

Mezi Th1 lymfocyty a NK buňkami jsme statisticky významnou korelaci nenalezli, ačkoli literatura uvádí, že Th1 lymfocyty zvyšují působením svých cytokinů proliferaci NK buněk (9).

V našem souboru pacientů jsme nenalezli ani statisticky významnou korelaci mezi Th17 lymfocyty a NK buňkami. V literatuře se však uvádí, že IL-21 produkovaný Th17 lymfocyty aktivuje NK buňky (7, 10).

Nenalezli jsme statisticky významnou korelaci mezi buňkami Th17 a Treg. Tuto korelaci jsme očekávali, jelikož dle literatury by měly Treg lymfocyty tlumit aktivitu Th17 lymfocytů a zvýšený poměr Th17/Treg má význam při rozvoji autoimunitních onemocnění (3, 6). Možným vysvětlením může být, že některé Treg buňky jsou schopny produkovat IL-17 (3). Rovněž existují buňky Th1/17, které produkují IFN- $\gamma$  a IL-17. Ty mohou svou produkcí cytokinů zkrasit výsledky měření, i když se jejich výskyt uvádí jako nízký (<1 % z Th lymfocytů) (3, 5). Jinde bylo zjištěno, že Treg lymfocyty byly u pacientů s AIT sniženy, zatímco Th17 zůstaly stejné jako u zdravých jedinců (14). Rozdíly mezi výsledky studií mohou být také ovlivněny odlišným genetickým pozadím probandů nebo různým uspořádáním testů (3).

Očekávali jsme pozitivní korelaci mezi Th2 lymfocyty a indexem Th17/Treg, kterou jsme sice našli, ale nebyla dostatečně silná ( $r = 0,3373$ ). Pouze u mužů s dg E063 měla tato korelace  $r = 0,5336$ . Literatura říká, že IL-6 produkovaný Th2 lymfocyty zvyšuje index Th17/Treg, podporuje diferenciaci Th17 a tlumí vznik Treg (7, 10). Korelace mezi Th2 a Treg nebyla v našem souboru statisticky významná.

Mezi Th2 a B lymfocyty jsme nenalezli statisticky významnou korelaci, ačkoli mezi nimi existuje funkční vztah, kdy Th2 lymfocyty podporují funkci B lymfocytů. Tuto korelaci jsme proto očekávali.

Th1 lymfocyty stimulují buněčnou imunitu včetně Tc lymfocytů. Tento předpoklad se potvrdil, našli jsme mezi nimi pozitivní korelaci. V kontrolním souboru a u mužů s dg E063 tato korelace nebyla statisticky významná. Může zde tedy být i vliv pohlaví.

Zajímavé je, že ačkoli Th1 lymfocyty mají zvyšovat aktivitu NK buněk a zároveň Tc lymfocytů, v našem souboru jsme našli negativní korelaci mezi Tc lymfocyty a NK buňkami. Zde se zřejmě také projevil vliv pohlaví, jelikož v kontrolním souboru a u mužů s dg E063 nebyla tato korelace statisticky významná.

Určitým problémem při klinickém využití Th1, Th2 a Th17 lymfocytů může být nedostatek údajů o jejich referenčních mezích v literatuře. Laboratoře používají různé buněčné znaky ke stanovení subpopulací lymfocytů, takže nelze ref. meze mnohdy zcela převzít. Jeden z návrhů podali Italové (15) (Tab. 3), kteří použili povrchové CD znaky buněk. My jsme použili intracelulární značení cytokinů (IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17A) spolu s povrchovým značením buněk (CD4). Japonští a čínští autoři (16, 17) použili obdobné značení buněk jako my (Tab. 4, 5). Každá laboratoř musí při přebírání ref. mezí hledět na to, na základě jakých znaků byly jednotlivé subpopulace stanoveny. I přes tyto obtíže si myslíme, že stanovení Th1, Th2 a Th17 lymfocytů může přinést užitečnou informaci o možné převaze cytotoxické nebo protilátkové reakce.

Je důležité brát v úvahu i další aspekty. Absolutní počty a/nebo procentuální zastoupení Th lymfocytů se mohou lišit podle pohlaví, kouření, těhotenství nebo menstruačního cyklu (MC). U žen je počet

i procento Th buněk vyšší než u mužů, stejně tak u kuřáků oproti nekuřákům. Menstruující ženy mají vyšší procento Th než nemenstruující, v proliferační fázi MC je vyšší procento Th než ve fázi sekreční. Období ovulace odlišnosti nevykazuje. Změny v MC se týkají pouze procenta buněk, nikoliv absolutních počtů. Užívání antikoncepce odlišnosti nevykazuje (18). Odlišnosti mezi pohlavími byly nalezeny i u NK buněk a celkových T lymfocytů (19). Nadváha se projevuje u absolutního počtu celk. T, Th a B lymfocytů. Kouření má vliv na téměř všechny parametry lymfocytů. Sportující jedinci se od nespportujících neliší (19). Protože odborná literatura obvykle uvádí referenční meze lymfocytů bez rozlišení pohlaví, použili jsme pro naše výpočty soubor pacientů s dg E063 jako celek. Mezi pohlavími jsme našli rozdíl pouze v celkových T lymfocytech ( $p = 0,0139$ ), B lymfocytech ( $p = 0,0462$ ), dvojitě negativních T lymfocytech ( $p = 0,0055$ ), TSH ( $p = 0,0459$ ) a FT3 ( $p = 0,0000$ ). Kouření, těhotenství a MC nebylo u našeho souboru k dispozici. Významným prvkem variability výsledků je podle některých autorů také značka průtokového cytometru, množství vzorku, postup přípravy vzorku a protilátky různých výrobců (19).

Stanovení subpopulací Th lymfocytů je vhodným předmětem dalšího zkoumání, včetně zjištění a zhodnocení vlivu věku a pohlaví na vztah Th lymfocytů k dalším laboratorním parametrům u pacientů s AIT.

## Závěr

Stanovení subpopulací lymfocytů může být významnou pomůckou při diagnostice a léčbě autoimunitních chorob, způsobených buněčnou cytotoxicitou. Diagnóza závisí na kombinaci a převaze jednotlivých imunokompetentních buněk, které se při rozvoji autoimunity uplatňují. Ty mohou charakterizovat i odlišnosti stejné diagnózy u mladého a staršího jedince.

Pokusili jsme se zjistit, zda analýza Th1, Th2 a Th17 lymfocytů zlepšuje možnosti diagnostiky u autoimunitních tyreoidit. Zastoupení subpopulací Th lymfocytů můžeme stanovit pomocí průtokové cytometrie. Tato informace nám pomůže objasnit klinické projevy a imunopatologické mechanismy, u kterých se mohou uplatnit Th, případně Tc lymfocyty. Tato metodika by se mohla stát doplněním stanovení B a T lymfocytů a může představovat zlepšení interpretace autoprotilátek anti-TG a anti-TPO. V případě, že se výsledek některé ze subpopulací Th lymfocytů dostane mimo své ref. meze, může nám to pomoci odhadnout, zda jde o fázi destruktivní (Th1, Th17, Tc lymfocyty), nebo protektivní (Th2 lymfocyty, protilátky). Předpokládáme, že při převaze Th1 a Th17 lymfocytů dochází ke zhoršení stavu pacienta, naopak při převaze Th2 a Treg lymfocytů můžeme očekávat zlepšení nebo zpomalení rozvoje destruktivních cílových buněk (tyreocytů). Interpretace fenotypizace lymfocytů je u každého pacienta individuální, s přihlédnutím k dalším laboratorním parametrům a klinickému stavu.

Stanovení subpopulací Th lymfocytů může přinést detailnější vzhled do průběhu onemocnění zejména u pacientů v prvotních fázích choroby. Může být užitečné také u mladých jedinců, kde lze zasáhnout izohormonální terapií. U plně rozvinutého onemocnění, kde je léčba již jen substituční, nemá při běžné udržovací terapii velký význam.

*Podpořeno MZ ČR - RVO (Endokrinnologický ústav – EÚ, 00023761)*