднанні з ІХС) вміст ЦЕМ CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> у периферичній крові був вірогідно вищим за показник здорових осіб, що дорівнював  $1,3 (1,05–2,11) \times 10^7/\text{л}$ . У той самий час вміст ЦЕМ CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> у хворих групи дослідження був вірогідно вищим, ніж у групі порівняння –  $2,62 (1,50–6,10) \times 10^7/\text{л}$  порівняно з  $1,8 (1,12–4,96) \times 10^7/\text{л}$  ( $U, p = 0,036$ ) (табл. 1). Це свідчить про високий рівень ЕД при хронічному аутоімунному запаленні.

При зіставленні показника ЦЕМ в усіх групах дослідження було визначено, що значення, яке перевищує  $2,5 \times 10^7/\text{л}$ , свідчить про наявність ЕД (рис.1).

За даними наукових досліджень, підвищення ЦЕМ з різними специфічними поверхневими антигенними CD-маркерами запалення та апоптозу відповідає наявності ЕД за різних патологічних станів [15, 16].

Розраховано чутливість (*Se*) та специфічність (*Sp*) методу виявлення ЕД за допомогою ЦЕМ CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> при АІТ у поєднанні з АС. *Se* становила 82 %, оскільки у 3 хворих групи дослідження показник був меншим за встановлене у дослідженні значення ЦЕМ для діагностики ЕД. *Sp* мала значення 83 %, оскільки у 2 хворих показник був хибно позитивним.



Спільним для АІТ та АС є наявність ХСЗ та ЕД, а особливостями поєднання АІТ та ІХС є потенціювання патогенних впливів, прискорення формування атеросклеротичного ушкодження судин в умовах гіпотиреозу, що є неодмінним наслідком АІТ, обтяжливий прогноз тощо. У до-

слідженні була визначена вираженість системного запалення за вмістом TNF $\alpha$  як фактора, що бере участь у пошкодженні ЕТ у хворих на АІТ (табл. 2). Виявлено, що при поєднанні ІХС та АІТ рівень TNF- $\alpha$  був вірогідно вищим, ніж у групі порівняння.

**Таблиця 1 – Вміст циркулюючих ендотеліальних мікрочастинок CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> у периферичній крові**

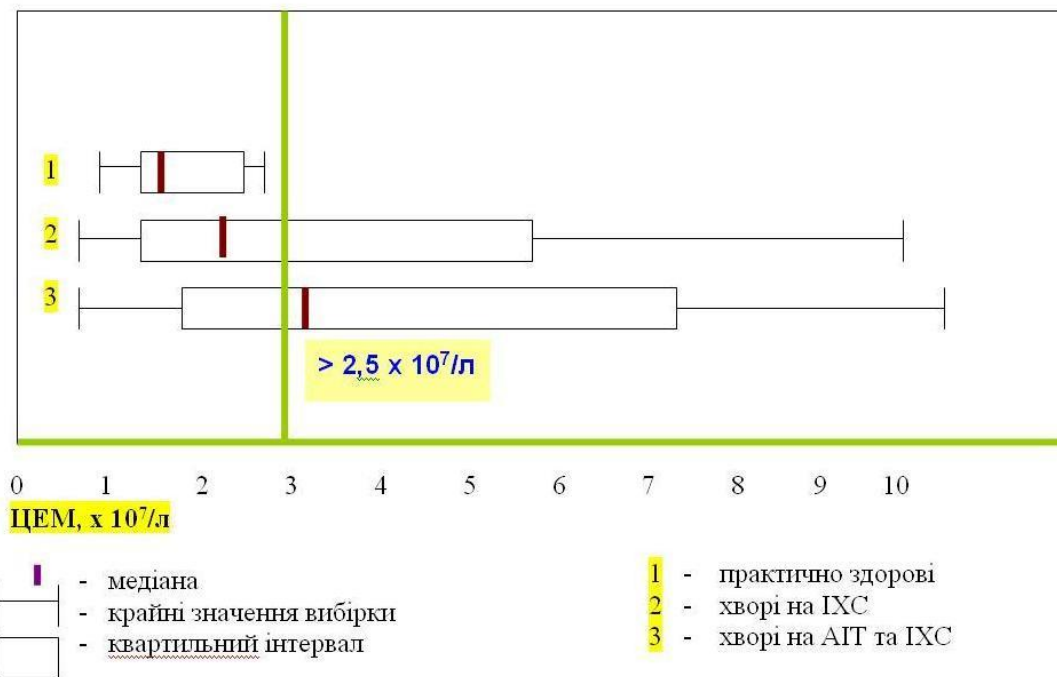
Група дослідження	Показник	CD32 <sup>+</sup> CD40 <sup>+</sup> , x 10 <sup>7</sup> /л	Метод статистичного аналізу
Група порівняння, <b>ІХС</b>	Me	<b>1,8</b>	U Test, p = 0,396 Steel Test, p = 0,382
	Q	(1,12–4,96)	
	X	<b>2,93</b>	
	s <sub>x</sub>	$\pm 0,698$	
Група дослідження, <b>ІХС + АІТ</b>	Me	<b>2,62</b>	* U Test, p = 0,036 Steel Test, p = 0,036
	Q	(1,50–6,10)	
	X	<b>4,10</b>	
	s <sub>x</sub>	$\pm 1,150$	
Практично здорові	Me	<b>1,3</b>	
	Q	(1,05–2,11)	
	X	<b>1,43</b>	
	s <sub>x</sub>	$\pm 0,194$	

\* Вірогідна різниця порівняно з даними групи практично здорових осіб

Відомо, що у здорових осіб вміст TNF- $\alpha$  у крові не перевищує 0–6 пг/мл.

TNF- $\alpha$  має широкий спектр впливу на усіх рівнях реалізації запального процесу в організмі: індукує синтез білків гострої фази гепатоцитами, сприяє проліферації та диференціюванню Т- та

В-лімфоцитів, продукції імуноглобулінів, НК-цитотоксичності, підвищує функціональну активність нейтрофілів, фібробластів, активує фагоцитоз, сприяє експресії ендотеліоцитами молекул адгезії [3, 14].



**Рисунок 1 – Вміст циркулюючих ендотеліальних мікрочастинок у периферичній крові у пацієнтів груп дослідження**



Було визначено тісний кореляційний зв'язок між показниками ЦЕМ та TNF- $\alpha$  у хворих на АІТ у поєднанні з ІХС ( $r = 0,81, p < 0,05$ ) (рис. 3). За одержаними даними, значенню показника ЦЕМ  $CD32^+CD40^+ > 2,5 \times 10^7/л$  відповідає значення  $TNF\alpha > 7,9$  пг/мл (рис. 2).

**Таблиця 2 – Концентрація TNF- $\alpha$  у сироватці крові**

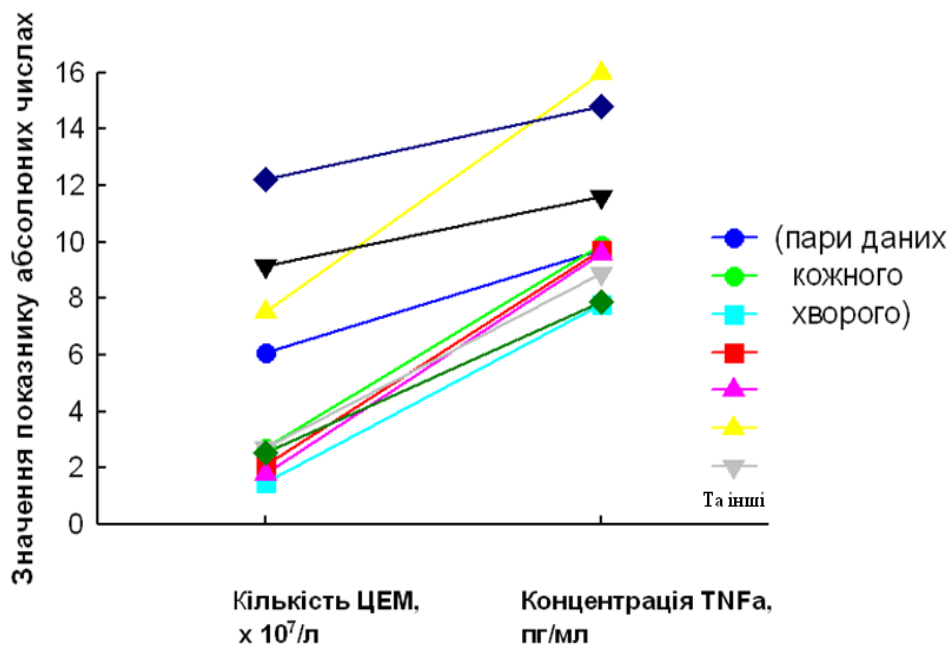
Група дослідження	$\bar{X} \pm \sigma \pm S_x$ , пг/мл	t-Тест для парних порівнянь, р
Група порівняння, ІХС	8,53 $\pm 3,24 \pm 1,079$	> 0,05
Група дослідження, ІХС + АІТ	10,54* $\pm 2,42 \pm 0,671$	< 0,05

Визначено чутливість ( $Se$ ) та специфічність ( $Sp$ ) підвищення  $TNF\alpha > 7,9$  пг/мл як маркера,

що підтверджує наявність ЕД при АІТ у поєднанні з АС.  $Se$  становила 100 %, оскільки у хворих групи дослідження, за умов вмісту ЦЕМ  $> 2,5 \times 10^7/л$  (що відповідає ЕД) концентрація  $TNF-\alpha$  у крові в усіх випадках дорівнювала або перевищувала межу 7,9 пг/мл.  $Sp$  мала значення 82 %, оскільки у 3 хворих показник був хибно позитивним.

**Обговорення результатів.**

Як при АІТ, так і при атерогенезі визначаються порушення генерації Т-регуляторних (Treg) лімфоцитів  $CD4^+CD25^+$  та недостатня супресія запального процесу [28]. Th1-клітинна відповідь спричиняє деструкцію тиреоїдної тканини за рахунок активації продукції прозапальних ЦК, бере участь у формуванні атеросклеротичного ураження та дестабілізації бляшки. Патогенетична роль антитиреоїдних антитіл щодо перебігу та прогресування АІТ неоднозначна, їх динаміка не має діагностичного й прогностичного значення [29, 30].



**Рисунок 2 – Значення ЦЕМ  $CD32^+CD40^+$  та  $TNF-\alpha$  у хворих на АІТ у поєднанні з ІХС (парний аналіз)**

В умовах активації запалення посередництвом  $CD32$  С-реактивний протеїн викликає підвищення експресії молекул адгезії ICAM-1, VCAM-1, зниження утворення eNO, простацикліну. Експресія  $CD32$  посилюється також під впливом  $IFN-\gamma$  та  $TNF-\alpha$  [20].

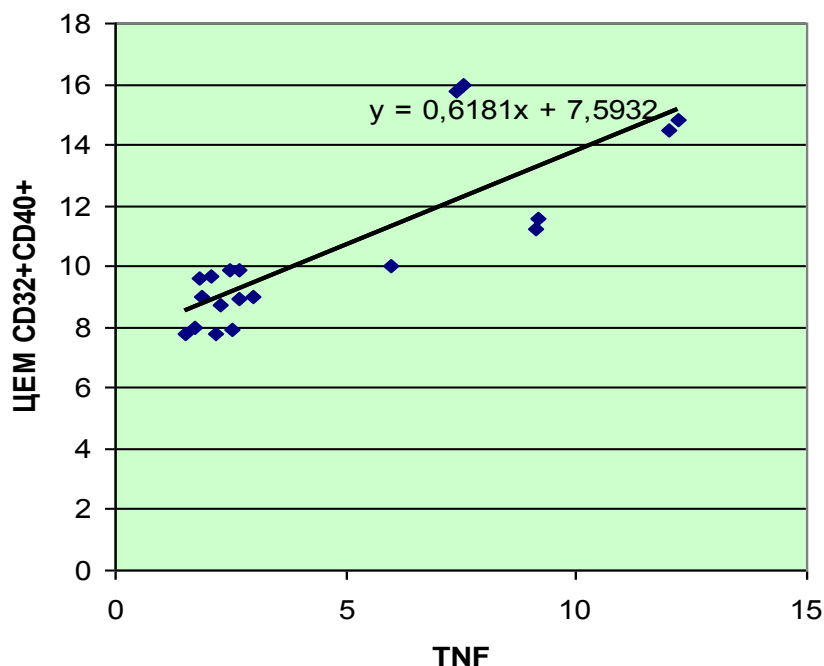
$CD40$  (рецептор суперсімейства  $TNF-\alpha$ ), за даними останніх наукових досліджень, відіграє важливу роль у регуляції гуморального імуні-

тету, центральної та периферичної Т-клітинної толерантності та функції антиген-презентуючих клітин [31, 32]. Взаємодія  $CD40$  з  $CD40L(CD154)$  приводить до активації  $CD4^+$  Т-лімфоцитів та подальшої В-клітинної відповіді. Grayanniotis G. та співавт. довели, що в умовах експериментального АІТ блокада  $CD40L$  Т-лімфоцитів істотно гальмувала активність запалення ЩЗ [33].



CD40/CD40L (CD154)-каскад бере активну участь у формуванні та зростанні атеросклеротичної бляшки. Контакт між CD40L(CD154) Т-лімфоцитів та CD40 ендотеліоцитів, а також ЦК, які секретують лімфоцити й макрофаги (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  тощо), активують ЕТ, що призводить до синтезу і секреції ним численних ЦК, молекул клітинної адгезії, ферментів, хемоатрактантів тощо. В свою чергу, активовані ендотеліоцити здатні індукувати ранню

експресію CD40L(CD154) на CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитах-ефекторах [34]. Поліморфізм гена CD40 (-1C/T), а саме CC-генотип, асоціюється з розвитком гострого коронарного синдрому та ішемічного інсульту через підвищену експресію CD40 у таких індивідуумів [35, 36]. Тому CD32- та CD40-маркери ідентифікації ЦЕМ у нашому дослідженні дозволили виявити саме запальний характер ушкодження ЕТ.



**Рисунок 3 – Кореляційна залежність між значеннями показників ЦЕМ CD32<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> та TNF- $\alpha$  у хворих на АІТ у поєднанні з ІХС**

Вірогідно, АІТ потенціє формування та обтяжує перебіг АС, створюючи імунзапальне середовище, незалежно від розвитку гіпотиреозу, який є неодмінним наслідком АІТ та доведеним чинником прогресування серцево-судинної патології. Саме тому, на наш погляд, у хворих на АІТ у поєднанні з ІХС було виявлено більшу кількість ЦЕМ з ознаками запальної активації, ніж у групі порівняння.

За даними наукових досліджень, у хворих на АІТ на стадії еутиреозу концентрація TNF- $\alpha$  у крові істотно вища, ніж у хворих з гіпотиреозом.

Це пов'язують із залежністю його продукції від рівня тиреоїдних гормонів та ступеня активності імунного процесу [37, 38]. TNF- $\alpha$  є одним з найбільш потужних апоптотичних факторів і може відігравати провідну роль як у патогенезі АІТ, так і у ендотеліальному ушкодженні [39]. Це може пояснювати виявлену у нашому дослідженні значну кореляційну залежність між вмістом ЦЕМ та концентрацією TNF- $\alpha$  у сироватці крові хворих на АІТ у поєднанні з ІХС.

#### Висновки

Таким чином, патогенетичні механізми АІТ та АС обґрунтовують можливість використання спільних підходів до оцінювання перебігу та прогресування цих захворювань. Визначення кількості ЦЕМ з поверхневими антигенними маркерами активації ендотеліоцитів у поєднанні

зі вмістом TNF- $\alpha$  є сучасним високочутливим методом верифікації запального ушкодження ЕТ.

Кількість ЦЕМ, що перевищує значення  $2,5 \times 10^7$ /л, у поєднанні з TNF- $\alpha > 7,9$  пг/мл свідчить про наявність ЕД у хворих на АІТ та з атеросклеротичним ураженням судин, зокрема,



у поєднанні зі стабільною ІХС.

Є доцільним подальше вивчення запропонованої комбінації показників з метою визначення

ефективних діагностичних маркерів ЕД за різних патологічних станів та в умовах коморбідності.

### References (список літератури)

- Potapov VN, Damdindorzh Davaasuren, Idrisov EM et al. [Analysis of endothelial dysfunction in patients with autoimmune thyroiditis, depending on the functional status of thyroid]. *Siberian. Med. Journal*. 2011; 26(4), (Issue 2): 172–176.
- Berezin AE, Kremser AA. [Impact of subclinical hypothyroidism on the pattern of circulating endothelial microparticles in patients with chronic heart failure patients]. *Serce i sudini*. 2015; 4: 23–30.
- Kaidashev I.P. [Sirtuins — universal regulators of cell function] *Biopolymers and Cell*. 2012; 28 (2): 93–102.
- Kovalenko VM, Kornatsky VM. *Stres i hvoroby sistemy krovoobigu* [Stress and cardiovascular diseases] – Kiev: SI "NSC "Institute of Cardiology named after Acad. MD Strazhesko", 2015. 354 p.
- Kravchenko V.I., Postol S. [Dynamics of the incidence of thyroid pathology in Ukraine]. *Mizhnarodny endokrinologichny magazine*. 2011; 3 (35): 26–31.
- Kutsenko NL, Savchenko LG, Kaydasheva EI, et al. [Determination of circulating CD32<sup>+</sup> CD40<sup>+</sup> microparticles — modification of degradation assessment of endothelial cells]. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2011; 7: 20–23.
- Romanovskaja GA, Akatova EV, Gorokhovskaya GN et al. [Prospects for pharmacological treatment of endothelial dysfunction]. *Farmateka*. 2005; 9. Retrieved from: <http://www.pharmateca.ru/ru/archive/article/6039>.
- Petrishchev NN, Vasina LV, Vlasov TD. [Typical forms of endothelial dysfunction]. *Clin. lab. consilium*. 2007; 18: 31–36.
- Popov VV, Priyma NF, Kanavets NS. [Endothelial function in women with metabolic syndrome associated with autoimmune thyroiditis]. *Pediatrician*. 2013; 4 (4): 61–64.
- Saprin AN, Kalinin EV. [Oxidative stress and its role in apoptosis mechanisms and the development of pathological processes]. *Advances in biology and chemistry*. 1999; 39: 289–326.
- Treumova S.I. Boryak VP [The role of endothelial function of constaction of vessels in the pathogenesis of cardiovascular and bronchopulmonary pathology]. *Visnik problem biologii i medicini*. 2014; 3(109), (Issue 2): 306–309.
- Trybrat TA, Shut SV, Tretyakova LO. [Metabolic syndrome and thyroid dysfunction]. *Visnik problem biologii i medicini*. Bulletin problems of biology and medicine. 2015; 1(124), (Issue 2): P. 42–44.
- Karachentsov YU. [Fourteenth Danilevsky reading]. *Chotirnadsyati Danilevski chitannya*. [Proceedings of the conference with international participation: achievements and prospects of experimental and clinical Endocrinology]. Kharkiv, 2015, 190 p. (In Ukrainian).
- Cairins CB, Panacek EA, Harken AN. Bench to bedside: Tumor necrosis factor- $\alpha$ : From inflammation resuscitation. *Acad. Emerg. Med*. 2000; 7: 930–941.
- Friedman MH, Henderson JM, Aukerman JA et al. Effect of periodic alterations in shear on vascular macromolecular uptake. *Biorheology*. 2000; 37(4): 265–277.
- Chironi GN, Boulanger CM, Simon A. Endothelial microparticles in diseases. *Cell. Tissue Res*. 2009; 335(1): 143–151.
- Gröger M, Sarmay G, Fiebiger E. Dermal microvascular endothelial cells express CD32 receptors in vivo and in vitro. *J. Immunol*. 1996; 156(4): 1549–1556.
- Hiadovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions. *Physiol. Bohemoslov*. 1978; 27(2): 140–144.
- Lin PJ, Chang CH. Endothelium dysfunction in cardiovascular diseases. *Changcheng Yi Xue Za Zhi*. 1994; 17(3): 198–210.
- Pan L, Kreisler RA, Shi Y. Expression of endothelial cell IgG Fc receptors and markers on various cultures. *Chin Med J (Engl)*. 1999; 112(2): 157–161.
- Abid Hussein MN, Meesters EW, Osmanovic N et al. Antigenic characterization of endothelial cell-derived microparticles and their detection ex vivo. *J Thromb. Haemost*. 2003; 1(11): 2434–2443.



22. Brogan PA, Shah V, Brachet C et al. Endothelial and platelet microparticles vasculitis of the young. *Arthritis Rheum.* 2004; 50(3): 927–936.
23. VanWijk MJ, VanBavel E, Sturk A, Nieuwland R. Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res.* 2003; 59(2): 277–287.
24. Meziani F, Tesse A, Andriantsitohaina R. Microparticles are vectors of paradoxical information in vascular cells including the endothelium: role in health and diseases. *Pharmacol. Rep.* 2008; 60(1): 75–84.
25. Loyer X, Vion AC, Tedgui A, Boulanger CM. Microvesicles as cell-cell messengers in cardiovascular diseases. *Circ Res.* 2014; 114(2): 345–353.
26. Berezin AE, Kruzliak P. [Circulating endothelial apoptotic microparticles as a new marker of cardiovascular risk (literature review)] *Ukr. med. Chasopis.* 2014; 5(103): 83–87.
27. Khaitov RM *Imunologiya: structura i functiya immunoy systemi: uchebnoe posobyie* [Immunology: structure and function of the immune system: a tutorial] – Moscow: GEOTAR Media, 2013. 280 p.
28. Hedrick CC. Lymphocytes in Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015; 35(2): 253–257.
29. Tomazic V, Rose NR, Shreffler DC. Autoimmune murine thyroiditis. IV. Localization of genetic control of the immune response. *J Immunol.* 1974;112(3): 965–969.
30. Okayasu I. Transfer of experimental autoimmune thyroiditis to normal syngeneic mice by injection of mouse thyroglobulin-sensitized T lymphocytes after activation with concanavalin A. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1985; 36:101–109.
31. Petersa AL, Stunzb LL, Bishopa GA. CD40 and autoimmunity: The dark side of a great activator. *Seminars in Immunology.* 2009; 21(5): 293–300.
32. Foy TM, Aruffo A, Bajorath J et al. Immune regulation by CD40 and its ligand GP39. *Annu. Rev. Immunol.* 1996; 14: 591–617.
33. Grayanniotis G, Masters SR, Noelle RG. Suppression of murine thyroiditis via blockade of the CD40–CD40L interaction. *Immunology.* 1997; 90(3): 421–426.
34. Knolle PA. Cognate interaction between endothelial cells and T-cells. *Results Probl. Cell. Differ.* 2006; 43: 151–173.
35. Ying Maa, Shun-Xian Wang, Yun Liub et al. Single nucleotide polymorphism of CD40 in the 5'-untranslated region is associated with ischemic stroke. *Gene.* 2013; 529(2): 257–261.
36. Ming Wang, Yan Li, Wen Li et al. The CD40 Gene Polymorphism rs1883832 Is Associated with Risk of Acute Coronary Syndrome in a Chinese Case–Control Study. *DNA and Cell Biology.* 2011; 30(3): 173–178.
37. Nedospasov SA. [Tumor necrosis factor and lymphotoxin : molecular genetics , regulation and physiological role] *Genetics.* 2003; 399(2): 207–214.
38. Pekary AE, Levin SR, Johnson DG et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) inhibit the expression and activity of Na/K-ATPase in FRTL-5 rat thyroid cells. *J. Interferon Cytokine Res.* 1997; 17: 185-195.
39. Herbein G, O'brein WA. Tumor necrosis factor (TNF)  $\alpha$  and TNF receptors in viral pathogenesis. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 2000; 223: 241–257.

(received 27.05.2016, published online 28.06.2016)

(одержано 27.05.2016, опубліковано 28.06.2016)

