

На правах рукописи

Дора Светлана Владимировна

**ДИФФУЗНЫЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ЗОБ: МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ, ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ,
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ
ЛЕЧЕНИЯ, ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ**

14.01.02 – Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2022

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России

Научный консультант:

доктор медицинских наук, доцент **Волкова Анна Ральфовна**

Официальные оппоненты:

Фадеев Валентин Викторович доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эндокринологии № 1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Стронгин Леонид Григорьевич доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры эндокринологии и внутренних болезней ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

Платонова Надежда Михайловна доктор медицинских наук, заведующая отделом терапевтической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России

Защита состоится «12» октября 2022 года в «10» часов на заседании Диссертационного Д 208.071.05 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д.2/1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д.19/38 и на сайте <http://www.rmaro.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета

Самсонова Л.Н.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В последние десятилетия меняется характер течения диффузного токсического зоба (ДТЗ): отмечается уменьшение числа ремиссий ДТЗ и увеличение рецидивов заболевания [В.А. Петеркова и соавт., 2021; K. Kamoi et al., 2006; D.S. Ross et al., 2016]. Представляется важным изучить динамику клинического течения ДТЗ по результатам консервативного и оперативного лечения за длительный период времени.

В настоящее время надежных критериев ремиссии ДТЗ не разработано. В имеющихся клинических рекомендациях РФ по лечению ДТЗ предложено оценивать ремиссию заболевания через 12-18 месяцев консервативной терапии [В.Э. Ванушко и соавт., 2014; В.А. Петеркова и соавт., 2021]. Если, несмотря на прием анти тиреоидных препаратов, у больного рецидивирует тиреотоксикоз (ТТ), то вероятность ремиссии низкая. В связи с этим представляется актуальной разработка прогностических критериев ремиссии ДТЗ на момент постановки диагноза для решения вопроса о лечебной тактике.

Несмотря на длительный курс анти тиреоидной терапии (12-18 месяцев лечения) часть пациентов не достигает ремиссии заболевания [Н.А. Петунина и соавт., 2009; В.А. Петеркова и соавт., 2021; T. Diker-Cohen et. al., 2019]. Дальнейшая лечебная тактика предполагает радикальные методы лечения: экстирпацию щитовидной железы (ЩЖ) или радиоiodтерапию. Однако длительное лечение поддерживающими дозами анти тиреоидных препаратов в ряде случаев может способствовать формированию ремиссии. Исследования по достижению ремиссии на фоне длительной анти тиреоидной терапии противоречивы и требуют дальнейшего изучения.

В последние годы активно изучается роль генетических факторов в патогенезе и клиническом течении ДТЗ [E. Razmara et. al., 2021]. Варианты полиморфизмов генов интерлейкина-6 (*IL6*), интерлейкина-13 (*IL13*) и микроРНК-125А (*MIR125A*), а также изменение их цитокинового профиля влияет не только на предрасположенность к ДТЗ, но и на особенности клинического течения. В российской популяции больных ДТЗ подобные исследования не проводились.

Согласно отечественным рекомендациям, у пациентов ДТЗ выполняется экстирпация ЩЖ, что исключает рецидив ТТ, но пациенты вынуждены получать пожизненную заместительную гормональную терапию препаратами L-тироксина [В.Э. Ванушко и соавт., 2014; В.А. Петеркова и соавт., 2021]. По результатам ряда исследований, после тиреоидэктомии у больных ДТЗ могут развиваться нежелательные явления: послеоперационная гипокальциемия, некомпенсируемый гипотиреоз, увеличение веса [S. Akram et. al., 2020; S. Chindavijak et. al., 2007; S.H. Tsai et. al., 2019]. Однако результаты наблюдений за прооперированными больными противоречивы и требуют дальнейшего изучения.

У пациентов с ДТЗ, которым была выполнена тиреоидэктомия, имеется высокий риск развития послеоперационной гипокальциемии [О.В. Симакина и соавт., 2014]. Профилактика послеоперационной гипокальциемии у больных ДТЗ в настоящее время не разработана. Представляется важным проведение исследования по изучению эффективности предоперационной подготовки препаратами витамина D3 у пациентов с ДТЗ.

Перспективными являются исследования по сопоставлению данных гистологического послеоперационного исследования с отдаленными результатами оперативного лечения — через 3-5 и более лет после операции. Актуальность таких исследований обусловлена необходимостью поиска новых подходов к прогнозированию результатов оперативного лечения у больных ДТЗ [S.H. Wang et al., 2007]. Ядерный белок Ki-67 относится к маркерам пролиферации, в том числе и тиреоцитов [P. Domoslawski et al., 2013]. Возможно, подавлению апоптоза и усилению пролиферации тиреоцитов при ДТЗ способствует повышение экспрессии антиапоптотических молекул, таких как Bcl-2 и снижение экспрессии апоптотического белка Fas [S. Chen et al., 2004]. Изучение морфофункциональных характеристик ЩЖ, факторов пролиферации и апоптоза у больных ДТЗ представляется важным для прогнозирования послеоперационных исходов.

В связи с вышеперечисленным, не вызывает сомнения необходимость дальнейшего поиска прогностических маркеров неблагоприятного течения заболевания с целью создания алгоритма персонализированного подхода к выбору оптимальной лечебной тактики у пациентов с диффузным токсическим зобом.

Степень разработанности темы

В последние десятилетия наблюдается неуклонный рост числа новых случаев ДТЗ и резко снижается вероятность ремиссии заболевания. Спектр тиреоидной патологии и характер течения заболевания в определенной степени зависит от уровня йодобеспечения того или иного региона, генетической предрасположенности, стрессовых факторов, воздействия неблагоприятных экологических факторов [D.P. Bogdanos et. al., 2013; C. Marcocci et. al., 2012; M. Marinò et. al., 2015; S.K. Shukla et. al., 2018; R. Root-Berstein et. al., 2014]. В австралийском исследовании было показано, что выявляемость ДТЗ увеличилась с 5% до 25,8% на фоне проведения мероприятий по йодпрофилактике [G. Riccabona et. al., 1983]. В РФ, и в том числе, в Санкт-Петербурге не проводилось работ по оценке характера течения ДТЗ за длительный период времени.

В настоящее время вероятность ремиссии ДТЗ оценивают по совокупности клинико-лабораторных показателей [L. Orgiazzi et.al, 2002]. На отсутствие ремиссии ДТЗ указывают увеличение объема ЩЖ, прогрессия эндокринной офтальмопатии (ЭО), нарастание уровня антител к рецептору тиреотропного гормона (АТ к рТТГ), рецидивы ТТ [Н.А. Петунина, 2014; X.G. Vos et.al, 2016]. В настоящее время ведется поиск надежных предикторов ремиссии ДТЗ [Laurberg P. et. al., 2006; Mohlin E. et. al., 2014]. Показано, что отдельные критерии ремиссии ДТЗ ненадежны, и только совокупность признаков ДТЗ позволит прогнозировать вероятность ремиссии заболевания после курса консервативной терапии. Представляется важным разработать критерии оценки вероятности ремиссии ДТЗ на момент постановки диагноза. Vos X.G. et al. предложили шкалу оценки вероятности ремиссии ДТЗ - GREAT, которая учитывает возраст пациента на момент дебюта заболевания, тяжесть ТТ, сывороточное значение свободного тироксина (св. Т4), уровень АТ к рТТГ и объем ЩЖ. Клиническая апробация шкалы Graves' Recurrent Events After Therapy (GREAT) представлена в исследовании Swiss Group [Vos X.G. et. al., 2016]. Вторая шкала Clinical Severity Score (CSS) разработана группой профессора E. Masiello. Она включает три компонента Мерзбургской триады — зоб, гипертиреоз и наличие ЭО. В исследовании профессора E. Masiello на группе больных ДТЗ изучены чувствительность и специфичность модели CSS [Masiello

Е. et. al., 2018]. Предложенные расчетные шкалы оценки вероятности ремиссии ДТЗ (GREAT и CSS), безусловно, являются полезными для использования в клинической практике и оптимизации лечебной тактики у пациентов с впервые выявленным ДТЗ. Однако обе шкалы имеют ряд ограничений, и, вероятно, потребуются дополнительные критерии для более точного прогноза течения заболевания.

В последние годы активно изучается длительная терапия поддерживающими дозами тиреостатических препаратов для достижения ремиссии ДТЗ [F. Azizi et. al., 2019; D.S. Cooper et. al., 1998; S.Y. Park et. al., 2021]. Результаты проведенного метаанализа показали, что 12-месячный прием тиамазола уменьшает вероятность рецидивов ТТ по сравнению с 6-месячным курсом лечения. Но продление лечения более 18 месяцев не давало каких-либо преимуществ по формированию спонтанной ремиссии ДТЗ. Однако в другом проспективном клиническом исследовании было показано, что длительное лечение метимазолом в дозе 2,5 мг в течение 4,5 лет достоверно увеличивало вероятность наступления ремиссии ДТЗ [F. Azizi et. al., 2017]. Таким образом, изучение влияния терапии тиреостатиками более 12-18 месяцев на наступление ремиссии ДТЗ является актуальной клинической задачей.

В литературе имеются данные о различной роли полиморфных вариантов генов *IL6* [Mestiri S. et. al., 2020], *IL13* [Chong K.K. et. al., 2008; Mestiri S. et. al., 2020] и *MIR125A* [Yang Y. et. al., 2005] у пациентов с ДТЗ. В ряде исследований было показано, что клиническое течение ДТЗ различается у носителей определенных генотипов гена *IL6* (полиморфизм C-572G, rs1800796), гена *IL13* (полиморфизм C-1112T, rs1800925) и гена *MIR125A* (полиморфизм rs12976445) среди европейской и азиатской популяции больных. В российской популяции больных ДТЗ до настоящего времени роль полиморфных вариантов генов *IL6*, *IL13* и *MIR125A* не установлена.

Послеоперационный гипотиреоз является следствием тиреоидэктомии. Большинство хирургов и эндокринологов полагают, что послеоперационный гипотиреоз после тиреоидэктомии хорошо компенсируется назначением L-тироксина [В.Э. Ванушко и соавт., 2012; Д.В. Лебедева и соавт., 2019; Н.А. Петунина 2019; О.В. Симакина и соавт., 2014]. Однако достижение

эутиреоза после выполнения тиреоидэктомии на фоне заместительной терапии L-тироксинам наблюдается не у всех больных [С.И. Исмаилов et. al., 2014; M.S. Elston 2014; P. Miccoli et. al., 2021; S.H. Tsai et. al., 2019]. Изучение динамики массы тела, компенсации тиреоидной функции после тиреоидэктомии у больных ДТЗ является актуальной проблемой современной медицины.

В последние годы изучаются причины развития такого послеоперационного осложнения как гипокальциемия [Симакина О.В. и соавт., 2014; Antakia R. et. al., 2015]. Профилактика послеоперационной гипокальциемии на настоящий момент недостаточно разработана [Qubaisi A.M. et al., 2019]. В связи с этим является актуальным проведение дополнительных исследований для изучения методов профилактики послеоперационной гипокальциемии. Предоперационное лечение препаратами витамина D, вероятно, позволит предотвратить послеоперационную гипокальциемию [J. Kirkby-Bott et al., 2011; Yasuda T. et. al., 2013].

По литературным данным, экспрессия белка пролиферации Ki-67 заметно выше у больных ДТЗ по сравнению с больными диффузным узловым нетоксическим зобом (ДУНЗ) [Domoslawski P. et. al., 2013]. Увеличение количества тиреоцитов, наблюдаемое при ДТЗ, может быть связано не только с повышенной пролиферацией, но и с замедлением апоптоза — генетически запрограммированной гибелью клетки с целью обеспечения нормального тканевого гомеостаза. Имеются данные, что при ДТЗ в тиреоцитах повышена экспрессия антиапоптотических молекул, в том числе, Bcl-2, и снижена экспрессия Fas, что должно способствовать подавлению апоптоза и гипертрофии ЩЖ [Sera N. et. al., 2001]. Однако механизмы нарушения регуляции апоптоза и пролиферации при ДТЗ в настоящее время остаются малоизученными [P. Domoslawski et. al., 2013; N. Sera et. al., 2001; S.H. Wang et. al., 2007]. Выявление этих механизмов позволит расширить патогенетические представления о заболевании.

Цель исследования

Установить молекулярно-генетические, патоморфологические и иммуногистохимические предикторы ремиссии диффузного токсического зоба и разработать алгоритм персонализированного подхода к выбору оптимальной лечебной тактики.

Задачи исследования

1. На основании ретроспективного исследования изучить эффективность антитиреоидной терапии у пациентов с диффузным токсическим зобом за длительный период наблюдения.
2. Установить клинические, молекулярно-генетические и лабораторные предикторы ремиссии диффузного токсического зоба исходно и после проведения курса антитиреоидной терапии.
3. Определить послеоперационные исходы, динамику индекса массы тела, эффективность заместительной терапии препаратами L-тироксина у больных диффузным токсическим зобом с различным объемом оперативного вмешательства.
4. Изучить послеоперационный уровень кальция у пациентов с диффузным токсическим зобом и оценить влияние дефицита и недостатка витамина D на развитие послеоперационной гипокальциемии после экстирпации и субтотальной резекции щитовидной железы.
5. Разработать меры профилактики послеоперационной гипокальциемии у пациентов с диффузным токсическим зобом, после выполнения экстирпации щитовидной железы.
6. Изучить и определить прогностическую ценность морфометрических и иммуногистохимических показателей в послеоперационных образцах ткани щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом.
7. На основании проспективного наблюдения разработать алгоритм персонализированного лечения пациентов с диффузным токсическим зобом.

Объект и предмет исследования

Объект исследования – 722 больных ДТЗ, у которых был диагностирован диффузный токсический зоб. Предмет исследования – проведение молекулярно-генетических, патоморфологических, иммуногистохимических исследований для разработки алгоритма персонализированного лечения пациентов с диффузным токсическим зобом.

Научная новизна исследования

Установлено, что за период с 1970 по 2018 гг. изменился характер течения заболевания у пациентов с диффузным токсическим зобом: число больных с неблагоприятным течением

заболевания (рецидивирующее течение ДТЗ и отсутствие ремиссии после проведения антитиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев) увеличилось с 56,5% до 77,9%.

Впервые создана математическая модель прогноза вероятности ремиссии у пациентов с диффузным токсическим зобом на момент постановки диагноза. В проспективном исследовании было показано, что созданная модель обладает высокой чувствительностью и специфичностью (81% и 73% соответственно).

Разработана математическая модель вероятности ремиссии на фоне длительной антитиреоидной терапии у пациентов с диффузным токсическим зобом с отсутствием ремиссии после проведения стандартной антитиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев.

Доказано, что риск неблагоприятного течения диффузного токсического зоба (отсутствие ремиссии заболевания и рецидив тиреотоксикоза на фоне антитиреоидной терапии) у носителей аллеля -572G (rs1800796 вариант) гена *IL6* в 3,6 раза выше, с генотипом С-1112С (rs1800925 вариант) гена *IL13* в 2,3 раза выше, а также ассоциировано с носительством генотипа ТТ (rs12976445 вариант) гена *MIR125A*.

Установлено, что у пациентов после экстирпации щитовидной железы значимо чаще встречается некомпенсированный гипотиреоз на фоне заместительной гормональной терапии L-тироксином и прибавка веса по сравнению с пациентами, которым была выполнена субтотальная резекция ЩЖ.

Установлена встречаемость послеоперационной гипокальциемии у пациентов диффузным токсическим зобом и ее связь с дефицитом витамина D в Санкт-Петербурге. Разработана схема профилактики послеоперационной гипокальциемии у пациентов с диффузным токсическим зобом.

Выявлены патоморфологические и иммуногистохимические предикторы развития послеоперационного тиреотоксикоза и гипотиреоза у больных диффузным токсическим зобом. Определена связь между фактором апоптоза Bcl-2, белком пролиферации Ki-67 и риском развития послеоперационного тиреотоксикоза у больных диффузным токсическим зобом. Полученные характеристики белков апоптоза и пролиферации дополняют представления о механизмах формирования

диффузного токсического зоба и позволяют уточнить послеоперационный прогноз.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании проведенного исследования дополнены алгоритмы диагностики и лечебной тактики у больных диффузным токсическим зобом.

По результатам проведенного ретроспективного анализа были выделены шесть значимых переменных, которые влияют на прогноз ремиссии диффузного токсического зоба: исходный объем щитовидной железы, наличие эндокринной офтальмопатии, возраст начала заболевания, соотношение свободного трийодтиронина (св. Т₃) к свободному тироксину, исходный уровень антител к рецептору тиреотропного гормона, табакокурение. Эти параметры были использованы в создании модели вероятности ремиссии диффузного токсического зоба.

Разработанные прогностические модели вероятности ремиссии диффузного токсического зоба являются высокоинформативным, достоверным инструментом, который определяет персонифицированный подход к оптимальному выбору способа лечения. Прогностические модели вероятности ремиссии диффузного токсического зоба, позволяющие определить персонифицированный подход лечения являются реальной поддержкой для принятия решения эндокринологом, врачом общей практики и могут быть использованы в рутинной клинической практике для выбора оптимального способа лечения пациентов с диффузным токсическим зобом, а также могут быть внедрены в профессиональную образовательную программу по специальности «Эндокринология».

Ассоциация полиморфных вариантов генов интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК-125А дополняют представления об особенностях клинического течения диффузного токсического зоба у жителей Санкт-Петербурга.

Дополнены алгоритмы лечебной тактики для предоперационной подготовки больных ДТЗ. Разработанные меры профилактики послеоперационной гипокальциемии у больных с тотальной тиреоидэктомией рекомендованы к использованию в предоперационной подготовке больных ДТЗ.

Выявлены патоморфологические и иммуногистохимические предикторы развития послеоперационного гипотиреоза и

тиреотоксикоза больных ДТЗ. Определена связь между белком пролиферации (Ki-67), факторами апоптоза (Bcl-2) и риском развития послеоперационного ТТ у больных ДТЗ. Изучена роль сосудистых факторов роста в послеоперационном течении диффузного токсического зоба. Полученные характеристики белков апоптоза и пролиферации дополняют представления о механизмах формирования ДТЗ и позволяют уточнить послеоперационный прогноз.

В диссертационном исследовании решена научная проблема диагностики, лечебной тактики и прогнозирования исходов заболевания у пациентов с диффузным токсическим зобом. На основании проспективных исследований разработан алгоритм персонафицированного подхода к выбору оптимальной лечебной тактики у пациентов с диффузным токсическим зобом.

Методология и методы исследования

Методологической особенностью исследования является дифференцированный персонализированный подход к диагностике ремиссии ДТЗ. Были использованы методы общеклинического обследования (осмотр, опрос), лабораторные и инструментальные методы: определение гормональных и биохимических показателей, генетические исследования, выполнение УЗИ ЩЖ. Проводились иммуногистохимические реакции в ткани ЩЖ по стандартному протоколу. Для обработки полученных результатов применялся статистический метод с использованием средств программ Microsoft Office Excel (пакет Office 2007 г.) и SPSS 16.0 (SPSS Inc., США). Полученные в ходе статистического анализа данные легли в основу разработанного алгоритма персонафицированного подхода к выбору оптимальной лечебной тактики у пациентов с диффузным токсическим зобом.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У жителей Санкт-Петербурга за последние десятилетия чаще отмечается неблагоприятное течение диффузного токсического зоба: снижение частоты ремиссии заболевания и увеличение частоты рецидивов тиреотоксикоза. Прогноз ремиссии диффузного токсического зоба зависит от исходного объема щитовидной железы, наличия или отсутствия эндокринной офтальмопатии, возраста больных в дебюте заболевания, соотношения свободного Т3 к свободному Т4, исходного уровня антител к рецептору тиреотропного гормона, табакокурения. Разработанные модели

вероятности ремиссии диффузного токсического зоба позволяют прогнозировать вероятность ремиссии, персонифицировать лечебную тактику и могут быть использованы в рутинной клинической практике.

2. У больных диффузным токсическим зобом после выполнения экстирпации щитовидной железы гипокальциемия может наблюдаться не только вследствие гипопаратиреоза, обусловленного удалением или повреждением паращитовидных желез, но и при дефиците или недостаточности 25-гидроксикальциферола в сыворотке крови в предоперационном периоде, что увеличивает риск развития гипокальциемии после операции. Заместительная терапия препаратами витамина D3 перед экстирпацией щитовидной железы у больных с дефицитом или недостаточностью 25-гидроксикальциферола предупреждает развитие гипокальциемии в послеоперационном периоде.

3. Повышение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2, белка пролиферации Ki-67 в ткани щитовидной железы формирует пролиферативный потенциал тиреоцитов и препятствуют формированию ремиссии диффузного токсического зоба. Носительство аллеля -572G (rs180079) гена интерлейкина-6, генотипа C-1112C (rs1800925) гена интерлейкина-13 и генотипа TT (rs12976445) гена микроРНК-125А ассоциировано с неблагоприятным течением диффузного токсического зоба.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование «Диффузный токсический зоб: молекулярно-генетические, патоморфологические, иммуногистохимические аспекты клинического течения при различных способах лечения, оптимизация терапии» соответствует паспорту специальности 14.01.02 – «Эндокринология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, а именно п. № 4 «Этиология и патогенез эндокринных заболеваний, клинические проявления, методы диагностики заболеваний эндокринной системы с использованием клинических, лабораторных, инструментальных и других методов исследования, дифференциальная диагностика различных форм нарушения гормональной регуляции»; п. № 5 «Лечение эндокринных заболеваний: гормонотерапия, химиотерапия, хирургическая коррекция, лучевая терапия, патогенетическая

терапия. Разработка новых методов лечения эндокринных заболеваний (генотерапия, поиск локаторов и стимуляторов секреции гормонов и др.); п. № 6 «Профилактика, выявление и эпидемиология эндокринных заболеваний, диспансерное наблюдение за больными, страдающими эндокринными заболеваниями, статистическая отчетность и обработка статистических данных».

Степень достоверности и апробация результатов

Значимость результатов исследования обеспечиваются репрезентативным и достаточным объемом выборки обследованных больных (722 пациента с ДТЗ и 200 человек контроля без диффузного токсического зоба), многообразием методик, статистической значимостью результатов.

Проведение диссертационного исследования было одобрено независимым комитетом по этике ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (протокол № 11/2021 от 12.11.2021). Апробация работы состоялась на заседании Проблемной комиссии № 2 «Ангиология и кардиология (с секциями сердечно-сосудистой хирургии и кардиологии)» ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (протокол заседания №105 от 12.01.2022).

Основные результаты исследования были доложены и обсуждены на: Ежегодной Европейской тиреоидной ассоциации (Сантьяго де Компостела, 2014 г.); Ежегодном Европейском конгрессе эндокринологов (Копенгаген, 2013 г.), заседании ассоциации эндокринологов СПб (Санкт-Петербург, 2009); Российском симпозиуме по хирургической эндокринологии с международным участием «Эндокринная хирургия 2003-2013 гг.» (Санкт-Петербург, 2013); Конференции врачей акушеров-гинекологов – 80-лет кафедре акушерства и гинекологии СГМУ (Архангельск, 2014); Заседании Ассоциации Эндокринологов посвященная «Хирургические и терапевтические аспекты заболеваний щитовидной железы» (Санкт-Петербург, 2015); Конференции с международным участием посвященной 35-летию ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (Санкт-Петербург, 2015); Всероссийской конференции с международным участием «Командный подход в современной эндокринологии» (Санкт-Петербург, 2016); Терапевтическом форуме «Мультидисциплинарный больной» в рамках Всероссийской

конференции молодых терапевтов (Санкт-Петербург, 2021); XI Балтийском медицинском конгрессе с международным участием «Янтарная осень» (Калининград, 2021); Санкт-Петербургской ежегодной школе эндокринологов – 2021 (Санкт-Петербург, 2021).

Результаты диссертационного исследования были доложены на заседаниях проблемной комиссии «Ангиология и кардиология (с секциями сердечно-сосудистой хирургии и кардиологии)» и кафедре терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии с клиникой имени академика Г.Ф. Ланга ФГБОУ ВО «Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ.

Внедрение результатов исследования

Материалы исследования включены в учебный процесс кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии с клиникой имени академика Г.Ф. Ланга ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России: лекционные и практические занятия для подготовки ординаторов, учебные планы циклов профессиональной переподготовки и циклов повышения квалификации врачей-специалистов (акт внедрения от 10.01.2022).

Материалы диссертационного исследования внедрены в практическую работу отделения эндокринологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (акт внедрения от 10.01.2022), в ГБУЗ поликлинику № 31 (акт внедрения от 10.01.2022).

Личное участие автора в получении результатов

Личный вклад автора состоял в постановке проблемы, анализе литературных данных, обследовании пациентов и динамическом наблюдении за ними, составлении базы данных, анализе и обобщении полученных клинических и лабораторных результатов, статистической обработке данных, формулировке выводов и предложений.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 12 печатных работ в журналах, рекомендованных ВАК и 2 главы в монографии.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 248 страницах печатного текста, состоит из введения, 9 глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 402

наименования, в том числе 322 – иностранных авторов. Основные результаты представлены в 52 таблицах и 42 рисунках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова». Лабораторные исследования выполнены в Центральной клиничко-диагностической лаборатории ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Молекулярно-генетическое исследование было выполнено совместно с аспирантом кафедры факультетской терапии с курсом эндокринологии, кардиологии и клиникой имени академика Г.Ф. Ланга Пейкришвили Н.Э. в отделе молекулярно-генетических и нанобиологических технологий научно-исследовательского центра ПСПбГМУ им. И.П. Павлова.

Критерии включения: возраст старше 18 лет; подписанное информированное согласие; диагностированный диффузный токсический зоб. Критерии невключения: прием амиодарона за один год до включения в исследование; введение йодконтрастных веществ за три месяца до исследования; беременность за предшествующий год; онкопатология; системные заболевания соединительной ткани.

В исследование было включено 922 человека – 665 женщины (72,1%) и 257 мужчин (27,9%). Пациентов с ДТЗ было включено 722 человека: 510 женщин (70,6%) и 212 мужчин (29,4%). Группу сравнения для молекулярно-генетического анализа составили 200 человек (155 женщин и 45 мужчин).

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 - Дизайн исследования

1. Ретроспективный анализ результатов лечения у больных ДТЗ, который был диагностирован в период с 1970 по 2010 года. Было проанализировано 1450 медицинских карт пациентов с ДТЗ, которые проходили лечение в ПСПбГМУ. Из 1450 больных ДТЗ 742 пациента были вызваны на ознакомительный визит. Из 742 пациентов с ДТЗ 522 больных соответствовали критериям включения/невключения и подписали информированное согласие. У всех больных ДТЗ исходно и через 12-18 месяцев лечения был проведен анализ анамнеза, объективного осмотра, тиреоидного статуса (ТТГ, св.Т4, св.Т3), уровней АТ к рТТГ, антител к тиреопероксидазе (АТ к ТПО), ультразвуковое исследование щитовидной железы (УЗИ ЩЖ) и у части больных захвата радиоактивного йода ^{123}I ЩЖ. На момент дебюта заболевания учитывались также пол, возраст, факт табакокурения, характер сопутствующей терапии, семейный анамнез, наличие ЭО и тиреотоксической кардиомиопатии (ТКМП). Диагноз ЭО был верифицирован в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению эндокринной офтальмопатии при аутоиммунной патологии ЩЖ от 2014 года [И.И. Дедов 2014]. Диагноз ТКМП ставился на основании поражения сердечнососудистой системы в виде нарушений сердечного ритма (синусовая тахикардия, фибрилляция предсердий) и развития хронической сердечной недостаточности (ХСН), при исключении ишемической болезни сердца (ИБС).

Все пациенты ДТЗ, для дальнейшего анализа, были разделены на три группы: группа 1 – пациенты, имевшие стойкую ремиссию заболевания (отсутствие рецидива ТТ в течение 2 лет после отмены антитиреоидной терапии); группа 2 – пациенты с рецидивом ТТ через 6 месяцев и более, после отмены антитиреоидной терапии при установленной на момент отмены терапии ремиссии заболевания; группа 3 – больные с отсутствием ремиссии заболевания после 12-18 месяцев консервативной терапии. Вероятность ремиссии оценивали по совокупности клинико-лабораторных показателей: увеличение объема ЩЖ, прогрессии ЭО, нарастания АТ к рТТГ, сохранению эутиреоза. Ремиссией заболевания считали стойкий эутиреоз, отсутствие прогрессии ЭО и увеличения объема ЩЖ, нормализация уровня АТ к рТТГ перед отменой терапии.

С целью разработки математической модели оценки вероятности ремиссии ДТЗ на фоне проведения стандартной

антитиреоидной терапии был проведён пошаговый регрессионный анализ у 334 пациентов с ДТЗ, на основании которого была построена дискриминантная функция D_1 , которая позволила классифицировать больных на две группы. Группа 1 (риск рецидива ТТ низкий) – значение $D_1 < 3,26$, группа 2 (риск рецидива ТТ высокий) – значение $D_1 \geq 3,26$.

2. Открытое проспективное наблюдательное исследование больных ДТЗ для определения чувствительности и специфичности разработанной математической модели прогноза. Было включено 198 больных с впервые диагностированным ДТЗ (106 (54%) женщин и 92 (46%) мужчин). Согласно сформулированным прогностическим критериям больные были разделены на две группы в зависимости от полученного значения D_1 : группа 1 – значение $D_1 < 3,26$ (риск рецидива ТТ низкий); группа 2 – значение $D_1 \geq 3,26$ (риск рецидива ТТ высокий). Все пациенты получали стандартную тиреостатическую терапию в течение 12-18 месяцев. Срок наблюдения за пациентами с ДТЗ второго этапа исследования, после отмены антитиреоидной терапии, составил 4 года.

3. Исследование посвящено наблюдению за пациентами с ДТЗ с отсутствием ремиссии заболевания на фоне антитиреоидной терапии, проводимой в течение 12-18 месяцев. В данный этап исследования было включено 92 пациента с ДТЗ. Антитиреоидная терапия назначалась в поддерживающих дозах сроком до пяти лет. Оценка вероятности ремиссии ДТЗ проводилась каждые 6 месяцев. Через 5 лет, пациенты, у которых была диагностирована спонтанная ремиссия, наблюдались еще пять лет, с регулярным контролем каждые 6 месяцев. С целью разработки математической модели прогноза вероятности ремиссии ДТЗ, на фоне проведения антитиреоидной терапии, был проведён регрессионный анализ. Были выделены две значимые переменные, которые повлияли на прогноз. Была разработана математическая модель прогноза течения ДТЗ после проведения антитиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев. Было рассчитано пороговое значение дискриминантной функции D_2 которое составило 3,2123.

4. Проведение молекулярно-генетического обследования у пациентов с ДТЗ и в группе сравнения для изучения вариантов С-572g (rs1800796) гена *IL6*, С-1112Т (rs1800925) гена *IL13* и С/Т (rs12976445) гена *MIR125A* у пациентов. Все участники генетического

исследования относились к европеоидной расе и проживали на территории города Санкт-Петербурга. Группу сравнения для молекулярно-генетического анализа составили 200 человек (155 женщин и 45 мужчин). По наследственности у обследованных группы сравнения не было указаний на заболевания ЩЖ, при объективном осмотре отсутствие структурных изменений ЩЖ, нормальный уровень ТТГ крови (средний уровень - $2,1 \pm 0,4$ мМЕ/л) и антител к рецептору ТТГ крови (менее 1,0 МЕ/л). Средний возраст группы сравнения составил $54,1 \pm 0,9$ лет. Группы обследования были сопоставимы по полу и возрасту ($p > 0,5$).

5. Оценка исходов оперативного лечения у больных ДТЗ. С 2014 по 2018 года была проанализирована 421 медицинская карта прооперированных пациентов с ДТЗ, которые проходили лечение в ПСПбГМУ за период с 1970 по 2018 года. Из 421 больных ДТЗ 365 пациента были вызваны на ознакомительный визит. С остальными больными связи не было. Далее из 365 пациентов с ДТЗ 310 больных соответствовали критериям включения/невключения и подписали информированное согласие. Из 310 пациентов с ДТЗ 118 больным была выполнена экстирпация ЩЖ, 192 пациентам - субтотальная резекция ЩЖ по Е.С. Драчинской. У всех больных исходно и перед операцией был проведен анализ клинико-лабораторных и инструментальных параметров: УЗИ ЩЖ, гормонального обследования (ТТГ, св. Т4, св. Т3), уровней АТ к ТПО, АТ к рТТГ, кальция общего (Са общ.), кальция ионизированного (Са иониз.), паратиреоидного гормона (ПТГ), 25 – гидроксивитамина (25(ОН)D). Через 1 месяц и через 1 год после операции оценивалась динамика веса и функция ЩЖ (ТТГ в сыворотке крови).

6. У 101 прооперированного больного ДТЗ была проведена оценка кальциевого обмена для выявления послеоперационной гипокальциемии. За гипокальциемию принимали снижение общего кальция $\leq 2,0$ ммоль/л и/или ионизированного кальция $\leq 1,0$ ммоль/л. Из них 67 пациента ДТЗ перенесли экстирпацию ЩЖ, 34 пациента ДТЗ – субтотальную резекцию ЩЖ. Критериями исключения в данной части исследования были: операция в анамнезе на ЩЖ, прием препаратов, влияющих на обмен кальция (препараты кальция и витамина D), антирезорбтивные лекарства, тиазидные диуретики, гормональную заместительную терапию для женщин, находящихся в менопаузе. За день до проведения операции и через 24 часа после

операции пациентам были выполнены забор крови для определения следующих показателей: Са общ., Са иониз., ПТГ и 25 (ОН)D.

7. Для оценки эффективности терапии витамином D в профилактике послеоперационной гипокальциемии у больных ДТЗ перенесших экстирпацию ЩЖ было выполнено: «Проспективное исследование эффективности терапии витамином D до экстирпации щитовидной железы, у больных ДТЗ с различной исходной концентрацией 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови». Было обследовано 74 пациента с ДТЗ, средний возраст составил $39,00 \pm 1,72$ года. У больных за месяц до проведения операции и через 24 часа после операции был выполнен забор крови для определения следующих показателей: Са общ., Са иониз., ПТГ и 25 (ОН)D.

Пациенты в зависимости от уровня 25 (ОН)D за 1 месяц до операции были разделены на 3 группы: группа 1 – уровень витамина D менее 20 нг/мл (дефицит витамина D); группа 2 – уровень витамина D 20-30 нг/мл (недостаточность витамина D); группа 3 – уровень витамина более 30 нг/мл (нормальный уровень витамина D). В зависимости от уровня 25 (ОН)D в крови к терапии был добавлен витамин D (колекальциферол) по следующей схеме: группа 1 – уровень витамина D менее 20 нг/мл (дефицит витамина D) – по 50 капель 2 раза в неделю (50 000 МЕ еженедельно); группа 2 – уровень витамина D 20-30 нг/мл (недостаточность витамина D) – по 50 капель 2 раза в неделю (50 000 МЕ еженедельно); группа 3 – уровень витамина D более 30 нг/мл (нормальный уровень витамина D) – по 15 капель однократно в неделю (7 500 МЕ еженедельно внутрь).

8. Оценка морфофункциональных характеристик и ростовых факторов у пациентов с ДТЗ. У 97 прооперированных больных ДТЗ были сделаны серийные срезы послеоперационного материала ЩЖ толщиной 5 мкм для изучения иммуногистохимических и морфологических показателей.

Статистический анализ результатов исследования выполнен с помощью программы SPSS 16.0 (SPSS Inc., США). Количественные признаки представлены в виде среднего арифметического значения \pm стандартное отклонение (при нормальном распределении значений признака) или в виде медианы – при распределении, отличающемся от нормального. Межгрупповое сравнение значений количественных признаков проводилось с применением U-теста Манна–Уитни. Для оценки зависимостей между количественными признаками

проводился корреляционный анализ и вычислялся коэффициент корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Критерий проверки гипотезы – точный двухсторонний критерий Фишера. Для выявления данных (переменных), максимально влияющих на результат лечения и построения прогностической формулы проводился пошаговый дискриминантный анализ. Для оценки качества полученного прогноза был проведен ROC-анализ. Для получения численного значения клинической значимости теста, а также для сравнения двух тестов, использовался показатель AUC (Area Under Curve, площадь под кривой). Качество теста оценивалось по экспертной шкале для значений интервала AUC: 0,9 – 1,0 - качество модели отличное; 0,8 – 0,9 - очень хорошее; 0,7 – 0,8 – хорошее; 0,6 – 0,7 – среднее; 0,5 – 0,6 неудовлетворительное.

Чувствительность, специфичность рассчитывали по формулам:

$$\text{чувствительность} = (\text{ИП} / \text{ИП} + \text{ЛО}) \times 100\%, \quad (1)$$

$$\text{специфичность} = (\text{ИО} / \text{ИО} + \text{ЛП}) \times 100\%, \quad (2)$$

где ИП – истинно-положительные результаты; ИО – истинно-отрицательные результаты; ЛО – ложноотрицательные результаты; ЛП – ложноположительные результаты

Общая характеристика больных диффузным токсическим зобом

В исследование было включено 722 пациента с ДТЗ из них 510 женщин (70,6%) и 212 мужчин (29,4%). Средний возраст больных составил $42,09 \pm 0,59$ лет ($41,15 \pm 0,66$ лет у женщин, $45,25 \pm 1,40$ года у мужчин). Женщины были значимо моложе ($p = 0,01$). В среднем показатель АТ к рТТГ составил $15,34 \pm 1,16$ МЕ/л. Повышение АТ к ТПО было обнаружено у 100 из 342 больных ДТЗ (29,2%) и в среднем показатель составил – $497,66 \pm 55,64$ МЕ/мл.

В зависимости от года постановки диагноза ДТЗ все обследованные пациенты были разделены для дальнейшего анализа на 6 групп: группа 1 – пациенты, у которых диагноз ДТЗ был установлен с 1970 до 1989 года; группа 2 – в 1990-1994 годах; группа 3 – в 1995-1999 годах; группа 4 – в 2000-2004 годах; группа 5 – в 2005-2009 годах; группа 6 – в 2010-2018 годах. Процент больных имевших ремиссию ДТЗ в период с 1970 до 2010 года постепенно снижался: до 1990 года количество таких больных составило 43,5%, тогда как в период с 2010 по 2018 года ремиссия была установлена только у 22,1% больных ДТЗ. И наоборот, процент лиц с отсутствием

ремиссии заболевания прогрессивно нарастал: если до 1990 года таких больных было только 19,4%, то в 2010-2018 годах они уже составляли 41,2% обследованных.

Далее был проведен анализ временного промежутка между окончанием антитиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев и временем возникновения рецидива ТТ. За период с 1970 по 2018 гг., рецидив ТТ, после отмены антитиреоидной терапии, стал развиваться быстрее ($p < 0,001$). До 1990 года рецидив ТТ возникал через $225,88 \pm 32,38$ месяцев после прекращения антитиреоидной терапии, а за период с 2011 по 2018 года уже через $7,83 \pm 1,56$ месяцев ($p < 0,001$).

Ретроспективный анализ результатов лечения у больных диффузным токсическим зобом

В исследование было включено 522 больных ДТЗ, из них 402 женщины (77%) и 120 мужчин (23%). Все пациенты получали антитиреоидную терапию сроком 12-18 месяцев. Средний возраст больных составил $41,21 \pm 0,63$ года (у женщин – $39,14 \pm 0,66$ лет, у мужчины $44,27 \pm 0,65$ лет). Женщины были моложе ($p = 0,03$).

Пациенты ДТЗ были разделены на три группы: группа 1 – пациенты, имевшие стойкую ремиссию заболевания (более 2 лет); группа 2 – пациенты с рецидивом ТТ через 6 месяцев и больше после отмены антитиреоидной терапии; группа 3 – больные с отсутствием ремиссии заболевания. Возраст на момент постановки диагноза ДТЗ у больных, достигших ремиссии заболевания, был старше ($p = 0,04$ и $p = 0,01$, соответственно), по сравнению с группами больных неблагоприятного прогноза (группа 2 и группа 3). Факт табакокурения был зафиксирован в большем проценте случаев у больных с рецидивом ТТ (19,2%) и отсутствием ремиссии ДТЗ (30,7%), по сравнению с больными у которых была достигнута стойкая ремиссия заболевания (8,1%) ($p < 0,0001$ и $p < 0,0001$, соответственно). Результаты сопоставления объема ЩЖ на момент постановки диагноза ДТЗ и через 12-18 месяцев консервативной терапии показали, что и у мужчин, и у женщин с рецидивом синдрома ТТ (группа 2) и отсутствием ремиссии ДТЗ (группа 3) объем ЩЖ был значимо больше, чем у больных достигших стойкой ремиссии (группа 1) ($p_{1-2} < 0,0001$). Было установлено, что наибольший объем ЩЖ на момент начала заболевания определялся у обследованных больных 3 группы: у женщин в среднем объем ЩЖ был $35,54 \pm 1,66$ см³, у мужчин – $40,04 \pm 2,21$ см³. На фоне проводимой

анти тиреоидной терапии через 12-18 месяцев лечения и у женщин, и у мужчин из группы 2 и 3 наблюдалось дальнейшее значимое увеличение объема ЩЖ ($p < 0,05$). В то же время, у лиц со стойкой ремиссией заболевания (группа 1) как у женщин, так и у мужчин отмечалось уменьшение объема ЩЖ, что явилось одним из критериев ремиссии ДТЗ ($p = 0,01$ и $p = 0,01$, соответственно). ЭО была выявлена у 154 больных ДТЗ. У пациентов со стойкой ремиссией заболевания (группа 1) проявления ЭО наблюдались реже - в 10,1% случаев, чем у больных с неблагоприятным течением ДТЗ ($p = 0,001$). Максимальное количество больных с ЭО было выявлено в группе пациентов, у которых не удалось в дальнейшем достичь ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии – в 51,3% случаев. У пациентов с ЭО чаще был установлен факт курения ($p < 0,0001$). Так, среди пациентов с ЭО число курящих больных было 40,3% (62 из 154 больных), среди больных без ЭО курящих было 18,5% (68 из 368 больных) ($p < 0,0001$). Анализ лабораторных данных больных с ЭО показал значимо больший уровень АТ к рТТГ крови как исходно ($p < 0,0001$), так и через 18 месяцев консервативной терапии ($p < 0,0001$). Так же у больных с ЭО был значимо больший уровень св. Т3 ($p < 0,0001$) и соотношения св. Т3/св. Т4 ($p < 0,0001$). ТКМП была диагностирована у 49 из 522 больных ДТЗ (9,4%). Далее был проведен сравнительный анализ лабораторных показателей больных ДТЗ до начала лечения и перед отменой анти тиреоидной терапии. Было установлено, что исходно концентрация АТ к рТТГ крови и через 18 месяцев анти тиреоидной терапии была значимо выше ($p = 0,002$) в группе 3 (отсутствие ремиссии ДТЗ), по сравнению с группой 1 и 2. Значимые различия были выявлены по уровню гормонов ЩЖ, при отсутствии ремиссии (группа 3) исходный уровень св. Т3 и соотношение св. Т3/св.Т4 были выше ($p < 0,0001$).

Математическая модель прогнозирования ремиссии диффузного токсического зоба после проведения анти тиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев

С целью разработки математической модели прогнозирования вероятности ремиссии ДТЗ на фоне проведения анти тиреоидной терапии был проведён регрессионный анализ. Для выявления переменных, максимально влияющих на результат лечения, и построения прогнозирующей функции проводилась процедура пошагового дискриминантного анализа у 334 пациентов с ДТЗ. В

результате были выделены шесть значимых дискриминантных переменных, которые влияют на прогноз: исходный объем ЩЖ, наличие ЭО, возраст начала заболевания, исходное (до лечения) соотношение св.Т3/св.Т4, исходный уровень АТ к рТТГ, курение.

На основании отбора наиболее информативных признаков, для расчёта вероятности наступления ремиссии у больных ДТЗ, после терапии антитиреоидными препаратами сроком 12-18 месяцев, было создано следующее уравнение:

$$D_1 = 0,03 \times \text{исходный объем ЩЖ (см}^3\text{)} + 1,12 \times \text{офтальмопатия (на момент поставки диагноза)} + 0,04 \times \text{возраст начала заболевания (лет)} + 1,14 \times \text{соотношение св.Т3/св.Т4 (исходно)} + 0,04 \times \text{АТ к рТТГ (исходно, МЕ/л)} + 0,33 \times \text{курение (на момент поставки диагноза)}, \quad (3)$$

Примечание – офтальмопатия – наличие – 1, отсутствие – 0; курение – да – 1, нет – 0.

При построении прогноза для каждого пациента вычисляется индивидуальное значение D_1 . Если $D_1 \geq 3,26$, то пациент будет иметь прогноз «отсутствие ремиссии» (точность прогноза 74%).

С целью оценки возможности интерпретации полученных показателей влияющих на вероятность наступления ремиссии у больных ДТЗ был проведен ROC анализ (рисунок 2).

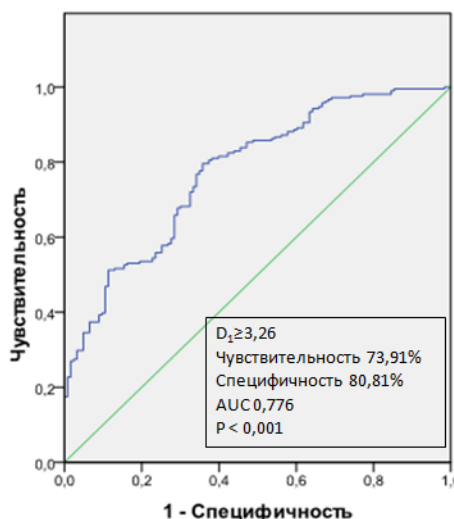
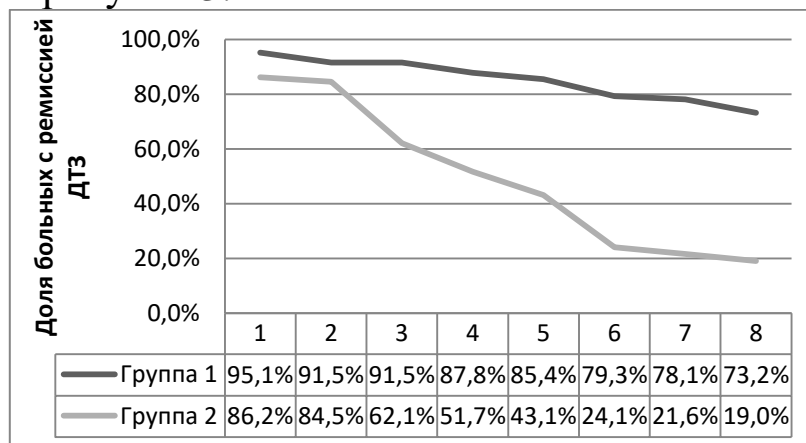


Рисунок 2 – ROC-кривая соотношения чувствительности/специфичности модели прогнозирования вероятности наступления ремиссии у больных диффузным токсическим зобом

Площадь под кривой составила 0,776, что позволяет оценить качество модели как хорошее.

Открытое проспективное наблюдательное исследование больных диффузным токсическим зобом для определения чувствительности и специфичности разработанной математической модели прогноза

В исследование было включено 198 больных ДТЗ, из них 106 женщин (54%) и 92 мужчины (46%). Все пациенты никогда ранее не получали антитиреоидную терапию. Средний возраст больных составил $45,96 \pm 0,67$ года (у женщин – $44,17 \pm 0,66$ лет, у мужчин $46,25 \pm 0,71$ лет). По возрасту мужчины и женщины были сопоставимы ($p=0,05$). Пациентам был рассчитан показатель D_1 по формуле. Все пациенты ДТЗ были разделены на две группы в соответствии с вероятностью ремиссии по показателю D_1 : группа 1 - значение D_1 менее 3,26 ($n = 82$; 41%); группа 2 - значение D_1 равно 3,26 и более ($n = 116$; 59%). Далее анализ клинико-лабораторных данных был проведен через 18 месяцев консервативной терапии, с оценкой наступления ремиссии ДТЗ и в дальнейшем обследование повторялось каждые 6 месяцев в течение 4 лет. Результаты представлены на рисунке 3.



Примечание: группа 1 - значение D_1 менее 3,26; группа 2 - значение D_1 равно 3,26 и более. 1 – визит больных ДТЗ при отмене терапии (через 12-18 месяцев лечения); 2 – визит больных ДТЗ через 6 месяцев отмены терапии; 3 – визит через 12 месяцев отмены терапии; 4 – визит через 18 месяцев отмены терапии; 5 – визит через 24 месяцев отмены терапии; 6 – визит через 30 месяцев отмены терапии; 7 – визит через 36 месяцев отмены терапии; 8 – визит через 42 месяца отмены терапии.

Рисунок 3 – Доля больных диффузным токсическим зобом с ремиссией заболевания после отмены анти тиреоидной терапии с учетом D_1 критерия.

Как видно из представленных данных, в группе 1 число больных с ремиссией заболевания оставалось высоким и через 4 года (после отмены анти тиреоидной терапии) составило 73,2%. В группе 2 количество больных с ремиссией ДТЗ значительно снижалось, каждые полгода и через 4 года составило 18,6% ($p < 0,001$). Чувствительность расчетной модели рассчитывали по формуле: чувствительность = $(ИП/ИП+ЛО) \times 100\% = (94/94+22) \times 100\% = 81\%$. Специфичность модели рассчитывали по формуле: $(ИО/ИО+ЛП) \times 100\% = (60/60+22) \times 100\% = 73\%$.

Обследование и наблюдение за пациентами с диффузным токсическим зобом с отсутствием ремиссии на фоне анти тиреоидной терапии в течение 12-18 месяцев (длительность наблюдения до 10 лет)

Следующий этап исследования посвящен обследованию и наблюдению за пациентами с ДТЗ, у которых через 12-18 месяцев анти тиреоидной терапии отсутствовала ремиссия заболевания. В исследование было включено 92 пациента, преимущественно женщины: 78,4% женщин и 21,6% мужчин. Анти тиреоидная терапия назначалась в поддерживающих дозах сроком до пяти лет и с оценкой вероятности наступления ремиссии ДТЗ каждые 6 месяцев. Пациенты ДТЗ, которым была диагностирована спонтанная ремиссия наблюдались еще пять лет, с регулярным контролем клиничко-лабораторных показателей каждые 6 месяцев. В случае отсутствия ремиссии ДТЗ в зависимости от показаний пациентам выполнялось или оперативное лечение или радиойодтерапия.

Пациенты были разделены на 2 группы: группа 1 - наступила ремиссия ДТЗ, группа 2 – отсутствие ремиссии ДТЗ. Были выявлены значимые различия по возрасту пациентов и объему ЩЖ. Группа больных с отсутствием ремиссии (группа 2) были значимо моложе ($p < 0,0001$) и имели больший объем ЩЖ ($p < 0,0001$).

С целью разработки математической модели прогнозирования вероятности ремиссии ДТЗ у больных, у которых не наступила ремиссия ДТЗ после 12-18 месяцев лечения был проведён регрессионный анализ. Для выявления переменных, максимально

влияющих на результат лечения, и построения прогнозирующей функции проводилась процедура пошагового дискриминантного анализа. В результате были выделены две значимые дискриминантные переменные, которые влияли на прогноз. Переменные, расположенные в порядке значимости, приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Значимые переменные, влияющие на прогноз лечения больных диффузным токсическим зобом

Номер переменной	Дискриминантные переменные	Коэффициенты значимости
1	Объем ЩЖ через 12-18 месяцев лечения, (см ³)	0,13464
2	Возраст пациента через 12-18 месяцев лечения, (лет)	-0,07012
	Константа	-3,2123

На основании отбора наиболее информативных признаков, для расчёта «отсутствие ремиссии» у больных ДТЗ, после терапии анти tireоидными препаратами до 5 лет, было создано следующее уравнение:

$$D_2 = 0,13464 \times \text{объем ЩЖ (см}^3\text{, через 12- 18 месяцев лечения)} - 0,07012 \times \text{возраст (лет, через 12- 18 месяцев лечения)} \quad (4)$$

При построении прогноза для каждого пациента вычисляется индивидуальное значение D_2 , и если $D_2 \geq 3,2123$, то пациент будет иметь прогноз «отсутствие ремиссии диффузного токсического зоба».

Разработанные критерий D_1 и D_2 были включены в алгоритм лечения больных ДТЗ (рис. 6).

Результаты изучения вариантов с-572g (rs1800796) гена интерлейкина-6, с-1112т (rs1800925) гена интерлейкина-13 и с/т (rs12976445) гена микрорнк-125а у пациентов с диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

В группе сравнения распределение генотипов полиморфизма rs1800796 гена *IL6* было следующим: GG – 66,5% (n=133), CG – 30,5% (n=61), CC – 3,0% (n=6). Частота аллелей -572C и -572G у больных ДТЗ не отличалась от распространенности данных аллелей в группе сравнения (C 0,24, G 0,76 и C 0,19, G 0,81, соответственно). Распределение генотипов в исследуемых группах находилось в

равновесии с законом Харди-Вайнберга. Большинство пациентов с ДТЗ были носителями генотипа G-572G – 58,3% (n=156), 36,5% (n=100) больных – С-572G генотипа, 5,2% – С-572С. Среди мужчин с ДТЗ частота генотипов была следующей: генотип G-572G – 60,0% (n=36), С-572G – 33,3% (n=20), С-572С – 6,7% (n=4). Среди женщин с ДТЗ: G-572G – 57,6% (n=120), С-572G – 37,6% (n=80), С-572С – 4,8% (n=10). Таким образом, среди мужчин и женщин с ДТЗ, вошедших в исследование, преобладал генотип G-572G гена *IL6*. Распределение генотипов не различалось у мужчин и женщин с ДТЗ. У больных ДТЗ, носителей генотипов G-572G и С-572G, чаще наблюдался рецидив синдрома ТТ после отмены консервативного лечения, чем у пациентов с генотипом С-572С. У носителей аллеля –572G гена *IL6* риск рецидива ТТ и отсутствия ремиссии заболевания был выше в 3,6 раза, чем у носителей генотипа С-572С (p=0,03, ОШ=3,6, 95% ДИ 1,25-9,6).

В группе больных ДТЗ распределение генотипов было следующим: С-1112С – 51,7% (n=140); С-1112Т – 41,3% (n=112); ТТ – 7% (n=18). В группе сравнения – СС – 52,5% (n=105), СТ – 40% (n=80), ТТ – 7,5% (n=15). Распределение генотипов в группе больных ДТЗ и группе сравнения находилось в равновесии с законом Харди-Вайнберга (0,487 и 0,002, соответственно). По данным анализа клинических особенностей течения ДТЗ у носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* было установлено, что у пациентов, носителей генотипа С-1112С, манифестация заболевания наблюдалась в более молодом возрасте, чем у больных ДТЗ, носителей аллеля -1112Т (Т-1112Т + С-1112Т) (40,2±1,1 лет и 43,3±1,2 лет, соответственно, p=0,04). Установлено, что у больных ДТЗ, носителей С-1112С генотипа, риск рецидива ТТ и отсутствия ремиссии заболевания был выше в 2,3 раза, чем у пациентов с ДТЗ, носителей аллеля -1112Т (Т-1112Т и С-1112Т генотипы) гена *IL13* (rs1800925 полиморфизм) (p=0,026, ОШ=2,29, 95% ДИ 1,11-4,82).

Распределение СС, СТ, ТТ генотипов и аллелей полиморфного варианта rs12976445 гена *MIR125A* у больных ДТЗ и в группе сравнения не различались. В результате оценки частоты ремиссии, рецидива ДТЗ и отсутствия ремиссии заболевания среди носителей различных генотипов полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* было выявлено, что у больных ДТЗ, носителей ТТ генотипа, риск рецидива ТТ был выше в 2,6 раз, чем у пациентов с ДТЗ, носителей аллеля С

(СС и СТ генотипы) гена *MIR125A* (rs12976445 полиморфизм) ($p=0,011$, ОШ=2,6, 95% ДИ 1,22-5,57).

Результаты оперативного лечения больных диффузным токсическим зобом за период с 1970 по 2018 года

В исследование было включено 310 пациентов с ДТЗ (234 женщин – 75,5 % и 76 мужчин – 24,5 %), диагностированным за период с 1970 до 2018 года, которые были оперированы из-за отсутствия ремиссии заболевания на фоне длительной консервативной терапии. Средний возраст больных составил $46,46 \pm 0,99$ лет ($45,89 \pm 1,12$ лет у женщин и $45,89 \pm 1,12$ лет у мужчин). Для дальнейшего анализа пациенты были разделены на две группы: группа 1 – выполнена операция по методике Е.С. Драчинской (послеоперационный объем ЩЖ составляет 4-8 см³) ($n=192$), группа 2 – выполнена экстирпация ЩЖ ($n=118$). Пациенты были сопоставимы по возрасту, полу, исходному объему ЩЖ. В группе 1 (оперативное лечение по Е.С. Драчинской) был проведен анализ послеоперационных исходов, как минимум через год после операции. Стойкий эутиреоз сохранялся у 37,5% больных, гипотиреоз развился у 35,4 %, а рецидив ТТ - у 27,1 % больных.

Тиреоидная функция и динамика веса у пациентов с диффузным токсическим зобом после различных вариантов оперативного лечения.

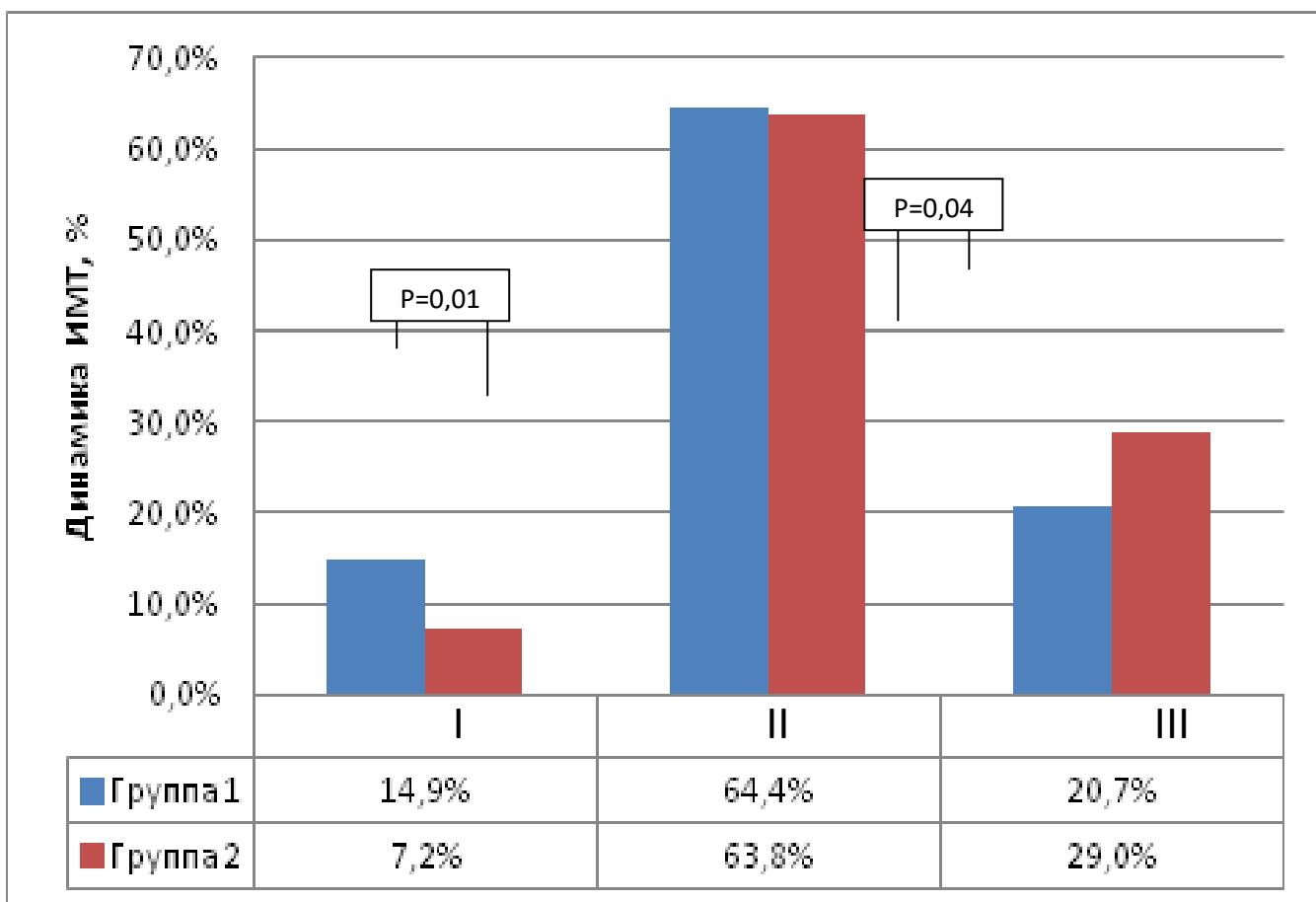
Показатели тиреоидного статуса у прооперированных пациентов были оценены до операции, через 1 месяц и через 1 год после операции, результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели функционального состояния щитовидной железы у прооперированных пациентов диффузным токсическим зобом

Показатель	Группа 1	Группа 2	p
ТТГ крови до операции, (мМЕ/л)	$1,78 \pm 0,53^*$	$1,26 \pm 0,26^*$	0,94
ТТГ крови через 1 месяц после операции, (мМЕ/л)	$3,83 \pm 0,36^{**}$	$2,96 \pm 0,31^{**}$	0,02
ТТГ крови через 1 год после операции, (мМЕ/л)	$3,22 \pm 0,97^{***}$	$6,36 \pm 1,43^{***}$	0,01
p	*-**= 0,04 *-*==0,05 **-*==0,72	*-**=0,05 *-*== 0,002 **-*== 0,01	–

Через один год у пациентов с экстирпацией ЩЖ уровень ТТГ крови был значимо выше, по сравнению с больными, у которых была выполнена органосохраняющая операция ($p=0,01$). ТТГ выше нормы через год после операции в группе 2 был зарегистрирован у 21 больного из 69 (30,4%), в то время как у пациентов группы 1 (выполнена субтотальная резекция ЩЖ) у 12 из 87 больных (13,7%) ($p=0,02$).

Далее был проанализирован индекс массы тела (ИМТ) в обследованных группах. У пациентов до и после операции значимых различий в обеих группах выявлено не было: группа 1 – до операции ИМТ $25,67 \pm 0,57$ кг/м², после операции $25,87 \pm 0,60$ кг/м²; группа 2 – до операции ИМТ $25,13 \pm 0,40$ кг/м², после операции $25,67 \pm 0,46$ кг/м². Однако при анализе динамики веса при различных вариантах операции были выявлены отличия (рисунок 4). Как видно из представленных данных, в группе 1 отмечалось снижение веса после операции в течение первого года у 14,9% больных, в то время как в группе 2 только у 7,2% больных ($p=0,01$). Прибавка веса была высокой в обеих группах: в группе 1 – 20,7%, в группе 2 – 29,0%, но в группе после выполнения экстирпации ЩЖ значимо больше ($p=0,04$).



Примечание – группа 1 – выполнена субтотальная резекция щитовидной железы (операция по методике Е.С. Драчинской – послеоперационный объем ЩЖ составляет 4-8 см³); группа 2 – экстирпация ЩЖ; I – уменьшение массы тела через 1 год после операции; II – отсутствие изменений массы тела через 1 год после операции; III – увеличение массы тела через 1 год после операции; p – достоверность различий.

Рисунок 4 – Динамика индекса массы тела через один год после оперативного лечения диффузного токсического зоба в зависимости от объема операции

У больных с прибавкой веса, была выявлена положительная корреляционная связь между прибавкой ИМТ в течение года и ТТГ крови через 1 год после операции ($p=0,02$, $r=0,247$).

Послеоперационная гипокальциемия у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

В исследование было включено 101 больной ДТЗ (76 женщин – 75,3% и 25 мужчин – 24,7%), которые были оперированы из-за отсутствия ремиссии заболевания после проведения консервативной терапии сроком 12-18 месяцев (операция выполнена с 2012 по 2015

года). Из них 34 пациента ДТЗ перенесли субтотальную резекцию ЩЖ (группа 1), 67 пациента ДТЗ – экстирпацию ЩЖ (группа 2). Средний возраст обследованных составил $41,91 \pm 2,11$ года.

У 51 больного ДТЗ (50,5%) был выявлен дефицит витамина D, у 23 больных (22,8%) – недостаток витамина D, у 27 больных (26,7%) – нормальный уровень обеспеченности витамином D. Предоперационных различий по обеспеченности витамином D между группой 1 и группой 2 выявлено не было.

Через 1 сутки после операции всем пациентам были определены Ca общ., Ca иониз., ПТГ, 25(OH)D. У 27 больного (26,7%) была выявлена гипокальциемия (снижение Ca общ. $\leq 2,0$ ммоль/л и/или Ca иониз. $\leq 1,00$ ммоль/л). Пациенты, соответственно были разделены на 2 группы: группа I – уровень Ca общ. и/или Ca иониз. снижен, группа II – уровень Ca общ. и/или Ca иониз. в норме. У пациентов с послеоперационной гипокальциемией была больше длительность заболевания ($p=0,01$). Уровень ПТГ через 1 сутки после операции в группе I был значимо ниже ($p=0,02$), по сравнению с пациентами группы II, у которых сохранялась нормокальциемия. Объем ЩЖ был значимо больше у больных, у которых развилась послеоперационная гипокальциемия ($p=0,01$). Уровень 25(OH)D был ниже в группе пациентов с гипокальциемией, однако эта разница была не достоверной ($p=0,05$). У пациентов с послеоперационной гипокальциемией дефицит 25(OH)D был выявлен у 77,8% процентов больных, в то время как у больных с нормокальциемией в 40,5% случаев ($p=0,01$).

Анализ послеоперационного уровня кальция у пациентов ДТЗ в зависимости от исходного уровня 25(OH)D показал, что при дефиците 25(OH)D процент послеоперационной гипокальциемии был значимо больше ($p=0,02$), чем при недостаточном или нормальном уровне 25(OH)D.

Выявляемость послеоперационной гипокальциемии различалась в зависимости от варианта оперативного лечения. При экстирпации ЩЖ гипокальциемия выявлялась в 38,8% случаев (26 из 67 прооперированных больных ДТЗ), а при субтотальной резекции ЩЖ по Е.С. Драчинской только в 2,9% случаев (1 из 34 прооперированных больных ДТЗ) ($p<0,001$).

Перспективное исследование эффективности терапии витамином D до экстирпации щитовидной железы у больных

диффузным токсическим зобом с различной исходной концентрацией 25-(ОН) D в сыворотке крови

В зависимости от исходного уровня витамина D пациентам были даны рекомендации по питанию (добавлены продукты с богатым содержанием кальция). Как указывалось ранее в соответствии с рекомендациями РФ к терапии добавлен витамин D (колекальциферол) по схеме согласно рекомендациям РФ. Данную терапию все больные принимали до операции в течение месяца. Через сутки после операции была проведена оценка кальциевого обмена. У 73 больных по результатам проведенного обследования уровни общего и ионизированного кальция были в пределах нормальных значений. Только у одного пациента из 74 (1,4%) через сутки после операции был низкий уровень ионизированного кальция (0,99 ммоль/л), уровень общего кальция был в норме и клинических симптомов гипокальциемии не было. Еще через одни сутки был повторно выполнен анализ крови на Са иониз. у этого пациента, результат был в норме.

Морфофункциональная характеристика щитовидной железы у больных прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

В исследование было включено 97 пациентов ДТЗ: 75 женщин (77,3%), 22 мужчин (22,7%). Всем пациентам за период с 1990 по 2011 гг. была выполнена субтотальная резекция ЩЖ по методике Е.С. Драчинской (послеоперационный объем ЩЖ – 4-8 см³). Средний возраст обследуемых варьировал от 22 до 74 лет и в среднем составил – 48,34±1,37 лет. Распределение больных ДТЗ по возрасту было равномерным.

Для дальнейшего анализа все пациенты были разделены на три группы в зависимости от исходов оперативного лечения: группа 1 – эутиреоз; группа 2 – гипотиреоз; группа 3 – ТТ. Оценка морфологических показателей выявила следующие закономерности: высота тиреоцитов была наибольшей в группе пациентов с ДТЗ с послеоперационным ТТ (6,04±0,40 мкм), по сравнению с высотой тиреоцитов в группе больных с послеоперационным гипотиреозом (5,17±0,36 мкм), (p=0,02), что говорит о большей функциональной активности тиреоцитов в группе 3. На рисунке 5 представлен пример высоты тиреоцитов больного ДТЗ, у которого после субтотальной резекции ЩЖ развился ТТ. На рисунке 6 - пример высоты

тиреоцитов больного ДТЗ с развитием послеоперационного гипотиреоза.

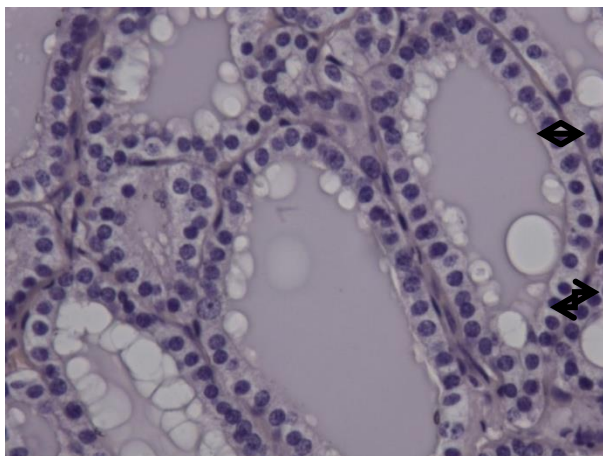


Рисунок 5 – Высота тиреоцитов у пациента К. (42 года), с развитием тиреотоксикоза через 4 месяца после выполнения субтотальной резекции щитовидной железы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

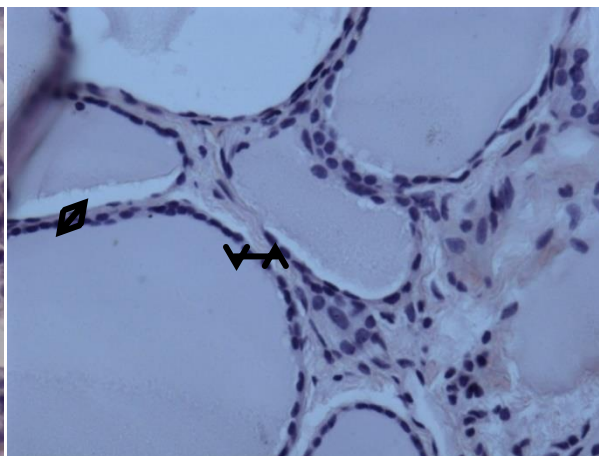


Рисунок 6 – Высота тиреоцитов у пациента Л. (39 лет), с развитием гипотиреоза через 11 месяцев после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

Площадь фолликулов была наибольшей в группе пациентов со стойким эутиреозом, группа 1 - ($17107,94 \pm 5539,54$ мкм), меньше в группе 2 ($12439,66 \pm 1711,24$ мкм).

Роль ростовых факторов в развитии послеоперационных исходов у больных диффузным токсическим зобом

В исследование было включено 24 пациента с ДТЗ. Все обследованные были женщинами, которые за период с 2000 по 2011 гг. перенесли субтотальную резекцию ЩЖ по методике Е.С. Драчинской (послеоперационный объем ЩЖ составил 4-8 см³). Для иммуногистохимического исследования у этих больных ДТЗ были взяты послеоперационные парафиновые блоки ЩЖ, в которых изучалась экспрессия белков Ki-67, Vcl-2, Вах, Fas-L, CD 34, VEGF, FGF, каспазы-8, ММ. Для дальнейшего анализа все пациенты были разделены на три группы: группа 1 – больные, которые сохраняли стойкий эутиреоз после операции; группа 2 – больные, у которых

развился послеоперационный гипотиреоз; группа 3 – больные, у которых был диагностирован послеоперационный ТТ. При сопоставлении иммуногистохимических показателей в группах больных ДТЗ была установлена значимо большая экспрессия у пациентов с послеоперационным ТТ следующих ростовых факторов: Ki-67 ($p < 0,0001$), Vcl-2 ($p = 0,001$), CD 34 ($p = 0,005$), VEGF ($p = 0,001$), FGF ($p = 0,001$) и соотношения экспрессии Vcl-2/Vax ($p = 0,004$). Анализ антиапоптотического белка Fas-L показал, что его экспрессия была выше у больных с послеоперационным гипотиреозом ($p = 0,002$). Далее был проведен корреляционный анализ между изучаемыми иммуногистохимическими показателями и послеоперационным развитием ТТ. Высокая прямая статистически значимая степень взаимосвязи была выявлена между экспрессией белка пролиферации Ki-67 и развитием рецидива ДТЗ ($r = 0,736$; $p < 0,001$); между антиапоптотическим белком Vcl-2 и развитием ТТ ($r = 0,638$; $p = 0,001$). Из изучаемых сосудистых факторов роста корреляционная связь с рецидивом тиреотоксикоза была выявлена с CD-34 ($r = 0,672$; $p < 0,001$), с VEGF ($r = 0,824$; $p < 0,001$), с FGF ($r = 0,756$; $p = 0,001$).

Корреляционная зависимость между иммуногистохимическими, лабораторно-инструментальными, морфофункциональными показателями у больных, прооперированных по поводу ДТЗ, показала тесные взаимосвязи между иммунологическими и структурными показателями ЩЖ у больных ДТЗ. Выявлена значимая корреляционная связь между уровнем АТ к рТТГ и объемом ЩЖ, объемом ЩЖ и высотой тиреоцитов, уровнем АТ к рТТГ и площадью фолликулов, уровнем АТ к рТТГ и Vcl-2, уровнем АТ к ТПО и Vcl-2, объемом ЩЖ и Vax, антителами к рецептору ТТГ и Vax, уровнем антител к ТПО и Ki-67, уровнем АТ к рТТГ и FGF, уровнем АТ к рТТГ и VEGF, объемом ЩЖ и FGF, FGF и Ki-67.

С целью оценки основных показателей, которые влияют на клиническое течение ДТЗ в обследованной группе больных, был выполнен логистический регрессионный анализ. В качестве маркеров были включены все изучаемые ростовые факторы (Ki-67, Vcl-2, Vax, Fas-L, CD 34, VEGF, FGF, каспазы-8, ММ). При проведении регрессионного анализа была выявлена статистическая значимость модели, в которую были включены следующие показатели: Vcl-2 и Ki-67. С целью установления порогового значения («точка отсечения», cut-off value) относительной площади экспрессии Vcl-2,

при котором вероятность рецидива заболевания выше, был проведен ROC-анализ (ROC – Receiver Operator Characteristic). Установлено, что при относительной площади Vcl-2 более 2,19 вероятность рецидива ТТ у пациентов с ДТЗ после проведения субтотальной резекции ЩЖ выше. Чувствительность данной модели составляет 70%, специфичность 100%, AUC (area under curve) – 0,904 ($p=0,001$, 95% ДИ 0,837-0,949). С целью установления порогового значения («точка отсечения», cut-off value) относительной площади экспрессии Ki-67, при котором вероятность рецидива заболевания выше, был проведен ROC-анализ (ROC – Receiver Operator Characteristic). Установлено, что при относительной площади Ki-67 более 1,059 вероятность рецидива ТТ у пациентов с ДТЗ после проведения субтотальной резекции ЩЖ выше. Чувствительность данной модели составляет 74%, специфичность 100%, AUC (area under curve) – 0,926 ($p=0,002$, 95% ДИ 0,828-0,996).

Примеры ядерной экспрессии белков Vcl-2 и Ki-67 в ЩЖ при развитии рецидива послеоперационного тиреотоксикоза представлены на рисунках 7 и 8.

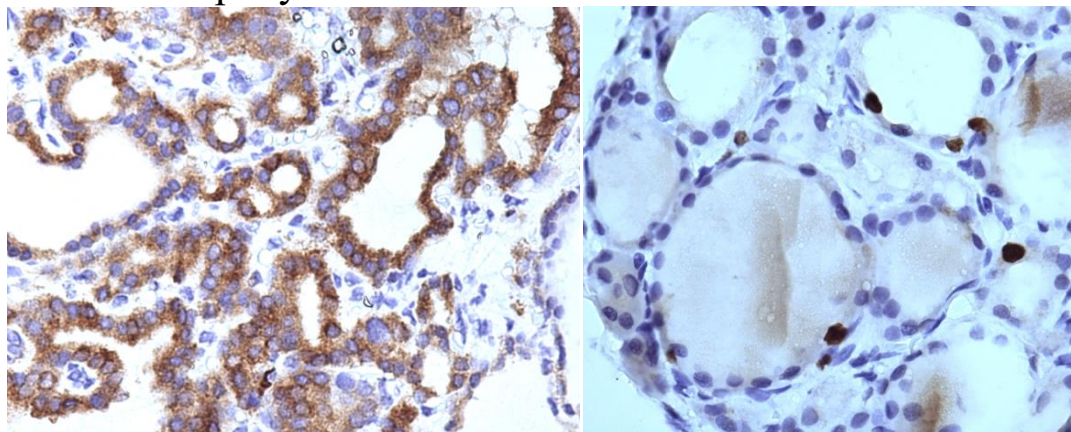


Рисунок 7 – Ядерная экспрессия белка Vcl-2 в ЩЖ. Больная С., 41 год. Увеличение $\times 40$

Рисунок 8 – Ядерная экспрессия белка Ki-67 в ЩЖ. Больная С., 41 год. Увеличение $\times 40$

Примеры ядерной экспрессии белков Vcl-2 и Ki-67 в ЩЖ при развитии послеоперационного гипотиреоза представлены на рисунках 9 и 10.

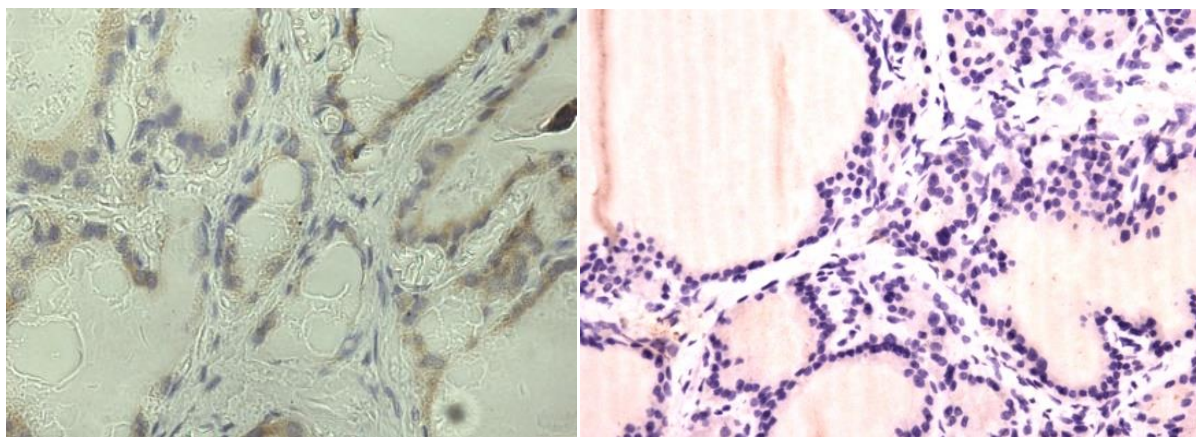


Рисунок 9 – Ядерная экспрессия белка Vcl-2 в ЩЖ. Больная М., 45 лет. Увеличение $\times 40$

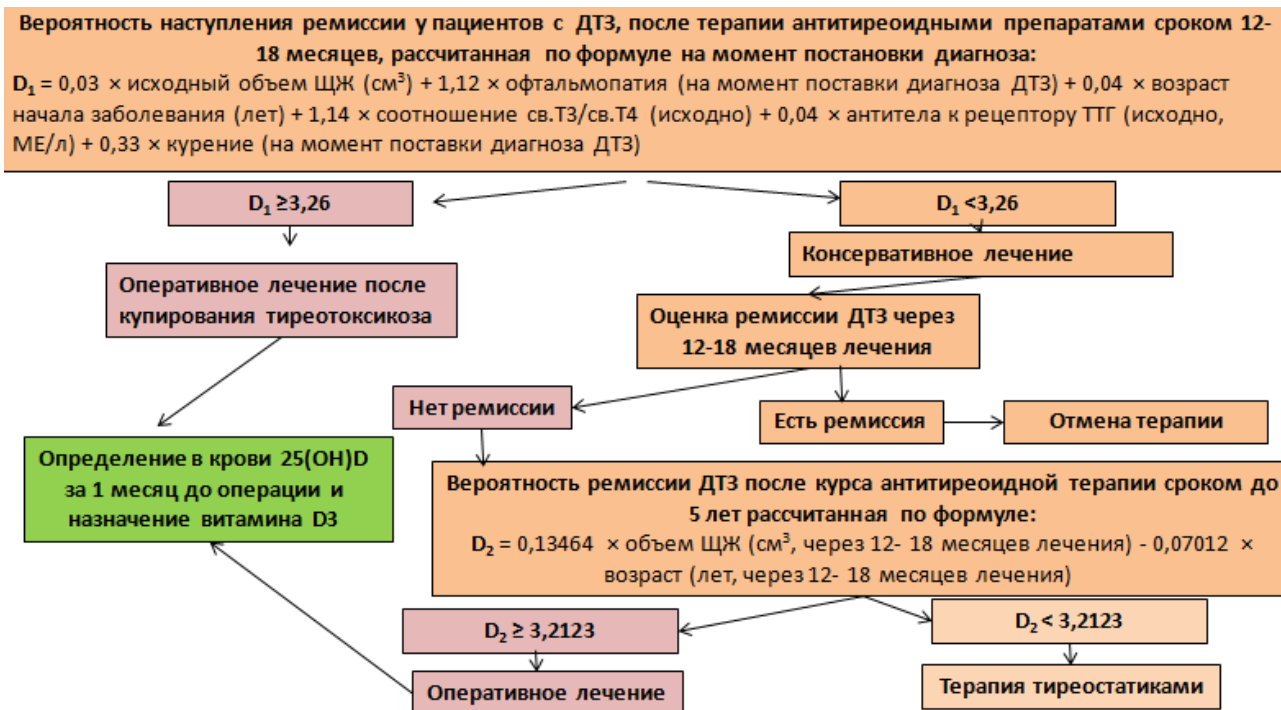
Рисунок 10 – Ядерная экспрессия белка Ki-67 в ЩЖ. Больная М., 45 лет. Увеличение $\times 40$

Алгоритм лечебной тактики у пациентов с диффузным токсическим зобом

На основании проведенного исследования был дополнен существующий алгоритм лечебной тактики у больных ДТЗ. Было рассчитано исходное значение дискриминантной функции D_1 на момент постановки диагноза, которое позволяет прогнозировать вероятность ремиссии ДТЗ. При постановке диагноза ДТЗ для оценки прогноза вероятности ремиссии заболевания рекомендовано вычислить пороговое значение « D_1 », рассчитанное по формуле (рисунок 11). При значении $D_1 < 3,26$ – рекомендовать пациенту терапию антитиреоидными препаратами сроком на 12-18 месяцев, а при значении $D_1 \geq 3,26$ – показано оперативное лечение или радиоiodтерапия после устранения тиреотоксикоза.

При отсутствии ремиссии на фоне терапии тиреостатиками в течение 12-18 месяцев лечения для решения вопроса о дальнейшей тактике лечения рекомендовано рассчитать индивидуальное значение D_2 . При значении $D_2 \geq 3,2123$ рекомендовано выполнять оперативное лечение. При значении $D_2 < 3,2123$ рекомендуется терапия тиреостатиками в течение длительного времени (до 5 лет).

Пациентам с ДТЗ за 1 месяц перед экстирпацией ЩЖ рекомендовано определять в крови концентрацию 25(OH)D и назначить витамин D3 согласно рекомендациям РФ. Алгоритм лечебной тактики приставлен на рисунке 11.



Примечание – офтальмопатия – наличие – 1, отсутствие – 0; курение – да – 1, нет – 0.

Рисунок 11 - Алгоритм лечебной тактики у пациентов с диффузным токсическим зобом

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние десятилетия вероятность ремиссии ДТЗ прогрессивно снижается. Целью настоящего исследования являлось выявление предикторов ремиссии ДТЗ для оптимизации лечебной тактики на разных этапах заболевания. По результатам исследования основными факторами, определяющими вероятность ремиссии ДТЗ на момент постановки диагноза являлись: объем ЩЖ, возраст дебюта заболевания, табакокурение, наличие ЭО, соотношение св. Т3/св. Т4 и уровень антител к рТТГ. С использованием современных методов многофакторного анализа получено пороговое значение дискриминантной функции D_1 , которое позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью определять вероятность ремиссии ДТЗ исходно. Математическая модель прогнозирования ремиссии ДТЗ обладает большей чувствительностью и специфичностью и может быть использована в рутинной клинической практике. При отсутствии ремиссии диффузного токсического зоба после проведения анти тиреоидной терапии

продолжительностью 12-18 месяцев для решения вопроса о дальнейшей тактике разработана математическая формула с определением порогового значения « D_2 ». При значении $D_2 \geq 3,2123$ рекомендовано проведение оперативного лечения или радиойодтерапии, а при значении $D_2 < 3,2123$ рекомендовано продолжить терапию тиреостатиками сроком до 5 лет до достижения спонтанной ремиссии диффузного токсического зоба.

До настоящего времени в российской популяции больных ДТЗ исследований по изучению вариантов полиморфизмов генов интерлейкинов-6,13 и микроРНК-125А не проводилось. Для пациентов с рецидивирующим течением ДТЗ характерно носительство аллеля -572G варианта rs1800796 гена интерлейкина-6, генотипа С-1112С варианта rs1800925 гена интерлейкина-13 и генотипа ТТ варианта rs12976445 гена микроРНК-125А.

Гипокальциемия, выявляемая после экстирпации ЩЖ, является серьезным послеоперационным осложнением у пациентов ДТЗ. Показано, что гипокальциемия, возникающая после операции, ассоциирована с большим объемом оперативного вмешательства (экстирпация ЩЖ), длительным течением ДТЗ, а также дефицитом либо недостатком витамина D в крови до операции. В проспективном исследовании доказана эффективность предоперационной подготовки витамином D для предупреждения послеоперационной гипокальциемии.

По результатам морфометрического исследования тиреоцитов было показано, что для пациентов с рецидивирующим течением ДТЗ характерно значимо большая высота тиреоцитов в сочетании с меньшей площадью фолликулов щитовидной железы. В представленной работе впервые результаты морфометрического исследования тиреоцитов сопоставлены с длительным проспективным наблюдением за прооперированными больными ДТЗ.

Впервые проведен анализ экспрессии множества факторов пролиферации и апоптоза у пациентов, прооперированных по поводу ДТЗ. Большинство больных (87,5%) ДТЗ с послеоперационным рецидивом тиреотоксикоза имели высокую экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 и белка пролиферации Ki-67. Полученные результаты расширяют представления о патогенезе ДТЗ. Изученные факторы апоптоза и пролиферации отражают высокий

пролиферативный потенциал тиреоцитов и уменьшают вероятность ремиссии ДТЗ.

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты позволяют определить вероятность ремиссии ДТЗ на разных этапах лечения и дополняют современные алгоритмы диагностики и лечебной тактики у больных ДТЗ.

ВЫВОДЫ

1. Формирование стойкой ремиссии заболевания у пациентов с диффузным токсическим зобом, обследованных в период с 1970 по 2018 год, уменьшилось с 43,5% до 22,1% после проведения стандартной анти тиреоидной терапии.
2. Вероятность ремиссии диффузного токсического зоба через 12-18 месяцев консервативной терапии зависит от исходных показателей: объем щитовидной железы, наличие эндокринной офтальмопатии, возраст дебюта заболевания, табакокурение, соотношение свободного Т3 к свободному Т4, уровень антител к рецептору тиреотропного гормона и пороговое значение $D_1 \geq 3,26$ в математической формуле прогноза ремиссии.
3. Вероятность ремиссии диффузного токсического зоба после проведения анти тиреоидной терапии сроком до 5 лет у пациентов с отсутствием ремиссии через 12-18 месяцев лечения зависит от объема щитовидной железы и возраста пациентов на момент окончания терапии, а также порогового значения $D_2 \geq 3,2123$ в математической формуле прогноза ремиссии.
4. Риск отсутствия ремиссии диффузного токсического зоба и рецидива тиреотоксикоза на фоне анти тиреоидной терапии у носителей аллеля -572G варианта rs1800796 гена интерлейкина-6 в 3,6 раза выше, чем у гомозиготных носителей аллеля -572C гена интерлейкина-6. У пациентов с диффузным токсическим зобом с генотипом С-1112С варианта rs1800925 гена интерлейкина-13 риск рецидива тиреотоксикоза в 2,3 раза выше, чем у носителей генотипов Т-1112Т и С-1112Т. Носительство генотипа ТТ варианта rs12976445 гена микроРНК-125А ассоциировано с отсутствием ремиссии диффузного токсического зоба и повышением риска рецидива тиреотоксикоза в 2,6 раза.
5. Больные, перенесшие экстирпацию щитовидной железы, значимо чаще имели прибавку массы тела ($p=0,04$) и некомпенсируемый гипотиреоз ($p=0,02$), чем пациенты с

субтотальной резекцией щитовидной железы.

6. Послеоперационная гипокальциемия значимо чаще выявляется у пациентов с диффузным токсическим зобом после экстирпации щитовидной железы ($p < 0,001$). Дефицит и недостаток витамина D ассоциированы с послеоперационной гипокальциемией после экстирпации и субтотальной резекции щитовидной железы.

7. Назначение препаратов витамина D больным диффузным токсическим зобом перед выполнением тиреоидэктомии значительно снижает риск развития послеоперационной гипокальциемии.

8. При морфометрическом исследовании тиреоцитов для пациентов с диффузным токсическим зобом с развитием рецидива тиреотоксикоза после субтотальной резекции щитовидной железы характерно значимо большая высота тиреоцитов в сочетании с меньшей площадью фолликулов щитовидной железы.

9. Относительная площадь экспрессии антиапоптотического белка Vcl-2 более 2,19 или белка пролиферации Ki-67 более 1,059 определяет высокую вероятность послеоперационного рецидива тиреотоксикоза у больных диффузным токсическим зобом.

10. Разработан алгоритм лечебной тактики у пациентов с диффузным токсическим зобом включающий определение пороговых значений «D₁» и «D₂» для оценки вероятности развития ремиссии заболевания на фоне терапии антитиреоидными препаратами, а также определение уровня витамина D в крови за 1 месяц до оперативного лечения с целью снижения риска послеоперационной гипокальциемии.

Практические рекомендации

При постановке диагноза диффузного токсического зоба для оценки прогноза вероятности ремиссии заболевания рекомендовано определять пороговое значение «D₁», рассчитанное по формуле: $D_1 = 0,03 \times \text{исходный объем ЩЖ (см}^3\text{)} + 1,12 \times \text{офтальмопатия (на момент поставки диагноза ДТЗ)} + 0,04 \times \text{возраст начала заболевания (годы)} + 1,14 \times \text{соотношение св.Т3/св.Т4 (исходно)} + 0,04 \times \text{антитела к рецептору ТТГ (исходно, МЕ/л)} + 0,33 \times \text{курение (на момент поставки диагноза ДТЗ)}$, где офтальмопатия – наличие – 1, отсутствие – 0; курение – да – 1, нет – 0. При значении $D_1 < 3,26$ – рекомендовать пациенту терапию антитиреоидными препаратами сроком на 12-18 месяцев, а при значении $D_1 \geq 3,26$ – показано оперативное лечение или радиоiodтерапия после устранения тиреотоксикоза.

После консервативной терапии антитиреоидными препаратами продолжительностью 12-18 месяцев для определения дальнейшего прогноза заболевания рекомендовано рассчитать пороговое значение «D₂» по формуле: $D_2 = 0,13464 \times \text{объем щитовидной железы (через 12-18 месяцев лечения)} - 0,07012 \times \text{возраст пациента}$. При значении $D_2 \geq 3,2123$ рекомендовано проведение оперативного лечения или радиойодтерапии, а при значении $D_2 < 3,2123$ рекомендовано продолжить терапию тиреостатиками сроком до 5 лет до достижения спонтанной ремиссии диффузного токсического зоба.

Перед проведением экстирпации щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом рекомендовано определение уровня витамина D в крови за 1 месяц до оперативного лечения с целью снижения риска послеоперационной гипокальциемии. При дефиците или недостаточности витамина D рекомендовано назначение витамина D₃ за 1 месяц до проведения экстирпации щитовидной железы по 50 000 МЕ один раз в неделю.

Представляется целесообразным определение вариантов генов *IL6* (rs1800796,C-572G), *IL13* (rs1800925, C-1112T), *MIR-125A* (rs12976445,C/T) для выявления групп неблагоприятного течения диффузного токсического зоба в популяции Санкт-Петербурга, что позволит на ранних этапах заболевания уточнить прогноз и оптимизировать лечебную тактику.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дора С.В. Связь показателей йодобеспечения Санкт-Петербурга и аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / С.В. Дора, Е.И. Красильникова, А.Р. Волкова, В.Д. Кравцова, Е.А. Григорьева, М.Б. Гудиева // Ученые записки Санкт-Петербургского Государственного Медицинского Университета. – 2012. – Т. XIX. – №3. – С 108-110; 3/0,5 с. ИФ – 1,88.
2. Дора С.В. Изменение характера течения болезни Грейвса в Санкт-Петербурге за период с 1970 по 2010 г. / С.В. Дора, Е.И. Красильникова, Е.И. Баранова, Е.А. Григорьева, М.Б. Гудиева, А.Р. Волкова // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2012. – № 2. – С. 59–63; 5/0,8 с. ИФ – 6,86.
3. Дора С.В. Отдаленные результаты оперативного лечения больных диффузным токсическим зобом / М.Б. Гудиева, С.В. Дора, Е.И. Красильникова, В.М. Седов, А.Р. Волкова //

Ученые записки (Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова). – 2013. – Т. XX. – № 3. – С. 53–57; 5/1,0 с. ИФ – 1,88.

4. Дора С.В. Клинико-морфологические сопоставления у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба / С.В. Дора, М.Г. Рыбакова, М.Б. Гудиева, А.Р. Волкова // Материалы Международного научного форума «Современные технологии в эндокринной хирургии» «Морфологическая диагностика в эндокринологии: клинические потребности и современная реальность».- Санкт-Петербург. – 24 мая 2014г. – С. 7-9.

5. Дора С.В. Оценка клинико-морфологических показателей у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба / Г.В. Семикова, М.Б. Гудиева, Э.А. Тер-Оганесянц, С.В. Дора // Материалы IX научно-практической конференции молодых ученых с международным участием - г. Ростов-на Дону – 22 марта 2014. – С. 165-167.

6. Дора С.В. Современные представления о патогенезе и особенностях клинического течения диффузного токсического зоба / С.В. Дора, А.Р. Волкова, Н.Э. Пейкришвили, М.Б. Гудиева // Ученые записки. – 2014. – №3. – С. 18–21; 4/1,0 с. ИФ – 1,88.

7. Дора С.В. Методы профилактики послеоперационной гипокальциемии у больных диффузным токсическим зобом / С.В. Дора, М.Б. Гудиева, А.Р. Волкова, Е.С. Шилова // Тезисы Юбилейная научная сессия «От трансляционных исследований – к инновациям в медицине». –Трансляционная медицина, приложение №2. – 2015. – С. 33.

8. Дора С.В. Оценка морфологических показателей у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба / С.В. Дора, М.Г. Рыбакова, М.Б. Гудиева, Г.В. Семикова, А.Р. Волкова, Н.Э. Пейкришвили // Ученые записки. – 2015 – №1. – С. 68–70; 3/0,5 с. ИФ – 1,88.

9. Дора С.В. Послеоперационная гипокальциемия у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба / С. В. Дора, М.Б. Гудиева, А.Р. Волкова, Н.Э. Пейкришвили, Е.С. Шилова // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2015. – Т.52. – №4. – С. 109–112; 4/0,8 с. ИФ – 3,37.

10. Дора С.В. Профилактика послеоперационной гипокальциемии у больных диффузным токсическим зобом /

М.Б. Гудиева, С.В. Дора, А.Р. Волкова, Н.Э. Пейкришвили, Е.С. Шилова // Ученые записки. – 2016. – Т. XXIII. – №2. – С. 59–61; 3/0,6 с. ИФ – 1,88.

11. Дора С.В. Дисфункция щитовидной железы. Алгоритмы диагностики и лечебная тактика / Волкова А.Р., Дора С.В., Остроухова Е.Н., Баранова Е.И., Беркович О.А., Быстрова А.А., Волкова Е.В. // Учебно-методическое пособие для врачей-эндокринологов, врачей-терапевтов, клинических ординаторов, интернов. – ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – СПб. – 2016.

12. Дора С.В. Варианты С-572G гена интерлейкина -6 и С-1112Т гена интерлейкина-13 и особенности клинического течения диффузного токсического зоба / Н.Э. Пейкришвили, С.В. Дора, А.Р. Волкова, А.А. Пантелеева, С.Н. Пчелина, Е.В. Шляхто // Ученые записки СПбГМУ им. акад.И.П. Павлова. – 2017. – Т.24. – №2. – С.40-45; 6/1,0 с. ИФ – 1,88.

13. Дора С.В. Апоптоз и пролиферация тиреоцитов как предикторы послеоперационных исходов у пациентов, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба / С.В. Дора, М.Г. Рыбакова, Д.А. Алексеев, Ю.С. Крылова, А.Р. Волкова, Л.А. Белякова, Е.В. Волкова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2017. – Т.58. – №2 . – С. 86-91; 6/0,86 с. ИФ – 3,37.

14. Дора С.В. Молекулярно-биологические маркеры пролиферации, апоптоза и ангиогенеза при диффузном токсическом зобе / С.В. Дора, М.Г. Рыбакова, Д.А. Алексеев, Ю.С. Крылова, А.Р. Волкова, Л.А. Белякова // Архив патологии. – 2017. – Т. 79. – № 6. – С. 3–7; 5/0,83 с. ИФ – 3,21.

15. Дора С.В. Диффузный токсический зоб: анализ современных рекомендаций. Качество жизни и тиреоидная функция у больных диффузным токсическим зобом после различных вариантов оперативного лечения / С.В. Дора, А.Р. Волкова.- Тезисы.- Региональная научно-практическая конференция «Достижения современной эндокринологии».- Мурманск, Россия.- №4.- 19-20 апреля 2018 года. – С. 32.

16. Дора С.В. Прогностическая модель вероятности ремиссии заболевания у больных диффузным токсическим зобом / А.Р. Волкова, С.В. Дора, Г.Г. Алламова, И.М. Абрамова, С.М.

Панчоян // Доктор.Ру. – 2020. – Т.2. – №19. – С. 40–44; 5/1,0 с. ИФ – 2,23.

17. Дора С.В. Роль полиморфизма rs12976445 гена mir125a в клиническом течении диффузного токсического зоба: ретроспективное исследование / А.Р. Волкова, Н.Э. Пейкришвили, С.В. Дора, И.М. Абрамова, Г.Г. Алламова // Фарматека. – 2020. – Т 27. – №4. – С. 64-69; 6/1,0 с. ИФ – 4,92.

18. Дора С.В. Модель прогноза вероятности ремиссии диффузного токсического зоба / С.В. Дора, А.Р. Волкова, О.Д. Дыгун, И.М. Абрамова, К.В. Азизова // Инновационные технологии в эндокринологии.– Сборник тезисов IV (XXVII) национального конгресса эндокринологов с международным участием. – Москва. – 2021. – С. 67.

19. Дора С.В. Современные аспекты патогенеза, диагностики и лечения диффузного токсического зоба / С.В. Дора, Ю.С. Михеева, К.В. Азизова, А.Р. Волкова // Вестник терапевта.– Т. 49.– № 2.– 2021.– <https://therapyedu.ru/statyi/sovremennye-aspekty-patogeneza-iagnostiki-i-lechenija-diffuznogo-toksicheskogo-zoba/>.

20. Дора С.В. Дифференциальный диагноз: взгляд клинициста и лаборатории. Клинические наблюдения / А.В. Артемова, А.Р. Волкова, С.В. Дора, О.Д. Дыгун, А.В. Кудреватых // учеб. пособие : [в 2 ч.]. - Издательство:РИЦ ПСПбГМУ (г. СПб).– 2021.– С.1-51.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

АТ к рТТГ	– антитела к рецепторам тиреотропного гормона
АТ к ТГ	– антитела к тиреоглобулину
АТ к ТПО	– антитела к тиреопероксидазе
ДТЗ	– диффузный токсический зоб
ДУНЗ	– диффузно-узловой нетоксический зоб
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИЛ-6	– интерлейкин 6
ИЛ-13	– интерлейкин 13
ИМТ	– индекс массы тела
ИО	– истинноотрицательные результаты
ИП	– истинноположительные результаты
ИФА	– иммуноферментный анализ
КЖ	– качество жизни

ЛО	– ложноотрицательные результаты
ЛП	– ложноположительные результаты
ОИМ	– острый инфаркт миокарда
ОНП	– одонуклеотидный полиморфизм
ПТГ	– паратиреоидный гормон
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
Са иониз.	– кальций ионизированный
Са общ.	– кальций общий
св. Т3	– свободный трийодтиронин
св. Т4	– свободный тироксин
ТАБ	– тонкоигольная аспирационная биопсия
ТКМП	– тиреотоксическая кардиомиопатия
ТТ	– тиреотоксикоз
ТТГ	– тиреотропный гормон
ТТ генотип	– последовательность нуклеиновых оснований тимин-тимин
УЗИ ЩЖ	– ультразвуковое исследование щитовидной железы
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЩЖ	– щитовидная железа
ЭО	– эндокринная офтальмопатия
CAS	– Clinical activity score
СС генотип	– последовательность нуклеиновых оснований цитозин-цитозин
CSS	– Clinical Severity Score
GG генотип	– последовательность нуклеиновых оснований гуанин-гуанин
GREAT	– Graves' Recurrent Events After Therapy
GWAS	– полногеномный ассоциативный поиск
<i>IL6</i>	– ген интерлейкина -6
<i>IL13</i>	– ген интерлейкина-13
<i>MIR125A</i>	– ген микроРНК-125А
NOSPECS	– классификация тяжести эндокринной офтальмопатии
NYHA	– The New York Heart Association
U	– Критерий Манна-Уитни
25(OH)D	– 25 – гидроксивитамина