

НАРУШЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ПЕРВИЧНОМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗЕ

¹ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

²УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

Выяснение взаимодействия эндокринной и иммунной систем представляет большой интерес в плане поиска новых мишеней патогенетически обоснованной коррекции. Паратиреоидный гормон может вносить вклад в изменение иммунного статуса при патологических состояниях, сопровождающихся развитием гиперпаратиреоза (ГПТ). Целью данной работы явилось изучение влияния на иммунную систему первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ) и сопровождающих его электролитных нарушений.

Нами проанализированы клинические наблюдения и результаты обследования 35 пациентов с ПГПТ (основная группа). Всем пациентам определяли уровень паратиреоидного гормона, кальция, фосфора и количество субпопуляций лимфоцитов в периферической крови (CD3, CD8, CD4, CD19, HLA-DR, CD38, CD16, CD56), иммуноглобулинов G, M, A и C3- и C4-компонентов комплемента. Группу сравнения составили 20 здоровых доноров.

Выявлена сильная отрицательная связь между CD3⁺ и CD19⁺ лимфоцитами и уровнем кальция в крови, а также значимые различия в количестве субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов и CD3⁺CD8⁺ Т-цитотоксических) в группе с ПГПТ, что подтверждает патологическое влияние нарушения кальциево-фосфорного обмена на иммунную систему при гиперпаратиреозе.

Ключевые слова: первичный гиперпаратиреоз, кальциево-фосфорный обмен, иммунный статус

Введение

В настоящее время актуальным представляется выяснение характеристик взаимодействия эндокринной и иммунной систем, что представляет большой интерес в плане поиска новых мишеней патогенетически обоснованной диагностики и коррекции [1].

Ионы Ca²⁺ – жизненно важные компоненты живого организма, принимающие участие в формировании многих его структур и регуляции метаболических процессов. Концентрация ионов кальция (Ca²⁺) в клетках млекопитающих значительно ниже, чем во внеклеточном пространстве. Это приводит к появлению направленного внутрь клетки электрохимического градиента Ca²⁺. Поток Ca²⁺ не чувствителен к метаболическим ингибиторам и имеет низкий температурный коэффициент, что го-

ворит о его независимости от источников энергии. Для потока Ca²⁺ из клетки наружу справедливо противоположное, поскольку в плазматической мембране лимфоцита есть Ca²⁺-АТФаза, участвующая в активном транспорте Ca²⁺. Ионы Ca²⁺ входят внутрь лимфоцита, используя насыщаемый переносчик, причем Mn²⁺ конкурентно ингибирует проникновение Ca²⁺ в клетку. Таким образом, механизм попадания Ca²⁺ в клетку является, по-видимому, облегченная диффузия, а выход Ca²⁺ из клетки осуществляется путем активного транспорта [2].

Наиболее важным механизмом действия паратиреоидного гормона (ПТГ), поддерживающим высокую концентрацию Ca²⁺ в клетках, считается повышенное поступление внеклеточного Ca²⁺ в цитоплазму – эффект, который может имити-

роваться ионофорами Са и блокироваться верапамиллом [3]. В результате взаимодействия ПТГ со своими ПТГ/ПТГсБ (ПТГсБ – ПТГ-связанных белков) рецепторами первого типа, G-протеинопосредованной стимуляции аденилатциклазы в клетке из АТФ образуется цАМФ, который поддерживает в открытом состоянии Са-каналы, обеспечивая увеличение поступления в клетку внеклеточного Са²⁺. По другим данным, в некоторых клетках ПТГ через цАМФ-опосредованные реакции ингибируется потенциал-зависимые Са-каналы а-типа [4].

Кальциевая сигнализация и Са²⁺-проводящие каналы участвуют в развитии иммунного ответа, пролиферации, росте и дифференцировке лимфоцитов. В Th-лимфоцитах повышение уровня внутриклеточного кальция, при связывании Т-клеточного рецептора с главным комплексом гистосовместимости, несущим антиген, запускает транскрипционные и трансляционные процессы, ведущие к секреции эффекторных цитокинов и координации иммунного ответа [5].

Для активации покоящихся Т-лимфоцитов необходимы два сигнала: один передается через комплекс Т-клеточного рецептора с молекулой CD³, а другой посредством интерлейкина-1, синтезируемого антигенпрезентирующими клетками. Распад фосфатидилинозитолдифосфата приводит к мобилизации внутриклеточного кальция, активации протеинкиназ и последующей активации синтеза РНК и белков, в том числе и интерлейкина-2 (IL-2). Кроме того роль первого сигнала может выполнять и антиген, связанный с молекулами HLAII класса на поверхности антигенпрезентирующей клетки. Биохимические последствия этих активационных сигналов сложны. Наиболее раннее регистрируемое событие это ускорение кругооборота фосфатадилинитола и быстрое увеличение концентрации кальция в цитоплазме. Последнее обусловлено либо открытием кальциевых каналов в плазматической мембране, либо, что более вероятно, мобилизацией внутриклеточных запасов ионов кальция под влиянием инозитолтрифос-

фата, образующегося из фосфатидилинозитолдифосфата под действием активированной фосфолипазы. Другой продукт расщепления – диацилглицерол активирует кальцийзависимую протеинкиназу С, участвующую в образовании IL-2 [6]. Как итог вышеописанных процессов – изменение концентрации ионизированного кальция приводит к ухудшению эффективности процесса активации Т-клеток и развитию различных форм иммунодефицита [7].

Паратиреоидный гормон может вносить вклад в изменение иммунного статуса при хронической почечной недостаточности (ХПН) и других состояниях, сопровождающихся развитием гиперпаратиреоза (ГПТ), повышением концентрации ПТГ в сыворотке. Некоторые авторы предполагают, что изменение количества и функционирования иммунокомпетентных клеток при ГПТ может быть обусловлено внутриклеточным накоплением ионов кальция. Учитывая это, для иммунокоррекции при ХПН могут применяться препараты, влияющие на концентрацию кальция в иммунокомпетентных клетках. Применение амлодипина в одной из работ при экспериментальном ГПТ приводило к увеличению количества лимфоцитов в периферической крови, увеличению количества интактных клеток и снижению количества клеток, несущих признаки раннего, позднего апоптоза и некроза [8].

Большинство исследователей, изучая влияние ГПТ на иммунную систему, формировали группу наблюдений из пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности [9-12]. Как следствие, при доказательстве изменений в иммунной системе, не исключалось сопутствующее воздействие уремической интоксикации на иммунологические показатели. В данной работе мы поставили цель изучить влияние на иммунную систему первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ) и сопровождающих его электролитных нарушений у пациентов с первичным ГПТ.

Цель: изучить изменения иммунного статуса у пациентов с первичным гиперпаратиреозом (ПГПТ).

Материал и методы исследования

Нами проанализированы клинические наблюдения и результаты обследования 35 пациентов с ПГПТ (основная группа), находившихся на лечении в хирургическом отделении (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (ГУ «РНПЦРМиЭЧ»). Средний возраст пациентов составил – 57,1±7,4 года. Среди них было – 14 мужчин (40%), и 21 женщина (60%). Клиническое исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 года, и одобрено комитетом по этике ГУ «РНПЦРМиЭЧ».

Всем пациентам определяли уровень паратиреоидного гормона, кальция, фосфора и количество субпопуляций лимфоцитов в периферической крови методом проточной цитометрии на основе моноклональных антител (CD3, CD8, CD4, CD19, HLA-DR, CD38, CD16, CD56), а также иммуноглобулины G, M, A турбодиметрическим методом.

Группу сравнения составили 20 здоровых доноров (группа сравнения).

Статистическую обработку полученных данных проводили на ПЭВМ-IBM с использованием пакета прикладных статистических программ «Statistica» версии 6.0. Результаты считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости менее 0,05. Описательная статистика: количественные параметры представлены в формате: медиана (интерквартильный размах) – (Me [Q₁; Q₃]). Проверка гипотез о виде распределения количественных признаков осуществлялась с помощью критерия Шапиро-Уилка.

Связь показателей с помощью корреляционного анализа оценивали по методу Спирмана и Кендала.

Результаты исследования

По результатам исследования пациенты основной группы имели значимые различия с группой сравнения по показателям кальциево-фосфорного обмена. Так уро-

вень ионизированного кальция в основной группе составлял 1,37 [1,35; 1,59] ммоль/л, что значимо превышало показатель в группе сравнения, равный 1,10 [1,35; 1,59] (p<0,001). Концентрация фосфора в основной группе равнялась 0,82 [1,06; 1,35] ммоль/л, что значимо было ниже уровня в группе сравнения, равного 1,21 [0,73; 0,85] ммоль/л (p=0,009). В основной группе наблюдалось значимое превышение уровня паратгормона по сравнению с группой сравнения (219,30 [197,6; 340,85] и 16,85 [15,60; 20,8] соответственно, (p<0,001) (таблица 1).

Проведенные исследования фенотипа лимфоцитов у пациентов обследуемых групп выявили следующие изменения (таблица 2).

Следует заметить, что при отсутствии значимых различий в общем количестве лейкоцитов и лимфоцитов у пациентов обследуемых групп, выявлено значимое снижение в основной группе CD3⁺ Т-лимфоцитов до 63,50% [69,05; 77,75] (p=0,016) и их основных субпопуляций: Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) до 42,50% [50,25%-65,40%] (p=0,004) и Т-цитотоксических (CD3⁺CD8⁺) до 19,90% [30,90%-41,60%] (p=0,007) при сравнении с группой здоровых доноров. Учитывая снижение основных субпопуляций Т-лимфоцитов, можно предположить, что данные электролитные нарушения оказывают истощающее воздействие на Т-клеточное звено иммунитета. Для подтверждения наших предположений мы провели корреляционный анализ с определением ранговой кор-

Таблица 1 – Показатели кальциево-фосфорного обмена у пациентов обследуемых групп (Me [Q₁; Q₃]).

Показатель	Группа	
	сравнения	основная
Ca, ммоль/л	2,42 [2,31; 2,84]	2,66 [2,27; 2,50]
Ca ²⁺ , ммоль/л	1,10 [1,35; 1,59]	1,37 [1,35; 1,59]**
Phos, ммоль/л	1,21 [0,73; 0,85]	0,82 [1,06; 1,35]*
ПТГ, пг/мл	16,85 [15,60; 20,8]	219,30 [197,6; 340,85]**

Примечания: * – различие при p<0,05; ** – различие при p<0,001.

Таблица 2 – Показатели иммунного статуса у пациентов обследуемых групп (Me [Q₁; Q₃])

Показатели	Группа	
	сравнения	основная
Leu, %	6,41 [5,63-7,20]	6,31 [4,61-8,91]
Lymph, %	33,50 [25,00-38,00]	33,50 [29,00-34,75]
CD19 ⁺ , %	10,95 [7,55-13,15]	10,70 [9,10-12,30]
CD3 ⁺ %	73,30 [69,05-77,75]	63,50 [56,20-72,80]*
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	15,95 [12,35-18,30]	22,80 [16,50-30,10]
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	3,55 [2,60-7,65]	3,70 [2,70-6,70]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ %	60,50 [50,25-65,40]	42,50 [35,20-47,90]*
CD3 ⁺ CD8 ⁺ %	32,85 [30,90-41,60]	19,90 [18,10-26,30]*
ИРИ	1,76 [1,17-2,12]	2,00 [1,80-2,40]
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ %	5,30 [3,20-12,00]	4,20 [3,70-7,20]
CD3 ⁺ CD38 ⁺ %	29,60 [19,90-40,40]	21,80 [14,00-26,90]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA- DR ⁺ %	13,40 [8,70-25,80]	14,80 [10,70-17,30]
ЦИК, ед.	35,00 [22,00-87,00]	49,00 [27,00-51,00]
IG G, г/л	11,96 [9,98-12,12]	10,42 [9,33-12,73]
IG A, г/л	2,90 [2,30-3,16]	1,60 [1,14-2,47]
IG M, г/л	0,54 [0,51-0,81]	1,04 [0,86-1,37]*
C3, г/л	1,07 [0,99-1,20]	1,12 [0,98-1,28]
C4, г/л	0,26 [0,24-0,27]	0,28 [0,25-0,30]

Примечания: * – различие при $p < 0,05$; ** – различие при $p < 0,001$.

реляции Спирмана между показателями пациентов обследуемых групп. Полученные данные представлены в таблице 3.

Представленные данные демонстрируют различия в корреляции между показателями в основной группе и группе сравнения, причем наиболее выраженные изменения мы видим в наличии отрицательной связи показателей иммунной системы и концентрацией кальция в крови.

Таблица 3 – Уровень корреляции между показателями иммунного статуса и электролитами периферической крови у пациентов обследуемых групп

Показатель	Группа	
	основная	сравнения
CD3 ⁺ CD38 ⁺ /Ca	-0,47 (p=0,049)	+0,2 (p=0,53)
CD19 ⁺ /Ca ²⁺	-0,79 (p=0,021)	+0,6 (p=0,034)
CD3 ⁺ /Ca ²⁺	-0,58 (p=0,008)	-0,16 (p=0,6)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ /Phos	-0,53 (p=0,042)	-0,51 (p=0,044)

CD38 – бифункциональный фермент, сочетающий в себе активность рибозилциклазы аденозиндифосфата (АДФ) и гидролазы циклической АДФ-рибозы (цАДФР) [13-19]. CD38 катализирует образование цАДФР и адениндинуклеотидфосфата никотиновой кислоты, выполняющих функцию мобилизаторов кальция из внутриклеточных депо через рианодиновые каналы рецептора [13-19]. В иммунокомпетентных клетках CD38 отвечает за передачу сигналов от активированных рецепторов лимфоцитов и дендритных клеток. Данная роль сигнального пути CD38/цАДФ-рибозы в регулировании внутриклеточного кальция подтверждается в экспериментах на CD38 дефицитных мышцах. D.A. Deshpande et al. (2005).

В своей работе мы выявили наличие обратной связи между CD3⁺CD38⁺ и уровнем Ca в крови пациентов с первичным гиперпаратиреозом при отсутствии таковой в группе сравнения.

Выводы:

1. У пациентов с первичным гиперпаратиреозом выявлены нарушения фосфорно-кальциевого обмена: повышение уровня ионизированного кальция и паратгормона при снижении концентрации фосфора в крови.
2. Выраженная отрицательная связь между CD3⁺ ($r = -0,58$ ($p = 0,008$)) и CD19⁺ ($r = -0,79$ ($p = 0,021$)) лимфоцитами и концентрацией кальция в крови пациентов основной группы, а также значимое снижение количества субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов и CD3⁺CD8⁺ Т-цитотоксических) в основ-

ной группе, подтверждает патологическое влияние нарушения кальциево-фосфорного обмена на иммунную систему при гиперпаратиреозе.

3. Отрицательная связь гиперкальциемии при первичном гиперпаратиреозе и количеством субпопуляции CD3⁺CD38⁺ указывает на необходимость дальнейшего изучения данного иммунологического показателя с целью определения его диагностической и прогностической значимости.

Библиографический список

1. Шагарова, С.Г. К проблеме иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / С.Г. Шагарова // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С.42-45.

2. Иммунология [Электронный ресурс] / Поток кальция в клетку. – Режим доступа: <http://imuno.net/imm267.php> – Дата доступа: 25.01.2015.

3. Волгина, Г.В. Вторичный гиперпаратиреоз при хронической почечной недостаточности. Лечение активными метаболитами витамина D / Г.В. Волгина // Нефрология и диализ. – 2004. – № 6. – С. 116-120.

4. Wang, R. Parathyroid hormone selectively inhibits L-type calcium channels in single vascular smooth muscle cells of the rat / R. Wang, E. Karpinski, P.K. Pang // J Physiol. – 1991. – Vol. 441. – P. 325-346.

5. Differential activation of transcription factors induced by Ca²⁺ response amplitude and duration / R.E. Dolmetsch [et al.] // Nature. – 1997. – Vol. 386, № 6627. – P. 855-858.

6. База знаний по биологии человека [Электронный ресурс] / Т-лимфоциты: активация, краткая характеристика / Разработка и реализация БЗ: доктор биологических наук профессор Александров А.А. ООО «Лайт телеком» Ковалев П.В. – Режим доступа: <http://humbio.ru/humbio/immunology/000b6fdf.htm> – Дата доступа 25.01.2015 г.

7. Feske, S. Calcium signalling in lymphocyte activation and disease / S. Feske // Nat.

Rev. Immunol. – 2007. – № 7. – P. 690-702.

8. Осиков, М.В. Иммунный статус при экспериментальном гиперпаратиреозе и его коррекция блокаторами кальциевых каналов [Электронный ресурс] / М.В. Осиков, Д.А. Черепанов, А.А. Федосов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1 (часть 1). – Режим доступа: <http://humbio.ru/humbio/immunology/000b6fdf.htm> – Дата доступа 25.01.2015 г.

9. Kelly, C.J. T cell function in chronic renal failure and dialysis / C.J. Kelly // Blood Purification. – 1994. – Vol. 12, № 1. – P. 36-41.

10. Production of interleukin-6, tumor necrosis factor α and interleukin-10 in vitro correlates with the clinical immune defect in chronic hemodialysis patients / M. Girndt [et al.] // Kidney International. – 1995. – Vol. 47, № 2. – P. 559-565.

11. Disturbances of acquired immunity in hemodialysis patients / T. Eleftheriadis [et al.] // Seminars in Dialysis. – 2007. – Vol. 20, № 5. – P. 440-451.

12. Defective expression of B7-2 (CD86) on monocytes of dialysis patients correlates to the uremia-associated immune defect / M. Girndt [et al.] // Kidney International. – 2001. – Vol. 5, № 4. – P. 1382-1389.

13. Современные представления о роли CD38 в патогенезе бронхиальной астмы / И.А. Соловьева [и др.] // Пульмонология. – 2013. – № 5. – С. 81-84;

14. НАД⁺ конвертирующие ферменты в клетках нейрональной глиальной природы: CD38 как новая молекула мишень для нейропротекции / А. Б. Салмина [и др.] // Вестник РАМН. – 2012. – № 10. – С. 29-37.

15. Cyclic ADP_ribose as a universal calcium signal molecule in the nervous system / H. Higashida [et al.] // Neurochem. Int. – 2007. – Vol. 51. – P. 192-199.

16. NAD⁺metabolism and ADP_ribosyl cyclase as targets for centralnervous system therapy / A.B. Salmina [et al.] // Curr. Med. Chem. – 2006. – Vol. 6, № 3. – P. 193-210.

17. Altered air_way responsiveness in CD38 deficient mice / D.A. Deshpande

- [et al.] // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 2005. – № 32. – P. 149-156.
18. CD38 and CD157 as receptors of the immune system: a bridge between innate and adaptive immunity / F. Malavasi [et al.] // Mol. Med. – 2006. – № 12. – P. 334-341.
19. ADP ribose gating of the calcium permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology / A.L. Perraud [et al.] // Nature. – 2001. – Vol. 411. – P. 595-599.

S. Zybleva, A. Velichko, Z.A. Dundarov, V. Pohojai, S. Zyblev, T.S. Petrenko

IMMUNE STATUS DISORDERS WITH THE PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM

The interaction between endocrine and immune systems attracts strong interest in terms of searching for new targets of pathogenetically substantiated correction. Parathyroid hormone can contribute to the changing of immune status with the pathological state accompanied by the development of hyperparathyroidism (HPT). The objective of this work is to study the influence of the primary hyperparathyroidism (PHPT) and accompanying electrolytic disorders in the patients with the primary HPT.

We have analyzed the results of clinical observation and examination of 35 patients with PHPT (main group). The level of parathyroid hormone, calcium, phosphorus and lymphocyte subpopulation was estimated in all patients in the peripheral blood (CD3, CD8, CD4, CD19, HLA-DR, CD38, CD16, CD56) and immunoglobulins G, M, A. The control group included 20 health donors (control group).

Negative connection between CD3⁺ and CD19⁺ lymphocytes and the level of calcium in the blood, also there were differences in the amount of subpopulation of T-lymphocytes (CD3⁺CD4⁺ T-helpers and CD3⁺CD8⁺ T-cytotoxic) in the group with PHPT that confirm the pathological influence of calcium-phosphorus metabolism on immune system with primary hyperparathyroidism.

Key words: *primary hyperparathyroidism, calcium-phosphorus metabolism, immune status*

Поступила 05.03.2016