

ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФАЗАХ АКТИВНОСТИ ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ

Таскина Е.С.,
Харинцева С.В.,
Караваяева Т.М.

ФГБОУ ВО «Читинская
государственная медицинская академия»
Минздрава России (672000, г. Чита,
ул. Горького, 39а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Таскина Елизавета Сергеевна,
e-mail: taskins@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) является экстракореоидным осложнением дисфункции щитовидной железы, характеризующимся хроническим аутоиммунным воспалением мягких ретробульбарных тканей. Данные по изучению роли окислительного и гипоксического стресса при ЭОП неоднородны, что обуславливает необходимость дальнейшего их исследования.

Цель исследования. Оценить показатели оксидативного стресса и тканевой гипоксии при различных фазах активности эндокринной офтальмопатии.

Материалы и методы. Проведено клинко-инструментальное и лабораторное обследование пациентов с ЭОП ($n = 32$), с аутоиммунной патологией щитовидной железы ($n = 18$) и здоровых лиц ($n = 15$). Исследование включало офтальмологическое обследование и забор крови на определение концентрации антител к рецептору тиреотропного гормона, интерлейкина 17А (ИЛ-17А), гипоксия-индуцибельного фактора 1а (HIF-1а, hypoxia-inducible factor 1а), ТБК-активных продуктов и расчёт общей антиоксидантной активности (ОАО).

Результаты исследования. Выявлено повышение концентрации ТБК-активных продуктов в клинической группе по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Показатель ОАО снижен при всех фазах активности ЭОП в сравнении с контрольной группой ($p < 0,001$). Уровень HIF-1а не имел различий в группах исследования ($H = 3,29$; $p = 0,51$). Выявлены прямые умеренные связи между концентрацией ИЛ-17А и уровнем ТБК-активных продуктов ($p = 0,001$), а также обратные умеренные связи – со значением ОАО ($p = 0,007$). Активность ЭОП по Clinical Activity Score имела слабые обратные связи с ОАО ($p < 0,001$). Статистически значимые зависимости между показателями окислительного стресса и тканевой гипоксии не обнаружены.

Заключение. При ЭОП независимо от фазы активности наблюдается нарушение баланса между параметрами системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита», которое проявляется увеличением ТБК-активных продуктов при одновременном уменьшении ОАО. Показатели тканевой гипоксии не имели различий в группах исследования. Выявленные связи между показателями активности аутоиммунного воспаления в орбите и оксидативным стрессом подчёркивают патогенетическую обусловленность назначения антиоксидантных препаратов в терапии ЭОП.

Ключевые слова: эндокринная офтальмопатия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, гипоксия-индуцибельный фактор 1а, антитела к рецептору тиреотропного гормона, интерлейкин 17А

Статья поступила: 07.12.2023
Статья принята: 10.10.2024
Статья опубликована: 22.11.2024

Для цитирования: Таскина Е.С., Харинцева С.В., Караваяева Т.М. Показатели оксидативного стресса и тканевой гипоксии при различных фазах активности эндокринной офтальмопатии. *Acta biomedica scientifica*. 2024;9(5): 66-74. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.7

INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS AND TISSUE HYPOXIA IN VARIOUS PHASES OF GRAVES' ORBITOPATHY ACTIVITY

Taskina E.S.,
Kharintseva S.V.,
Karavaeva T.M.

Chita State Medical Academy
(Gorkogo str. 39A, Chita 672000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Elizaveta S. Taskina,
e-mail: taskins@yandex.ru

ABSTRACT

Graves' orbitopathy (GO) is an extrathyroid complication of thyroid dysfunction characterized by chronic autoimmune inflammation of soft retrobulbar tissues. The data on the role of oxidative and hypoxic stress in GO are heterogeneous, which necessitates further research.

The aim of the study. To evaluate the indicators of oxidative stress and tissue hypoxia at various phases of Graves' orbitopathy activity.

Material and methods. Examination of patients with GO ($n = 32$), with autoimmune thyroid pathology ($n = 18$) and healthy individuals ($n = 15$) was performed. The study included ophthalmological examination and blood sampling to determine the concentration of antibodies to the thyroid-stimulating hormone receptor, interleukin 17A (IL-17A), hypoxia inducible factor 1a (HIF-1a), TBK-active products and calculation of total antioxidant activity.

Results. An increase in the concentration of TBK-active products in the clinical group was revealed compared with the control ($p < 0.001$). The total antioxidant activity was reduced at all phases of GO activity than in the control ($p < 0.001$). The level of HIF-1a did not differ in the study groups ($H = 3.29$; $p = 0.51$). Direct moderate correlations were found between the concentration of IL-17A and the level of TBA-active substances ($p = 0.001$), as well as inverse moderate correlations with the value of total antioxidant activity ($p = 0.007$). The activity of GO had weak correlations with total antioxidant activity ($p < 0.001$). Significant correlations between indicators of oxidative stress and tissue hypoxia were not found.

Conclusion. In GO, regardless of the activity phase, there is an imbalance between the parameters of the "lipid peroxidation – antioxidant protection" system, which is manifested by an increase in TBA-active substances while reducing the total antioxidant activity. The indicators of tissue hypoxia did not differ in the study groups. The revealed correlations between the autoimmune inflammation activity in the orbit and oxidative stress emphasize the pathogenetic conditionality of the antioxidant drugs appointment in the therapy of GO.

Key words: Graves' orbitopathy, lipid peroxidation, antioxidant activity, hypoxia inducible factor 1a, antibodies to the thyroid-stimulating hormone receptor, interleukin 17A

Received: 07.12.2023
Accepted: 10.10.2024
Published: 22.11.2024

For citation: Taskina E.S., Kharintseva S.V., Karavaeva T.M. Indicators of oxidative stress and tissue hypoxia in various phases of Graves' orbitopathy activity. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 66-74. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.7

ОБОСНОВАНИЕ

Согласно современным представлениям, эндокринная офтальмопатия (ЭОП) рассматривается как экстра-тиреоидное осложнение дисфункции щитовидной железы, характеризующееся лимфоцитарной инфильтрацией, отёком и ремоделированием глазодвигательных мышц и/или орбитальной клетчатки [1, 2]. При длительном течении заболевания возможно фиброзирование мягких ретробульбарных тканей с формированием стойкого проптоза, страбизма и бинокулярной диплопии, что оказывает существенное негативное влияние на психическое здоровье, социально-экономический статус и на качество жизни пациентов в целом [3].

Недавние исследования показали, что активированные фибробласты мягких ретробульбарных тканей обладают свойствами стволовых клеток и играют ключевую роль в развитии и прогрессии ЭОП. На мембране их клеток экспрессируются матричные РНК, кодирующие внеклеточную часть патологического рецептора тиреотропного гормона, который рассматривается иммунной системой как антиген. Под влиянием антител к рецептору тиреотропного гормона (АТ рТТГ), различных провоспалительных цитокинов и ростовых факторов происходит активация двух функционально и фенотипически неоднородных фибробластов орбиты: профибротической субпопуляции (CD90⁺), секретирующих избыточное количество компонентов межклеточного матрикса (гликозаминогликаны, коллаген, эластин и фибронектин) и проадипогенной (CD90⁻) субпопуляции, запускающей процесс адипогенеза в орбите [4].

В патогенезе многих аутоиммунных заболеваний важное значение отводят интерлейкину 17 (ИЛ-17), который обладает мощным провоспалительным эффектом и ускоряет миграцию, подвижность, пролиферацию и дифференцировку мезенхимальных клеток, в том числе и фибробластов орбиты [5, 6]. Определение концентрации АТ рТТГ и наиболее активной изоформы А ИЛ-17 (ИЛ-17А) в сыворотке крови может быть использовано как лабораторный диагностический критерий иммуновоспалительной активности ЭОП [6].

Аутоиммунное воспаление в орбите при ЭОП начинается отёком и лейкоцитарной инфильтрацией, а при хронизации процесса происходит постепенное ремоделирование мягких ретробульбарных тканей с развитием фиброза. Патогенетический механизм сложен и многофакторен [1, 2, 4]. Накапливающиеся данные свидетельствуют об участии локального гипоксического и окислительного стресса в патогенезе ЭОП. Курение сигарет как основной фактор риска развития данной патологии индуцирует образование активных форм кислорода, окислительное повреждение и активацию орбитальных фибробластов [7]. Последнее время активно исследуется патогенетическая роль восприимчивого к кислороду протеинового комплекса – гипоксия-индуцибельного фактора 1α (HIF-1α, hypoxia-inducible factor 1α), который обеспечивает стремительный отклик на локальную тканевую гипоксию, индуцируя гены, отвечающие за регуляцию ангиогенеза, вазомоторного кон-

троля, эритропоэза, клеточного энергетического метаболизма и апоптоза. Также гипоксия может поддерживать локальное воспаление, привлекая воспалительные клетки, такие как макрофаги [8]. Данные по изучению роли окислительного стресса и гипоксии с одновременной активацией аутоиммунитета при ЭОП противоречивы, что обуславливает необходимость дальнейшего изучения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить показатели оксидативного стресса и тканевой гипоксии при различных фазах активности эндокринной офтальмопатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в отделении офтальмологии клинко-диагностического подразделения диагностической поликлиники клиники ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, отделения офтальмологии ГУЗ «Краевая клиническая больница № 1» (Чита) и в лаборатории биохимии Научно-исследовательского института молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Для достижения поставленной цели обследовано 65 человек. Сформированы 3 группы исследования: пациенты с ЭОП средней степени тяжести различных фаз активности (клиническая группа; $n = 32$); пациенты с аутоиммунной патологией щитовидной железы без ЭОП (группа сравнения; $n = 18$); здоровые лица, сопоставимые по возрастным и гендерным параметрам (контрольная группа; $n = 15$). Для оценки тяжести ЭОП использованы классификации NOSPECS (No physical signs or symptoms, Only signs, Soft tissue involvement, Proptosis, Extraocular muscle signs, Corneal involvement, and Sight loss), EUGOGO (European Group of Graves' Orbitopathy) [9, 10].

В исследование вошло 65 человек (24 мужчины и 41 женщина: 130 глаз) в возрасте 43 [35; 50] лет. Сформированы группа сравнения с патологией щитовидной железы без ЭОП ($n = 18$) и клиническая группа с активной и неактивной фазами ЭОП средней степени тяжести ($n = 32$). Контрольная группа включала 15 человек, сопоставимых по полу и возрасту (табл. 1).

Пациенты клинической группы распределены на две подгруппы: активная ЭОП (до и после проведения пульс-терапии глюкокортикоидами (ГК)) – 1-я подгруппа ($n = 15$); неактивная ЭОП в стадии фиброза глазодвигательных мышц и ретробульбарной клетчатки – 2-я подгруппа ($n = 17$). Критерии распределения пациентов клинической группы на подгруппы: степень активности по шкале Clinical Activity Score (CAS) в баллах [11] и стаж заболевания в месяцах, а также состояние глазодвигательных мышц и ретробульбарной клетчатки по данным компьютерной томографии орбит. Величины АТ рТТГ и ИЛ-17А в сыворотке крови использова-

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ В ГРУППАХ
ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF PATIENTS IN THE STUDY GROUPS

Параметры	Контрольная группа (n = 15)	Группа сравнения (n = 18)	Клиническая группа (n = 32)		Неактивная ЭОП (n = 17)	Тестовая статистика
			Активная ЭОП (n = 15)			
			до лечения ГК	после лечения ГК		
Возраст, годы	43 [33; 47]	45 [40; 49]	46 [35; 52]	46 [35; 52]	46 [35; 51]	H = 2,11 df = 2 p = 0,715
Стаж ЭОП, месяцы	0 [0; 0]	0 [0; 0]	3 [3; 5]	5 [5; 6]	24 [19; 25]	H = 36,21 df = 2 p < 0,001
CAS, баллы	0 [0; 0]	0 [0; 0]	4 [4; 5]	2 [2; 2]	1 [0; 2]	H = 69,26 df = 2 p < 0,001

Примечание. n – количество наблюдений в группах; ГК – пульс-терапия глюкокортикоидами; CAS – Clinical Activity Score.

ны как лабораторные диагностические критерии, характеризующие активность ЭОП [6].

Проведено клиничко-инструментальное и лабораторное обследование пациентов, включающее комплексный офтальмологический осмотр (опрос, осмотр органа зрения, экзофтальмометрия, биомикроскопия переднего отрезка глаза, авторефрактометрия, визометрия, периметрия, тонометрия, непрямая офтальмоскопия), определение концентрации АТ рТТГ, ИЛ-17А, ИЛ-1α, ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) и расчёт общей антиоксидантной активности (ОАО) сыворотки крови. Подгруппу пациентов с активной ЭОП обследовали двукратно – до и после проведения пульс-терапии ГК (суммарная нагрузочная доза 6–8 мг метилпреднизолона).

Кровь забирали в 8:00 часов утра из вены, натощак, в положении исследуемых сидя. Уровни АТ рТТГ (MEDIPAN GMBH, Германия), ИЛ-17А (Cloud-Clone Corp., США), ИЛ-1α (Cloud-Clone Corp., США) в сыворотке крови определяли методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа, содержание ТБК-АП исследовали с помощью теста Л.И. Андреевой [12], АОА – по методу М.Ш. Промыслова и соавт. [13].

В исследование включались пациенты старше 18 лет с подтверждённой аутоиммунной патологией щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит и диффузный токсический зоб) и/или диагнозом ЭОП средней степени тяжести. Все пациенты, включённые в исследование, имели компенсированный тиреоидный статус. В контрольную группу входили лица, считавшие себя практически здоровыми, не принимающие лекарственные препараты на момент обследования, с нормальным психосоматическим состоянием и обследованные смежными специалистами в порядке диспансеризации. Критерии исключения из исследования: системные аутоиммунные заболевания; инфекционные заболевания; сахарный диабет; болезни орбиты другой этиологии; онкологические

заболевания; тяжёлая соматическая патология, препятствующая проведению дальнейшего исследования; беременность и лактация.

Исследование одобрено на заседании локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 81 от 28.10.2016). Все клиничко-инструментальные и лабораторные обследования у пациентов выполнены с их информированного добровольного согласия и соответствовали предъявляемым Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации этическим принципам проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта (World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects) 2013 г.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics, version 25.0 (IBM Corp., США). Описание выборки производили с помощью подсчёта средней и медианы с интерквартильным размахом в виде 25-го и 75-го перцентилей (Me [25; 75]). Для сравнения независимых групп использовался Н-критерий Краскела – Уоллиса, попарное сравнение независимых групп проводили с помощью U-критерия Манна – Уитни с учётом поправки Бонферрони ($p < 0,0125$), а зависимых групп – с использованием Z-критерия Вилкоксона. Характер корреляционных взаимосвязей между показателями рассчитывали с использованием коэффициента корреляции Спирмена r . Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока. Показатели анализировали при помощи критерия хи-квадрат (χ^2) с поправкой на правдоподобие. Вычисляли относительный риск (ОР) развития активной фазы ЭОП при повышении концентрации лабораторных показателей в сыворотке крови при значении 95%-го доверительного интервала (95% ДИ). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание АТ рТТГ в сыворотке крови в контроле составило 0,01 [0; 0,27] МЕд/л. У пациентов с патологией щитовидной железы обнаружено, что титр данных антител не имел статистически значимых различий ($p = 0,53$) по сравнению с контрольной группой. Значение АТ рТТГ статистически значимо выше в клинической группе с ЭОП ($p < 0,001$), чем в группе сравнения и контроля. У всех пациентов с активной фазой ЭОП выявлено максимальное увеличение АТ рТТГ – до 16,9 [7,78; 24,4] МЕд/л. После пульс-терапии метилпреднизолоном титр данных антител снижается на 93,13 % ($p < 0,001$) по сравнению с активной фазой ЭОП до лечения. В группе с неактивной фазой в стадии фиброза мягких ретробульбарных тканей содержание данных антител уменьшается до 0,51 [0,25; 0,82] МЕд/л (табл. 2).

Концентрация в сыворотке крови ИЛ-17А у пациентов группы контроля составила 1,27 [0; 2,33] пг/мл. Выявлено увеличение данного интерлейкина в 7,8 раза в группе с патологией щитовидной железы и в 5,3 раза в группе с активной фазой ЭОП до лечения по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). После проведения пульс-терапии ГК уровень ИЛ-17А приближался к нулевому показателю и составил 0 [0; 2,18] пг/мл ($p < 0,001$). В группе пациентов с неактивной фазой ЭОП в стадии фиброза глазодвигательных мышц и/или орбитальной клетчатки вновь отмечается повышение ИЛ-17А до референсных значений контрольной группы ($p = 0,117$) (табл. 2). Полученные данные по концентрации в сыворотке крови АТ рТТГ и ИЛ-17А подтверждают корректность распределения пациентов по группам исследования [6].

Содержание ТБК-АП в группе контроля составило 3,56 [3,36; 3,57] мкмоль/л. Выявлено увеличение концентрации ТБК-АП в группе с патологией щитовидной железы без ЭОП в 2,07 [1,78; 2,66] раза, а у пациентов с активной ЭОП до лечения – в 1,88 [1,56; 2,16] раза по сравнению с контролем ($p < 0,001$). В группе пациентов с ЭОП после пульс-терапии метилпреднизолоном концентрация данного показателя не имела статистически значимых различий со значениями до лечения ($p = 0,683$) и была в 1,63 [1,67; 2,04] раза выше по сравнению с контролем ($p < 0,001$). У пациентов с неактивной ЭОП в стадии фиброза содержание ТБК-АП составило 5,83 [4,89; 6,45] мкмоль/л, что в 1,64 [1,45; 1,8] раза больше референсных значений группы контроля ($p < 0,001$) (табл. 2).

АОА сыворотки крови в контрольной группе составила 10,2 [10,15; 10,36] %. Установлено статистически значимое снижение АОА в группе сравнения в 1,25 [1,4; 1,15] раза, а в группе с активной ЭОП до лечения – в 1,22 [1,36; 1,23] раза в сравнении с контролем ($p < 0,001$). После проведения пульс-терапии ГК значение АОА достигло 7,34 [7,2; 9,14] %, но не имело статистически значимых различий со значениями до лечения ($p = 0,345$). В группе с неактивной ЭОП в стадии фиброза отмечается, что АОА сыворотки крови снижена до 8,45 [7,39; 8,56] %, что в 1,2 [1,37; 1,21] раза меньше значений контрольной группы ($p < 0,001$) (табл. 2).

Все пациенты с активной фазой ЭОП (15/15) до лечения метилпреднизолоном имели положительный титр АТ рТТГ в сыворотке крови выше или равный 1,5 МЕд/л ($\chi^2 = 33,03$; $p < 0,001$). Распространённость пациентов с активной ЭОП и содержанием ИЛ-17А выше 3,5 пг/мл составила 75 % (11/15) ($\chi^2 = 19,21$; $p < 0,001$).

Число пациентов с ЭОП и титром АТ рТТГ в сыворотке крови, выше или равным 1,5 МЕд/л, и содержанием ТБК-АП выше или равным 6 мкмоль/л составило 34 % (16/47), а с титром АТ рТТГ ниже 1,5 МЕд/л и содержанием ТБК-АП ниже 6 мкмоль/л – 42,5 % (20/47) ($\chi^2 = 13,16$; $p < 0,001$). Число пациентов с ЭОП и титром АТ рТТГ в сыворотке крови выше или равным 1,5 МЕд/л и значением АОА менее 8,25 % составило 25,5 % (12/47), а с титром АТ рТТГ ниже 1,5 МЕд/л и АОА более или равной 8,25 % – 51 % (24/47) ($\chi^2 = 11,75$; $p < 0,001$).

Число пациентов с ЭОП и уровнем в сыворотке крови ИЛ-17А выше или равным 3,5 пг/мл и концентрацией ТБК-АП выше или равной 6 мкмоль/л составило 38 % (18/47), а с уровнем ИЛ-17А ниже 3,5 пг/мл и ТБК-АП ниже 6 мкмоль/л – 22 % (13/47) ($\chi^2 = 6,59$; $p = 0,01$). Число пациентов с ЭОП и уровнем в сыворотке крови ИЛ-17А выше или равным 3,5 пг/мл и значением АОА менее 8,25 % составило 32 % (15/47), а с содержанием ИЛ-17А ниже 3,5 пг/мл и АОА более или равной 8,25 % – 36 % (17/47) ($\chi^2 = 9,34$; $p = 0,002$).

Частота регистрации пациентов с активной фазой ЭОП ($CAS \geq 3$) и концентрацией ТБК-АП выше или равной 6 мкмоль/л в сыворотке крови составила 32 % (15/47), а с неактивной ЭОП ($CAS < 3$) и уровнем ТБК-АП ниже 6 мкмоль/л – 36 % (17/47) ($\chi^2 = 7,97$; $p = 0,004$). Повышение концентрации ТБК-АП до уровня выше или равного 6 мкмоль/л увеличивает риск развития активной ЭОП в 3,7 раза (95% ДИ: 1,23–11,08).

Распространённость пациентов с активной фазой ЭОП ($CAS \geq 3$) и снижением АОА менее 8,25 % составила 34 % (16/47), а с неактивной ЭОП ($CAS < 3$) и АОА более или равной 8,25 % – 36 % (17/47) ($\chi^2 = 9,34$; $p = 0,002$). Понижение АОА сыворотки крови менее 8,25 % увеличивает риск развития активной ЭОП в 3,95 раза (95% ДИ: 1,33–11,74).

Концентрация HIF-1 α в контрольной группе составила 0,96 [0,68; 1,15] нг/мл. При сравнении групп исследования данный показатель не имел статистически значимых различий ($H = 3,29$; $df = 2$; $p = 0,51$) (табл. 2).

При проведении корреляционного анализа установлены статистически значимые заметные прямые связи ($r = 0,689$; $p < 0,001$) между титром АТ рТТГ и концентрацией ИЛ-17А, а также высокие прямые связи ($r = 0,766$; $p < 0,001$) с активностью заболевания по CAS (табл. 3), что демонстрирует правильность формирования групп исследования [6].

Наличие статистически значимых заметных прямых связей ($r = -0,709$; $p < 0,001$) между концентрацией ТБК-АП и значением АОА показывает корректность лабораторного расчёта данных параметров (табл. 3).

Дальнейшим этапом исследования была оценка корреляционных связей показателей системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» с пара-

ТАБЛИЦА 2

КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИТЕЛ К РЕЦЕПТОРУ
ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА, ИНТЕРЛЕЙКИНА 17А,
ТБК-АКТИВНЫХ ПРОДУКТОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ
АКТИВНОСТИ И ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНОГО
ФАКТОРА 1А В ГРУППАХ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 2

CONCENTRATION OF ANTIBODIES
TO THYROID-STIMULATING HORMONE RECEPTOR,
INTERLEUKIN 17A, TBA-ACTIVE SUBSTANCES,
ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND HYPOXIA-INDUCIBLE
FACTOR 1A IN THE STUDY GROUPS

Параметры	Контрольная группа (n = 15)	Группа сравнения (n = 18)	Клиническая группа (n = 32)		Неактивная ЭОП (n = 17)	Тестовая статистика
			Активная ЭОП (n = 15)			
			до лечения ГК	после лечения ГК		
АТ рТТГ, МЕд/л	0,01 [0; 0,27]	0,1 [0; 0,3] $p = 0,539$ ($U = 117,5$)	16,9 [7,78; 24,4] $p < 0,001$ ($U = 0,0$) $p_1 < 0,001$ ($U_1 = 0,0$)	1,16 [0,16; 6,33] $p = 0,005$ ($U = 46$) $p_1 = 0,006$ ($U_1 = 60,5$) $p_2 < 0,001$ ($Z = 126$)	0,51 [0,25; 0,82] $p < 0,001$ ($U = 28$) $p_1 < 0,001$ ($U_1 = 51$) $p_3 < 0,001$ ($U_3 = 1$) $p_4 = 0,597$ ($U_4 = 113$)	$H = 49,3$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
ИЛ-17А, пг/мл	1,27 [0; 2,33]	9,86 [1,95; 14,6] $p < 0,001$ ($U = 45$)	6,77 [3,56; 8,2] $p < 0,001$ ($U = 19,5$) $p_1 = 0,212$ ($U_1 = 100$)	0 [0; 2,18] $p = 0,419$ ($U = 93,5$) $p_1 < 0,001$ ($U_1 = 39$) $p_2 < 0,001$ ($Z = 134$)	1,75 [0; 5,63] $p = 0,3548$ ($U = 103$) $p_1 = 0,003$ ($U_1 = 65,5$) $p_3 = 0,006$ ($U_3 = 56$) $p_4 = 0,117$ ($U_4 = 85,5$)	$H = 30,64$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
ТБК-АП, мкмоль/л	3,56 [3,36; 3,57]	7,4 [5,97; 9,5] $p < 0,001$ ($U = 0,0$)	6,69 [5,23; 7,72] $p < 0,001$ ($U = 0,0$) $p_1 = 0,166$ ($U_1 = 96$)	5,81 [5,63; 7,31] $p < 0,001$ ($U = 0,0$) $p_1 = 0,022$ ($U_1 = 72$) $p_2 = 0,683$ ($Z = 222$)	5,83 [4,89; 6,45] $p < 0,001$ ($U = 0,0$) $p_1 < 0,001$ ($U_1 = 56$) $p_3 = 0,018$ ($U_3 = 65$) $p_4 = 0,261$ ($U_4 = 97$)	$H = 44,49$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
АОА, %	10,2 [10,15; 10,36]	8,13 [7,2; 9,03] $p < 0,001$ ($U = 0,0$)	8,34 [7,45; 8,4] $p < 0,001$ ($U = 0,0$) $p_1 = 0,605$ ($U_1 = 120$)	7,34 [7,2; 9,14] $p < 0,001$ ($U = 0,0$) $p_1 = 0,845$ ($U_1 = 129,5$) $p_2 = 0,345$ ($Z = 209,5$)	8,45 [7,39; 8,56] $p < 0,001$ ($U = 0,0$) $p_1 = 0,613$ ($U_1 = 137$) $p_3 = 0,655$ ($U_3 = 115$) $p_4 = 0,655$ ($U_4 = 115$)	$H = 36,67$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
НIF-1α, нг/мл	0,96 [0,68; 1,15]	1,03 [0,75; 1,28] $p = 0,401$ ($U = 111,5$)	0,97 [0,82; 1,63] $p = 0,148$ ($U = 77,5$) $p_1 = 0,509$ ($U_1 = 116$)	1,12 [0,96; 1,26] $p = 0,098$ ($U = 72,5$) $p_1 = 0,556$ ($U_1 = 118,5$) $p_2 = 0,967$ ($Z = 231$)	1,04 [0,86; 1,22] $p = 0,23$ ($U = 95$) $p_1 = 0,909$ ($U_1 = 149$) $p_3 = 0,766$ ($U_3 = 119,5$) $p_4 = 0,551$ ($U_4 = 111,5$)	$H = 3,29$ $df = 2$ $p_5 = 0,51$

Примечание. n – количество наблюдений в группах; p – статистическая значимость при сравнении с контролем; p_1 – статистическая значимость при сравнении с группой сравнения; p_2 – статистическая значимость в группе с активной ЭОП до и после пульс-терапии ГК; p_3 – статистическая значимость между активной ЭОП до пульс-терапии ГК и неактивной ЭОП в стадии фиброза; p_4 – статистическая значимость между активной ЭОП после пульс-терапии ГК и неактивной ЭОП в стадии фиброза; p_5 – статистическая значимость при сравнении всех выборок.

ТАБЛИЦА 3
РЕЗУЛЬТАТЫ КОРРЕЛЯЦИОННОГО АНАЛИЗА
ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

TABLE 3
RESULTS OF CORRELATION ANALYSIS OF LABORATORY
PARAMETERS

Коррелирующие признаки	Показатели корреляции	
	Коэффициент корреляции, <i>r</i>	Уровень статистической значимости, <i>p</i>
АТ рТТГ / ИЛ-17А	0,689	< 0,001
АТ рТТГ / CAS	0,766	< 0,001
ИЛ-17А / CAS	0,831	< 0,001
ТБК-активные продукты / АОА	–0,709	< 0,001
ТБК-активные продукты / CAS	0,193	0,086
ТБК-активные продукты / АТ рТТГ	0,128	0,257
ТБК-активные продукты / ИЛ-17А	0,378	0,001
АОА / CAS	–0,297	0,007
АТ рТТГ / АОА	–0,182	0,106
ИЛ-17А / АОА	–0,416	< 0,001
НIF-1α / CAS	0,134	0,236
НIF-1α / АТ рТТГ	0,035	0,76
НIF-1α / ИЛ-17А	0,068	0,548
НIF-1α / ТБК-активные продукты	0,141	0,212
НIF-1α / АОА	0,069	0,544

метрами активности ЭОП, включающих баллы CAS, титром АТ рТТГ и уровнем ИЛ-17А. Концентрация ТБК-АП не имела корреляций с баллами CAS ($r = 0,193$; $p = 0,086$) и титром АТ рТТГ ($r = 0,128$; $p = 0,257$), но обнаружены прямые умеренные связи ($r = 0,378$; $p = 0,001$) с содержанием ИЛ-17А. Установлены слабые обратные связи между значением АОА сыворотки крови с баллами CAS ($r = -0,297$; $p < 0,001$) и умеренные обратные связи с уровнем ИЛ-17А ($r = -0,416$; $p = 0,007$). При этом АОА сыворотки крови не имеет статистически значимых связей ($r = -0,182$; $p = 0,106$) с титром АТ рТТГ (табл. 3).

Уровень НIF-1α не имел статистически значимых связей с показателями активности ЭОП ($p > 0,05$). Данные корреляционного анализа представлены в таблице 3.

ОБСУЖДЕНИЕ

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе ЭОП, участвуя в гиперпродукции провоспалительных цитокинов, факторов роста, хемокинов и компонентов межклеточного матрикса, а также в стимулировании пролиферации и дифференцировки орбитальных фибробластов. Выявленный дисбаланс в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» с преобладанием деструктивного действия активных форм кислорода на фоне пониженной активации антиоксидант-

ной защиты, присутствующий в очаге воспаления, вместе с отёком способствует ремоделированию мягких тканей орбиты при ЭОП [15]. Полученные нами данные полностью согласуются с патогенетически обусловленными рекомендациями по назначению антиоксидантных препаратов при ЭОП различных фаз активности, к которым относятся препараты селена, пентоксифиллин, витамин С, N-ацетил-L-цистеин и мелатонин [15, 16].

Учитывая выявленные статистически значимые корреляционные связи АОА с баллами CAS, а также ИЛ-17А с ТБК-АП и АОА, предложено использовать их в качестве дополнительного лабораторного критерия активности аутоиммунного воспаления в орбите и оценке эффективности проводимого лечения.

Установленные нами положительные взаимосвязи иммуновоспалительной активности ЭОП, величин ИЛ-17, ТБК-АП также подтверждаются недавними открытиями. С.Т. Liu и соавт. показали, что ИЛ-17А индуцирует воспаление и окислительный стресс путём активации митоген-активируемой протеинкиназы и ядерного фактора κВ в клетках [17], кроме того, митохондриальные активные формы кислорода способствуют образованию Th17-клеток через цепь переноса электронов *in vitro* и усугубляют аутоиммунные заболевания, связанные с ИЛ-17А [16, 18, 19].

Среди патогенетических механизмов фиброгенеза экстраокулярных мышц и ретробульбарной клет-

чатки при ЭОП занимают также местные ишемические процессы. В ходе проведённого исследования уровень HIF-1 α не продемонстрировал статистически значимых различий. Данные по изучению роли HIF-1 α в патогенезе ЭОП немногочисленны и достаточно противоречивы. Н. Есе и соавт. не нашли корреляции между высоким уровнем HIF-1 α у пациентов с узловым зобом и малигнизацией процесса [20]. G.E. Görtz и соавт. выявили корреляцию между высокой концентрацией HIF-1 α и активностью ЭОП по CAS на фоне курения, однако в своей работе они не сопоставляли полученные данные с цитокиновым профилем и титром AT рТТГ [21]. M.I. Malkov и соавт. также продемонстрировали выраженный гипоксический ответ орбитальных фибробластов у пациентов с ЭОП на фоне курения [22].

HIF – это гетеродимерные факторы транскрипции, регулирующие клеточный ответ на снижение доступности кислорода посредством экспрессии сотен генов, зависящих от гипоксии. HIF состоит из одной из трёх кислородзависимых альфа-субъединиц (HIF-1 α , HIF-2 α и HIF-3 α) и конститутивно экспрессируемой нечувствительной к кислороду бета-субъединицы (HIF-1 β /ARNT). Как HIF-1 α , так и HIF-2 α имеют сходную структуру и связаны с повышенной экспрессией генов при гипоксии, однако они регулируют перекрывающиеся, но различные наборы генов-мишеней в зависимости от доступности кислорода и типа ткани [22]. Считаем перспективным изучить все изоформы HIF с различными фазами активности и при различных степенях тяжести ЭОП, а также прицельно оценить фактор курения в развитии и прогрессии данного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведённого исследования установлено повышение активности перекисного окисления липидов с увеличением концентрации ТБК-активных продуктов на фоне понижения общей антиоксидантной активности сыворотки крови при ЭОП независимо от фазы активности заболевания. Содержание HIF-1 α в сыворотке не имело статистически значимых различий в группах исследования.

Корреляционный анализ показал наличие прямых умеренных связей между концентрацией ИЛ-17А и уровнем ТБК-АП, а также обратных умеренных связей со значением ОАО. Более того, активность ЭОП по CAS имеет слабые обратные связи с ОАО. Статистически значимые зависимости между показателями системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» и тканевой гипоксии не обнаружены. Считаем актуальным дальнейшее изучение роли оксидантного стресса и тканевой гипоксии в патогенезе развития и прогрессии иммуномедиаторного воспаления мягких тканей орбиты при ЭОП.

Финансирование

Никто из авторов данной статьи не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Zheng J, Duan H, You S, Liang B, Chen Y, Huang H. Research progress on the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy: Based on immunity, noncoding RNA and exosomes. *Front Immunol.* 2022; 13: 952954. doi: 10.3389/fimmu.2022.952954
2. Taylor PN, Zhang L, Lee RWJ, Muller I, Ezra DG, Dayan CM, et al. New insights into the pathogenesis and nonsurgical management of Graves orbitopathy. *Nat Rev Endocrinol.* 2020; 16(2): 104-116. doi: 10.1038/s41574-019-0305-4
3. Hoang TD, Stocker DJ, Chou EL, Burch HB. 2022 update on clinical management of Graves disease and thyroid eye disease. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2022; 51(2): 287-304. doi: 10.1016/j.jeccl.2021.12.004
4. Таскина Е.С., Харинцева С.В. Морфофункциональная характеристика и иммунологическая регуляция функции орбитальных фибробластов при эндокринной офтальмопатии. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология.* 2018; 14(4): 183-191. [Taskina ES, Kharintseva SV. Morphofunctional characteristics and immunological regulation of the orbital fibroblasts function in endocrine ophthalmopathy. *Clinical and Experimental Thyroidology.* 2018; 14(4): 183-191. (In Russ.).] doi: 10.14341/ket10147
5. Longo CM, Higgins PJ. Molecular biomarkers of Graves' ophthalmopathy. *Exp Mol Pathol.* 2019; 106: 1-6. doi: 10.1016/j.yexmp.2018.11.004
6. Харинцева С.В., Таскина Е.С. Значение интерлейкинов 17, 23 и антител к рецептору тиреотропного гормона в патогенезе эндокринной офтальмопатии. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология.* 2018; 14(2): 72-80. [Charinzeva SV, Taskina ES. The role of interleukins 17, 23 and antibodies to the thyroid-stimulating hormone receptor in the pathogenesis of endocrine ophthalmopathy. *Clinical and Experimental Thyroidology.* 2018; 14(2): 72-80. (In Russ.).] doi: 10.14341/ket9703
7. Hou TY, Wu SB, Kau HC, Tsai CC. The role of oxidative stress and therapeutic potential of antioxidants in Graves' ophthalmopathy. *Biomedicine.* 2021; 9(12): 1871. doi: 10.3390/biomedicine9121871
8. Görtz GE, Philipp S, Bruderek K, Jesenek C, Horstmann M, Henning Y, et al. Macrophage-orbital fibroblast interaction and hypoxia promote inflammation and adipogenesis in Graves' orbitopathy. *Endocrinology.* 2022; 164(2): bqac203. doi: 10.1210/endo/bqac203
9. Werner SC. Modification of the classification of the eye changes of Graves' disease. *Am J Ophthalmol.* 1977; 83(5): 725-727. doi: 10.1016/0002-9394(77)90140-4
10. Barrio-Barrio J, Sabater AL, Bonet-Farriol E, Velazquez-Villoria A, Galofre JC. Graves' ophthalmopathy: VISA versus EUGOGO classification, assessment, and management. *J Ophthalmol.* 2015; 2015: 249125. doi: 10.1155/2015/249125
11. Mourits MP, Koornneef L, Wiersinga WM. Clinical criteria for the assessment of disease activity in Graves' ophthalmopathy: A novel approach. *Br J Ophthalmol.* 1989; 73(8): 639-644. doi: 10.1136/bjo.73.8.639

12. Алексеев В.В., Карпищенко А.И. *Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической и лабораторной диагностике*; 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЕОТАР-Медиа; 2013; 2. [Alekseev VV, Karpishchenko AI. *Medical laboratory technologies: Guideline to clinical and laboratory diagnostics*. 3rd edition, revised and enlarged. Moscow: GEOTAR-Media; 2013; 2. (In Russ.)].
13. Промыслов М.Ш., Демчук М.Л. Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови. *Вопросы медицинской химии*. 1990; 36(4): 90-92. [Promyshlov MSh, Demchuk ML. A modified method of determination of the total serum antioxidant activity. *Voprosy meditsinskoi khimii*. 1990; 36(4): 90-92. (In Russ.)].
14. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 140-150. [Mudrov VA. Statistical analysis algorithms of quantitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Transbaikalian Medical Bulletin*. 2020; 1: 140-150. (In Russ.)] doi: 10.52485/19986173_2020_1_140
15. Lanzolla G, Marcocci C, Marinò M. Antioxidant therapy in Graves' orbitopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11: 608733. doi: 10.3389/fendo.2020.608733
16. Wang F, Li C, Li S, Cui L, Zhao J, Liao L. Selenium and thyroid diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14: 1133000. doi: 10.3389/fendo.2023.1133000
17. Liu CT, Yen JJ, Brown DA, Song YC, Chu MY, Hung YH, et al. Targeting Nrf2 with 3H-1,2-dithiole-3-thione to moderate OXPHOS-driven oxidative stress attenuates IL-17A-induced psoriasis. *Biomed Pharmacother*. 2023; 159: 114294. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114294
18. Gross CJ, Mishra R, Schneider KS, Medard G, Wettmarshausen J, Dittlein DC, et al. K(+) efflux-independent NLRP3 inflammasome activation by small molecules targeting mitochondria. *Immunity*. 2016; 45(4): 761-773. doi: 10.1016/j.immuni.2016.08.010
19. Mogilenko DA, Haas JT, L'Homme L, Fleury S, Quemener S, Levavasseur M, et al. Metabolic and innate immune cues merge into a specific inflammatory response via the UPR. *Cell*. 2019; 177(5): 1201-1216 e19. doi: 10.1016/j.cell.2019.03.018
20. Ece H, Mehmet E, Cigir BA, Yavuz D, Muammer K, Cumhur G, et al. Serum 8-OHdG and HIF-1α levels: Do they affect the development of malignancy in patients with hypothyroid nodules? *Contemp Oncol (Pozn)*. 2013; 17(1): 51-57. doi: 10.5114/wo.2013.33774
21. Görtz GE, Horstmann M, Aniol B, Reyes BD, Fandrey J, Eckstein A, et al. Hypoxia-dependent HIF-1 activation impacts on tissue remodeling in Graves' ophthalmopathy-implications for smoking. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101: 4834-4842. doi: 10.1210/jc.2016-1279
22. Malkov MI, Lee CT, Taylor CT. Regulation of the hypoxia-inducible factor (HIF) by pro-inflammatory cytokines. *Cells*. 2021; 10: 2340. doi: 10.3390/cells10092340

Сведения об авторах

Таскина Елизавета Сергеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: taskins@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6223-8888>

Харинцева Светлана Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой офтальмологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: s.v.19.28@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8899-5465>

Караваяева Татьяна Михайловна – кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии Научно-исследовательского института молекулярной медицины, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: KaTany1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0487-6275>

Information about the authors

Elizaveta S. Taskina – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Ophthalmology, Chita State Medical Academy, e-mail: taskins@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6223-8888>

Svetlana V. Kharintseva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Ophthalmology, Chita State Medical Academy, e-mail: s.v.19.28@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8899-5465>

Tatyana M. Karavaeva – Cand. Sc. (Med.), Docent, Senior Research Officer at the Laboratory of Clinical and Experimental Biochemistry and Immunology, Research Institute of Molecular Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: KaTany1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0487-6275>