



ОЦЕНКА ИММУННОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ ПРИ РАЗНЫХ ФОРМАХ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Бутолина К.М., Басинский В.А.,
Ляликов С.А.**

**Гродненский государственный медицинский университет
г. Гродно, 2021**

Актуальность

- Лимфоидная инфильтрация является основным морфологическим признаком аутоиммунных поражений щитовидной железы (ЩЖ). Однако появление лимфоцитарных инфильтратов наблюдается и при другой тиреоидной патологии, в частности, при эутиреоидном узломом зобе и раке ЩЖ.
- Папиллярный рак является самой распространенной формой рака ЩЖ и окружен значительным количеством иммунореактивных клеток, которые меняют клиническую картину течения заболевания.
- Иммунные ответы врожденных и адаптивных клеток имеют решающее значение в подавлении канцерогенеза или распространении опухоли, а также в поддержании иммунной толерантности организма.



Цель.

- Дать сравнительную характеристику субпопуляций лимфоцитов при аутоиммунном тиреоидите, узловом эутиреоидном зобе, базедовом зобе и папиллярном раке щитовидной железы и оценить их роль в формировании иммунной толерантности.



Материал и методы исследования

- ❖ Исследовался операционный материал 112 щитовидных желез женщин в возрасте от 17 до 80 лет с разными формами тиреопатологии.
- ❖ Изучено 25 случаев базедова зоба (БЗ), 32 случая папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ), 26 случаев аутоиммунного тиреоидита (АИТ), 29 случаев эутиреоидного узлового зоба (ЭУЗ).
- ❖ На парафиновых срезах выполнено иммуногистохимическое исследование с использованием мышинных моноклональных антител к антигенам CD3, CD4, CD1 α , CD23, CD25, CD8 и TGF- β (фирма «Дако», Дания).



Материал и методы исследования

- ❖ Сделаны фотографии микропрепаратов цифровой камерой Leica на объективе 20× в 7 полях зрения.
- ❖ Проведена количественная оценка результатов ИГХ реакции в среде компьютерной программы «MashaCV» (свидетельство о регистрации № 452, 12.11.2012, РБ).
- ❖ Выполнен статистический анализ результатов с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (SNAХAR207F394425FA-Q).

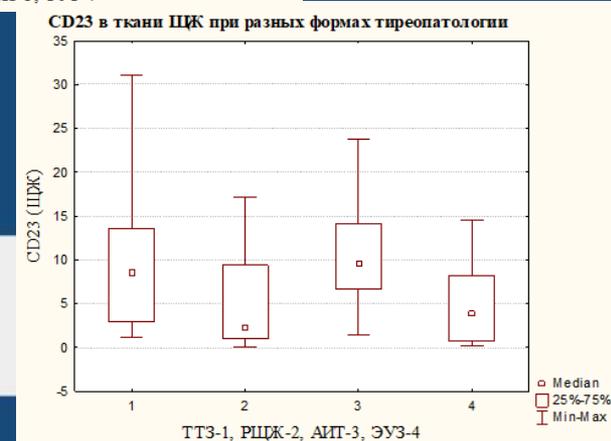
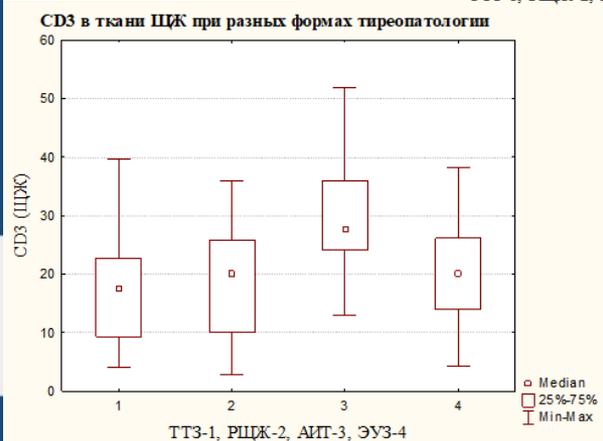
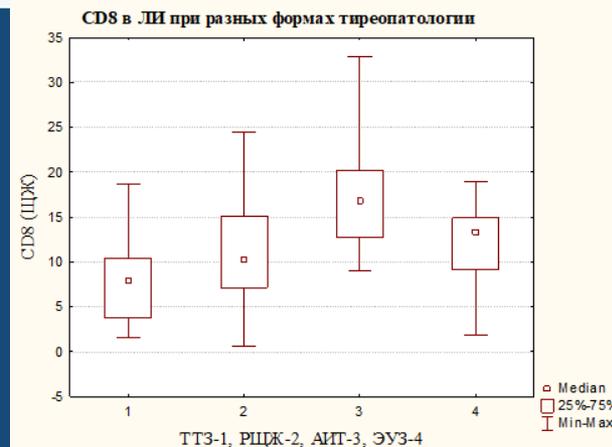
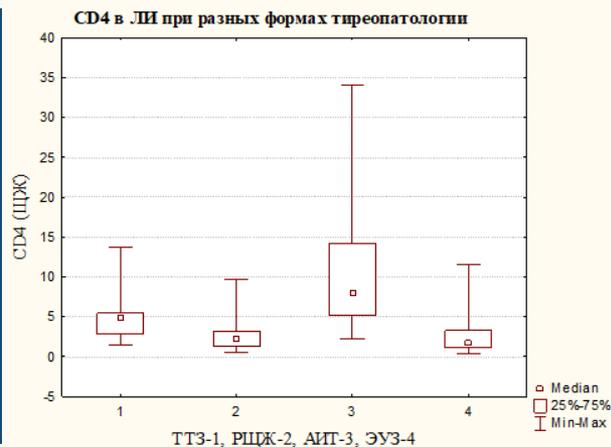


Результаты исследования



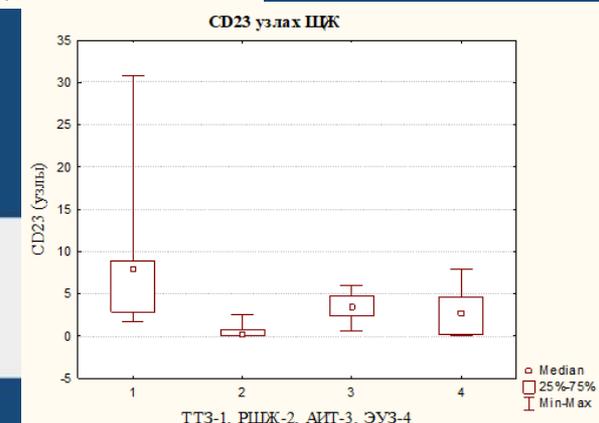
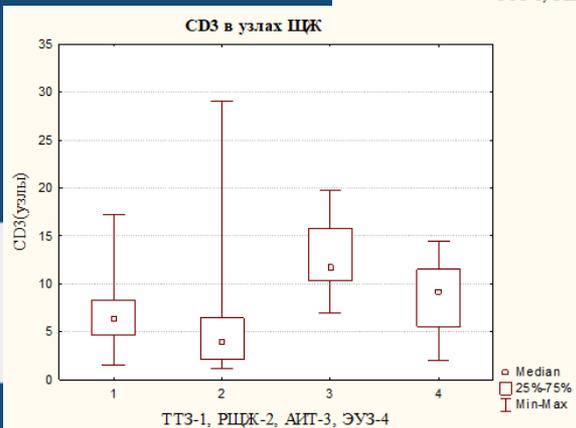
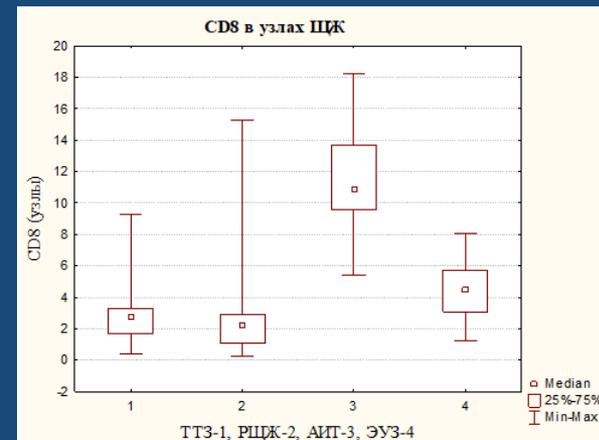
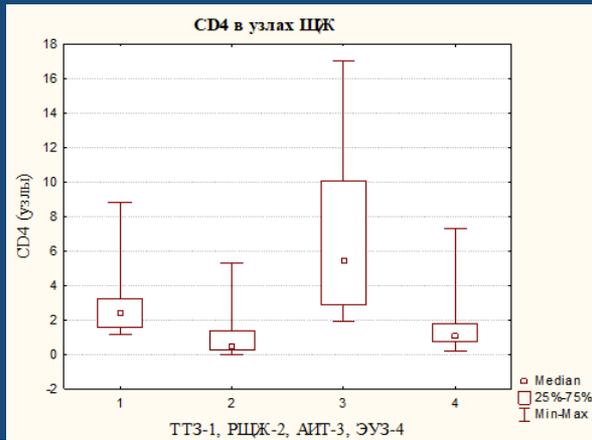
Сравнительная характеристика показателей в ткани ЩЖ

Показатель	Me(LQ;HQ)				p
	БЗ	РЩЖ	АИТ	ЭУЗ	
CD3	17,46 (9,32;22,7)	19,99 (10,0;25,8)	27,82 (24,17;35,92)	20,16 (14,0;26,1)	p < 0,001
CD23	8,48 (2,99;13,58)	2,26 (1,02;9,37)	9,53 (6,65;14,1)	3,91 (0,70;8,21)	p < 0,001
CD4	4,76 (2,88;5,45)	2,27 (1,24;3,18)	8,0 (5,17;14,21)	1,75 (1,13;3,28)	p < 0,001
CD8	7,96 (3,76;10,4)	10,31 (7,1;15,1)	16,8 (12,7;20,2)	13,28 (9,1;14,9)	p < 0,001



Сравнительная характеристика показателей в узлах

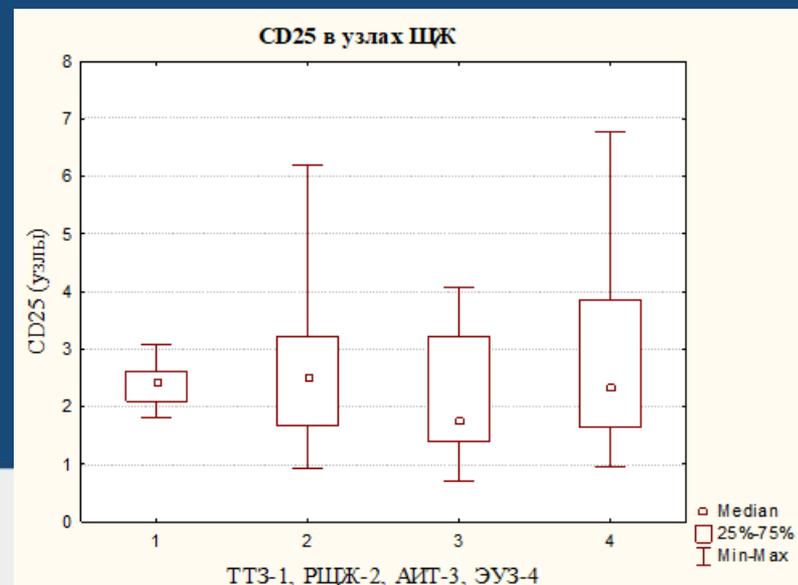
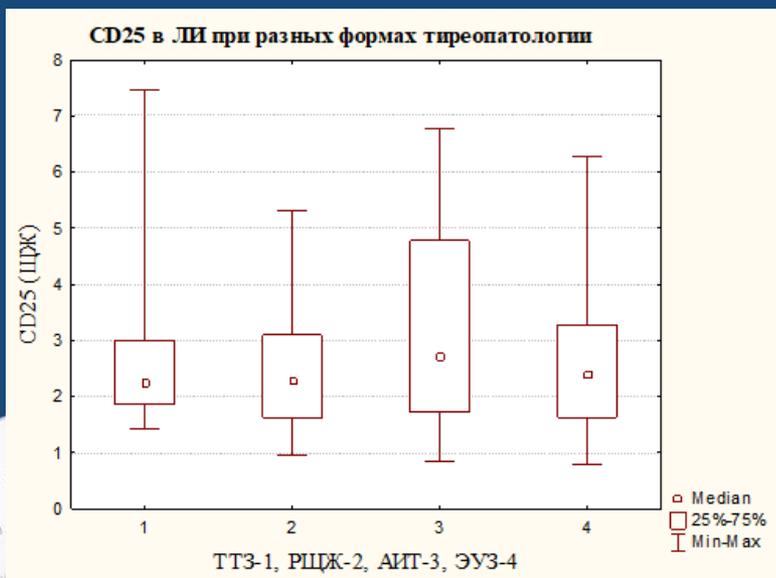
Показатель	Me(LQ;HQ)				p
	БЗ	РЦЖ	АИТ	ЭУЗ	
CD3	6,36 (4,7; 8,33)	3,96 (2,08; 6,45)	11,75 (10,39;15,78)	9,21 (5,56; 11,5)	p < 0,001
CD23	8,0 (2,87; 8,85)	0,32 (0;0,79)	3,39 (2,38; 4,75)	2,69 (0,21; 4,65)	p < 0,001
CD4	2,34 (1,54; 3,21)	0,46 (0,25; 1,39)	5,41 (2,87; 10,06)	1,06 (0,75; 1,79)	p < 0,001
CD8	2,7 (1,71; 3,29)	2,27(1,06;2,92)	10,91 (9,55; 13,7)	4,50 (3,08; 5,74)	p < 0,001



Сравнительная характеристика показателей

- По экспрессии CD25 все 4 группы практически не различались.

CD25	Me(LQ;HQ)				p
	БЗ	РЦЖ	АИТ	ЭУЗ	
Узлы	2,43 (2,1; 2,62)	2,5 (1,67;3,2)	1,75 (1,4; 3,22)	2,34 (1,65;3,86)	0,6
Ткань ЩЖ	2,24 (1,86;3,0)	2,26 (1,63;3,1)	2,71 (1,72;4,78)	2,38 (1,63;3,28)	0,67



Сравнительная характеристика показателей

- Наибольшие значения соотношений CD25/CD3, CD25/CD4, CD25/CD8 наблюдались при РЦЖ, а наименьшие при АИТ.

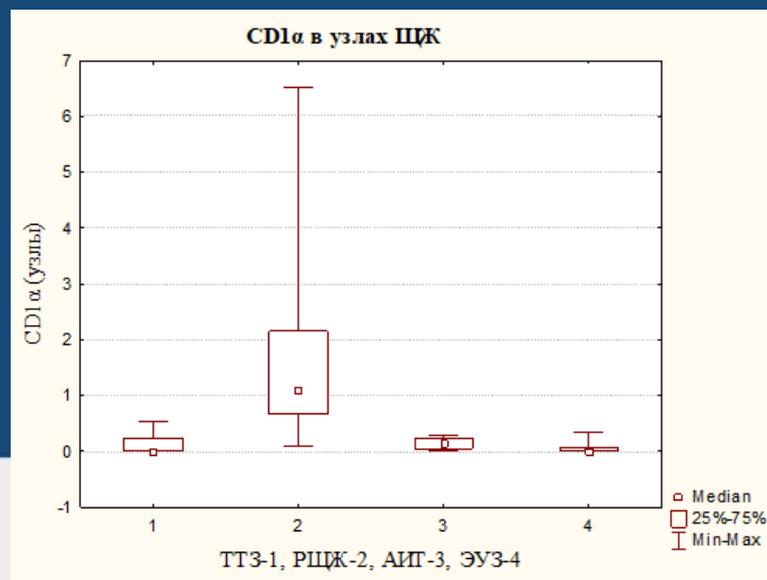
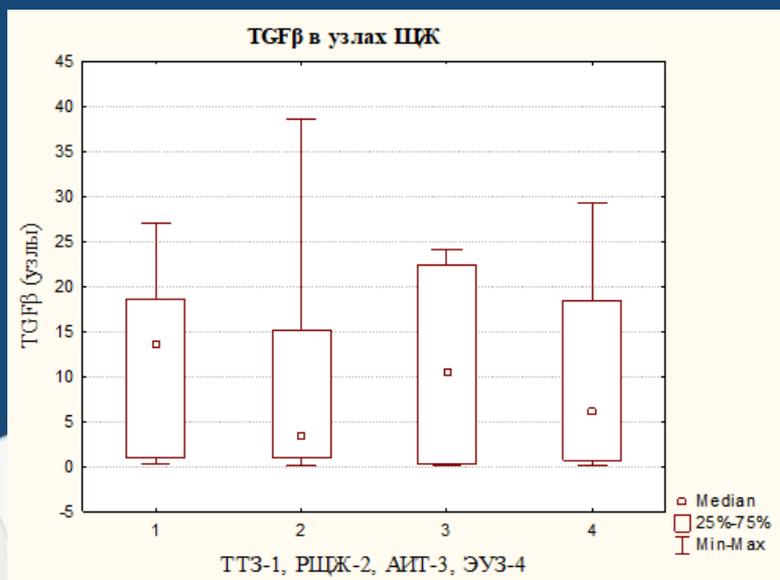
Показатели	Me(LQ;HQ)				p	
	БЗ	РЦЖ	АИТ	ЭУЗ		
CD25/CD3	Узлы	42,76 (26,3;48,59)	61,89 (36,47; 115,83)	17,49 (8,85; 24,53)	27,26 (17,36;50,32)	<0,001
	ЩЖ	16,77 (9,68;32,19)	15,48 (8,29; 20,36)	7,97 (5,66; 20,80)	12,15 (6,78;19,72)	0,1
CD25/CD4	Узлы	1,2 (0,81; 1,48)	3,45 (1,79; 6,64)	0,32 (0,18;0,64)	2,34 (1,27; 3,52)	0,001
	ЩЖ	0,5 (0,38; 0,92)	1,06 (0,70; 1,79)	0,30 (0,19;0,92)	1,52 (0,74; 2,64)	<0,001
CD25/CD8	Узлы	85,37 (65,7;125,15)	137,11 (75,3; 302,86)	18,85 (9,59; 29,78)	65,14 (39,67;80,33)	<0,001
	ЩЖ	32,11 (25,41;54,68)	23,12 (14,44; 37,47)	16,23 (12,19; 26,14)	17,53 (14,41;35,77)	0,03



Сравнительная характеристика показателей

- Самая высокая позитивность TGFβ определялась в узловых образованиях при АИТ и БЗ, самая низкая – при ПРЦЖ.
- Больше всего клеток с фенотипом CD1α было выявлено при ПРЦЖ.

Показатели	Me(LQ;HQ)				p
	БЗ	ПРЦЖ	АИТ	ЭУЗ	
CD1α	0,0 (0,0;0,24)	1,1 (0,68; 2,16)	0,00 (0; 0,07)	0,0 (0,0;0,07)	<0,001
TGFβ	13,54 (0,98; 8,56)	3,43 (0,94; 5,16)	10,51(0,35;22,34)	6,08 (0,67;18,4)	0,005



- Показатели экспрессии изучаемых маркеров в ткани ЩЖ при ЭУЗ и БЗ занимали промежуточное положение между АИТ и ПРЦЖ.

Показатель		Me(LQ;HQ)				p
		БЗ	РЦЖ	АИТ	ЭУЗ	
CD3	узлы	6,36 (4,7; 8,33)	3,96 (2,08; 6,45)	11,75 (10,39;15,78)	9,21 (5,56; 11,5)	p <0,001
	ЩЖ	17,46 (9,32;22,7)	19,99 (10,0;25,8)	27,82 (24,17;35,92)	20,16 (14,0;26,1)	p <0,001
CD23	узлы	8,0 (2,87; 8,85)	0,32 (0;0,79)	3,39 (2,38; 4,75)	2,69 (0,21; 4,65)	p <0,001
	ЩЖ	8,48 (2,99;13,58)	2,26 (1,02;9,37)	9,53 (6,65;14,1)	3,91 (0,70;8,21)	p <0,001
CD4	узлы	2,34 (1,54; 3,21)	0,46 (0,25; 1,39)	5,41 (2,87; 10,06)	1,06 (0,75; 1,79)	p <0,001
	ЩЖ	4,76 (2,88;5,45)	2,27 (1,24;3,18)	8,0 (5,17;14,21)	1,75 (1,13;3,28)	p <0,001
CD8	узлы	2,7 (1,71; 3,29)	2,27 (1,06;2,92)	10,91 (9,55; 13,7)	4,50 (3,08; 5,74)	p <0,001
	ЩЖ	7,96 (3,76;10,4)	10,31 (7,1;15,1)	16,8 (12,7;20,2)	13,28 (9,1;14,9)	p <0,001

Показатели		Me(LQ;HQ)				p
		БЗ	РЦЖ	АИТ	ЭУЗ	
CD25/ CD3	Узлы	42,76 (26,3;48,59)	61,89 (36,47; 115,83)	17,49 (8,85; 24,53)	27,26 (17,36;50,32)	<0,001
	ЩЖ	16,77 (9,68;32,19)	15,48 (8,29; 20,36)	7,97 (5,66; 20,80)	12,15 (6,78;19,72)	0,1
CD25/ CD4	Узлы	1,2 (0,81; 1,48)	3,45 (1,79; 6,64)	0,32 (0,18;0,64)	2,34 (1,27; 3,52)	0,001
	ЩЖ	0,5 (0,38; 0,92)	1,06 (0,70; 1,79)	0,30 (0,19;0,92)	1,52 (0,74; 2,64)	<0,001
CD25/ CD8	Узлы	85,37 (65,7;125,15)	137,11 (75,3; 302,86)	18,85 (9,59; 29,78)	65,14 (39,67;80,33)	<0,001
	ЩЖ	32,11 (25,41;54,68)	23,12 (14,44; 37,47)	16,23 (12,19; 26,14)	17,53 (14,41;35,77)	0,03

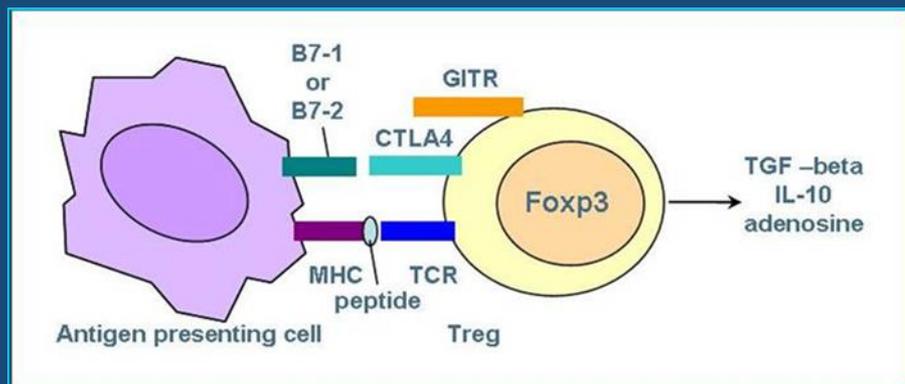
Особенности экспрессии показателей при АИТ

- обратная зависимость между экспрессией CD25 и CD3

($r_s = -0,2$, $p = 0,43$ – в узлах и $r_s = -0,43$, $p = 0,03$ – в окружающей узлы ткани ЩЖ)



- Высокая экспрессия CD25 характерна для регуляторных клеток (Treg). Связывая этой молекулой свободный IL2, Treg подавляют пролиферацию праймированных Т-лимфоцитов.
- и, как полагают, подавляют В-клетки и дендритные клетки. Treg продуцируют цитокины, обладающие подавляющей функцией, включая TGF-бета, IL-10 и аденозин.

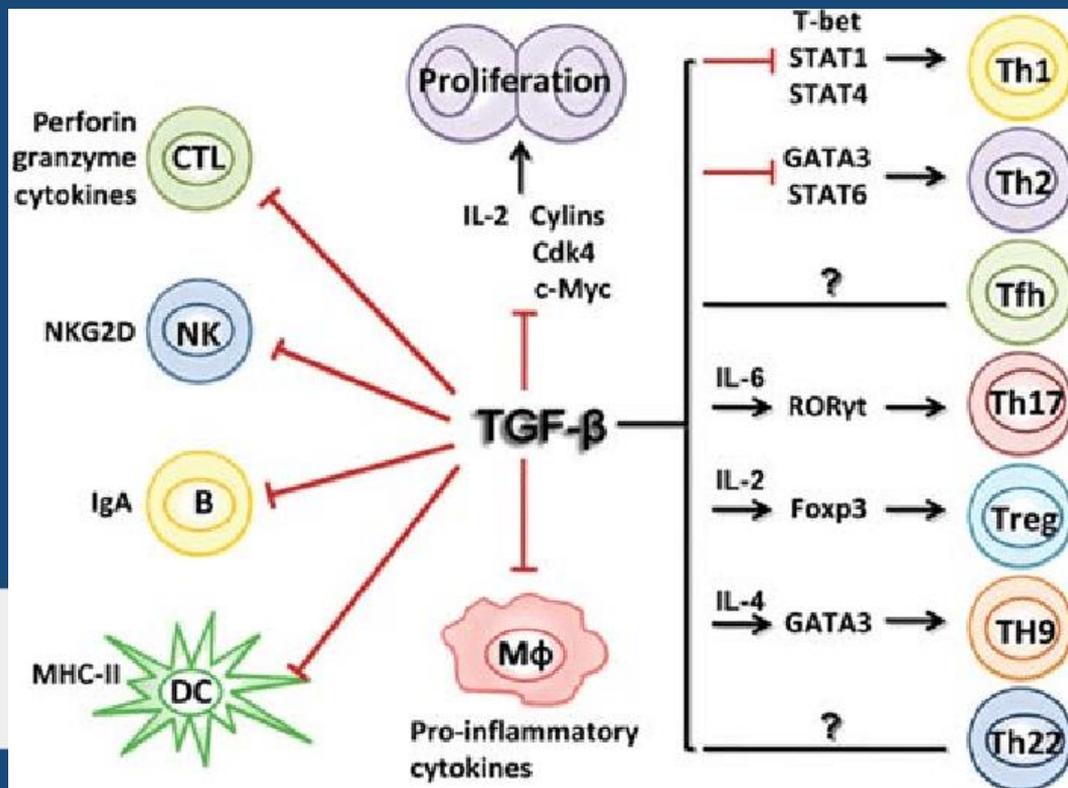


Особенности экспрессии показателей при АИТ

- Наличие корреляционной связи между экспрессией CD25 и позитивностью TGF β

($r_s = 0,57$, $p = 0,03$ – в узлах и $r_s = -0,46$, $p = 0,03$ – в окружающей узлы ткани ЩЖ).

- TGF β подавляет дифференцировку, пролиферацию и функцию Th1, Th2 и, вероятно, фолликулярных Th.



Особенности экспрессии показателей при АИТ

- доля регуляторных клеток среди общего количества (CD25/CD3) и отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов (CD25/CD4, CD25/CD8) при АИТ значимо меньше, чем при остальных изученных патологиях



- поэтому эффективность процесса формирования толерантности к собственным антигенам низкая, что проявлялось наиболее выраженной лимфоцитарной инфильтрацией ЩЖ.

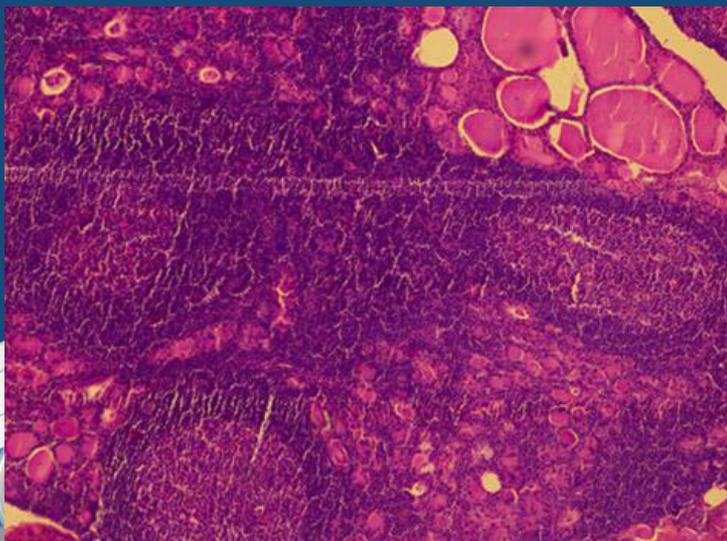


Рис.1 Лимфоидная инфильтрация в ткани щитовидной железы при АИТ

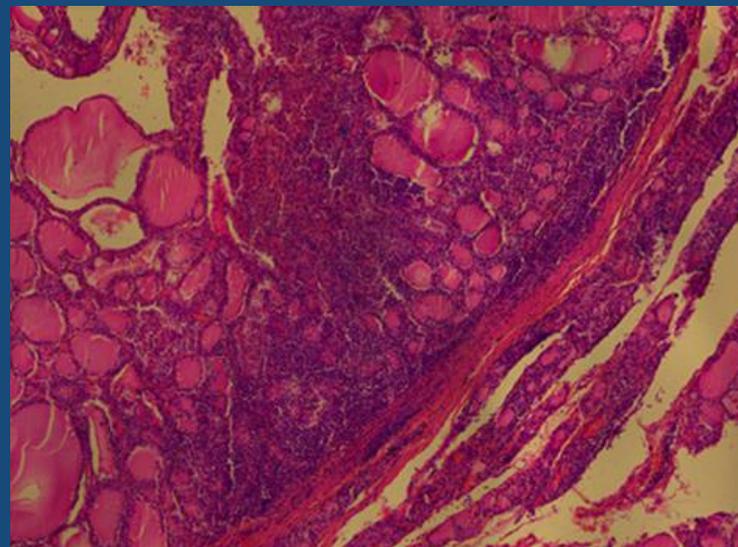


Рис.2 Лимфоидная инфильтрация в ткани щитовидной железы при ЭУЗ

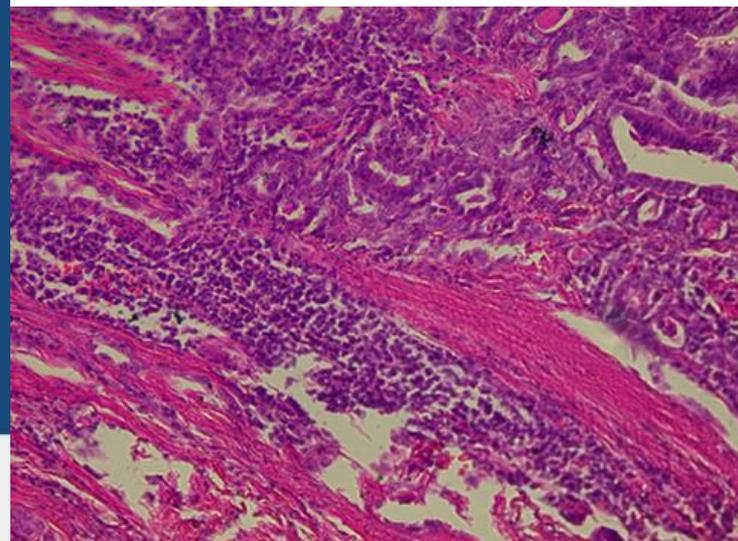
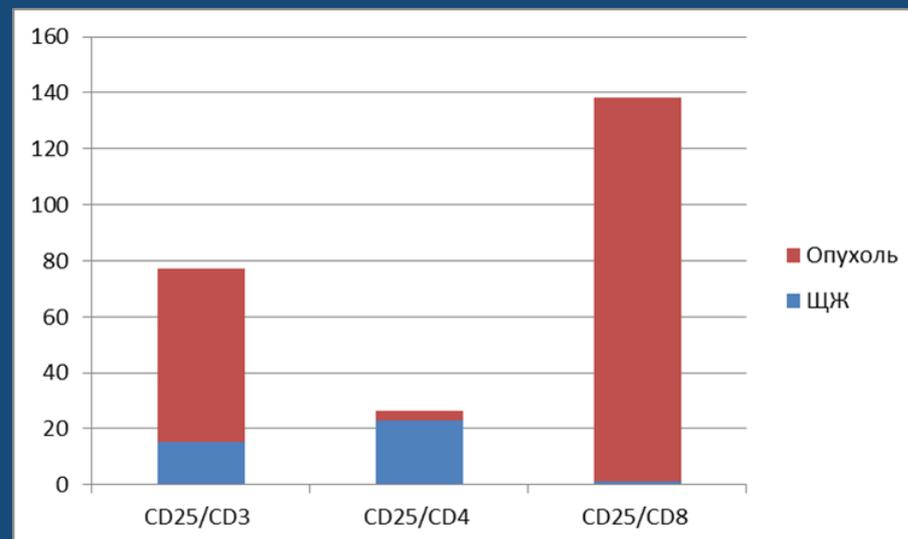
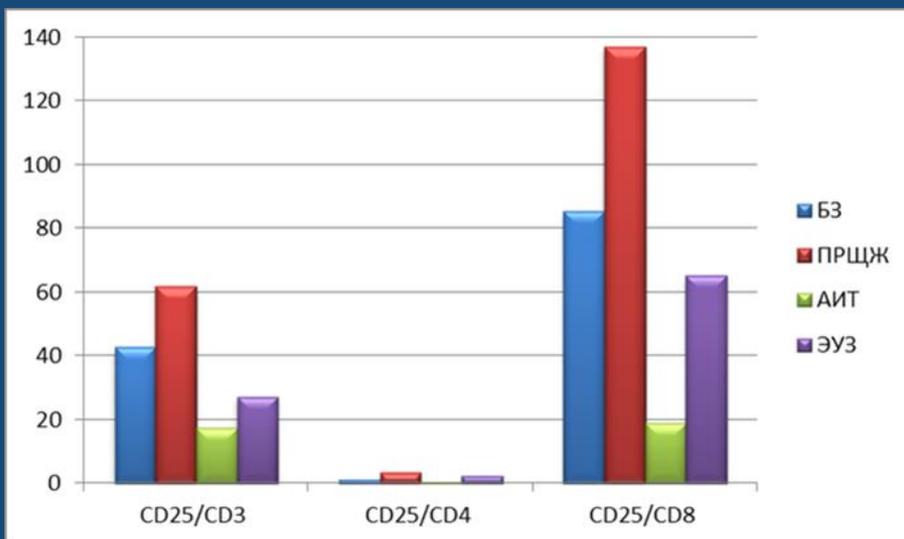


Рис.3 Лимфоидная инфильтрация в ткани щитовидной железы при ПРЦЖ



Особенности экспрессии показателей при ПРЦЖ

- доля регуляторных клеток от числа субпопуляций Т-лимфоцитов при ПРЦЖ была наибольшей
- причем в опухоли она была значимо выше, чем в окружающей ткани ЦЖ.



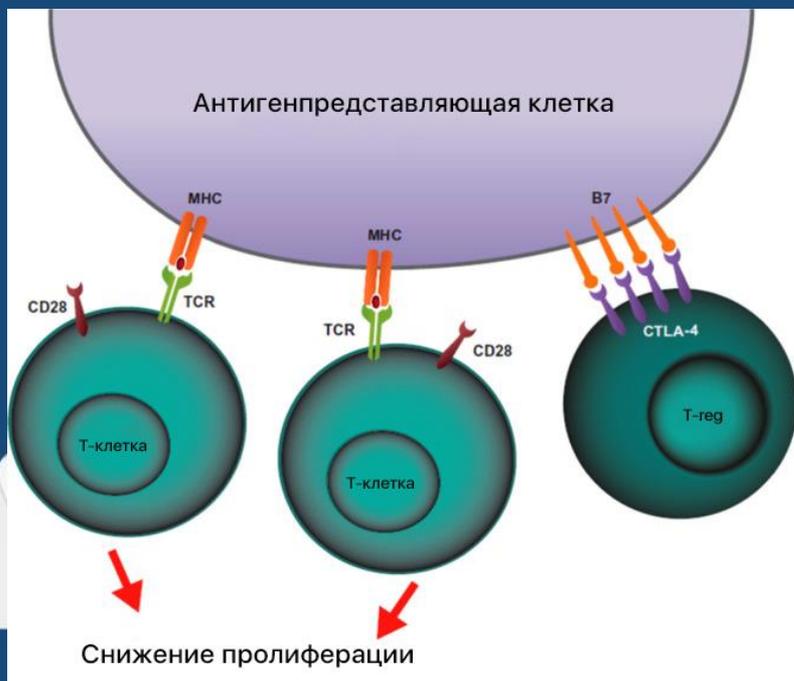
Особенности экспрессии показателей при ПРЦЖ

- Отношение числа регуляторных клеток к количеству клеток с фенотипом CD3+ коррелировало со стадией рака (pT) ($r_s=0,34$, $p=0,05$) и агрессивностью течения заболевания: прорастанием капсулы ЩЖ ($r_s=0,42$, $p=0,02$).
- Супрессивный эффект регуляторных клеток иллюстрировался более низкой лимфоцитарной инфильтрацией опухоли и окружающей ее ткани ЩЖ, а также тем фактом, что при самых высоких значениях коэффициентов CD25/CD3, CD25/CD4, CD25/CD8 не образовывались лимфоидные фолликулы.



Особенности экспрессии показателей при ПРЦЖ

- Низкий уровень позитивности TGF β наряду с наиболее высокой экспрессией CD1 α (причем соотношение CD1 α /CD3 при ПРЦЖ на 2-3 порядка выше, чем при других заболеваниях)



- Это может свидетельствовать, что основной механизм иммуносупрессии при ПРЦЖ связан с экспрессией регуляторными клетками молекулы CTLA-4.
- При взаимодействии Treg с дендритной клеткой молекулы CTLA-4 связываются с CD80 и CD86. Так как CTLA-4 обладает большей афинностью к CD80, CD86, чем CD28 – T-лимфоциты не могут получить второй (костимуляционный) сигнал.
- Более того дендритная клетка после такого взаимодействия утрачивает способность экспрессировать молекулы CD80 и CD86.
- Без второго сигнала наивные лимфоциты, распознавшие антигены на такой дендритной клетке, погибают, клетки памяти – становятся анергичными и теряют способность к пролиферации.

Выводы

- 1. При папиллярном раке щитовидной железы наблюдается избыточная иммунная толерантность, реализуемая регуляторными и дендритными клетками, проявляющаяся нарушением пролиферации и активации лимфоцитов, что приводит к неспособности развить иммунный ответ против клеток, презентующих продукты мутантных генов и неклассические молекулы МНС.
- 2. При аутоиммунном тиреоидите имеет место дефицит толерантности, обусловленный относительной недостаточностью регуляторных клеток.
- 3. Показатели иммунных пейзажей в ткани щитовидной железы при эутиреоидном узловом зобе и базедовом зобе имеют промежуточные значения между аутоиммунным тиреоидитом и папиллярным раком, причем по показателям CD3+ и CD8+, а также соотношения CD8/CD3, CD25/CD3 и CD25/CD8 при эутиреоидном узловом зобе они ближе к аутоиммунному тиреоидиту, а при базедовом зобе – к папиллярному раку.



**Спасибо за
внимание**

