

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук, доцент
Волкова Анна Ральфовна

Санкт-Петербург – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1 ДИФFUЗНЫЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ЗОБ.	
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	20
1.1 Факторы, влияющие на клиническое течение диффузного токсического зоба.....	20
1.2 Роль генетических факторов в развитии и течении диффузного токсического зоба.....	22
1.3 Современные методы лечения диффузного токсического зоба.....	27
1.3.1 Консервативное лечение диффузного токсического зоба.....	28
1.3.2 Хирургическое лечение диффузного токсического зоба.....	34
1.4 Осложнения хирургического лечения диффузного токсического зоба и их коррекция.....	37
1.4.1 Послеоперационная гипокальциемия у пациентов с диффузным токсическим зобом.....	38
1.4.2 Послеоперационный гипотиреоз и динамика веса у пациентов, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба.....	40
1.5 Морфофункциональная характеристика диффузного токсического зоба.....	43
1.6 Роль ростовых факторов в патогенезе диффузного токсического зоба.....	47
1.6.1 Маркеры апоптоза и пролиферации в патогенезе диффузного токсического зоба (Ki-67, VCL-2, VAX, каспаза-8, FAS-L).....	47
1.6.2 Стимуляторы неоангиогенеза диффузного токсического зоба.....	50
ГЛАВА 2 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ ДИФFUЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ...	
2.1 Общая характеристика обследованных больных диффузным токсическим зобом и группы сравнения.....	52
2.2 Дизайн исследования.....	53
2.3 Антропометрические данные.....	62

2.4 Гормональные методы исследования	62
2.4.1 Определение уровней тиреотропного гормона, свободного Т4, свободного Т3	62
2.4.2 Методика определения уровня паратиреоидного гормона в сыворотке крови	63
2.5 Иммунологические методы исследования	63
2.5.1 Исследование антител к рецептору ТТГ и антител к тиреопероксидазе	63
2.6 Биохимические методы исследования	64
2.6.1 Методика определения уровня 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови	64
2.6.2 Методика определения общего кальция, ионизированного кальция	64
2.7 Определение содержания интерлейкина-6 и интерлейкина-13	64
2.8 Инструментальные методы исследования.....	65
2.9 Молекулярно-генетическое исследование	65
2.10 Морфофункциональная характеристика состояния щитовидной железы у обследованных больных диффузным токсическим зобом	69
2.11 Оценка ростовых факторов у больных диффузным токсическим зобом	70
2.12 Методы статистической обработки результатов исследования.....	71
 ГЛАВА 3 ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТИРЕОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ.....	
3.1 Общая характеристика больных диффузным токсическим зобом	74
3.2 Ретроспективный анализ результатов лечения у больных диффузным токсическим зобом.....	80
3.3 Математическая модель прогноза течения диффузного токсического зоба после проведения антитиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев.....	89
3.4 Открытое проспективное наблюдательное исследование больных диффузным токсическим зобом для определения чувствительности	

и специфичности разработанной математической модели прогноза	92
3.5 Обследование и наблюдение за пациентами с диффузным токсическим зобом с отсутствием ремиссии на фоне антитиреоидной терапии в течение 12-18 месяцев (длительность наблюдения до 10 лет).....	98
ГЛАВА 4 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.....	
4.1 Вариант С-572G гена интерлейкина-6 (rs1800796 вариант).....	102
4.2 Однонуклеотидный вариант С-1112Т гена интерлейкина-13 (rs1800925 вариант).....	110
4.3 Однонуклеотидный вариант С/Т гена микроРНК-125А (rs12976445 вариант).....	119
ГЛАВА 5 РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ ЗА ПЕРИОД С 1970 ПО 2018 ГОДА	
5.1 Характеристика обследованных пациентов с диффузным токсическим зобом и различными вариантами оперативного лечения	129
5.2 Тиреоидная функция и динамика веса у больных диффузным токсическим зобом после различных вариантов оперативного лечения	138
ГЛАВА 6 СОСТОЯНИЕ КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ, ПРООПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ ДИФФУЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА	
6.1 Послеоперационная гипокальциемия у больных диффузным токсическим зобом с разными вариантами оперативного лечения	142
6.2 Проспективное исследование эффективности терапии витамином D до экстирпации щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с различной исходной концентрацией 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови	149

ГЛАВА 7 РОЛЬ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ИСХОДОВ У БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ.....	154
7.1 Морфофункциональная характеристика щитовидной железы у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба	154
7.2 Роль ростовых факторов в развитии послеоперационных исходов у больных диффузным токсическим зобом.....	163
ГЛАВА 8 АЛГОРИТМ ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ У БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ.....	179
ГЛАВА 9 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	181
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	194
ВЫВОДЫ	196
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	198
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	200
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	202

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В последние десятилетия меняется характер течения диффузного токсического зоба (ДТЗ): отмечается уменьшение числа ремиссий ДТЗ и увеличение рецидивов заболевания [25, 91, 157]. 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 [35, 68, 98, 129, 283]. В имеющихся клинических рекомендациях РФ по лечению ДТЗ предложено оценивать ремиссию заболевания через 12-18 месяцев консервативной терапии [25, 35, 270, 338]. Если, несмотря на прием анти тиреоидных препаратов у больного рецидивирует тиреотоксикоз (ТТ), то вероятность ремиссии низкая. В связи с этим представляется актуальным 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 [47, 48, 25, 150]. 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 [195]. Варианты полиморфизмов генов интерлейкинов-6,13 и микроРНК-125А, 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 [25, 35]. По результатам ряда исследований, после тиреоидэктомии у больных ДТЗ могут развиваться нежелательные явления: послеоперационная гипокальциемия, некомпенсируемый гипотиреоз, увеличение веса [101, 137, 214]. 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 [36]. 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. В настоящее время стали активно изучаться процессы пролиферации и апоптоза тиреоцитов у больных ДТЗ [97]. Ядерный белок Ki-67 относится к маркерам пролиферации, в том числе и тиреоцитов [170]. Возможно, подавлению апоптоза и усилению пролиферации тиреоцитов при ДТЗ способствует повышение экспрессии антиапоптотических молекул, таких как Bcl-2 и снижение экспрессии апоптотического белка Fas [393]. 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 персонафицированного 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 [217, 218, 247, 318, 322]. В австралийском исследовании было показано, что выявляемость ДТЗ увеличилась с 5% до 25,8% на фоне проведения мероприятий по йодпрофилактике [312]. 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 [99]. На отсутствие ремиссии ДТЗ указывают увеличение объема ЩЖ, прогрессия эндокринной офтальмопатии (ЭО), нарастание уровня АТ к рТТГ, рецидивы ТТ [35, 283]. В настоящее время ведется поиск надежных предикторов ремиссии ДТЗ [264]. 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 св. Т4, уровень антител к рецептору ТТГ (АТ к рТТГ) и

объем ЩЖ. Клиническая апробация шкалы GREAT представлена в исследовании Swiss Group [283]. Вторая шкала (CSS) разработана группой профессора E. Masiello. Она включает три компонента Мерзебургской триады - зоб, гипертиреоз и наличие ЭО. В исследовании профессора E. Masiello на группе больных ДТЗ изучены чувствительность и специфичность модели CSS [98]. 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 [119, 129, 201]. 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 [119]. 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* [106], *IL13* [105, 106] и *MIR125A* [115] 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 [16, 37, 73, 49]. Однако достижение эутиреоза после выполнения тиреоидэктомии на фоне заместительной терапии L-тироксином наблюдается не у всех больных [32, 214, 254, 290]. 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 [49, 158]. Профилактика послеоперационной гипокальциемии на настоящий момент недостаточно разработана [301]. 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 [293, 336].

По литературным данным, экспрессия белка пролиферации Ki-67 заметно выше у больных ДТЗ по сравнению с больными диффузным узловым нетоксическим зобом (ДУНЗ) [170]. 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 [176]. Однако механизмы нарушения регуляции апоптоза и пролиферации при ДТЗ в настоящее время остаются малоизученными [170; 176; 189]. 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 персонифицированного 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 TT (rs12976445 вариант) гена *MIR125A*.

Установлено, что у пациентов после экстирпации щитовидной железы значительно чаще встречается некомпенсированный гипотиреоз на фоне заместительной гормональной терапии L-тироксина 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 (св. Т4), 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 персонафицированный подход к оптимальному выбору способа лечения. Прогностические модели вероятности ремиссии диффузного токсического зоба, позволяющие определить персонафицированный 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 (Vcl-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 персонифицированного 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 персонифицированного 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).

Личный вклад автора

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 246 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.

ГЛАВА 1

ДИФФУЗНЫЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ЗОБ.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Факторы, влияющие на клиническое течение диффузного токсического зоба

Диффузный токсический зоб относится к аутоиммунным заболеваниям [5, 12, 193, 199, 217], в основе которого лежит врожденный дефект в иммунной системе [305, 306, 331]. Повышение синтеза аутоантител к рецепторам тиреотропного гормона приводит к гиперсекреции тиреоидных гормонов [13, 15, 35, 48, 173].

Клиническая картина ДТЗ зависит от различных факторов [26, 217, 247, 318, 330] таких как: генетические особенности, уровень обеспеченности йодом и селеном [26, 319, 322, 326], стрессовые факторы, воздействие неблагоприятных экологических факторов [11, 19, 21, 123, 134].

В основе ДТЗ лежит генетический дефект в иммунной системе [44, 97, 196, 265] связанный с системой HLA (HLA DR3, B8, DQA1 × 0501, DR4, CTLA 4) [48, 71, 180, 385].

Уровень йодобеспечения региона, в котором проживают пациенты ДТЗ, является важнейшим фактором, оказывающим влияние на функциональную активность ЩЖ [19, 77, 122, 399, 190]. Известно, что йод микроэлемент, который необходим для синтеза гормонов ЩЖ [27, 51, 59, 263]. В результате снижения поступления йода в организм развиваются йододефицитные заболевания – диффузный или узловой зоб, ТТ вследствие функциональной автономии ЩЖ [51, 312, 382]. А при более тяжелом дефиците йода - гипотиреоз [27, 65, 400]. Для предотвращения йододефицитных заболеваний начиная с 70-х годов во многих странах, а с 1999 года в РФ проводятся мероприятия, направленные на устранение йододефицита [269, 401]. Быстрое изменение уровня йодобеспечения в популяции может приводить к манифестации ДТЗ у генетически предрасположенных лиц

[48, 62, 312, 311]. По результатам исследования, проведенного в Австралии, изучающего течение ДТЗ на фоне изменяющегося уровня йодобеспечения (при проведении массовой йодпрофилактики) было показано, что выявляемость ДТЗ значительно увеличилась, при этом развитие ТТ вследствие функциональной автономии ЩЖ напротив уменьшилось [312].

Стрессовые факторы играют важную роль в манифестации ДТЗ [82, 121, 138]. В результате стрессовой ситуации повышается секреция кортизола и как следствие происходит подавление активности супрессорных Т-лимфоцитов и высвобождение аутореактивных лимфоцитов [82, 131, 151, 357]. Во время войны в Югославии распространенность ДТЗ возросла с шестидесяти до ста шестидесяти больных на сто тысяч населения, несмотря на отсутствие изменения йодобеспечения региона [358]. Исследование, проведенное в Японии, показало, что в 2004 году землетрясение было ассоциировано с увеличением рецидивов ДТЗ [157]. Таким образом, снижение стрессовых ситуаций, является важным условием для улучшения прогноза пациентов ДТЗ [303].

Роль интерлейкинов, в том числе ИЛ-6 и ИЛ-13, активно изучается в последние годы при многих заболеваниях, включая ДТЗ [103]. ИЛ-6, участвуя в пролиферации и дифференцировке клеток, контроле их жизнедеятельности и апоптоза [323] играет важную роль в регуляции сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной, иммунной и гемопоэтической систем [60]. Большинство клеток (Т-клетки, В-лимфоциты, эозинофилы дендритные клетки, макрофаги/моноциты и др.) в организме человека продуцируют ИЛ-6 [92, 106]. Известно, что ИЛ-6 вовлечен в регуляцию обоих типов Т-хелперов и может стимулировать дифференцировку В-лимфоцитов, продукцию иммуноглобулинов, влиять на дифференцировку Т-клеток [199], а также дифференцировку антиген-представляющих клеток [268]. В связи с многообразием свойств ИЛ-6 имеются работы по изучению данного показателя у здоровых лиц и у пациентов с ДТЗ [11]. В работе Т.П. Маклаковой и соавторов (2019) была оценена концентрация ИЛ-6 у больных ДТЗ до начала антитиреоидной терапии и после окончания лечения. У пациентов с ДТЗ концентрация ИЛ-6 была выше как на момент постановки

диагноза, так и через 4-6 месяцев терапии, по сравнению с результатами в контрольной группе [30]. В работе проведенной L.F. Lv et al. в 2017 году были получены схожие результаты [168]. При сопоставлении уровня ИЛ-6 у больных ДТЗ и здоровых лиц, было показано, что у пациентов с ДТЗ этот показатель значимо выше [31]. Уровень ИЛ-6 коррелирует со степенью тяжести синдрома ТТ [30, 275].

Известно, что синтез ИЛ-13 осуществляется активированными Т-хелперами 2 типа и ИЛ-13 вовлечен в процессы созревания В-лимфоцитов. Путем подавления синтеза других провоспалительных ИЛ (интерлейкина-1, интерлейкина-6, интерлейкина-10) и хемокинов ИЛ-13 проявляет иммуносупрессивную и противовоспалительную активность, а также вовлечен в синтез иммуноглобулина Е (IgE) [93, 198, 242].

По данным исследования, проведенного в Японии, было показано, что уровень IgE повышается более чем на 30-40% у пациентов с отсутствием ремиссии ДТЗ. Также была выявлена положительная корреляционная связь между IgE и уровнями св. Т4 и св. Т3 [234]. Возможно, через влияние на IgE ИЛ-13 может играть значимую роль в инициации ТТ у больных ДТЗ. В связи с этим является актуальным изучение роли цитокинов в патогенезе ДТЗ, а также выявлении взаимосвязи между клиническим течением ДТЗ и однонуклеотидными заменами гена *IL6* и *IL13*. Вариант в генах различных провоспалительных цитокинов возможно влияет на риск развития ДТЗ и ЭО [10, 114, 168].

1.2 Роль генетических факторов в развитии и течении диффузного токсического зоба

Проведенный у больных ДТЗ поиск полногеномных ассоциаций, обнаружил локусы на хромосомах 7 и 5q31-q33, с кластерами генов, которые кодируют интерлейкины Т-хелперов 2 типа [104, 115]. На основании этих исследований были выполнены работы по изучению вариантов генов *IL6*, *IL13* и других провоспалительных цитокинов у больных ДТЗ [195]. Ген *IL6* расположен на

хромосоме 7p21, в нем выявлено 4 интрона и 5 экзонов [128]. Такой вариант в промоторной зоне влияет на изменение транскрипционной активности гена [102]. В связи с этим наибольший интерес вызывают однонуклетидные варианты гена *IL6*: $-174G/C$ (rs1800795) и $-572G/C$ (rs1800796) в промоторе гена [45, 102, 104, 109, 110]. Вариант G-572C ассоциирован с заменой нуклеотида гуанина (G) на цитозин (C) в -572 положении регуляторной области гена *IL6* [45, 92]. Имеющиеся исследования показали, что наличие аллельного варианта -572G (варианты G-572G и C-572G) сопровождается усиленной продукцией ИЛ-6. По данным исследования Q. Wei et al. (2020) у больных ДТЗ уровень ИЛ-6 был выше у носителей генотипов G-572G и C-572G варианта rs1800796 гена *IL6* по сравнению с носителями генотипа C-572C [116]. Аналогичные данные были получены и в ряде других исследований [111, 373].

Имеются работы, в которых показана роль G-572C варианта гена *IL6* в клиническом течении ДТЗ. В исследовании N. Inoue et al. (2011) у азиатской популяции пациентов ДТЗ был проанализирован вариант rs1800796 гена *IL6*. Эти пациенты чаще являлись носителями аллеля -572G (генотипы G-572G и C-572G) гена *IL6* по сравнению с группой контроля (лица без АТ к рТТГ, с нормальным значением ТТГ) [116]. Было показано, что риск ДТЗ был выше в 1,65 раз у носителей аллеля -572G, по сравнению с носителями аллеля C варианта rs1800796 гена *IL6*. Противоположные данные были получены в работах R.H. Chen и C. Duraes. По результатам исследования различий в распределении генотипов и аллелей варианта C-572G гена *IL6* в группе пациентов ДТЗ и контроля выявлено не было [278, 393]. В 2021 году в работе P. Zhu et al. была выявлена связь варианта rs1800796 гена *IL6* с развитием ДТЗ и в азиатской и европейской популяциях [184]. В связи с тем, что результаты исследований представлены на разных группах больных представляется актуальным дальнейшее изучение роли вариантов гена *IL6* у больных ДТЗ.

Структура гена *IL13* впервые описана A. Minty et al. в 1993 году [224]. Ген *IL13* расположен на хромосоме 5q23-31 [221], структура гена *IL13* похожа на геном *IL4* [198]. Вариант rs1800925 гена *IL13* путем воздействия на

транскрипционную активность гена может влиять на риск развития ДТЗ [221]. Повышенная аффинности сайта к ядерным факторам, может приводить к усилению продукции ИЛ-13, за счет замены цитозина на тимин в данном участке гена [225]. По результатам исследования, проведенного в 2020 году S. Mestiri et al., в которое были включены больные ДТЗ и АИТ было показано, что риск развития ДТЗ у пациентов носителей аллеля -1112Т (генотипы С-1112Т и Т-1112Т) rs1800925 гена *IL13* значимо выше, чем у носителей генотипа С-1112С [106]. По данным работы Y. Hiromatsu et al. (2005 год) выполненной в Японии, пациенты ДТЗ чаще являются носителями аллеля -1112С и генотипа С-1112С данного варианта гена *IL13*, по сравнению с людьми без ДТЗ. Возможно, это обусловлено ассоциацией между риском развития ДТЗ и вариантом rs1800925 гена *IL13*. При анализе частот аллелей и генотипов в группе пациентов ДТЗ с учетом ЭО каких-либо закономерностей выявлено не было [222].

По результатам проведенного исследования N. Inoue et al. различий в распределении аллельного варианта С-1112Т (rs1800925) гена *IL13* в группе пациентов ДТЗ и сравнения выявлено не было. Авторы делают вывод, что данный вариант не влияет на индукцию ДТЗ. Анализ данных больных с ремиссией ДТЗ более двух лет показал, что эти пациенты были носителями аллеля -1112Т [107].

При обследовании европейской группы больных ДТЗ (Т. Bednarczuk et al.) не было выявлено достоверных различий в распределении частот аллельных вариантов С-1112Т и G2044А гена *IL13*. У пациентов ДТЗ носителей различных генотипов варианта С-1112Т (rs1800925) гена *IL13* была проведена оценка гормонов ЩЖ и иммунологических показателей (АТ к рТТГ, АТ к ТПО). Результаты исследования не выявили значимых различий изучаемых показателей у больных, носителей разных аллельных вариантов гена [223]. Данные мета-анализа M.-L. Chen et al. показали, что вариант С-1112Т и G2044А гена *IL13* не связан с риском развития ДТЗ [234].

Таким образом, результаты проведенных исследований среди разных групп населения носят противоречивый характер. В популяции РФ больных ДТЗ изучение вариантов rs1800925 гена *IL13* и rs1800796 гена *IL6* не проводились.

Влияние микроРНК на развитие ДТЗ стало изучаться многими исследователями [147, 162, 188, 200]. Учеными В. Амбромс, Р. Ли и Р. Фейнбраум в 1993 году было выявлено, что концентрация белка LIN-14 контролировалась РНК-продуктом гена *lin-4* [236]. По результатам дальнейших исследований было выявлено большое разнообразие малых некодирующих РНК – микроРНК (MIRNA, miR). По результатам дальнейших исследований было показано, что они играют важную роль в дифференцировке и созревании клеток иммунной системы, функционировании врожденного и приобретенного иммунитета [156, 259, 262]. При изменении регуляции микроРНК происходит нарушение иммунной толерантности к собственным антигенам, что приводит к развитию многочисленных заболеваний, в том числе к эндокринным, онкологическим, нейродегенеративным [380, 252]. Изучение микроРНК объясняет некоторые этапы патогенеза органоспецифических и системных аутоиммунных заболеваний, канцерогенеза [164, 182, 328, 340]. Контроль экспрессии гена происходит в результате связывания с комплементарными последовательностями 3'-нетранслируемой области таргетной матричной РНК (мРНК) или за счет деградации таргетной мРНК [252, 256, 389].

РНК – полимеразы II транскрибируют гены микроРНК с образованием первичной микроРНК (*pri-MIRNA*) [255]. Преобразования *pri-MIRNA* происходит в ядре клетки в основном при помощи комплекса Drosha [380] и далее переходит в цитоплазму [231]. Отличие микроРНК от малых интерферирующих РНК является не обязательная комплементарность с молекулой ДНК или таргетной РНК [380]. В настоящее время изучаются и другие пути биогенеза микроРНК [94, 380].

Результаты изучения влияния микроРНК на функционирование адаптивного иммунитета, выявили связь между нарушением генеза микроРНК в предшественниках лимфоцитов и изменением развития Т- и В-лимфоцитов. Основными звеньями приобретенного иммунитета являются В- и Т-лимфоциты. При нарушении синтеза микроРНК на ранних этапах происходит изменение развития Т-клеток со снижением количества Т-лимфоцитов как в периферических

лимфоидных органах, так и в тимусе. Это приводит к aberrантной дифференцировке Т-хелперов и продукции провоспалительных цитокинов [163].

С учетом влияние *MIR-125* на иммунный ответ, были выполнены исследования по изучению влияния *MIR-125* на течение аутоиммунных заболеваний ЩЖ, в том числе ДТЗ [220, 279]. MicroRNA-125 (*miR-125*) представляет собой семейство микроРНК, состоящее из *MIR125A* и *miR-125b*. Семейство *miR-125* имеет 2 разные зрелые молекулы – 5p и 3p [389]. По результатам исследования D. Li et al. было показано, что *MIR125A-5p* играет важную роль в переходе регуляторных Т-клеток в Т-хелперы 17 типа. Это происходит под воздействием *MIR125A* на рецептор ИЛ-6 [261]. Схожие результаты были получены и другими авторами [205]. Также, *MIR125A* может оказывать влияние на иммунные эффекты Treg подавляя активности ИЛ-13, интерферон-гамма (IFN- γ) [260]. H. Li et al., показали, что *MIR125A* оказывает влияние на экспрессию провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, TNF- α) [239]. В работе D. Chen et al. было выявлено, что *MIR125A* по механизму отрицательной обратной связи повышает экспрессию провоспалительных цитокинов *in vitro* [262]. По данным работы R.A. Al-Neety et al. (2020) было показано, что пациенты ДТЗ имеют более высокий уровень *miR-146a-5p*, чем в группе сравнения. У пациентов ДТЗ между уровнем АТ к рТТГ и *miR-146a-5p* была выявлена положительная корреляционная связь [90].

В 2017 году H. Otsu et al. провели оценку уровней *miR-146a* и *miR-125a* у пациентов ДТЗ и в группе контроля. Было показано, что уровень микроРНК снижен у больных, у которых не было ремиссии ДТЗ [226]. Схожие результаты были получены и Y. Inoue et al. [116]. В исследовании H. Yamada et al. (2014) было показано, что при ДТЗ экспрессия *miR-22*, *miR16*, *miR-451*, *miR-375* была высокой [139].

Кодируемый микроРНК-125а ген микроРНК-125а (*MIR125A*), располагается на хромосоме 19q13.41 [252]. МикроРНК125а ингибирует продукцию хемокина, выделяемого Т-клетками при активации и активирует путь ядерного фактора каппа-В (NF- κ B) [258, 260, 261, 389]. Повышение синтеза ИЛ-6 и TGF- β связаны с

индукцией ДТЗ. Известно, что *MIR125A* снижает синтез ИЛ-6, TGF- β и активность Т-хелперов 17 типа [260]. В связи с этим нельзя исключить, что снижение синтеза микроРНК125а может приводить к дебюту ДТЗ за счет не прямой стимуляции дифференцировки Т-хелперов 17 типа. В исследовании, проведенном в 2014 году Y. Inoue et al. была выявлена ассоциация варианта гена *MIR125A* с особенностями клинического течения ДТЗ среди японской популяции больных. По результатам работы было установлено, что данный вариант гена *MIR125A* связан с прогнозом ДТЗ. Возможно, носительство аллеля С и генотипа СС в результате снижения синтеза микро-РНК-125а ассоциировано с отсутствием достижения ремиссии ДТЗ [116]. В исследовании X. Huang et al. было показано, что носительство аллеля Т сопряжено со сниженной экспрессией *MIR125A*. У пациентов, которые являются гомозиготами по аллелю С варианта rs12976445 гена *MIR125A* экспрессия наоборот повышена [310].

В работе T. Cai et al. (2017) было установлено, что носительство аллеля С (генотипы СС+СТ) ассоциировано с развитием АИТ, но не ДТЗ [277]. Кроме того, авторы показали, что данный вариант гена не влияет на клиническое течение ДТЗ. Однако, данное исследование было выполнено на китайской популяции больных ДТЗ.

К настоящему времени работ, посвященных изучению роли однонуклеотидного варианта гена *MIR125A* среди российской популяции больных ДТЗ не проводилось. В связи с этим не вызывает сомнения необходимость дальнейшего изучения роли гена *MIR125A* в патогенезе ДТЗ.

1.3 Современные методы лечения диффузного токсического зоба

Основными методами лечения ДТЗ являются: консервативная терапия [160, 344, 360, 361], оперативное лечение [16, 35, 25, 47], терапия радиоактивным йодом [142]. Лечение зависит от особенностей пациента ДТЗ (возраст на момент постановки диагноза, объем ЩЖ и тяжесть ТТ) [59, 91, 130] и от внешних

факторов (выбор эндокринологов, хирургов и самого пациента, регион проживания) [145, 146, 273].

1.3.1 Консервативное лечение диффузного токсического зоба

Лечение ДТЗ, как правило, начинают с назначения анти тиреоидных препаратов сроком на 12-18 месяцев [35, 59, 85, 324].

Тионамиды – основная группа препаратов, которая используется в купировании ТТ и лечении ДТЗ. Тионамиды, подавляя активность фермента тиреоидной пероксидазы, снижают синтез гормонов ЩЖ [47, 48, 129, 391, 392]. По результатам проведенных исследований, за счет уменьшения активности лимфоцитов тионамиды могут способствовать и коррекции в иммунной системе [47, 48, 307]. Кроме того, за счет уменьшения йодирования тиреоглобулина уменьшается его иммуногенность. Вероятно, тионамиды также уменьшают синтез простагландинов и провосполительных цитокинов [47, 48, 275, 335].

После лечения анти тиреоидными препаратами сроком 12-18 месяцев оценивают вероятность развития ремиссии ДТЗ. В настоящее время надежных прогностических критериев наступления ремиссии ДТЗ не разработано. В связи с этим, как правило, используется совокупность клинических и лабораторных показателей [35, 59, 70, 129, 166]. К неблагоприятным факторам прогноза ремиссии можно отнести молодой возраст, женский пол, факт курения, наследственность [45, 67, 88, 174]. Ряд исследований показало, что молодые пациенты ДТЗ имеют более выраженные иммунные нарушения [70, 270] и, соответственно, недостаточную эффективность анти тиреоидной терапии и более высокий риск рецидива ТТ. В исследовании В. Winsa et al. было показано, что пациенты ДТЗ до 40 лет имеют более высокий процент рецидивов ТТ, чем пациенты более старшего возраста [174]. В работе А. Vano (2019) et al. было показано, что АТ к рТТГ при постановке диагноза имеют лучшую прогностическую ценность у более молодых пациентов ДТЗ [88]. Женщины имеют более высокую заболеваемость ДТЗ, чем мужчины [146, 194], но при этом

мужчины имеют более высокий риск рецидива ТТ после отмены антитиреоидной терапии [88, 183]. Это может быть связано как с большим объемом ЩЖ, так и с генетическими особенностями [183]. Т. Diker-Cohen et al. не выявили различий в течение ДТЗ между мужчинами и женщинами [150]. Мужчины, получавшие антитиреоидную терапию, имеют высокие показатели ремиссии и аналогичную частоту рецидивов по сравнению с женщинами, с меньшим количеством побочных эффектов и случаев прекращения лечения. Таким образом, по мнению авторов, антитиреоидные препараты являются первой линией лечения, как для мужчин, так и женщин [150].

В ряде работ была изучена комбинированная терапия больших доз метимазола с L-тироксидом (такая схема называется «блокируй и замещай») на вероятность достижения более долгой ремиссии заболевания [46, 87]. Так в работе К. Hashizume et al. (1992) пациенты ДТЗ были разделены на две группы наблюдения и лечения: 1 группа - принимала метимазол длительностью 6 месяцев, а далее к лечению добавляли L-тироксин в дозе 100 мкг в день. Данную схему лечения пациенты продолжали принимать в течение одного года. Далее метимазол отменяли, а терапия L-тироксидом продолжалась три года. 2 группа пациентов ДТЗ принимала плацебо вместо L-тироксидина. Авторами было показано, что комбинация Метимазола с L-тироксидом значительно уменьшала частоту рецидивов ТТ. Исследователи, предполагают, что обусловлено как супрессией ТТГ крови, так и иммунокоррекцией L-тироксидина [87]. Однако, при дальнейшем контроле за этими пациентами ДТЗ не выявило значимой разницы по количеству рецидивов ТТ между этими двумя группами больных [87, 97]. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями [96].

В последние годы изучается влияние длительности антитиреоидной на вероятность развития ремиссии ДТЗ [46, 100, 144, 215, 352]. Результаты проведенного метаанализа показали, что 12-месячный прием тиамазола уменьшает вероятность рецидивов ТТ по сравнению с 6-месячным курсом лечения. Однако продление лечения более 18 месяцев не давало каких-либо преимуществ по формированию спонтанной ремиссии ДТЗ [99]. Учитывая

высокую вероятность рецидивов ТТ после отмены тиреостатических препаратов, некоторые авторы рекомендуют непрерывное лечение низкими дозами анти tireоидных препаратов предполагая, что длительный прием небольших доз тиамазола имеет стойкий эффект по предотвращению рецидивов ТТ [119, 120, 166]. Однако из-за необходимого регулярного контроля тиреоидных гормонов крови и соответственно увеличения расходов на медицинское обслуживание во время длительного лечения, терапия сроком 12-18 месяцев до сих пор считается оптимальной тактикой консервативного лечения ДТЗ [97].

В нескольких исследованиях было показано, что курильщики имеют более высокий риск рецидива ТТ, чем некурящие пациенты после отмены анти tireоидной терапии [270, 289]. Имеются работы, в которых было показано, что курильщики имеют значительно более высокие уровни АТ к рТТГ, чем некурящие пациенты через 4 недели после отмены анти tireоидной терапии. Возможно, табакокурение способствует активации Т-хелперов, что увеличивает риск развития ТТ [339]. Однако эти данные противоречивы и требуют дальнейшего изучения [264].

Лабораторные показатели частично отражают тяжесть ДТЗ [48, 281]. Ключевой особенностью ДТЗ является значительное увеличение в сыворотке крови св. трийодтиронина (св. Т3), которое связано с повышенной активностью интратиреоидной дейодиназы 1 типа [48, 334]. Предыдущие исследования показали, что исходно высокие уровни в сыворотке крови св. Т3 и соотношения св.Т3/св.Т4 являются независимыми факторами прогноза результатов лечения пациентов ДТЗ [132, 181]. Пациенты с более высоким сывороточным уровнем св.Т3 [334] и соотношением св.Т3/св.Т4 имеют относительно больший риск рецидива ТТ и поэтому, по мнению ряда авторов, они часто нуждаются в более высоких начальных дозах тиамазола и более длительном лечении [99, 181]. Кроме того, высокий коэффициент св.Т3/св.Т4 на фоне анти tireоидной терапии также прогнозирует более высокий риск рецидива ДТЗ [132, 181] и у этих пациентов, вероятно, должна быть увеличена продолжительность терапии более, чем на 12-18 месяцев.

Уровень ТТГ также является важным параметром в прогнозе наступления ремиссии ДТЗ [83]. У некоторых пациентов ДТЗ уровень ТТГ длительное время остается низким на фоне лечения антитиреоидными препаратами [241]. В исследованиях было показано, что сохранение низкого уровня ТТГ крови после отмены антитиреоидных препаратов является предиктором рецидива ТТ [241]. X. Liuc et al. (2015) показали, что повышенный или высоко нормальный уровень ТТГ крови при отмене препарата может увеличить вероятность стойкой ремиссии у пациентов ДТЗ [83].

Из иммунологических показателей наиболее важными для прогноза ремиссии ДТЗ являются АТ к рТТГ, АТ к ТПО, антитела к тиреоглобулину (АТ к ТГ) [177, 281, 282, 288, 296]. При постановке диагноза повышение АТ к рТТГ выявляют практически у 95% пациентов ДТЗ [35, 70, 98, 132]. Пациенты с изначально высоким уровнем АТ к рТТГ имеют более высокий риск развития рецидива заболевания, в то время как пациенты с низким уровнем или отсутствием АТ к рТТГ имеют лучший прогноз и склонны к длительной ремиссии [88, 343]. Кроме того, нормализация уровня АТ к рТТГ на фоне антитиреоидной терапии может свидетельствовать о вероятности наступления ремиссии ДТЗ [99, 166, 355]. При сохранении повышенных уровней АТ к рецептору ТТГ риск рецидивов ТТ значительно выше [98, 98, 166].

ДТЗ и аутоиммунный тиреоидит (АИТ) – это два основных аутоиммунных заболевания ЩЖ [206, 207, 208, 209, 211]. Эпидемиологические исследования показали, что ДТЗ может сочетаться с АИТ [117, 185, 304, 365], что увеличивает вероятность ремиссии ДТЗ из-за прогрессирующего повреждения ткани ЩЖ обусловленного АИТ. Известно, что антитела к ТПО обладают цитолитической активностью, что приводит к повреждению клеток тиреоидного эпителия и постепенному формированию фиброза ткани ЩЖ. Сочетание ДТЗ с АИТ в определенной степени способствует формированию ремиссии ДТЗ за счет естественного течения тиреоидита Хашимота и уменьшения объема тиреоидной ткани [61, 309].

Большой объем ЩЖ является основным клиническим проявлением ДТЗ [98]. Предыдущие исследования показали, что большой объем ЩЖ является одним из основных показателей высокого риска рецидива ДТЗ после отмены анти тиреоидной терапии [98]. Кроме того, больные ДТЗ со значительным уменьшением зоба на фоне лечения имеют более высокую частоту ремиссии [132].

Эндокринная офтальмопатия имеет место примерно у 30% больных на момент постановки диагноза ДТЗ [11]. Наличие ЭО предполагает более тяжелое нарушение в иммунной системе [11, 245, 342]. Имеются работы, в которых показано, что пациенты с ЭО имеют более высокий риск рецидива ТТ после отмены терапии, чем пациенты без ЭО [245]. Несмотря на более высокий уровень рецидивов, лечение анти тиреоидными препаратами по-прежнему остается предпочтительным вариантом для пациентов ДТЗ с ЭО из-за более благоприятного течения ЭО, который может быть связан со стабильным эутиреоидным состоянием и снижением как уровня АТ к рТТГ, так и маркеров воспаления [271]. Представленные в литературе исследования показали, что длительное лечение низкими дозами анти тиреоидных препаратов уменьшает проявления ЭО у пациентов ДТЗ [271].

В случае возникновения рецидива ТТ после отмены анти тиреоидной терапии, по мнению ряда авторов, повторное назначение лекарственных препаратов не целесообразно и каждый повторный курс назначения тиреостатических препаратов уменьшает вероятность развития ремиссии ДТЗ с 78% (при первом курсе терапии) до 2,5 % (при четвертом курсе терапии)[41, 48, 132, 134, 176].

Отсутствие ремиссии ДТЗ и сохранение ТТ может приводить к развитию тиреотоксической кардиомиопатии (ТКМП), нарушениям ритма (фибрилляции предсердий), ХСН, остеопении и остеопорозу [2, 16, 81, 86, 133, 167, 295, 366]. Таким образом, является актуальным как можно раньше выявить группу риска рецидива ТТ [363] и решить вопрос о лечении на момент постановки диагноза ДТЗ.

В настоящее время остается актуальным поиск надежных критериев ремиссии ДТЗ для оптимизации лечебной тактики на ранних этапах заболевания [98, 152, 172, 249, 283]. В 2010 году X.G. Vos et al. разработали прогностическую шкалу ремиссии диффузного токсического зоба – GRAT (Graves Recurrent Events After Therapy), апробация которой представлена в исследовании Swiss Group [172, 283]. Эта шкала учитывает совокупность факторов на момент постановки диагноза: возраст пациента, тяжесть ТТ, объем ЩЖ, уровни св. Т4 и АТ к рТТГ. По результатам данного исследования вероятность рецидива ТТ в группе пациентов с ДТЗ высокого риска развития ТТ составила 68%. В 2018 году E. Masiello et al. предложили шкалу вероятности ремиссии ДТЗ – Clinical Severity Score (CSS) [98]. В основе шкалы компоненты Мерзбургской триады: гипертиреоз, зоб и наличие ИО. На группе пациентов ДТЗ были изучены чувствительность и специфичность шкалы CSS. Было показано, что при низкой вероятности рецидива ТТ рецидив заболевания был зарегистрирован у 36% больных. При исходно средней или высокой вероятности рецидива ДТЗ, частота ТТ увеличивалась до 50% и 59% соответственно [98]. Таким образом, представляется актуальным разработка новых подходов к оценке прогноза ремиссии больных ДТЗ.

В отсутствии ремиссии ДТЗ после проводимой консервативной терапии сроком 12-18 месяцев [35, 46] необходимо решать вопрос об операции или проведении радиоiodтерапии [40, 41, 43, 47, 298, 388]. Однако последние исследования показали, что по сравнению с радиоактивным йодом или тиреоидэктомией, длительное лечение антитиреоидными препаратами в поддерживающих дозах сохраняет стабильный эутиреоз при минимальном риске развития побочных эффектов [46, 130]. В 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 [119]. В исследовании, проведенном в 2018 году, в ходе длительного наблюдения (до 5 лет), терапия низкими дозами метимазола была безопасна и эффективна [120]. Было показано, что такой режим терапии способствует улучшению течения ИО и более низкой частоте тиреоидной дисфункции, чем терапия радиоактивным

йодом [130, 141]. Таким образом, длительный период низких доз метимазола может быть альтернативой для пациентов ДТЗ, у которых нет ремиссии, и кто отказывается от тиреоидэктомии или лечения радиоактивным йодом [274]. В РФ подобных исследований нет. Представляется актуальным проведение работ по изучению эффективности тиреоидной терапии в поддерживающих дозах в течение длительного периода времени у больных ДТЗ для достижения спонтанной ремиссии.

1.3.2 Хирургическое лечение диффузного токсического зоба

В настоящее время с учетом клинических рекомендаций, принятых в РФ [35] при выборе хирургического лечения заболевания необходимо выполнять тиреоидэктомию. Надо учитывать, что у больных перенесших тиреоидэктомию развивается гипотиреоз и пациенты нуждаются в пожизненной заместительной терапии L-тироксином. По результатам исследований, после тиреоидэктомии, выполненной у больных ДТЗ, могут развиваться и другие нежелательные состояния: послеоперационная гипокальциемия, некомпенсируемый гипотиреоз, увеличение веса пациентов [101, 137, 202, 214]. В связи, с этим является актуальным изучение прогностических факторов хирургического лечения ДТЗ при выполнении органосохраняющих операций [14, 20, 74, 124, 376].

Некоторые исследователи предлагают персонафицированный подход к решению вопроса об объеме хирургического лечения у пациентов ДТЗ. Одним из главных факторов, влияющим на прогноз при выполнении субтотальной резекции ЩЖ является остаточный объем тиреоидной ткани [4, 54]. По результатам исследования, представленного в 2009 году А.Ф. Романчишеним лучшие функциональные результаты (меньше рецидивов ТТ после операции) были у больных с тиреоидным остатком от 4 до 6 см³ [54].

Также в прогнозировании послеоперационного ТТ могут играть роль и такие факторы, оцениваемые перед операцией как объем ЩЖ, соотношение

св.Т3/ св.Т4, уровни ТТГ и АТ к рТТГ, функциональная активность тиреоцитов [4, 9, 38].

В 2013 году И.В. Макаров и соавторы определили, что для удержания эутиреоза после субтотальной резекции ЩЖ объем остаточной ткани ЩЖ должен быть в пределах 2-6 гр. Авторами было показано, что гипотиреоз после операции возникает чаще у пациентов старше 40 лет, предшествующей тиреостатической терапии более 3 лет, тиреоидном остатке менее 2 гр., уровне АТ к ТГ от 150 до 200 МЕ/мл, уровне АТ к ТПО от 150 до 400 МЕ/мл. Рецидив ТТ наблюдается у больных ДТЗ моложе 40 лет и с тиреоидным остатком более 6 гр. [38].

По результатам проведенного исследования в 2016 году Д.Р. Сахиповым наиболее важным фактором прогнозирующим развитие рецидива ТТ после субтотальной резекции ЩЖ был уровень АТ к рТТГ перед оперативным лечением выше границы нормы (норма до 1,5 Ед/л). Автор считает, что при повышении уровня АТ к рТТГ более 1,5 Ед/л целесообразно выполнять тиреоидэктомию. Такая тактика позволит снизить относительный риск развития послеоперационного ТТ на 63,4% [56]. Аналогичные данные были получены А.Ю. Цурканом в 2012 году. У пациентов с рецидивом ТТ после субтотальной резекции ЩЖ перед операцией был значимо больший уровень АТ к рТТГ [78, 79].

По данным работы проведенной в 2007 году Н.В. Адриановской было показано, что рецидив ТТ после субтотальной резекции ЩЖ чаще развивался у больных с предоперационно низким значением ТТГ крови, на фоне тиреостатической терапии, а также с высокой функциональной активностью ЩЖ по результатам морфометрического исследования и выраженными аутоиммунными процессами [4].

В 2003 году В.Г. Аристархов, предложил оценивать перед операцией возраст больного на момент дебюта заболевания, длительность ДТЗ и срок лечения тиреостатиками [9]. По мнению автора, эти показатели отражают способность ткани ЩЖ к регенерации. Чем больше изучаемые показатели, тем меньше функционирующей ткани ЩЖ у пациента. Для предотвращения возникновения гипотиреоза после субтотальной резекции ЩЖ необходимо

оценить эти данные перед операцией [7, 9]. В.Г. Аристархов считает, что остаточная ткань ЩЖ должна соответствовать 8,3-12,5% от исходного объема. Для выбора объема остаточной ткани ЩЖ необходимо также оценить выраженность ТТ, экстрафолликулярный эпителий и лимфоидную инфильтрацию [6, 8]. Данная морфологическая оценка проводится при срочном интраоперационном гистологическом исследовании и соответственно удлиняет операционное время, что может ухудшать прогноз у больных с тяжелыми сопутствующими заболеваниями [6, 8, 20].

В 2007 году в исследовании Ш.М. Абдурахманова у пациентов с диффузным токсическим зобом выявлено нарушение количества лимфоцитов, что свидетельствует о нарушениях в иммунной системе [1]. После проведения оперативного лечения иммунные нарушения могут сохраняться и влиять на послеоперационные исходы. Ш.М. Абдурахманов предложил выполнять пересадку собственной ткани ЩЖ размером 10 процентов от массы удаленной ЩЖ. Ш.М. Абдурахманов считает, что данный вариант операции может привести к снижению частоты таких послеоперационных исходов как гипотиреоз и рецидив тиреотоксикоза и увеличить вероятность сохранения эутиреоза [1, 20].

В 2008 году Y. Koh et al. обследовали 287 больных ДТЗ с отсутствием ремиссии ДТЗ, которым была выполнена субтотальная резекция ЩЖ [20, 284]. Авторы изучили корреляционные связи между клинико-лабораторными данными перед операцией и степенью лимфоидной инфильтрации ткани ЩЖ. По данным этого исследования более высокий уровень ТТГ крови до операции и высокая степень лимфоидной инфильтрации ткани ЩЖ были ассоциированы с развитием послеоперационного гипотиреоза [20, 284].

Г.А. Бовыкин с соавторами рекомендуют выполнять цитоморфометрию во время операции и при отсутствии лимфоидной инфильтрации необходимо сохранять объем тиреоидного остатка 3-5 см³, который будет поддерживать эутиреоз [14].

Многие зарубежные и отечественные специалисты (F. Feroci (2014), Н.А. Петунина (2019), В.В. Фадеев (2004), Д.В. Лебедева (2019), В.Э. Ванушко

(2012)) предпочитают при хирургическом лечении ДТЗ выполнять тиреоидэктомию [16, 37, 73, 124, 135]. Авторы считают, что данный объем оперативного лечения исключает рецидив ТТ и другие послеоперационные осложнения [154, 353]. С. Querat et al. отмечают, что тиреоидэктомия позволяет более рано выявлять папиллярные карциномы, которые по мнению авторов встречаются в 12,5% случаев [302]. Таким образом, тиреоидэктомия, по мнению большинства авторов, является операцией первой линии при ДТЗ [244, 302, 377].

В 2014 году F. Feroci et al. провели анализ 23 исследований с включением 3 242 прооперированных больных ДТЗ. По результатам данного анализа была показана эффективность тиреоидэктомии с отсутствием значимого количества послеоперационных осложнений [84].

Таким образом, представляется важным выявление и изучение предикторов послеоперационных исходов у больных ДТЗ [143, 345].

1.4 Осложнения хирургического лечения диффузного токсического зоба и их коррекция

К послеоперационным осложнениям хирургического лечения ДТЗ прежде всего относят: кровотечение, парез возвратного гортанного нерва, гипопаратиреоз, гипокальциемию, рецидив тиреотоксикоза или развитие гипотиреоза [20, 36, 135, 143, 148, 337, 362]. В настоящее время частота таких операционных осложнений как кровотечение и парез возвратного гортанного нерва встречаются крайне редко и их частота при тиреоидэктомии и субтотальной резекции ЩЖ у пациентов ДТЗ сопоставимы [20, 73, 338, 344].

Актуальной проблемой эндокринной хирургии является невозможность прогнозирования развития ТТ после выполнения субтотальной резекции ЩЖ у пациентов ДТЗ и сохраняющегося гипотиреоза после тиреоидэктомии. В настоящее время проводятся исследования, посвященные изучению причин и способам профилактики послеоперационной гипокальциемии у пациентов ДТЗ, возникающей после тиреоидэктомии [135, 216, 397].

1.4.1 Послеоперационная гипокальциемия у пациентов с диффузным токсическим зобом

По результатам проведенных исследований пациенты ДТЗ, которым была выполнена тиреоидэктомия, имеют значимо больший риск развития послеоперационной гипокальциемии по сравнению с пациентами, которым был выполнен такой же объем операции, но по другой причине [49, 57, 63]. Большое количество исследовательских центров занимаются изучением данного осложнения [39, 49, 292, 297]. К основным причинам, приводящим к послеоперационной гипокальциемии, можно отнести: дефицит или недостаток 25(ОН)D перед операцией, повреждение паращитовидных желез с развитием гипопаратиреоза, пожилой возраст, повышение ремоделирования кости при длительном ТТ [49, 50, 57, 349].

Вероятно, при ДТЗ происходит ускорение ремоделирования костной структуры за счет повышения обмена в костной ткани даже после достижения эутиреоза [50, 57, 58]. Установлено, что в первые месяцы лечения ДТЗ уровень ПТГ находится на верхней границе нормы или повышен. Это в свою очередь приводит к поддержанию уровня кальция крови на верхней границе нормы. После операции достаточно часто развивается транзиторный гипопаратиреоз, обусловленный послеоперационным отеком тканей, большим объемом ЩЖ. Такие пациенты значимо больше подвержены развитию гипокальциемии за счет развития нарушений в компенсаторных механизмах повышения уровня кальция [397].

Важно предотвращать развитие послеоперационной гипокальциемии, так как она может приводить к утяжелению состояния больного, к большему объему лекарственных назначений и увеличению сроков госпитализации. В клинических рекомендациях по ведению больных ДТЗ профилактических мероприятий по предотвращению послеоперационной гипокальциемии у пациентов ДТЗ не описано [135]. По результатам метаанализа клинических исследований было показано [50, 158], что наиболее эффективными методами профилактики

возникновения гипокальциемии является назначение перед операцией препаратов витамина D и кальция. Также выполнение субтотальной резекции ЩЖ является эффективным методом предотвращения транзиторной гипокальциемии.

В работе О.В. Симакиной с соавторами низкий предоперационный уровень 25(OH)D и послеоперационный уровень ПТГ в сыворотке крови ниже 10 пг/мл позволяют прогнозировать гипокальциемию у больных ДТЗ перенесших тиреоидэктомию [49, 57]. Аналогичные данные были получены S. Chindavijak et al. в 2007 году [137], S. Fahad Al-Dhahri et al. в 2010 году [175].

В работе P. Miccoli et al. было показано, что риск развития послеоперационной гипокальциемии выше у пожилых пациентов [345]. В работе Y. Erbil et al. возраст пациента не оказывал влияния на возникновение послеоперационного гипопаратиреоза [149].

Влияние уровня витамина D перед операцией на развитие транзиторной гипокальциемии после операции в настоящее время активно изучается [57, 165, 320, 325]. По данным работы J. Kirkby-Bott et al. было показано, что дефицит витамина D перед операцией увеличивает риск развития послеоперационной гипокальциемии [293]. В работе Y. Yano et al. (2008) были получены схожие данные. Авторы не выявили взаимосвязи между уровнем витамина D в крови перед операцией и низким значением кальция после тиреоидэктомии [243]. По мнению ряда исследователей, пациенты с недостаточностью или дефицитом витамина D должны перед операцией получать кальций и/или витамин D [57, 153, 336]. Однако в других исследованиях не было показано положительной роли в профилактике гипокальциемии при предоперационном назначении кальция и/или витамина D. Так D. A. Jacques et al. описывают неэффективность приема витамина D в профилактике послеоперационной гипокальциемии [386].

S.C. Oltmann et al. изучили влияние предоперационного назначения кальция на развитие послеоперационной гипокальциемии у больных ДТЗ перенесших тиреоидэктомию. В исследование было включено 83 больных ДТЗ. 45 больным был назначен кальций перед операцией (группа 1), а 38 пациентам терапия не назначалась (группа 2). Результаты исследования показали, что у пациентов

группы 1 после операции гипокальциемия не развивалась, в отличие от пациентов 2 группы. Авторы делают вывод, что предоперационное назначение кальция – это лечение, которое может уменьшить вероятность развития гипокальциемии после тиреоидэктомии у пациентов ДТЗ [294].

В связи с противоречивыми результатами исследований по профилактике послеоперационной гипокальциемии и отсутствию рекомендаций у пациентов с ДТЗ [313, 314, 333] остается актуальным проведение исследований по изучению мер, направленных на предотвращение развития послеоперационной гипокальциемии.

1.4.2 Послеоперационный гипотиреоз и динамика веса у пациентов, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

Послеоперационный гипотиреоз является следствием тиреоидэктомии. Большинство хирургов и эндокринологов полагают, что послеоперационный гипотиреоз после тиреоидэктомии хорошо компенсируется назначением L-тироксина и не оказывает влияния на качество жизни (КЖ) пациента [16, 37, 49, 73]. Однако достижение эутиреоза после выполнения тиреоидэктомии на фоне заместительной терапии L-тироксином удается не у всех больных [32, 214, 254, 290].

Назначение оптимальной дозы L-тироксина имеет решающее значение для восстановления эутиреоза после тотальной тиреоидэктомии. Недостаточная или чрезмерная доза может привести к гипотиреозу или тиреотоксикозу, что связано с рядом симптомов и осложнений [232, 238]. Большая часть литературы, посвящена лечению первичного гипотиреоза, в то время как ограниченное число исследований рассматривает вопрос заместительной терапии L-тироксином после тотальной тиреоидэктомии. Как известно, за сутки в ЩЖ здорового человека синтезируется примерно 100-120 мкг тироксина [155]. Продукция трийодтиронина за сутки составляет примерно 25-35 мкг, из них 1/5 синтезируется в ЩЖ, 4/5 образуется в следствии дейодинации тироксина в тканях

организма [32]. Надо отметить, что не все ткани организма одинаково могут превращать тироксин в трийодтиронин, являющийся активной формой [32]. Но большая часть больных с гипотиреозом получают терапию только L-тироксинами. Возможно, это объясняет, почему часть пациентов чувствуют себя недостаточно компенсированными и не все имеют целевые значения ТТГ крови [230]. По результатам исследования С.И. Исмаилова было показано, что после тиреоидэктомии снижение качества жизни (КЖ) встречается у большинства больных. Назначение комбинации препаратов L-тироксина и трийодтиронина у пациентов с ДТЗ после тиреоидэктомии приводит к более высокому КЖ больных, по сравнению с пациентами, которые получали только L-тироксин [32].

По данным работы Т.Б. Моргуновой с соавторами у больных с гипотиреозом (любой этиологии) даже при нормализации ТТГ крови КЖ хуже, по сравнению с людьми без патологии ЩЖ [34]. При сопоставлении результатов тестирования по шкалам ролевого физического функционирования, жизнеспособности, социального функционирования и психологического здоровья между больными с гипотиреозом (с достижением эутиреоза на фоне заместительной терапии L-тироксинами) и пациентами с узловым эутиреоидным зобом, оказалось, что выраженность депрессии у пациентов с компенсированным гипотиреозом существенно выше. Это может объяснить снижение качества жизни у этих больных [34].

Аналогичные результаты были получены в работе, проведенной в Великобритании. Р. Saravanan et al. протестировали 961 больных, у которых развился гипотиреоз (по разным причинам) и получавших L-тироксин в заместительной дозе и такое же количество людей без патологии ЩЖ. По результатам опроса было получено, что у пациентов с гипотиреозом КЖ, даже при его полной компенсации (достижении стойкого эутиреоза), было значимо хуже, чем у здоровых лиц [299].

Схожие данные были получены в работе В.Я. Хрыщанович и С.И. Третьяк [20, 76]. У пациентов с гипотиреозом назначение адекватной заместительной

терапии L-тироксина, то есть при достижении нормальных значений сывороточного ТТГ крови, не приводит к нормализации у них КЖ [20, 76].

В работе А. Al-Adhami et al. каких-либо ухудшений КЖ у больных перенесших тиреоидэктомию выявлено не было [89].

Важной медицинской проблемой является увеличение веса пациентов с ДТЗ после хирургического лечения [379]. В 2015 году N. Kelderman-Bolk et al. показали, что КЖ снижается у пациентов с гипотиреозом, получающих лечение L-тироксина и связано с более высокой массой тела (ИМТ). Авторы делают вывод, увеличение веса требует большего внимания при лечении гипотиреоза [300].

M. Rotondi et al. в 2014 году в своей работе показали, что тиреоидэктомия ассоциирована с увеличением ИМТ [126]. Прибавка веса была диагностирована у 58,4% больных и максимальна была через 40-60 дней после операции.

D.F. Schneider et al. (2015) сопоставили пациентов ДТЗ по динамике ИМТ в зависимости от варианта лечения (исходно тиреоидэктомия и тиреоидэктомия после проведения радиоiodтерапии). У пациентов ДТЗ первой группы набора веса после операции не было, а у пациентов второй группы ИМТ продолжал увеличиваться и после нормализации ТТГ крови. Возможно, это связано с длительностью заболевания во второй группе пациентов ДТЗ [140].

В работе J. Jonklaas et al. было показано, что у пациентов, у которых сохранялся гипотиреоз в течение первого года после тиреоидэктомии, вес тела увеличивался с большей скоростью [227]. Авторы считают необходимостью дальнейшее изучение заместительной терапии при выполнении тиреоидэктомии. Кроме того, наибольшая прибавка веса была у женщин в менопаузе. Таким образом, менопаузальный статус создает дополнительный риск прибавки веса у больных ДТЗ после выполнения тиреоидэктомии [227].

Исследование проведенное R. Glick et al. [125] показало, что тиреоидэктомия не ассоциируется с увеличением массы тела после операции.

Таким образом, изучение динамики массы тела, компенсации тиреоидной функции после тиреоидэктомии у больных ДТЗ является актуальной проблемой современной медицины.

1.5 Морфофункциональная характеристика диффузного токсического зоба

Строение ЩЖ при ДТЗ характеризуется неоднородностью. Участки ткани ЩЖ с повышенной активностью могут быть рядом со «спокойными», то есть с отсутствием функциональной активности [75, 80]. Некоторые морфологи считают, что выделить достоверные морфологические признаки функциональной активности ЩЖ трудно [75, 346]. Для функциональной активности тиреоцитов характерно изменение эпителия фолликулов в виде высоких цилиндрических клеток с размытыми апикальными краями; эпителиальные клетки и их ядра, как правило, располагаются в несколько слоев; могут появляться неровные очертания фолликулов звездчатой формы, с образованием складок в виде сосочков; происходит скопление лимфоидных клеток в межуточной ткани. Также характерно бледно окрашивающийся, жидкий, и иногда периодически совсем не воспринимающий фоновых красителей коллоид. Может быть, полное отсутствие коллоида в фестончатых фолликулах, что является признаком повышенного выведения гормонов ЩЖ. В межклеточной ткани ЩЖ можно увидеть жидкий коллоид [75].

Лимфоидную и плазмоцитарную инфильтрацию ЩЖ расценивают как проявление иммуноморфологических реакций и связывают с наличием циркулирующих антитиреоидных антител, которые обнаруживаются в периферической крови больных ДТЗ. По результатам работы И.В. Пантелеева проведенной в 1996 году, по мнению исследователей при длительном течении ДТЗ ткань ЩЖ закономерно превращается в лимфоматозный зоб с последующим склерозированием стромы ЩЖ [45]. Однако лишь у небольшого числа больных ДТЗ заболевание вначале сопровождается аутоиммунными реакциями и обладает своеобразным медленным течением с самопроизвольными ремиссиями. Ткань

ЩЖ больных ДТЗ отличается по характеру и выраженности морфологических признаков настолько резко, что иногда их нельзя отличить по морфологической картине от нетоксического зоба [75, 80, 266].

У больных ДТЗ можно выделить разнообразные варианты строения ЩЖ. Эти изменения зависят от влияния пролиферативных факторов на фолликулярный эпителий, накопления и выделения коллоида, а также выраженности лимфоидной инфильтрации, степени развития разрастаний соединительной ткани [75]. Соответственно изменениям стромы развиваются и дистрофические изменения эпителия, выражающиеся в увеличении клеток, вакуолизации цитоплазмы, сморщивании ядер. В результате этого отмечается развитие фиброзной ткани, иногда с гиалинозом. Сосочкообразные структуры при этом фиброзируются, покрываются деформированным, дистрофическим эпителием. Разрастающиеся тяжи и поля соединительной ткани могут привести к некрозу целой долики по типу инфаркта, который затем превращается в гиализированный рубец. Неравномерное и беспорядочное склерозирование стромы приводит к значительной перестройке ткани ЩЖ при ДТЗ. В одних случаях развитие ее фиброзирования происходит более или менее равномерно, главным образом за счет междольковой соединительной ткани, в других случаях имеют место очаговые разрастания с образованием рубцов.

Анализ как отечественной, так и зарубежной литературы по изучению морфологических характеристик ткани ЩЖ у пациентов ДТЗ носит противоречивый характер [66, 75]. Ряд авторов описывают уменьшение фолликулов ЩЖ у больных с ДТЗ по сравнению с фолликулами пациентов, прооперированных по другой причине [75]. Е.Б. Тупикина и соавторы [66] описывают увеличение среднего значения диаметра фолликулов у больных ДТЗ.

Является важным сопоставление показателей морфометрии ЩЖ с исходами субтотальной резекции ЩЖ у пациентов ДТЗ. Однако такой анализ часто затруднителен в виду необходимости оценки большого временного периода между операцией и клинической оценкой послеоперационного течения. Изучение активности тиреоцитов в срезах ткани ЩЖ часто проводится с учетом

морфометрических показателей описанных О.К. Хмельницким [75]. Неупорядоченность структуры тиреоидной паренхимы наиболее характерно для нормальной функциональной активности ЩЖ.

В работе Н.А. Суаришвили [64] было проанализировано 213 больных ДТЗ, прооперированных с 1997 по 2005 года. 147 больным была проведена субтотальная резекция ЩЖ (оставляемая ткань ЩЖ от 4 до 10 гр.), 66 пациентам – предельно субтотальная резекция ЩЖ (оставляемая ткань ЩЖ от 2 до 4 гр.). Автором была проведена оценка выраженности аутоиммунного процесса в ЩЖ. У 40 больных ДТЗ во время операции были проанализированы мазки-отпечатки ткани ЩЖ во время срочного цитологического исследования. По результатам проведенного анализа были выделены группы со слабовыраженным, умеренно выраженным и резко выраженным аутоиммунным процессом, которые были сопоставлены с послеоперационными исходами. Рецидив ТТ наблюдался только у лиц с высокой степенью активности аутоиммунного процесса, гипотиреоз – у пациентов с легкой или средней степенью его выраженности. Автор делает вывод о том, что выраженный аутоиммунный процесс является фактором риска развития послеоперационного рецидива ТТ.

Аналогичные данные были получены и Н.В. Адриановской в 2007 году [4]. Было проанализировано 40 пациентов ДТЗ, прооперированных в связи с отсутствием ремиссии заболевания. Гистологическое описание микропрепаратов ЩЖ было сопоставлено с отдаленными послеоперационными исходами. Была проведена оценка функциональной активности ЩЖ. При морфологическом исследовании определяли соотношение повышенной и пониженной функциональной активности тиреоцитов. Автор рассчитывал индекс «зрелости» и индекс «склерозирования», которые отражают степень активности ЩЖ. Наиболее значимыми предикторами рецидива ТТ были: низкий уровень ТТГ крови, высокое СОЭ, объем тиреоидного остатка, относительный объем фолликулярного эпителия и очагов гиперплазии в микропрепарате. Н.В. Адриановской было разработано уравнение, которое прогнозирует развитие послеоперационного ТТ. При высокой вероятности рецидива ТТ после операции рекомендуемый объем тиреоидного

остатка составляет 1,8-4,4 см³. При низкой вероятности рецидива ТТ после операции рекомендуемый объем тиреоидного остатка составляет 4,4-6,5 см³. При выборе объема оперативного лечения согласно уравнению, в отдаленном периоде эутиреоз сохранялся у 24,4% больных, послеоперационный рецидив тиреотоксикоза развился у 21% пациентов, послеоперационный гипотиреоз у 54,6% больных [4].

В работе И.В. Пантелеева [45] было проведено обследование прооперированных больных ДТЗ. Всем пациентам интраоперационно выполнялась морфометрия. Достоверных корреляций между изучаемыми показателями по улучшению отдаленного прогноза получено не было. Однако авторам удалось определить закономерности между структурой ЩЖ у больных ДТЗ и длительностью заболевания, возрастом начала заболевания и длительностью лечения антитиреоидными препаратами. Автором было показано, что эти параметры влияют на соотношение стромальных и эпителиальных компонентов. Было показано, что чем старше пациент ДТЗ, тем больше площадь стромы, больше случаев очагового струмита и уменьшение эпителиальных образований, снижение содержания интерфолликулярного эпителия. Длительность заболевания также влияла на структуру ЩЖ. Автором было выявлено, что чем больше была длительность ДТЗ, тем больше объем стромальных структур. По результатам проведенного исследования у больных ДТЗ с длительностью заболевания 1-2 года содержание стромы составляло 35%, а при более длительном течении заболевания содержание стромы увеличивалось более 45%. Прием мерказолила также вызывал структурные изменения в ЩЖ. На фоне терапии происходило замещение паренхимы соединительной тканью, а также увеличении количества ретикулиновых и коллагеновых волокон, нарушении проницаемости капилляров, фиброза. У больных ДТЗ, принимавших мерказолил более 2 лет, относительное содержание стромальных компонентов было увеличено в среднем на 10-11%, в сравнении с группой пациентов ДТЗ, принимавших мерказолил менее 2 лет. Далее результаты морфологического исследования были сопоставлены с клинической картиной заболевания, размером тиреоидного остатка и отдалёнными

послеоперационными исходами. Послеоперационный гипотиреоз чаще развивался у больных с длительностью заболевания более 2 лет, приемом антитиреодной терапии более 1,5 лет, перенёвшими субтотальную резекцию ЩЖ в возрасте от 45 до 50 лет. Таким образом, послеоперационный гипотиреоз развивался у больных ДТЗ с увеличением количества стромальных компонентов [45].

Ш.Ш. Жураевым и соавторами в 2009 году был проведен анализ хирургического лечения 192 больных ДТЗ. На основании интраоперационной оценки морфофункционального состояния ЩЖ был определен оптимальный объем культи доли ЩЖ, который соответствует размеру концевой фаланги пациента. Индивидуальный выбор оперативного объема остатка ткани ЩЖ позволил снизить частоту послеоперационного гипотиреоза и ТТ до 0,5% [26].

Таким образом, является актуальным поиск новых критериев прогнозирования послеоперационных исходов у пациентов ДТЗ и проведение работ по сопоставлению отдаленных результатов оперативного лечения с данными гистологического послеоперационного исследования.

1.6 Роль ростовых факторов в патогенезе диффузного токсического зоба

Процессы, происходящие в ЩЖ и связанные с пролиферацией, апоптозом и ангиогенезом в последние годы стали широко обсуждаться в литературе [42, 170, 210, 191, 390]. При изучении молекулярно-генетических изменений в ткани ЩЖ широко применяются иммуногистохимические методы исследования [22].

1.6.1 Маркеры апоптоза и пролиферации в патогенезе диффузного токсического зоба (Ki-67, BCL-2, BAX, каспаза-8, FAS-L)

В основе патогенетических механизмов, происходящих при ДТЗ, лежат иммунные нарушения, возникающие в результате воздействия различных факторов (инфекционные заболевания, стрессы, изменения йодобеспечения региона, прием лекарственных препаратов) [267, 348]. Увеличение секреции

стимулирующих АТ к рТТГ [23, 35, 136] происходит в связи с тем, что аутореактивные лимфоциты с помощью адгезивных молекул (CD44, LFA-1) инфильтрируют ткань ЩЖ [321] и секретируемые ими сигнальные молекулы и цитокины инициируют антигенспецифическую стимуляцию В-лимфоцитов [29]. Увеличение числа тиреоцитов у пациентов с ДТЗ зависит и от выраженности пролиферации клеток ЩЖ, и от уменьшения скорости апоптоза в результате потери рецепторов тиреоцитов [33]. Это в свою очередь приводит замедлению гибели тиреоцитов, увеличению числа тиреоцитов и гиперплазии ЩЖ [33].

Фактором пролиферации является ядерный белок Ki-67, в том числе и тиреоцитов. Имеющиеся работы по изучению пролиферативного потенциала ткани ЩЖ у пациентов с ДТЗ немногочисленны. Так, P. Domsławski et al. [170] провели оценку экспрессии белка Ki-67 у 100 пациентов с патологией ЩЖ, из них 77 больных с ДТЗ и 23 пациента с диффузно-узловым нетоксическим зобом. Результаты исследования показали, что экспрессия белка Ki-67 в ЩЖ была достоверно выше у пациентов ДТЗ по сравнению с пациентами с ДУНЗ [42].

Возможно, увеличение числа тиреоцитов при ДТЗ связано также с замедлением процессов апоптоза тиреоцитов. Известно, что апоптоз это генетически запрограммированная гибель клетки с целью обеспечения нормального тканевого гомеостаза [42]. В настоящее время имеются работы, в которых показана важная роль апоптоза в развитии аутоиммунных заболеваний ЩЖ [95, 191, 203]. Однако механизмы нарушения регуляции апоптоза при ДТЗ в настоящее время остаются малоизученными. Выявление этих механизмов позволит расширить патогенетические представления о заболевании [53].

В настоящее время известно, что апоптоз активируется двумя основными механизмами (внешний и внутренний пути). Внутренний путь апоптоза это ответ на цитотоксические стимулы и/или снижение количества ростовых факторов и трофических сигналов, которые поступают в клетку в виде цитокинов [11, 17, 42]. Внешний путь активации апоптоза связан с семейством рецепторов «смерти», в том числе с Fas/Fas-L-взаимодействием [11, 17, 18, 42, 176].

Одним из наиболее важных белков, играющих роль в регуляции апоптоза является белок Bcl-2. При недостаточной выработке цитокинов, антиапоптотические молекулы данной группы (Bcl-2, Bcl-XL) останавливают апоптоз и сохраняют клетку живой [17, 18, 42, 53, 55]. Проапоптотические молекулы (Bax, Bim, Bak), наоборот, подавляют сигналы цитокиновых рецепторов и приводят к усилению апоптоза [17, 26, 191]. Таким образом, будет запускаться процесс апоптоза в клетке или нет, зависит от соотношения проапоптотических и антиапоптотических белков. При ДТЗ за счет усиления экспрессии антиапоптотических молекул в тиреоцитах и снижения экспрессии апоптотических белков происходит подавление апоптоза и стимулируется развитие гипертрофии ЩЖ [95, 210]. Так, в работе Y. Hiromatsu et al. [210] было получено, что в ткани ЩЖ у больных ДТЗ (по сравнению с тканью ЩЖ пациентов без ДТЗ) повышается экспрессия Bcl-2. Экспрессия Bax не была выявлена ни в ткани ЩЖ у больных ДТЗ, ни в группе контроля. Экспрессия белка Bak в тиреоцитах была выявлена у 25% больных ДТЗ, а в группе контроля во всех тиреоцитах. Анализ апоптотических ядер в тиреоцитах больных ДТЗ показал, что процент экспрессии был низкий (0-3,6%). Была выявлена отрицательная корреляционная связь между экспрессией апоптотических ядер в тиреоцитах больных ДТЗ и массой тиреоидного остатка ЩЖ. В литературе имеются данные о значимой корреляционной связи между уровнем АТ к рТТГ и экспрессией Bcl-2 в тиреоцитах больных ДТЗ [42, 210].

В литературе также изучается роль пролиферации клеток и апоптоза тиреоцитов и при другом аутоиммунном заболевании – АИТ [42, 432, 433]. С. Salmaso et al. [309] провели сравнительный анализ экспрессии Fas и FasL, антиапоптотических белков Bcl-2 у больных АИТ и ДТЗ. При АИТ экспрессия белков Fas была более выражена, чем при ДТЗ. Экспрессия белка Bcl-2 была значимо меньше в ткани ЩЖ у пациентов с АИТ, а у пациентов ДТЗ соответственно больше. Авторы делают вывод о том, что изменения Bcl-2 и Fas/FasL при АИТ могут способствовать апоптозу, постепенно сокращая число функционирующих тироцитов, в результате чего развивается гипотиреоз. Тогда

как снижение экспрессии Fas и соотношения Fas/FasL, а также повышение экспрессии Bcl-2 приводит к выживанию и гипертрофии тироцитов, связанных со стимулирующим действием АТ к рТТГ [42, 127].

Каспаза-8 протеолитический фермент, играющий важную роль в развитии апоптоза [169]. В настоящее время экспрессия каспазы-8 активно изучается при различных заболеваниях ЩЖ, в том числе и при ДТЗ. Так, Н. Bossowski et al. показали, что экспрессия каспазы-8 значительно выше у пациентов с разными аутоиммунными заболеваниями ЩЖ по сравнению с экспрессией каспазы-8 у пациентов с ДУНЗ [42, 169].

1.6.2 Стимуляторы неоангиогенеза диффузного токсического зоба

В последние годы стала активно изучаться роль ангиогенных факторов ЩЖ в патогенезе ДТЗ. Сосудистый фактор роста (VEGF) является ключевым звеном ангиогенеза и его изучение очень важно для расширения представлений о патогенезе ДТЗ [118]. Исследования по изучению у пациентов ДТЗ сосудистого фактора роста достаточно противоречивы. В работе Р. Malkomes et al. была выявлена повышенная экспрессия VEGF и его рецепторов (VEGF-R1 и VEGF-R2) в ткани ЩЖ у прооперированных пациентов ДТЗ. Таким образом, выявленные изменения могут приводить к пролиферации тироцитов и развитию и рецидивированию зоба [383]. По результатам проведенного исследования А. Jebreel et al. взаимосвязи между заболеваниями ЩЖ и плотностью сосудов выявлено не было [384].

Другим фактором, участвующим в регуляции ангиогенеза является фактор роста фибробластов (FGF). Известно, что FGF участвует в пролиферации и хемотаксисе из нескольких типов клеток (фибробластов, гладкомышечных и эндотелиальных клеток) [178, 179]. При изучении FGF в ткани ЩЖ у пациентов ДТЗ в 1998 году N. Emoto et al. показали, что уровень экспрессии этого сосудистого фактора очень высокий [179]. При изучении экспрессии сосудистых факторов роста были выявлены взаимосвязи между FGF и VEGF. Известно, что

фактор роста фибробластов индуцирует экспрессию генов VEGF на эндотелиальных клетках [178, 179]. Возможно, что FGF опосредованно индуцирует развитие зоба у пациентов ДТЗ выступая в качестве ангиогенного фактора в ЩЖ при непосредственном воздействии VEGF.

ГЛАВА 2

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ ДИФFUЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика обследованных больных диффузным токсическим зобом и группы сравнения

Исследование проводилось на базе ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова». Лабораторные исследования выполнены в Центральной клинко-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).

2.2 Дизайн исследования

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

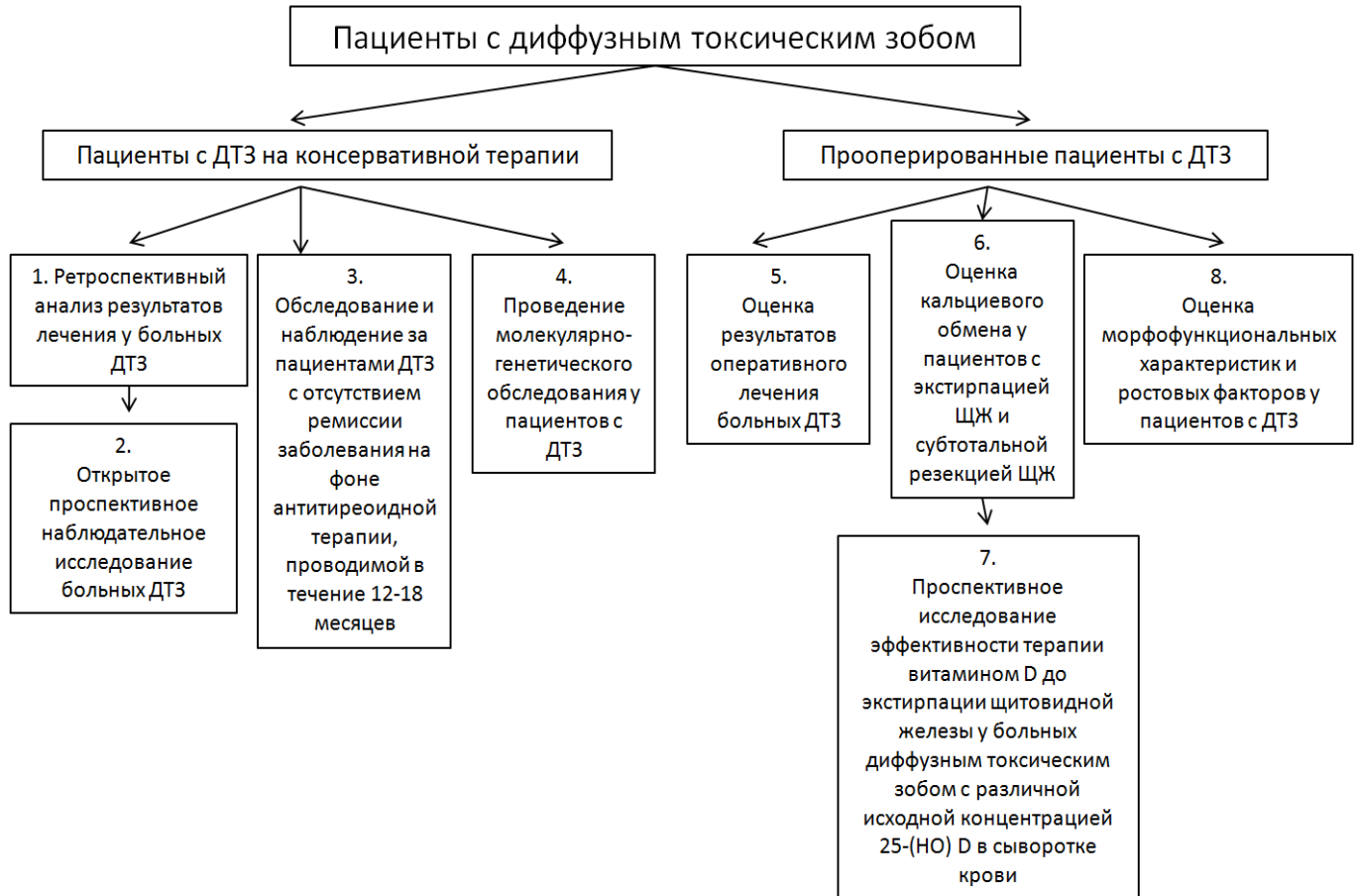


Рисунок 1 – Дизайн исследования

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, свободный тироксин (св.Т4), свободный трийодтиронин (св.Т3)), уровней АТ к рТТГ, АТ к ТПО, ультразвуковое исследование щитовидной железы (УЗИ ЩЖ) и у части больных захвата радиоактивного йода ¹²³ЩЖ. На момент дебюта заболевания учитывались также пол, возраст, факт табакокурения, характер сопутствующей терапии, семейный анамнез, наличие ЭО и тиреотоксической кардиомиопатии (ТКМП).

Диагноз ЭО был поставлен в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению ЭО при аутоиммунной патологии ЩЖ от 2014 года [69]. Тяжесть ЭО оценивалась на основании классификации NOSPECS (классификация тяжести эндокринной офтальмопатии) (1969, 1977 гг.), активность процесса по классификации CAS (Clinical activity score) (1989 г.) [359]. В проводимом исследовании учитывался только факт наличия ЭО.

Диагноз ТКМП ставился на основании поражения сердечно-сосудистой системы в виде нарушений сердечного ритма (синусовая тахикардия, фибрилляция предсердий) и развития хронической сердечной недостаточности (ХСН), при исключении ишемической болезни сердца (ИБС). ИБС исключали клинически (отсутствие: типичных ангинозных болей, эквивалентов стенокардии, в анамнезе острого инфаркта миокарда (ОИМ) и/или хирургической реваскуляризации миокарда). Диагноз ХСН был установлен по тесту с 6-минутной ходьбой. Проводился тест при частоте сердечных сокращений (ЧСС) более 50 и менее 120 ударов в минуту. При проведении 6-минутной шаговой пробы больному ставилась задача пройти как можно большую дистанцию за 6 минут по измеренному 30 метров в длину и размеченному через 1 метр коридору в своем собственном темпе, после чего пройденное расстояние регистрировалось. Далее оценка проводилась согласно данным представленным в таблице 1.

Таблица 1 – Параметры физической активности для диагностики хронической сердечной недостаточности

Функциональный класс, NYHA	Дистанция, пройденная в течение 6 минут, (метр)
0	>551
I	426-550
II	301-425
III	151-300
IV	<150

Примечание – NYHA – The New York Heart Association (Нью-Йоркская классификация Функциональных классов).

Схематически дизайн ретроспективного исследования представлен на рисунке 2.

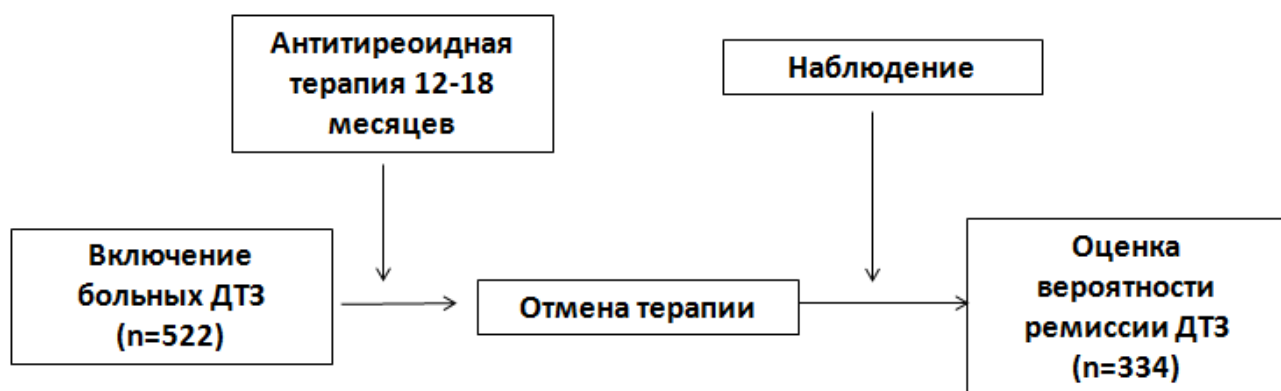


Рисунок 2 – Дизайн ретроспективного исследования больных диффузным токсическим зобом

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

анти тиреоидной 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 анти тиреоидной 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 анти тиреоидной терапии, составил 4 года (рисунок 3).

Средний возраст на момент постановки диагноза составил $45,96 \pm 0,67$ года ($44,17 \pm 0,66$ лет у женщин, $46,25 \pm 0,71$ года у мужчин). Схематически дизайн проспективного наблюдательного исследования представлен на рисунке 3.



Примечание – группа 1 – значение D_1 меньше 3,26 (риск рецидива тиреотоксикоза низкий); группа 2 – значение D_1 равно 3,26 и более (риск рецидива тиреотоксикоза высокий).

Рисунок 3 – Дизайн проспективного наблюдательного исследования больных диффузным токсическим зобом с момента постановки диагноза

Далее было проведено сопоставление разработанной модели с европейскими шкалами прогноза ДТЗ: GREAT и CSS для сопоставления чувствительности и специфичности с этими шкалами.

Для оценки шкалы GREAT пациенты были разделены на группы: 1 группа – 0-1 балл (низкий риск рецидива ТТ); 2 группа – 2-3 балла (умеренный риск рецидива ТТ); 3 группа – 4-6 балла (высокий риск рецидива ТТ). Баллы суммировались из 4 показателей: 1 показатель – возраст: менее 40 лет – 1 балл, более и равен 40 годам – 0 баллов; 2 показатель – концентрация св. Т4 – менее 40 пмоль/л – 0 баллов, более или равно – 1 балл; 3 показатель – концентрация АТ к р ТТГ – менее 6 МЕ/л – 0 баллов, 6-19,9 МЕ/л – 1 балл, более 20 МЕ/л – 2 балла; 4 показатель – зоб: 0-1 степени – 0 баллов, где зоб 0 степени – ЩЖ не пальпируется, пальпаторно не увеличена и не видна, 1 степени – ЩЖ пальпируется и видна в приподнятом положении головы; зоб 2-3 степени – 2 балла, где зоб 2 – ЩЖ хорошо визуализируется в нормальном положении головы, зоб 3 – ЩЖ видна на расстоянии.

Все изучаемые признаки ДТЗ в модели CSS имели категорию от 1 до 4 по мере увеличения тяжести патологического процесса. Каждой категории соответствует определённое количество баллов и на основании суммы

этих баллов были сформированы 3 группы тяжести течения ДТЗ (группа формируется из суммы баллов по таблице: объем ЩЖ + св. Т4 + ИО): группа 1 – легкая (3-5 баллов), 2 – средняя (6-8 баллов), 3 – тяжелая (9-24 балла). Оценочная бальная система шкалы CSS представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Оценка степени тяжести диффузного токсического зоба по шкале Clinical Severity Score

Показатель		Категория			
		1	2	3	4
Объем ЩЖ, (см ³)	у женщин	≤14	15-21	22-35	≥36
	у мужчин	≤18	19-27	28-44	≥45
св. Т4, (пг/мл)		≤18	18,1-27	27,1-44	≥44
Эндокринная офтальмопатия		отсутствует	легкой тяжести	средней степени тяжести	тяжелая или угрожающая потерей зрения
Балл для каждой категории		1	2	4	8
Примечание – категория 1 – показатели, которые соответствуют 1 баллу; категория 2 – показатели, которые соответствуют 2 баллам; категория 3 – показатели, которые соответствуют 4 баллам; категория 4 – показатели, которые соответствуют 8 баллам; ЩЖ – щитовидная железа; св. Т4 – свободный тироксин.					

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. Схематически дизайн наблюдения за пациентами ДТЗ с отсутствием ремиссии на фоне антитиреоидной терапии в течение 12-18 месяцев представлен на рисунке 4.

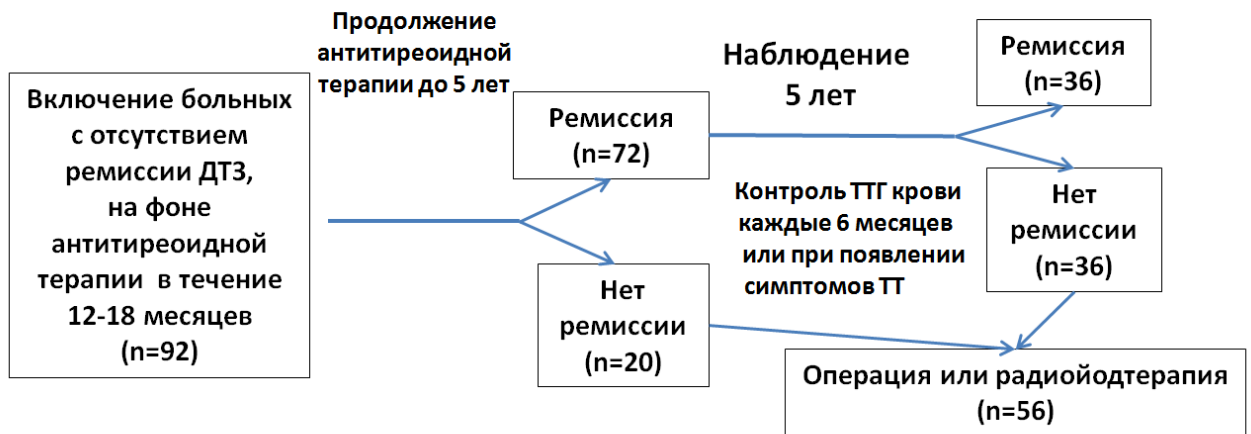


Рисунок 4 – Дизайн проспективного исследования больных диффузным токсическим зобом с отсутствием ремиссии на фоне антитиреоидной терапии в течение 12-18 месяцев (длительность наблюдения до 10 лет)

С целью разработки математической модели прогноза вероятности ремиссии ДТЗ на фоне антитиреоидной терапии был проведён регрессионный анализ. Для выявления переменных, максимально влияющих на результат лечения, и построения прогнозирующей функции проводилась процедура пошагового дискриминантного анализа. 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. То есть, если значение $D_2 \geq 3,2123$ – то ремиссии заболевания, вероятно, не будет после проведения антитиреоидной терапии. При значении $D_2 < 3,2123$ – вероятно будет ремиссия ДТЗ и таким пациентам рекомендовано назначение антитиреоидной терапии на более длительный срок (до 5 лет).

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 и ионизированного, паратиреоидного гормона, 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: общий и ионизированный кальций, паратиреоидный гормон (ПТГ), общий белок в сыворотке крови. 25 (ОН)D в сыворотке крови определялся за день до проведения операции.

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: общий и ионизированный кальций, паратиреоидный гормон (ПТГ), 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).

внутри). В 1-е сутки повторно были определены следующие показатели: общий и ионизированный кальций, паратиреоидный гормон (ПТГ).

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.

2.3 Антропометрические данные

Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывался как отношение массы тела, измеренной в килограммах, к росту в метрах, возведенных в квадрат ($\text{кг}/\text{м}^2$). За нормальную массу тела принимали ИМТ от 18,5 до 24,9 $\text{кг}/\text{м}^2$; ИМТ от 25,0 до 29,9 $\text{кг}/\text{м}^2$ расценивали как избыточную массу тела, а за ожирение принимали ИМТ, равный 30 $\text{кг}/\text{м}^2$ и более. Для оценки динамики массы тела через год после операции в зависимости от изменения веса больные были разделены на три группы: группа 1 – масса тела уменьшилась более чем на 5%; группа 2 – масса тела не изменилась; группа 3 – масса тела увеличилась, более чем на 5%.

2.4 Гормональные методы исследования

2.4.1 Определение уровней тиреотропного гормона, свободного T4, свободного T3

Забор крови всем включенным в исследование пациентам проводился утром между 8 и 9 часами. Кровь брали из локтевой вены, после 12-часового голодания. Сыворотку крови получали с помощью центрифугирования в течение 5 минут при 3 000 оборотов в минуту. Полученные образцы сыворотки разливали в аликвоты по 1,0 мл и хранили при -70 градусах Цельсия ($^{\circ}\text{C}$). Исследование концентрации гормонов ЩЖ (св. T3, св. T4, ТТГ) в сыворотке крови больного проводилось в лаборатории клинической фармакокинетики и гормональной диагностики ФГБОУ

ВО ПСПБГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В группе сравнения проводилась оценка уровня ТТГ. Уровни ТТГ, св.Т4, св.Т3 определялись в венозной крови иммунохимическим методом на анализаторе Access 2 (США). Референтные значения были следующими: ТТГ – 0,400-3,500 мМЕ/л, св. Т4 – 7,8-14,3 пмоль/л, св. Т3 – 3,5-6,4 пмоль/л.

2.4.2 Методика определения уровня паратиреоидного гормона в сыворотке крови

Кровь забирали в пластиковую пробирку без стабилизатора. До момента определения уровня интактного паратиреоидного гормона (ПТГ) образцы хранили при температуре минус 20 °С. Определение ПТГ в сыворотке проводили методом хемилюминисцентного анализа с использованием наборов фирмы Beckman (Великобритания) на аппарате Access. Референтное значение 12-88 пг/мл.

2.5 Иммунологические методы исследования

2.5.1 Исследование антител к рецептору ТТГ и антител к тиреопероксидазе

Исследования были выполнены в лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПБГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Оценка содержания АТ к рТТГ и АТ к ТПО была выполнена методом иммуноферментного анализа с использованием диагностического набора Roche diagnostics, Швейцария; EuroImmun, Anti-TSH-Receptor (TRAb) Fast ELISA (IgG), Германия. Референтные значения АТ к ТПО были 0-35 МЕ/мл.; АТ к рТТГ <1,0 МЕ/л.

2.6 Биохимические методы исследования

2.6.1 Методика определения уровня 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови

Кровь забирали в пластиковую пробирку без стабилизатора. После центрифугирования в течение 10 минут со скоростью 1 000 g отбирали 1 мл сыворотки. До момента определения уровня 25(OH)D образцы хранили при температуре минус 70 °С. Определение уровня 25(OH)D в сыворотке проводили методом иммунохемилюминисцентного анализа с использованием наборов фирмы Abbott (США) на анализаторе AbbottArchitect 8000 (США). Концентрация 25(OH)D, согласно рекомендациям Российской Ассоциацией Эндокринологов 2015 года, менее 20 нг/мл расценивалась как дефицит витамина D, 20-30 нг/мл – недостаточность витамина D, более 30 нг/мл – нормальный уровень витамина D.

2.6.2 Методика определения общего кальция, ионизированного кальция

Уровни общего и ионизированного кальция в сыворотке крови были определены с помощью автоматического анализатора Hitachi 912, стандартными наборами фирмы Roche. Референтные значения: ионизированный кальций – 1,06-1,32 ммоль/л; общий кальций – 2,15-2,55 ммоль/л.

2.7 Определение содержания интерлейкина-6 и интерлейкина-13

Концентрация ИЛ-6 была оценена у 87 пациентов с ДТЗ, не получавших терапию антитиреоидными препаратами. Оценка уровня ИЛ-13 была выполнена у 25 пациентов до начала терапии тиреостатиками. Оценка содержания ИЛ-6 и ИЛ-13 выполнена методом иммуноферментного анализа. Для измерения уровня ИЛ-6

был использован набор производителя «ООО Цитокин», Россия. Определение концентрации ИЛ-13 было выполнено с использованием набора ELISA kit (Human IL13 ELISA kit, Thermo Fisher Scientific). Единицы измерения пг/мл.

2.8 Инструментальные методы исследования

Ультразвуковое исследование щитовидной железы проводилось на аппарате «LOGIQ» с использованием линейного датчика 7-12 мГц. По данным УЗИ оценивался объём щитовидной железы, который рассчитывался путём умножения длины, толщины, ширины каждой доли и результат умножался на коэффициент 0,479 (Рекомендации ВОЗ 1994 год). В норме объём щитовидной железы у женщин до 18 см³, у мужчин до 25 см³.

Цветное доплеровское картирование проводилось на аппарате SONOLINE G 60 S Ultrasound Imaging System.

При выявлении узловых образований ЩЖ более 1 см всем пациентам выполнялась тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) с дальнейшим цитологическим исследованием материала. Биоптат наносили на обезжиренное стекло, полученные мазки окрашивали по Паппенгейму с использованием красителя Романовского-Гимза. Препараты исследовали на микроскопе «Микмед-2» с использованием окуляра 10 мк и объектива 50 мк и иммерсии (ИМ-90). После операции проводилось плановое гистологическое исследование операционного материала в лаборатории патологоанатомического отделения ПСПбГМУ им. И.П. Павлова.

2.9 Молекулярно-генетическое исследование

Молекулярно-генетическое исследование было выполнено и в группе больных ДТЗ, и в группе сравнения и включало выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из лейкоцитов крови, проведение

полимеразной цепной реакции (ПЦР), определение полиморфных вариантов генов *IL6*, *IL13*, *MIR125A* методом рестрикционного анализа.

Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты из лейкоцитов крови. Забор крови проводился утром натощак из локтевой вены в объеме 5-7 мл в пробирку с 30 мкл ЭДТА (0.5М, рН 8.0). Собранная кровь замораживалась и хранилась при -70'. Для идентификации аллельных вариантов генов первым этапом было выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови фенол-хлороформным методом в модификации по D.W. Stafford и N. Blin (1976).

На первом этапе проводился лизис клеток методом Канкеля. Далее пробирку аккуратно перемешивали и центрифугировали 10 минут при 5 000 оборотах в минуту. После образования осадка в каждую пробирку были добавлены 10% SDS, буфер TNE (0,01 М Tris-HCl, 0,01 М NaCl, 0,01 М ЭДТА, рН 8,0), протеинкиназа К, после чего эппендорфы были помещены в термостат при температуре 37 °С на ночь. Получившийся в процессе протеолиза осадок последовательно обрабатывали добавлением 300 мкл фенола, потом добавляли смесь из фенол-хлороформа (150 мкл фенола и 150 мкл хлороформа) и далее было добавлено 300 мкл хлороформа. Далее в течение 10 минут при 10 000 оборотах в минуту проводилось центрифугирование и отбор водной фазы. После завершения экстракции ДНК к каждой пробе были добавлены 30 мкл ацетата натрия и 1 000 мкл 96% этанола. Далее осадок ДНК дважды промывали 70% спиртовым раствором и центрифугировали в течение 10 минут при 10 000 оборотах в минуту. Выход ДНК составлял ~ 50 мкг молекулы.

Полимеразная цепная реакция и рестрикционный анализ. Полимеразная цепная реакция была выполнена на амплификаторе ThermalCycler T100 (Bio Rad, США) в микроцентрифужных полипропиленовых пробирках объемом 200 мкл (Axugen, США). ПЦР проводили в объеме 15 мкл.

Идентификация полиморфных вариантов C-572G в гене *IL6* (rs1800796)

Вариант C-572G в промоторной области гена *IL6* обусловлен заменой гуанина (G) на цитозин (C). Для проведения ПЦР анализируемого участка были использованы следующие праймеры (производитель «ООО ДНК-синтез», Россия):

forward (прямой праймер) 5'-GAG ACG CCT TGA AGT AAC TG-3' ;

reverse (обратный праймер) 5'-AAC CAA AGA TGT TCT GAA CTG-3'.

Окрашивание фрагментов ДНК в составе ПААГ выполнено при помощи водного раствора бромистого этидия. Визуализация результатов рестрикционного анализа была выполнена в ультрафиолетовом свете с помощью системы Gel Doc XR Plus (Bio Rad, США).

Результаты генотипирования полиморфных аллелей С-572G гена *IL6* представлены на рисунке 5.

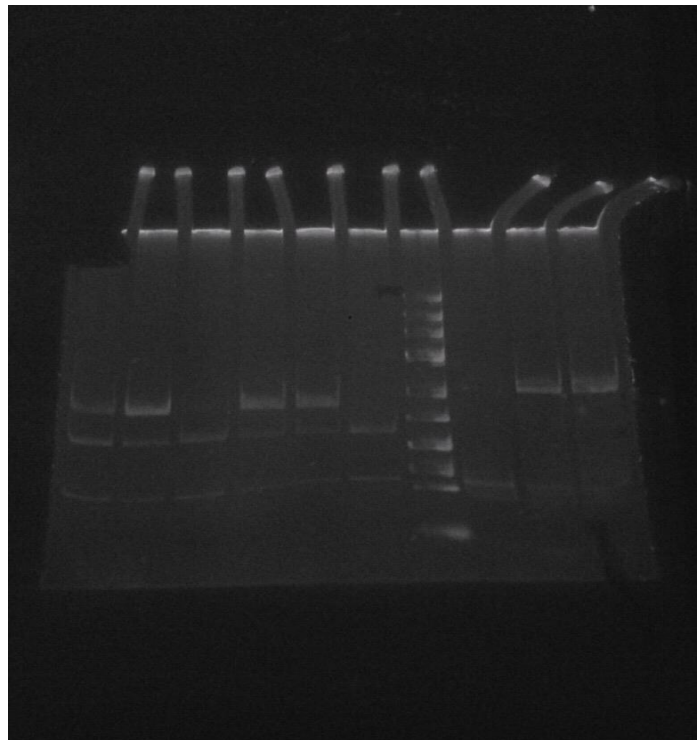


Рисунок 5 – Идентификация вариантов С-572G в гене *IL6* (rs1800796)

Идентификация полиморфных вариантов С-1112Т в гене IL13 (rs1800925)

Вариант С-1112Т в промоторной области гена *IL13* обусловлен заменой нуклеотидов цитозина (С) на тимин (Т), в результате чего происходит изменение транскрипционной активности гена. Амплификация данного фрагмента выполнена с использованием следующей последовательности олигонуклеотидов (производитель «ООО ДНК-синтез», Россия):

forward (прямой праймер) 5'-GGA ATC CAG CAT GCC TTG TGA GG-3';

reverse (обратный праймер) 5'-GTC GCC TTT TCC TGC TCT TCC CGC-3'.

Рестрикционный анализ был проведен с применением 0,1 мкл эндонуклеазы рестрикции BstUI (ThermoScientific, Литва). Инкубация реакционной смеси проводилась при 60 °С в течение 8 часов (рисунок 6).

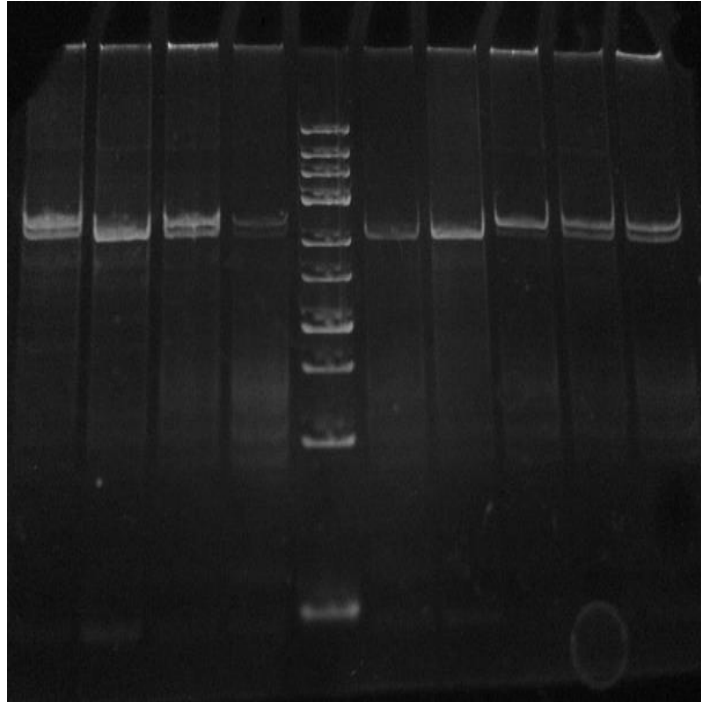


Рисунок 6 – Идентификация вариантов С-1112Т в гене *IL13* (rs1800925)

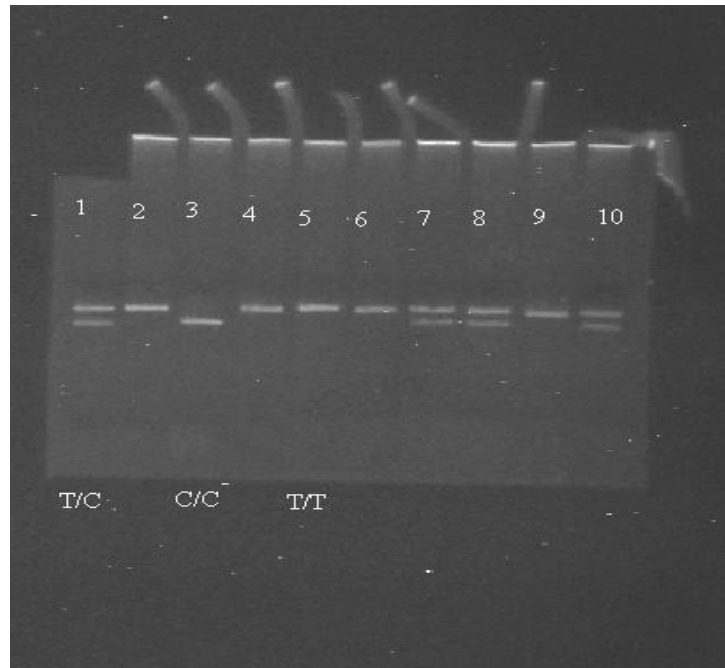
Идентификация вариантов гена MIR125a (rs12976445)

Вариант rs12976445 С/Т в гене *MIR125a* обусловлен заменой нуклеотида тимина (Т) на цитозин (С). Для проведения ПЦР были использованы следующие праймеры (производитель «ДНК-синтез», Россия):

forward (прямой праймер) 5'-TTTTGGTCTTTCTGTCTCTGG -3';

reverse (обратный праймер) 5'-TGGAGGAAGGGTATGAGGAGT-3'.

Рестрикционный анализ производился с использованием эндонуклеазы рестрикции BaeGI (New England Biolabs, США) (рисунок 7).



1, 7, 8, 10 – генотип T/C; 2, 4, 5, 6, 9 – генотип T/T; 3 – генотип C/C.

Рисунок 7 – Идентификация вариантов C/T в гене *MIR125A* (rs12976445)

2.10 Морфофункциональная характеристика состояния щитовидной железы у обследованных больных диффузным токсическим зобом

В качестве материала для настоящего исследования были использованы образцы ткани ЩЖ от 97 больных ДТЗ, прооперированных в хирургических клиниках ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Для выполнения работы использовались архивные парафиновые блоки.

Было проанализировано 1 200 гистологических препаратов (на пациента – не менее 5 из каждой доли, включая узловые образования).

Для объективной оценки функциональной активности ЩЖ использовали следующие морфометрические количественные показатели, предложенные О.К. Хмельницким (2003) [75]:

1. Внешний (наружный) диаметр ТФ (мкм), равен расстоянию между базальными мембранами двух тиреоцитов, находящихся на одной прямой линии. Исследовали 100 ТФ.

2. Средняя высота тиреоцитов (h , мкм), измерялась с помощью окуляр-микрометра, в 50 ТФ каждого препарата.
3. Средний диаметр ядер клеток ФЭ (мкм) равный полусумме перпендикулярных размеров ядра тиреоцита.
4. Площадь фолликулов (мкм).
5. Ядерно-цитоплазматический индекс. Использовалась окулярная сетка Автандилова на 100 тестовых точек; считали долю точек, совпадающих с ядром тиреоцита и долю точек, приходящихся на его цитоплазму, затем путём деления полученных значений вычисляли индекс.
6. Фолликулярно-коллоидный индекс (индекс активности ЩЖ) определялся по той же методике; равен отношению площади тиреоцитов к площади коллоида.

Оценка количественной характеристики структурных элементов щитовидной железы проводилась с помощью программы ВидеоТест-Морфология 5.2.

2.11 Оценка ростовых факторов у больных диффузным токсическим зобом

У 24 больных ДТЗ были сделаны серийные срезы ЩЖ толщиной 5 мкм. Проводились иммуногистохимические реакции по стандартному протоколу. Для визуализации были использованы компоненты системы визуализации NovoLink Polymer Detection System (500 test) фирмы Novocastra (Великобритания). Были использованы первичные антитела (Ki-67 клон М1В-1, ДАКО, Дания; Вах клон SP47, Спринт, США; Vcl-2 клон 124, ДАКО, Дания; Fas-L клон 5D1, Новокастра, Великобритания; VEGF Новокастра, Великобритания; FGF Новокастра, Великобритания). Результаты реакции оценивались морфометрически. Подсчет исследуемых объектов в иммуногистохимических препаратах осуществлялся с использованием светового микроскопа с увеличением объектива $\times 40$, бинокулярной насадки $\times 1,5$ и окуляров $\times 10$. При помощи цифровой камеры оптическое изображение переводилось в цифровое и далее морфометрия

выполнялась с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений ВидеоТесТ-Морфология 5.2.

Относительную площадь экспрессии (ОПЭ) исследуемого маркера в клеточной популяции оценивали по относительной площади экспрессии, которую рассчитывали, как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками к общей площади клеток в поле зрения и выражали в процентах. Оценка экспрессии CD 34 в сосудах проводилась методом визуального подсчета объектов по Г.Г. Автандилову.

2.12 Методы статистической обработки результатов исследования

Статистический анализ результатов исследования выполнен с помощью программы SPSS 16.0 (SPSS Inc., США). Сравнение частотных показателей в независимых выборках проведено с помощью точного критерия Фишера (так как число наблюдений в некоторых из ячеек таблиц сопряженности меньше 10).

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. Для исследования динамики параметров до и после операции применялся критерий Вилкоксона и дисперсионный анализ для зависимых выборок. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

С применением модели логистической модели рассчитывали вероятность ремиссии ДТЗ с учетом изучаемых параметров. Были построены дискриминантные функции D_1 и D_2 , которые позволяют классифицировать больных.

Для оценки прогноза послеоперационного исхода при субтотальных резекциях щитовидной железы в зависимости от анамнестических и предоперационных данных использовался дискриминантный анализ. На основе этой предварительной информации были выявлены параметры и их коэффициенты значимости, которые затем были сгруппированы и выведена прогностическая формула, которая позволяет предварительно прогнозировать исход субтотальной резекции ЩЖ.

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. Основой данного анализа является построение так называемой ROC-кривой, которая используется для представления результатов бинарной классификации. ROC-кривая показывает зависимость количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров. У «идеального» теста кривая проходит через верхний левый угол, где доля истинно положительных случаев составляет 100%, соответственно, чем ниже изгиб кривой, тем меньше качество теста. График дополняют прямой $y=x$, так как нецелесообразно рассмотрение ROC-кривой, находящейся ниже вогнутой $y=x$. Для получения численного значения клинической значимости теста, а также для сравнения двух тестов, использовался показатель AUC (Area Under Curve, площадь под кривой), который может быть рассчитан при помощи численных методов, например, метода трапеций. Чем выше показатель AUC, тем качественнее классификатор, при этом значение 0,5 демонстрирует непригодность выбранного метода классификации. Судить о качестве теста можно 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.

ГЛАВА 3

ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТИРЕОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

1.1. 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%). Клинико-инструментальные и лабораторные показатели больных ДТЗ представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Возраст, инструментальные и лабораторные показатели больных диффузным токсическим зобом

Показатель	Среднее значение	Стандартная ошибка среднего
Возраст, (лет)	42,09	0,59
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	31,31	1,07
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	39,26	2,05
св. Т4, (пмоль/л)	37,30	1,01
св. Т3, (пмоль/л)	17,52	0,51
Антитела к рТТГ, (МЕ/л)	15,34	1,16
Антитела к ТПО, (МЕ/мл)	497,66	55,64

Примечание – ЩЖ – щитовидная железа; св. Т4 – свободный тироксин; св. Т3 – свободный трийодтиронин; ТТГ – тиреотропный гормон, антитела к рТТГ – антитела к рецептору тиреотропного гормона, антитела к ТПО – антитела к тиреопероксидазе.

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 уровня антител к тиреопероксидазе (АТ к ТПО) было выявлено 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. Характеристика клинико-лабораторных данных пациентов ДТЗ представлена в таблице 4. По результатам проведенного анализа была выявлена положительная корреляционная связь между годом начала заболевания и возрастом пациента ($p=0,001$, $r=0,26$). До 1990 года средний возраст составлял $32,54 \pm 1,19$ лет, после 2011 года – $47,31 \pm 1,68$ лет ($p < 0,0001$). Такая закономерность была выявлена как у мужчин, так и у женщин. Возможно, это связано с увеличением потребления йода в Санкт-Петербурге и как следствие изменением йодобеспечения региона, в котором проживали больные. Соответственно, у пациентов ДТЗ, имевших скрытое течение заболевания, могла развиться манифестация ДТЗ, таблица 4. Процент пациентов, имевших стойкую ремиссию ДТЗ в период с 1970 до 2010 года, постепенно снижался: до 1990 года количество таких пациентов составило 43,5%, тогда как в период с 2006 до 2011 год ремиссия была установлена только у 13,0% пациентов ДТЗ. И наоборот, процент больных с отсутствием ремиссии ДТЗ увеличивался: если до 1990 года таких пациентов было только 19,4%, то в 2010-2018 годах - 41,2% обследованных. При этом количество больных с рецидивирующим течением ДТЗ за анализируемый период уменьшилось с 37,1% (до 1990 года) до 29,7% (2006-2011 гг.), что обусловлено резким нарастанием числа больных с отсутствием ремиссии заболевания, таблица 4. Увеличение пациентов с ремиссией ДТЗ за период с 2011 по 2018 год, вероятно, обусловлено небольшим периодом наблюдения после отмены препарата и более ранним решением вопроса о выполнении оперативного лечения или проведения радиойодтерапии. Таким образом, проведенное исследование показало изменение характера течения ДТЗ за период с 1970 по 2018 года: количество пациентов, у которых отсутствовала ремиссия заболевания или возник рецидив ТТ, после отмены антитиреоидной терапии, проводимой сроком 12-18 месяцев – значимо увеличилось.

Таблица 4 – Клинико-инструментальные показатели пациентов с диффузным токсическим зобом в различные годы постановки диагноза

Показатель	Группа						p
	группа 1 (n=124), (%, n)	группа 2 (n=125), (%, n)	группа 3 (n=110), (%, n)	группа 4 (n=96), (%, n)	группа 5 (n=131), (%, n)	группа 6 (n=136), (%, n)	
Средний возраст начала заболевания, (лет)	32,54± 1,19	40,37± 1,62	38,39± 1,53	43,30± 1,28	42,77± 0,99	47,31± 1,68	p₁₋₆<0,0001
Исходный объем ЩЖ у женщин, (см ³)	21,16± 2,32	52,61± 8,65	37,27± 2,35	34,63± 2,84	28,52± 1,30	27,51± 1,47	p₁₋₆=0,01
Исходный объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	26,75± 4,17	52,50± 14,46	36,67± 2,97	41,94± 1,94	36,87± 2,20	39,75± 5,26	p₁₋₆=0,01
Наличие ИО, (%), n n=206	8,9 n=11	18,4 n=23	30,0 n=33	30,2 n=29	46,6 n=61	36,0 n=49	p₁₋₆<0,0001
Наличие стойкой ремиссии заболевания, (n), n=181	43,5 n=54	31,2 n=39	22,7 n=25	16,7 n=16	13,0 n=17	22,1 n=30	p₁₋₆<0,0001
Отсутствие ремиссии заболевания, (n), n=261	19,4 n=24	25,6 n=32	32,7 n=36	39,6 n=38	57,3 n=75	41,2 n=56	p₁₋₆<0,0001

Продолжение таблицы 4

Показатель	Группа						p
	группа 1 (п=124), (%, n)	группа 2 (п=125), (%, n)	группа 3 (п=110), (%, n)	группа 4 (п=96), (%, n)	группа 5 (п=131), (%, n)	группа 6 (п=136), (%, n)	
Рецидив заболевания, (n), n=280	37,1 n=46	43,2 n=54	44,6 n=49	43,7 n=42	29,7 n=39	36,7 n=50	p₁₋₅=0,01
Продолжительность ремиссии заболевания, (мес.)	225,88± 32,38	70,93± 11,45	30,77± 7,81	31,10± 5,81	13,42± 1,88	7,83± 1,56	p₁₋₆<0,0001
Примечание – 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, p – достоверность различий.							

Далее был проведен анализ временного промежутка между окончанием антитиреодной терапии сроком 12-18 месяцев и временем возникновения рецидива ТТ, результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Длительность периода ремиссии диффузного токсического зоба после проведения антитиреодной терапии сроком 12-18 месяцев в различные годы постановки диагноза

Группа больных	Среднее значение (мес.)	Стандартная ошибка среднего
Группа 1	225,88	32,38
Группа 2	70,93	11,45
Группа 3	30,77	7,81
Группа 4	31,10	5,81
Группа 5	13,42	1,88
Группа 6	7,83	1,56
р	$p_{1-2}<0,001$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{1-4}<0,001$; $p_{1-5}<0,001$; $p_{1-6}<0,001$	
Примечание – 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, р – достоверность различий.		

За период с 1970 по 2018 гг., рецидив ТТ после отмены антитиреодной терапии, стал развиваться быстрее ($p<0,001$). До 1990 года рецидив ТТ возникал через $225,88\pm 32,38$ месяцев после прекращения антитиреодной терапии, а за период с 2011 по 2018 года уже через $7,83\pm 1,56$ месяцев ($p<0,001$), таблица 5.

Далее была проанализирована частота табакокурения у обследованных больных ДТЗ, результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Частота табакокурения среди пациентов с диффузным токсическим зобом в различные годы постановки диагноза

Группа	Факт курения		
	никогда не курили, (n=503)	курят (n=159)	курение в анамнезе (n=60)
Группа 1 (% , n), n=111	81,1 n=90	16,2 n=18	2,7 n=3
Группа 2 (% , n), n=112	73,2 n=82	17,0 n=19	9,8 n=11
Группа 3 (% , n), n=108	70,4 n=76	21,3 n=23	8,3 n=9
Группа 4 (% , n), n=102	63,7 n=65	23,5 n=24	12,8 n=13
Группа 5 (% , n), n=140	65,0 n=91	30,0 n=42	5,0 n=7
Группа 6 (% , n), n=149	66,4 n=99	22,2 n=33	11,4 n=17
p	p₁₋₂=0,01 p₁₋₃=0,01 p₁₋₄<0,001 p₁₋₅<0,001 p₁₋₆<0,001	p ₁₋₂ = 0,09 p₁₋₃=0,04 p₁₋₄<0,001 p₁₋₅<0,001 p₁₋₆=0,03	p₁₋₂=0,01 p₁₋₃=0,01 p₁₋₄<0,001 p ₁₋₅ =0,06 p₁₋₆<0,001
Примечание – 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, p – достоверность различий.			

Общее количество больных ДТЗ, которые курили на момент постановки диагноза или курили в анамнезе, составило – 219 человек (30,3%). Большинство

из них были мужчины ($n=119$, 54,3%), $p=0,07$. До 1990 года процент больных, которые никогда не курили, был бóльшим (81,1%), чем за период 2011-2018 гг. (66,4%) ($p=0,001$). Процент курящих больных увеличился с 16,2 до 22,2% за период с 1970 до 2018 годов.

Таким образом, по данным проведенного исследования курение было ассоциировано с неблагоприятным течением ДТЗ. У курящих пациентов с ДТЗ частота ремиссии заболевания была значимо меньше, а рецидивов ТТ больше.

3.2 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 ($p=0,03$). Исходные клинико-инструментальные и лабораторные показатели больных ДТЗ представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Возраст, инструментальные и лабораторные показатели больных диффузным токсическим зобом

Показатель	Среднее значение	Стандартная ошибка среднего
Возраст, (лет)	41,21	0,63
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	27,31	1,04
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	32,26	1,17
св. Т4, (пмоль/л)	32,32	1,02
св. Т3, (пмоль/л)	13,52	0,41
Антитела к рецептору ТТГ, (МЕ/л)	11,34	1,14
Антитела к ТПО, (МЕ/мл)	437,66	32,64

В среднем уровень АТ к рТТГ составил $11,34 \pm 1,14$ МЕ/л, АТ к ТПО – $437,66 \pm 32,64$ МЕ/мл.

Далее все пациенты ДТЗ были разделены на три группы: группа 1 – пациенты, имевшие стойкую ремиссию заболевания (более 2 лет); группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза через 6 месяцев и более после отмены антитиреоидной терапии; группа 3 – больные с отсутствием ремиссии заболевания после 12-18 месяцев терапии. Сравнительная характеристика клинико-инструментальных данных представлена в таблице 8.

Таблица 8 – Клинико-инструментальные показатели пациентов диффузным токсическим зобом с различным течением заболевания

Показатель	Группа			p
	группа 1, (%, n) n=99	группа 2, (%, n) n=224	группа 3, (%, n) n=199	
Возраст начала заболевания, (лет)	$43,41 \pm 1,99$	$38,13 \pm 1,09$	$37,61 \pm 0,84$	$p_{1-2}=0,04$ $p_{2-3}=0,01$ $p_{1-3}=0,01$
Курение, n=112	8,1 n=8	19,2 n=43	30,7 n=61	$p_{1-2}<0,0001$ $p_{2-3}<0,0001$ $p_{1-3}<0,0001$
Наследственность, n=236	42,4 (n=42)	45,9 (n=103)	45,7 (n=91)	$p_{1-2}=0,63$ $p_{2-3}=0,71$ $p_{1-3}=0,67$
Наличие офтальмопатии, (%)	10,1 (n=10)	18,8 (n=42)	51,3 (n=102)	$p_{1-2}<0,0001$ $p_{2-3}<0,0001$ $p_{1-3}<0,0001$

Продолжение таблицы 8

Показатель		Группа			p
		группа 1, (%, n) n=99	группа 2, (%, n) n=224	группа 3, (%, n) n=199	
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	исходно	19,48±1,83	27,38±1,34	35,54±1,66	p₁₋₂<0,0001 p₂₋₃=0,004 p₁₋₃<0,0001
	перед отменой терапии	14,07±1,07	30,26±1,47	48,02±2,42	p₁₋₂<0,0001 p₂₋₃<0,0001 p₁₋₃<0,0001
	p	p=0,01	p=0,04	p<0,0001	–
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	исходно	26,42±3,31	31,37±3,07	40,04±2,21	p ₁₋₂ =0,05 p₂₋₃=0,01 p₁₋₃<0,0001
	перед отменой терапии	15,00±2,25	36,40±5,43	57,77±5,15	p₁₋₂=0,002 p₂₋₃=0,02 p₁₋₃<0,0001
	p	p=0,01	p=0,03	p<0,0001	–
Сохранение или прогрессирование офтальмопатии, (%)		10 (n=1 из 10)	28,6 (n=12 из 42)	51,0 (n=52 из 102)	p₁₋₂<0,0001 p₂₋₃<0,0001 p₁₋₃<0,0001
Длительность анти тиреоидной терапии, (лет)		2,31±0,09	2,79±0,05	2,51±0,04	p ₁₋₂ =0,31 p ₂₋₃ =0,27 p ₁₋₃ =0,31
Примечание – группа 1 – пациенты, имевшие стойкую ремиссию заболевания; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза через 6 месяцев; группа 3 – больные с отсутствием ремиссии заболевания; p – достоверность различий.					

Возраст на момент постановки диагноза ДТЗ у больных, достигших ремиссии заболевания, был значимо больше ($p=0,04$ и $p=0,01$, соответственно), по сравнению с группами больных неблагоприятного прогноза (группа 2 и группа 3), таблица 8. Факт табакокурения был зафиксирован в большем проценте случаев у больных с рецидивов ТТ (19,2%) и отсутствием ремиссии ДТЗ (30,7%), по сравнению с больными, у которых была достигнута стойкая ремиссия заболевания (8,1%) ($p_1<0,0001$ и $p_1<0,0001$, соответственно), таблица 8.

По наличию наследственного фактора по заболеваниям ЩЖ обследуемые группы пациентов, достигших ремиссии ДТЗ, с рецидивом ТТ и не достигшие ремиссии были сопоставимы (42,4%, 45,9% и 45,7%, соответственно; $p>0,05$).

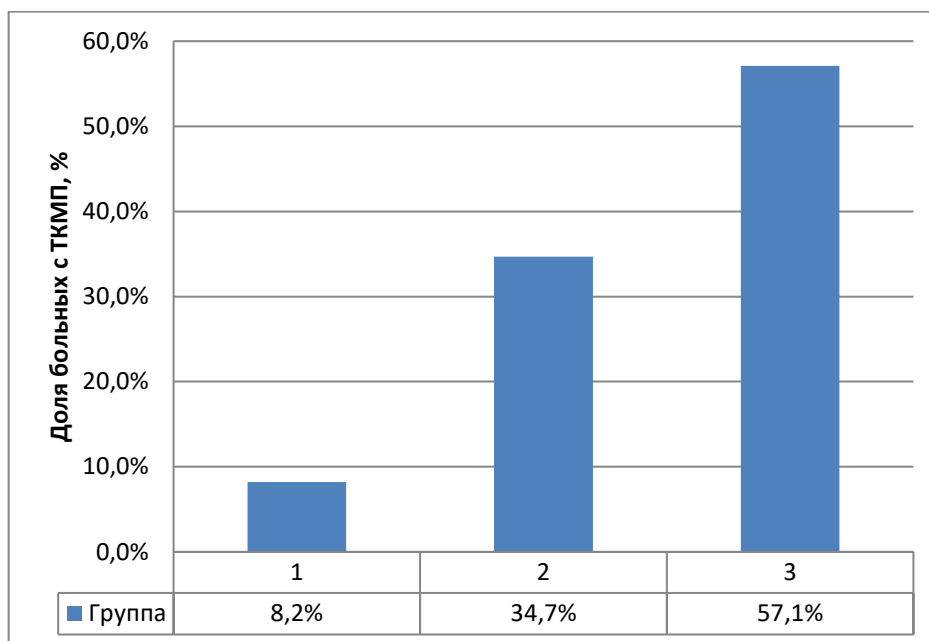
На момент постановки диагноза ДТЗ и через 12-18 месяцев консервативной терапии объем ЩЖ как у мужчин, так и у женщин с рецидивом синдрома ТТ (группа 2) и отсутствием ремиссии ДТЗ (группа 3) был значимо больше, чем у пациентов достигших стойкой ремиссии (группа 1) ($p_{1-2}<0,0001$). Наибольший объем ЩЖ на момент начала заболевания определялся у обследованных пациентов 3 группы: у женщин в среднем объем ЩЖ был $35,54\pm 1,66$ см³, у мужчин – $40,04\pm 2,21$ см³ (таблица 8).

Как у женщин, так и у мужчин из группы 2 и 3 на фоне проводимой антитиреоидной терапии через 12-18 месяцев лечения наблюдалось значимое увеличение объема ЩЖ ($p<0,05$). В то же время, у пациентов со стойкой ремиссией ДТЗ (группа 1) отмечалось уменьшение объема ЩЖ.

ЭО была выявлена у 154 из 522 больных ДТЗ (29,5%). У пациентов со стойкой ремиссией заболевания (группа 1) проявления ЭО наблюдались реже – в 10,1% случаев, чем у больных с неблагоприятным течением ДТЗ ($p=0,001$). У пациентов с ЭО чаще был установлен факт курения ($<0,0001$). 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) ($<0,0001$). Анализ лабораторных данных больных с ЭО показал значимо больший уровень антител к рецептору ТТГ крови как исходно ($p<0,0001$), так и через 12-18 месяцев лечения

($p < 0,0001$). Так же у больных с ЭО был значимо больший уровень св. Т3 ($p < 0,0001$) и соотношения св. Т3/св. Т4 ($p < 0,0001$).

Тиреотоксическая кардиомиопатия была диагностирована у 49 из 522 больных ДТЗ (9,4%). Распространенность ТКМП в зависимости от течения ДТЗ представлена на рисунке 8.



Примечание – группы больных: 1 – со стойкой ремиссией диффузного токсического зоба; 2 – с рецидивом тиреотоксикоза после отмены анти tireоидной терапии; 3 – с отсутствием ремиссии диффузного токсического зоба на фоне приема анти tireоидной терапии

Рисунок 8 – Выявляемость тиреотоксической кардиомиопатии у больных диффузным токсическим зобом с различным течением заболевания

В группе больных с ремиссией ДТЗ встречаемость ТКМП была значимо меньше, чем в группах больных с рецидивирующим течением ДТЗ ($p < 0,001$) и отсутствием ремиссии ($p < 0,001$). Были выявлены корреляционные связи между наличием ТКМП и количеством зарегистрированных рецидивов ДТЗ ($p = 0,02$; $r = 0,237$); между наличием ТКМП и наличием ЭО ($p = 0,008$; $r = 0,321$).

Таким образом, наличие ТКМП было ассоциировано с отсутствием ремиссии ДТЗ и высокой частотой рецидивов тиреотоксикоза, а также с наличием ЭО.

Далее был проведен анализ лабораторных показателей больных ДТЗ до начала лечения и перед отменой антитиреоидной терапии, результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Лабораторные показатели пациентов диффузным токсическим зобом с различными исходами консервативной терапии

Показатель	Группа			p
	группа 1	группа 2	группа 3	
Св. Т4 исходно, (пмоль/л)	35,12±5,56	35,55±1,56	37,20±1,18	p ₁₋₂ =0,21 p ₂₋₃ =0,35 p ₁₋₃ =0,04
Св. Т3 исходно, (пмоль/л)	12,36±1,95	16,61±0,94	18,63±0,66	p₁₋₂<0,0001 p ₂₋₃ =0,06 p₁₋₃<0,0001
Соотношение св.Т3/св.Т4 исходно	0,34±0,03	0,47±0,02	0,54±0,02	p₁₋₂<0,0001 p ₂₋₃ =0,06 p₁₋₃<0,0001
Антитела к рецептору ТТГ исходно, (МЕ/л)	4,64±2,12	11,97±4,74	11,71±0,76	p ₁₋₂ =0,05 p ₂₋₃ =0,09 p₁₋₃<0,0001
Антитела к ТПО исходно, (МЕ/мл)	634,72±116,207	449,11±95,30	465,62±63,25	p ₁₋₂ =0,17 p ₂₋₃ =0,16 p ₁₋₃ =0,17
Св. Т4 перед отменой терапии, (пмоль/л)	11,58±0,55	11,83±0,57	17,79±1,32	p ₁₋₂ =0,23 p₂₋₃=0,04 p₁₋₃=0,01
Св. Т3 перед отменой терапии, (пмоль/л)	4,18±0,34	5,38±0,40	9,08±0,57	p₁₋₂=0,02 p₂₋₃<0,0001 p₁₋₃<0,0001

Продолжение таблицы 9

Показатель	Группа			p
	группа 1	группа 2	группа 3	
Соотношение св.Т3/св.Т4 перед отменой терапии	0,38±0,12	0,45±0,11	0,51±0,12	p₁₋₂=0,02 p₂₋₃<0,0001 p₁₋₃<0,0001
Антитела к рецептору ТТГ перед отменой терапии, (МЕ/л)	0,79±0,328	4,78±1,44	2,94±1,18	p₁₋₂<0,0001 p₂₋₃<0,0001 p₁₋₃<0,0001
Антитела к ТПО перед отменой терапии, (МЕ/мл)	576,31±135,13	341,80±70,84	401,56±71,03	p ₁₋₂ =0,32 p ₂₋₃ =0,22 p ₁₋₃ =0,68
Примечание – группа 1 – пациенты, имевшие стойкую ремиссию заболевания; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза через 6 месяцев и больше после отмены анти тиреоидной терапии; группа 3 – больные с отсутствием ремиссии заболевания; p – достоверность различий.				

По результатам лабораторного обследования установлено, что исходно и через 18 месяцев анти тиреоидной терапии концентрация АТ к рТТГ крови была значимо выше ($p < 0,05$) в группе 2 и 3 (больные с рецидивом ТТ и отсутствием ремиссии ДТЗ), чем у больных со стойкой ремиссией ДТЗ (таблица 9). Кроме того, для больных группы 2 и 3 до начала терапии были характерны более высокий уровень св.Т3 и соотношение св.Т3/св.Т4, чем у пациентов из 1 группы ($p < 0,0001$). Между группами больных ДТЗ значимых различий в исходных уровнях ТТГ и АТ к ТПО выявлено не было (таблица 9).

У 87 пациентов с ДТЗ до начала анти тиреоидной терапии была проведена оценка концентрации ИЛ-6 и у 25 пациентов ИЛ-13 в крови.

Уровень ИЛ-6 в группе пациентов, у которых на фоне антитиреодной терапии была достигнута ремиссия ДТЗ, был значимо ниже, чем у больных с рецидивом ТТ и отсутствием ремиссии ДТЗ ($3,81 \pm 0,92$ пг/мл и $13,52 \pm 5,31$ пг/мл, соответственно; $p=0,02$). Корреляционных взаимосвязей между уровнем ИЛ-6 и остальными изучаемыми показателями выявлено не было.

Различий по уровню ИЛ-13 в изучаемых группах больных выявлено не было. В группе со стойкой ремиссией ДТЗ уровень ИЛ-13 составил $6,2 \pm 3,5$ пг/мл, а в группе с отсутствием ремиссии ДТЗ - $6,7 \pm 5,1$ пг/мл ($p=0,9$). Корреляционных взаимосвязей между уровнем ИЛ-13 и остальными изучаемыми показателями выявлено не было.

Далее больные ДТЗ были разделены на 3 группы по принимаемой терапии: группа I – принимавшие производные тионамидов (Тирозол, Мерказолил); группа II – принимавшие пропилтиоурацил; группа III – принимавшие комбинацию производных тионамидов и L-тироксина. Распределение вариантов лечения больных ДТЗ в зависимости от течения заболевания представлено в таблице 10.

Таблица 10 – Характер течения диффузного токсического зоба у больных, получающих различные варианты консервативной терапии

Применяемая терапия	Характер течения			p
	группа 1 (n=99), %, n	группа 2, (n=224), %, n	группа 3, (n=199), %, n	
Группа I, n=212	40,4% n=40	40,2% n=90	41,2% n=82	$p_{1-2}=0,87$ $p_{2-3}=0,89$ $p_{1-3}=0,78$
Группа II, n=36	6,1% n=6	7,6% n=17	6,5% n=13	$p_{1-2}=0,88$ $p_{2-3}=0,81$ $p_{1-3}=0,82$

Продолжение таблицы 10

Применяемая терапия	Характер течения			p
	группа 1 (n=99), %, n	группа 2, (n=224), %, n	группа 3, (n=199), %, n	
Группа III, n=274	53,5% n=53	52,2% n=117	52,3% n=104	p ₁₋₂ =0,87 p ₂₋₃ =0,79 p ₁₋₃ =0,77
Примечание – группа 1 – пациенты, имевшие стойкую ремиссию заболевания; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза через 6 месяцев и больше после отмены антитиреоидной терапии; группа 3 – больные с отсутствием ремиссии заболевания; группа I – принимавшие производные тионамидов (Тирозол, Мерказолил); группа II – принимавшие пропилтиоурацил; группа III – принимавшие комбинацию производных тионамидов и L-тироксина p – достоверность различий.				

Различий в течении ДТЗ, в зависимости от вариантов лечения выявлено не было. Пациенты, принимавшие разные схемы консервативной терапии практически равномерно распределились между группами с разными исходами консервативного лечения, $p > 0,05$ (таблица 10). Значимых преимуществ комбинированной схемы лечения выявлено не было.

Таким образом, молодой возраст пациента, большой объем ЩЖ на момент постановки диагноза, высокий уровень АТ к рТТГ, высокое соотношение св.Т3/св.Т4, наличие эндокринной офтальмопатии, ТКМП являются факторами неблагоприятного течения заболевания у больных ДТЗ, включенных в представленное исследование.

3.3 Математическая модель прогноза течения диффузного токсического зоба после проведения антитиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев

С целью разработки математической модели прогноза вероятности ремиссии ДТЗ на фоне проведения антитиреоидной 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. Переменные, расположенные в порядке значимости, приведены в таблице 11. Чем выше находится переменная в таблице, тем больше ее вклад в дискриминацию (разделение) пациентов по прогнозу.

Таблица 11 – Значимые переменные, влияющие на прогноз консервативного лечения больных диффузным токсическим зобом

Номер переменной	Дискриминантные переменные	Коэффициенты значимости
1	Объем щитовидной железы исходно, (см ³)	0,03
2	Наличие эндокринной офтальмопатии	1,12
3	Возраст начала заболевания, (лет)	0,04
4	Исходно (до лечения) соотношение св.Т3/св.Т4	1,14
5	Уровень антител к рецептору ТТГ, исходно	0,04
6	Курение	0,33
	Константа	-3,26

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:

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

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 диффузного токсического зоба». На рисунке 9 показаны индивидуальные значения дискриминантной функции для всех пациентов. Красной линией обозначена линия отсечения, красные точки – пациенты без ремиссии или с рецидивом ДТЗ, синие – пациенты с ремиссией заболевания.

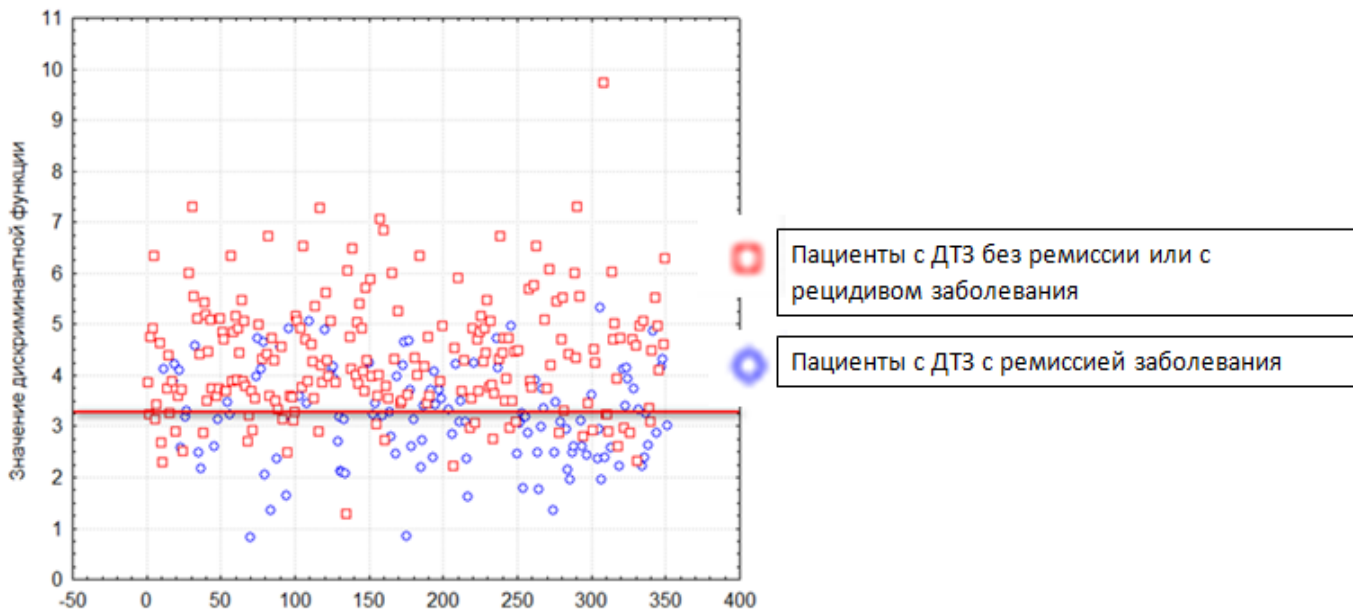


Рисунок 9 – Графическое представление рассчитанного прогноза вероятности ремиссии у пациентов с диффузным токсическим зобом

С целью оценки возможности интерпретации полученных показателей влияющих на вероятность наступления ремиссии у больных ДТЗ был проведен ROC анализ (рисунок 10).

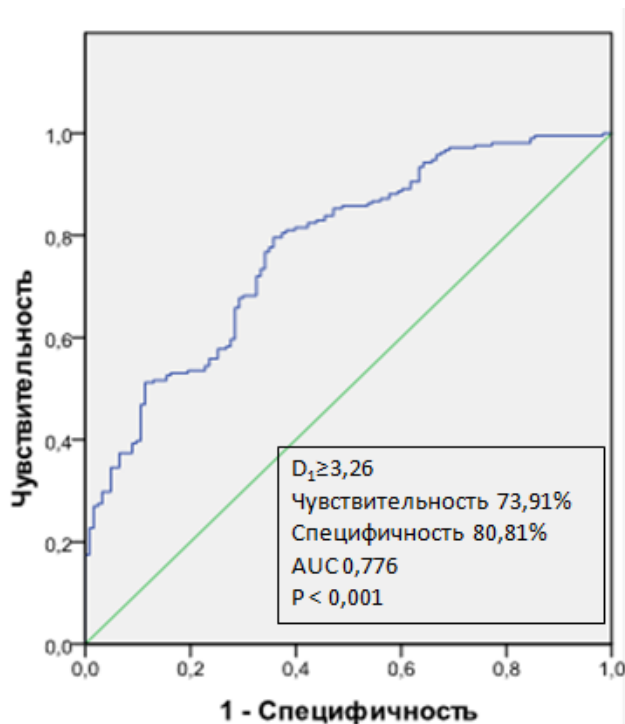


Рисунок 10 – ROC-кривая соотношения чувствительности/специфичности модели прогнозирования вероятности наступления ремиссии у больных диффузным токсическим зобом

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

Клинический пример прогностической вероятности ремиссии ДТЗ

Женщина В., 34 года, диагноз ДТЗ установлен в 34 года. По результатам обследования: УЗИ ЩЖ – объем 17,1 см³, св. Т4 – 25,1 пмоль/л, св. Т3 – 8,9 пмоль/л, антитела к рТТГ – 2,1 МЕ/л. Проявлений ЭО не было. Не курит.

По формуле был рассчитано пороговое значение D_1 :

$$D_1 = 0,03 \times \text{исходный объем ЩЖ} + 1,12 \times \text{офтальмопатия (на момент поставки диагноза ДТЗ)} + 0,04 \times \text{возраст начала заболевания (годы)} + 1,14 \times \text{соотношение св.Т3/св.Т4 (исходно)} + 0,04 \times \text{антитела к рецептору ТТГ (исходно)} + 0,33 \times \text{курение (на момент поставки диагноза ДТЗ)} = 0,03 \times 17,1 + 1,12 \times 0 - 0,04 \times 34 + 1,14 \times 8,9 / 25,1 + 0,04 \times 2,1 = 2,357$$

Таким образом, полученное значение $D_1 < 3,2123$ соответствует высокой вероятности ремиссии ДТЗ. Пациентке была назначена тиреостатическая терапия (Т. Тирозол 10 мг сроком на 18 месяцев). Через 18 месяцев по результатам осмотра и проведенного обследования: ЭО – отсутствует, ТТГ крови 2,1 мМЕ/л, антитела к рецептору ТТГ – 0,5 МЕ/л. Клинико-лабораторные показатели соответствуют ремиссии ДТЗ, в связи с этим Тирозол был отменен. В течение 4 лет дальнейшего динамического наблюдения у пациентки сохранялась стойкая клинико-лабораторная ремиссия заболевания.

3.4 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 ($p=0,05$). Исходные клинико-инструментальные и лабораторные показатели больных ДТЗ представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Возраст, инструментальные и лабораторные показатели пациентов с диффузным токсическим зобом

Показатель	Среднее значение	Стандартная ошибка среднего
Возраст, (лет)	45,96	0,67
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	28,32	2,04
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	33,26	1,19
св. Т4, (пмоль/л)	31,33	1,04
св. Т3, (пмоль/л)	14,52	1,41
Антитела к рецептору ТТГ, (МЕ/л)	12,34	1,12
Антитела к ТПО, (МЕ/мл)	237,66	42,64

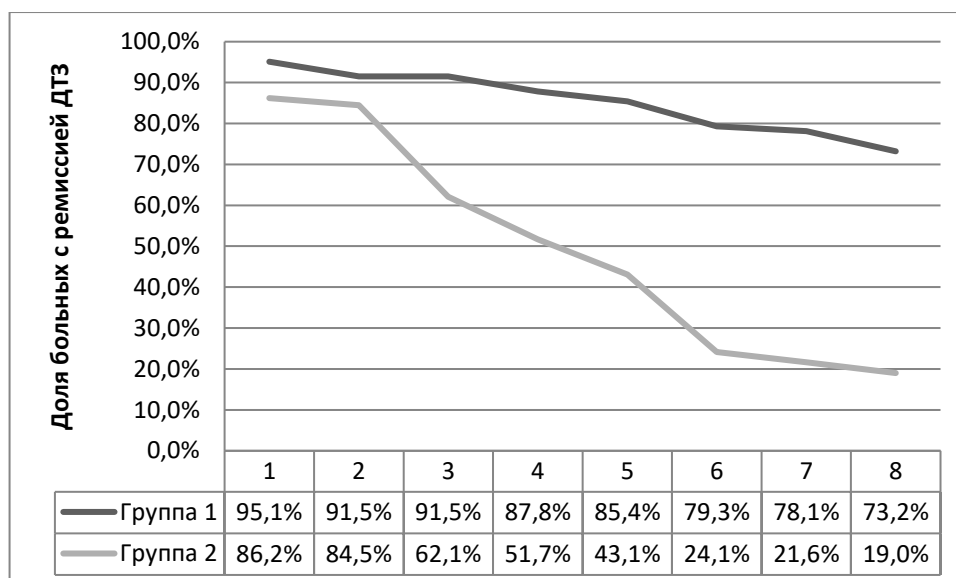
Как у женщин, так и у мужчин средний объем ЩЖ был больше нормы и составил у женщин $28,32 \pm 2,04$ см³, у мужчин $33,26 \pm 1,19$ см³. В среднем показатель АТ к рТТГ составил $12,34 \pm 1,12$ МЕ/л, АТ к ТПО – $237,66 \pm 42,64$ МЕ/мл.

Далее всем 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%). Клинико-инструментальные и лабораторные показатели больных ДТЗ представлены в таблице 13. Пациенты с показателем $D_1 \geq 3,26$ чаще курили (<0,0001), имели значимо больший уровень исходного св. Т3 и АТ к рТТГ, выше соотношение св. Т3 к св. Т4. Как у мужчин, так и у женщин был значимо больший объем ЩЖ (<0,0001).

Таблица 13 – Клинико-лабораторные и инструментальные показатели больных диффузным токсическим зобом в зависимости от вероятности ремиссии

Показатель	Группа		p
	группа 1	группа 2	
Курение, (% больных)	18,6	40,5	<0,0001
Наследственность, (% больных)	29,2	31,1	0,67
Св. Т4 исходно, (пмоль/л)	29,43±1,41	31,37±2,36	0,56
Св. Т3 исходно, (пмоль/л)	13,22±0,56	20,92±1,62	<0,0001
Соотношение св. Т3/св. Т4, исходно	0,45±0,01	0,53±0,03	<0,0001
Антитела к рецептору ТТГ исходно, (МЕ/л)	7,64±1,79	12,29±1,63	<0,0001
Антитела к ТПО исходно, (мМЕ/л)	545,50±216,42	489,98±49,36	0,21
Объем ЩЖ у женщин, см ³	24,21±1,21	38,31±2,12	<0,0001
Объем ЩЖ у мужчин, см ³	28,21±1,89	39,29±1,76	<0,0001
Примечание – группа 1 – значение D ₁ менее 3,26; группа 2 – значение D ₁ равно 3,26 и более, p – достоверность различий.			

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 11. 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) × 100% = (94 / 94 + 22) × 100% = 81%. Специфичность модели рассчитывали по формуле: (ИО / ИО + ЛП) × 100% = (60 / 60 + 22) × 100% = 73%.



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 больных ДТЗ через 12 месяцев отмены терапии; 4 – визит больных ДТЗ через 18 месяцев отмены терапии; 5 – визит больных ДТЗ через 24 месяцев отмены терапии; 6 – визит больных ДТЗ через 30 месяцев отмены терапии; 7 – визит больных ДТЗ через 36 месяцев отмены терапии; 8 – визит больных ДТЗ через 42 месяца отмены терапии.

Рисунок 11 – Процент больных диффузным токсическим зобом с ремиссией заболевания после отмены антитиреоидной терапии с учетом D_1 критерия

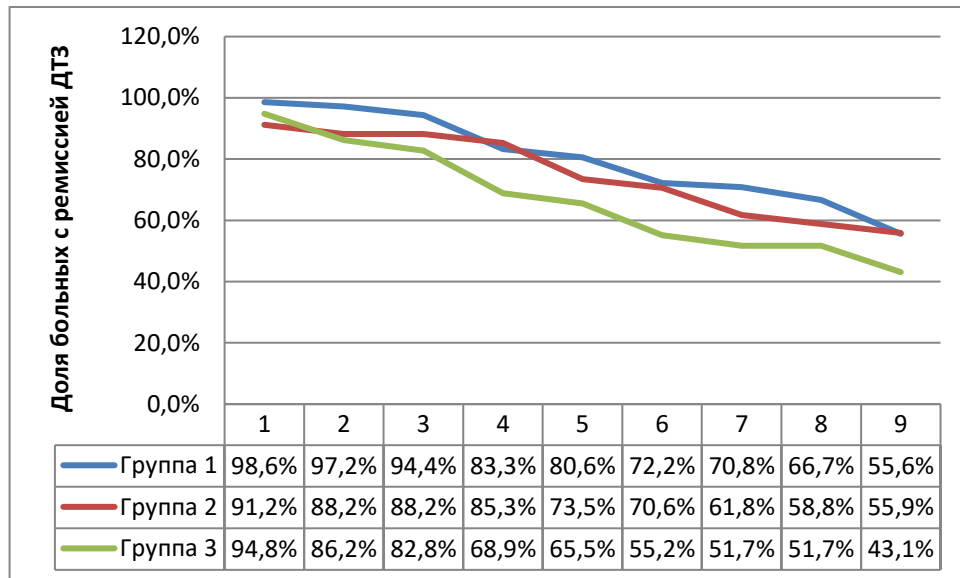
Далее было проведено сопоставление разработанной модели с европейскими шкалами прогноза ДТЗ: GREAT и CSS.

В исследование были включены 198 больных с впервые диагностированным ДТЗ.

Первый анализ клинико-лабораторных данных был проведен через 12-18 месяцев консервативной терапии, а далее каждые 6 месяцев в течение 4 лет с оценкой вероятной ремиссии ДТЗ.

По шкале GREAT больные ДТЗ были разделены на 3 группы. В группу 1 – низкий риск рецидива тиреотоксикоза было включено 72 больных ДТЗ (36%); в группу 2 – умеренный риск рецидива тиреотоксикоза – 68 больных (34%); в группу 3 – высокий риск рецидива тиреотоксикоза – 58 больных (30%).

Через 18 месяцев лечения ремиссия ДТЗ была диагностирована в группе 1 у 71 из 72 больных (98,6%), в группе 2 у 62 из 68 больных (91,2%), в группе 3 у 55 из 58 больных (94,8%). Результаты дальнейшего четырехлетнего наблюдения представлены на рисунке 12.



Примечание – группа 1 – низкий риск рецидива тиреотоксикоза; группа 2 – умеренный риск рецидива; группа 3 – высокий риск рецидива тиреотоксикоза. 1 – визит больных ДТЗ при отмене терапии (через 12-18 месяцев лечения); 2 – визит больных ДТЗ через 6 месяцев отмены терапии; 3 – визит больных ДТЗ через 12 месяцев отмены терапии; 4 – визит больных ДТЗ через 18 месяцев отмены терапии; 5 – визит больных ДТЗ через 24 месяцев отмены терапии; 6 – визит больных ДТЗ через 30 месяцев отмены терапии; 7 – визит больных ДТЗ через 36 месяцев отмены терапии; 8 – визит больных ДТЗ через 42 месяца отмены терапии.

Рисунок 12 – Процент больных с ремиссией диффузного токсического зоба по шкале Graves' Recurrent Events After Therapy (GREAT)

Как видно из представленных данных через 4 года наблюдения в группе 1 (низкий риск рецидива ТТ) число больных с ремиссией заболевания составило 55,6%, а у 44,4% больных был зарегистрирован рецидив ТТ. В группе 2 (среднего риска рецидива ТТ) количество участников с ремиссией ДТЗ постепенно снижалось каждые полгода и через 4 года составило 55,9%. В группе 3 (высокого

риска ТТ) количество пациентов с ремиссией ДТЗ снизилось с 84,2% до 43,1% ($p < 0,001$). Чувствительность модели GREAT рассчитывали по формуле: $\text{чувствительность} = (\text{ИП} / \text{ИП} + \text{ЛО}) \times 100\% = (63 / 63 + 25) \times 100\% = 66\%$. Специфичность модели GREAT рассчитывали по формуле: $(\text{ИО} / \text{ИО} + \text{ЛП}) \times 100\% = (40 / 40 + 63) \times 100\% = 39\%$.

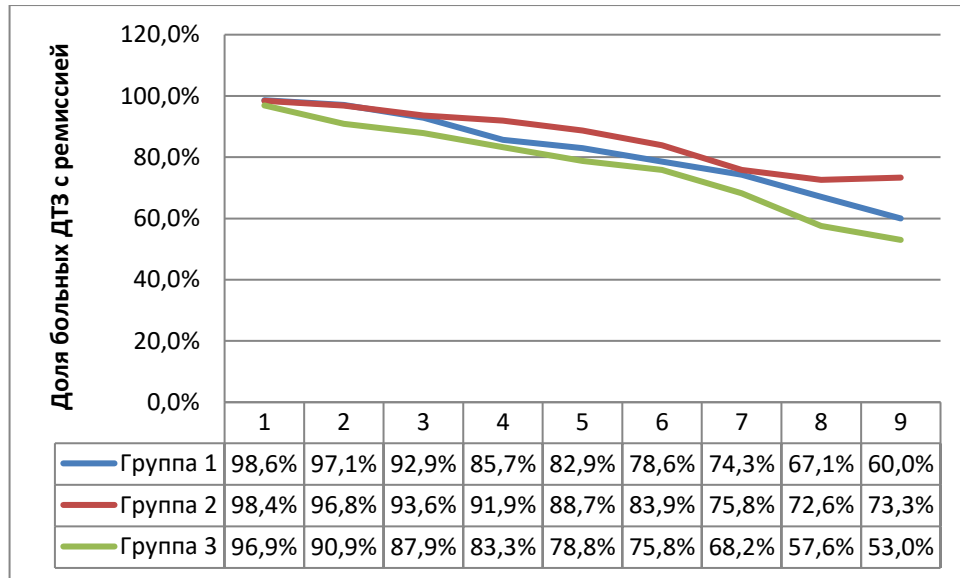
По шкале CSS больные ДТЗ были разделены на 3 группы. В группу 1 было включено 70 больных ДТЗ (35,4%), в группу 2 – 62 больных (31,3%), в группу 3 – 66 больных (33,3%).

Через 18 месяцев ремиссия ДТЗ была диагностирована в группе 1 у 69 из 70 больных (98,6%), в группе 2 у 61 из 62 больных (93,4%), в группе 3 у 64 из 66 больных (96,9%).

Результаты дальнейшего четырехлетнего наблюдения представлены на рисунке 13.

Как видно из представленных данных, в группе 1 число больных с ремиссией заболевания оставалось высоким и через 4 года и составило 60%. В группе 2 количество участников с ремиссией ДТЗ постепенно снижалось каждые полгода и через 4 года составило 73,3%. В группе 3 число пациентов с ремиссией снизилось с 96,9% до 53% ($p < 0,001$).

Чувствительность модели CSS рассчитывали по формуле: $\text{чувствительность} = (\text{ИП} / \text{ИП} + \text{ЛО}) \times 100\% = (49 / 49 + 28) \times 100\% = 64\%$. Специфичность модели CSS рассчитывали по формуле: $(\text{ИО} / \text{ИО} + \text{ЛП}) \times 100\% = (42 / 42 + 79) \times 100\% = 35\%$.



Примечание – группа 1 – легкая степень тяжести (3-5 баллов); группа 2 – средняя степень тяжести (6-8 баллов); группа 3 – тяжелая степень тяжести (9-24 балла). 1 – визит больных ДТЗ при отмене терапии (через 12-18 месяцев лечения); 2 – визит больных ДТЗ через 6 месяцев отмены терапии; 3 – визит больных ДТЗ через 12 месяцев отмены терапии; 4 – визит больных ДТЗ через 18 месяцев отмены терапии; 5 – визит больных ДТЗ через 24 месяцев отмены терапии; 6 – визит больных ДТЗ через 30 месяцев отмены терапии; 7 – визит больных ДТЗ через 36 месяцев отмены терапии; 8 – визит больных ДТЗ через 42 месяца отмены терапии.

Рисунок 13 – Доля больных с ремиссией диффузного токсического зоба по шкале Clinical Severity Score (CSS)

Таким образом, разработанная прогностическая модель вероятности ремиссии ДТЗ по критерию D_1 , обладает большей чувствительностью и специфичностью по сравнению с европейскими шкалами GREAT и CSS.

3.5 Обследование и наблюдение за пациентами с диффузным токсическим зобом с отсутствием ремиссии на фоне антитиреоидной 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 антитиреоидной терапии отсутствовала ремиссия заболевания. В исследование было включено 92 пациента,

преимущественно женщины: 78,4% женщин и 21,6% мужчин. Антитиреодная 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 клинико-лабораторных показателей каждые 6 месяцев. В случае отсутствия ремиссии ДТЗ в зависимости от показаний пациентам выполнялось или оперативное лечение или радиоiodтерапия.

Для дальнейшего анализа пациенты были разделены на 2 группы: группа 1 – пациенты, у которых наступила ремиссия ДТЗ; группа 2 – пациенты с отсутствием ремиссии ДТЗ. Результаты обследования представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Клинико-инструментальные показатели обследования пациентов с диффузным токсическим зобом

Показатель	Группа		p
	группа 1 (n=72)	группа 2 (n=20)	
Возраст на момент окончания исследования, (лет)	44,41±1,99	33,13±2,09	p<0,0001
Наследственность, (%)	31,9 (n=23)	90 (n=18)	p=0,001
Курение, (%)	40,3 (n=29)	90 (n=18)	p=0,001
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	19,48±1,83	28,38±1,34	p=0,01
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	26,42±3,31	42,37±3,07	p=0,001
Наличие офтальмопатии, (%)	48,6 (n=35)	85 (n=17)	p=0,01
Длительность антитиреодной терапии, (лет)	2,31±0,09	2,79±0,05	p=0,32
Примечание – 1 – наступила ремиссия ДТЗ; группа 2 – отсутствие ремиссии ДТЗ; p – достоверность различий.			

Больных с отсутствием ремиссии ДТЗ (группа 2) были значимо моложе ($p < 0,0001$) и имели больший объем ЩЖ ($p < 0,0001$), по сравнению с пациентами с ремиссией ДТЗ.

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 вероятности наступления ремиссии у больных ДТЗ. Переменные, расположенные в порядке значимости, приведены в таблице 15. Чем выше находится переменная в таблице, тем больше ее вклад в разделение пациентов по прогнозу.

Таблица 15 – 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 вероятности наступления ремиссии у больных ДТЗ, после терапии анти тиреоидными препаратами до 4 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».

С целью оценки возможности интерпретации взаимовлияния полученных показателей на оценку «отсутствие ремиссии диффузного токсического зоба» был проведен ROC анализ (рисунок 14).

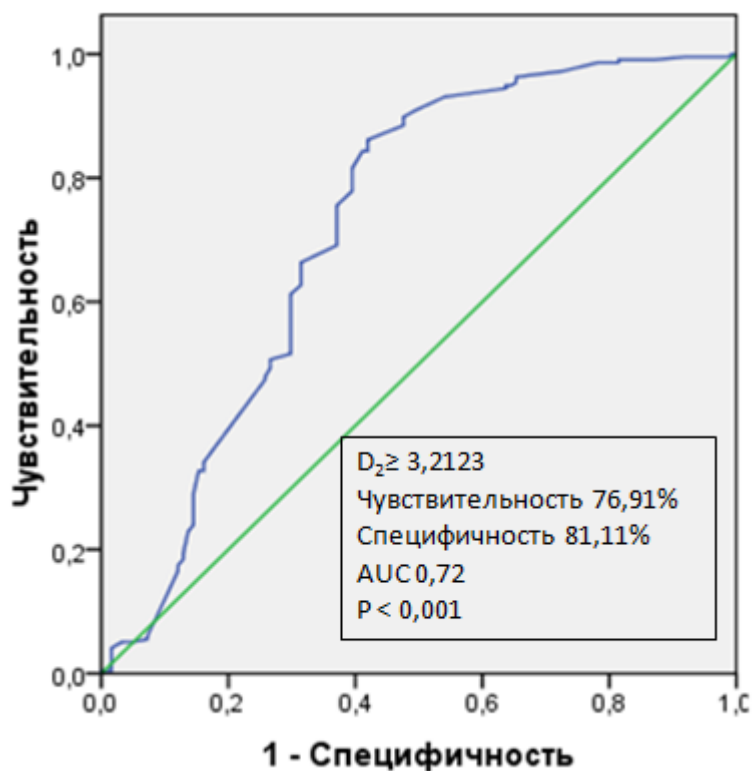


Рисунок 14 – ROC-кривая соотношения чувствительности/специфичности модели прогнозирования «отсутствие ремиссии диффузного токсического зоба» у больных диффузным токсическим зобом

Площадь под кривой составила 0,72, что позволяет оценить качество модели как хорошее.

ГЛАВА 4

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

4.1 Вариант С-572G гена интерлейкина-6 (rs1800796 вариант)

В исследование было включено 470 жителей Санкт-Петербурга, из них 270 пациентов ДТЗ и 200 человек группы контроля.

Распределение генотипов С-572G гена *IL6* было следующим: 274 лиц были (61,7%) носителями генотипа G-572G; С-572G – n=173 (34%); С-572С – n=23 (4,3%). Среди женщин распределение генотипов было следующим: G-572G – n=220 (60,4%); С-572G – n=133 (36,1%); С-572С – n=36 (3,6%). У мужчин: G-572G – n=66 (66,3%), С-572G – n=28 (26,9%), С-572С – n=7 (6,7%). Значимой разницы в распределении генотипов у мужчин и женщин выявлено не было ($p>0,05$).

Результаты распределения генотипов гена интерлейкина-6 у пациентов ДТЗ и в группе сравнения представлены в таблице 16. В исследуемых группах распределение генотипов соответствовало распределению Hardy-Weinberg.

Как видно из представленных данных (таблица 16), большинство пациентов с ДТЗ были носителями генотипа G-572G (57,8% больных). В 37,0% случаев выявлялся генотип С-572G генотипа, в 5,2% – С-572С.

Различий по распределению генотипов у пациентов ДТЗ между женщинами и мужчинами выявлено не было. Частота генотипов в зависимости от пола была следующей: генотип G-572G у 60% мужчин, у 57,6% женщин; генотип С-572G у 33,3% мужчин, у 37,6% женщин; генотип С-572С у 6,7% мужчин, у 4,8% женщин. Таким образом, генотип G-572G гена *IL6* преобладал как у мужчин, так и у женщин с ДТЗ.

Достоверных различий у пациентов ДТЗ и группы сравнения в распределении генотипов и аллелей варианта С-572G (rs1800796) гена *IL6* выявлено не было (таблица 16).

Таблица 16 – Распределение генотипов С-572G, G-572G, С-572С и -572С, -572G аллелей (rs1800796) гена интерлейкина-6 у пациентов диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

Группа		Генотипы			Встречаемость аллеля	
		G-572G	С-572G	С-572С	-572С	-572G
Пациенты ДТЗ	n	156	100	14	0,24	0,76
	%	57,8	37,0	5,2		
Группа сравнения	n	133	61	6	0,19	0,81
	%	66,5	30,5	3,0		
p		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Примечание – p – достоверность различий.						

Далее у пациентов ДТЗ была проведена оценка функции ЩЖ (ТТГ, св.Т4 и св.Т3) исходно и через 12-18 месяцев консервативной терапии.

По результатам проведенного обследования, носители аллеля -572G (генотипы G-572G и С-572G) гена интерлейкина-6 имели исходно более высокие уровни св.Т3 и св.Т4, соотношения св.Т4/св.Т3, по сравнению с носителями генотипов С-572С (p=0,02, p=0,03, p=0,03, соответственно). Уровень ТТГ на момент постановки диагноза был выше у носителей генотипа G-572G гена интерлейкина-6, чем у носителей генотипа С-572С (p=0,01). Данные представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Лабораторные показатели у пациентов диффузным токсическим зобом с G-572G, C-572G, C-572C генотипами (rs1800796) гена *IL6* на момент постановки диагноза

Показатель	Генотипы гена <i>IL6</i>			p
	C-572C (n=14)	C-572G (n=100)	G-572G (n=156)	
ТТГ, (мМЕ/л)	0,01±0,002	0,01±0,004	0,02±0,007	p _{1,2} =0,2 p_{1,3}=0,01 p _{2,3} =0,1
св.Т4, (пмоль/л)	27,81±3,22	42,32±1,31	35,91±1,34	p_{1,2}=0,004 p_{1,3}=0,002 p _{2,3} =0,1
св.Т3, (пмоль/л)	12,51±1,92	17,31±1,22	18,81±0,80	p_{1,2}=0,04 p_{1,3}=0,006 p _{2,3} =0,3
Соотношение св.Т3/св.Т4	0,34±0,04	0,55±0,02	0,51±0,02	p_{1,2}=0,03 p_{1,3}=0,02 p _{2,3} =0,6
АТ к ТПО, (МЕ/мл)	60,21±22,02	61,15±16,81	48,37±6,52	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,4
АТ к рТТГ, (МЕ/л)	12,94±3,11	17,32±4,85	16,53±1,17	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,8
Примечание – p – достоверность различий.				

Далее был проведен анализ лабораторных показателей в группе пациентов ДТЗ через 12-18 месяцев антитиреоидной терапии.

Через 12-18 месяцев лечения уровень св.Т3 (p=0,02) и соотношение св.Т3/св.Т4 были выше (p=0,02) у носителей аллеля -572G (G-572C и G-572G

генотипы), чем у носителей генотипа С-572С данного варианта гена. У пациентов ДТЗ, носителей С-572С генотипа, уровни св. Т4 и св.Т3 на фоне консервативного лечения значительно снизились по сравнению с показателями больных, носителями аллеля -572G (G-572С и G-572G генотипы) (таблица 18).

У пациентов ДТЗ носителей различных генотипов, значимой разницы по уровням АТ к ТПО и АТ к рТТГ как на момент постановки диагноза, так и через 12-18 месяцев антитиреоидной терапии не выявлено (таблица 18).

Таблица 18 – Динамика лабораторных показателей у пациентов диффузным токсическим зобом с G-572G, С-572G, С-572С генотипами гена интерлейкина-6 (вариант rs1800796) через 12-18 месяцев лечения

Показатели		Генотипы гена <i>IL6</i>			p
		С-572С (n=14)	С-572G (n=100)	G-572G (n=156)	
св.Т4, (пмоль/л)	до лечения	27,81±3,2	42,34±1,32	35,91±1,34	p _{1,2} =0,004 p _{1,3} =0,002 p _{2,3} =0,1
	через 12-18 месяцев лечения	13,92±0,84	17,21±2,72	15,85±1,92	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,6
св.Т3, (пмоль/л)	до лечения	12,54±1,92	17,31±1,23	18,81±0,85	p _{1,2} =0,04 p _{1,3} =0,006 p _{2,3} =0,3
	через 12-18 месяцев лечения	4,82±0,83	8,72±1,43	8,12±0,81	p _{1,2} =0,03 p _{1,3} =0,02 p _{2,3} =0,7

Продолжение таблицы 18

Показатели		Генотипы гена <i>IL6</i>			p
		C-572C (n=14)	C-572G (n=100)	G-572G (n=156)	
ТТГ, (мМЕ/л)	до лечения	0,01±0,002	0,01±0,004	0,02±0,007	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} = 0,01 p _{2,3} =0,1
	через 12-18 месяцев лечения	1,84±0,71	1,12±0,11	1,42±0,23	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,7 p _{2,3} =0,1
Соотношение св.Т3/св.Т4	до лечения	0,32±0,04	0,51±0,02	0,52±0,02	p _{1,2} =0,03 p _{1,3} =0,02 p _{2,3} =0,6
	через 12-18 месяцев лечения	0,32±0,05	0,51±0,07	0,61±0,04	p _{1,2} =0,01 p _{1,3} =0,02 p _{2,3} =0,8
АТ к ТПО, (МЕ/мл)	до лечения	60,25±22,01	61,12±16,82	48,34±6,51	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,4
	через 12-18 месяцев лечения	69,33±23,31	34,44±9,72	40,74±8,41	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,6
АТ к рТТГ, (МЕ/л)	до лечения	12,93±3,12	17,32±4,81	16,53 ±1,12	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,8
	через 12-18 месяцев лечения	8,53±1,12	10,12±2,41	7,32±3,82	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,8
Примечание – p – достоверность различий.					

У 87 пациентов ДТЗ до начала лечения был определен уровень интерлейкина-6 (ИЛ-6). У больных ДТЗ, носителей аллеля -572G, уровень ИЛ-6 был достоверно выше, по сравнению с группой больных - носителей генотипа С-572С ($12,8 \pm 4,8$ и $2,05 \pm 0,5$, соответственно, $p=0,03$). Наибольший уровень ИЛ-6 был выявлен у гетерозиготных носителей С-572G полиморфного варианта гена *IL6* ($24,3 \pm 15,2$ пг/мл, $p=0,01$).

Анализ объема ЩЖ у пациентов ДТЗ показал, что как у мужчин, так и у женщин был значимо больше у носителей генотипа С-572G гена *IL6*. Объем ЩЖ как у мужчин, так и у женщин, носителей G-572G генотипа гена *IL6* был значимо больше через 12-18 месяцев консервативной терапии, чем у носителей С-572С генотипа гена *IL6* (таблица 19).

Таблица 19 – Объем щитовидной железы носителей G-572G, С-572G, С-572С генотипов гена интерлейкина-6 у пациентов диффузным токсическим зобом на момент постановки диагноза и через 12-18 месяцев консервативной терапии

Показатели		Генотипы гена <i>IL6</i>			p
		С-572С (n=14) 1	С-572G (n=100) 2	G-572G (n=156) 3	
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	до лечения	37,52±7,81	51,53±5,85	32,16±1,91	$p_{1,2}=0,2$ $p_{1,3}=0,5$ $p_{2,3}=0,004$
	через 12-18 месяцев лечения	67,62±30,43	67,63±13,58	39,62±3,89	$p_{1,2}=1,0$ $p_{1,3}=0,06$ $p_{2,3}=0,06$
p		p=0,3	p=0,07	p=0,017	–

Продолжение таблицы 19

Показатели		Генотипы гена <i>IL6</i>			p
		C-572C (n=14) 1	C-572G (n=100) 2	G-572G (n=156) 3	
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	до лечения	21,52± 3,25	37,65±3,17	29,53± 1,65	p _{1,2} =0,001 p _{1,3} =0,04 p _{2,3} =0,02
	через 12-18 месяцев лечения	21,15±5,12	47,44±4,54	35,35±3,11	p _{1,2} =0,001 p _{1,3} =0,03 p _{2,3} =0,02
p		p=0,8	p=0,001	p=0,005	–
Примечание – p – достоверность различий.					

Таким образом, в результате проведенного исследования у пациентов с ДТЗ было установлено, что носители аллеля -572G (G-572G и C-572G генотипы), не получавших лечение тиреостатиками на момент обследования, имели более высокий уровень ИЛ-6, чем больные, носители C-572C генотипа.

Далее был проведен анализ клинического течения ДТЗ на фоне проводимой антитиреоидной терапии. У пациентов ДТЗ, носителей генотипов G-572G и C-572G, чаще был зарегистрирован рецидив ТТ после отмены терапии, чем у пациентов с генотипом C-572C гена *IL6* (таблица 20). У носителей аллеля -572G гена *IL6* риск рецидива ТТ и отсутствия ремиссии ДТЗ был выше в 3,6 раза, чем у носителей генотипа C-572C (p=0,03, ОШ=3,6, 95% ДИ 1,25-9,6).

Таблица 20 – Частота ремиссии диффузного токсического зоба у пациентов с G-572G, C-572G, C-572C генотипами rs1800796 гена интерлейкина-6

Показатели	Генотипы гена <i>IL6</i>		
	C-572G (n=100)	C-572C (n=14)	G-572G (n=156)
Рецидив ТТ и отсутствие ремиссии, n (%)	92 (94,8%)	10 (71,4%)	133 (86,9%)
Ремиссия ДТЗ, n (%)	5 (5,2%)	4 (28,6%)	20 (13,1%)
p	0,014		
Примечание – p – достоверность различий.			

ЭО диагностирована у 100 обследованных пациентов ДТЗ. Пациенты ДТЗ с ЭО чаще были носителями аллеля -572G (генотипы G-572G и C-572G). Достоверных различий среди пациентов ДТЗ по частоте выявления ЭО среди носителей различных генотипов варианта C-572G гена *IL6* выявлено не было (p=0,3) (таблица 21).

Таблица 21 – Частота выявления эндокринной офтальмопатии с C-572G, C-572C, G-572G генотипами гена *IL6* (вариант rs1800796) у больных диффузным токсическим зобом

Показатели	Генотипы гена <i>IL6</i>		
	C-572G (n=100)	C-572C (n=14)	G-572G (n=156)
Наличие ЭО, n (%)	41 (41)	3 (21,5)	56 (34)

Продолжение таблицы 21

Показатели	Генотипы гена <i>IL6</i>		
	C-572G (n=100)	C-572C (n=14)	G-572G (n=156)
Отсутствие ЭО, n (%)	59 (59)	11 (78,5)	100 (64)
p	0,3		
Примечание – p – достоверность различий.			

По результатам проведенного исследования были выявлены связи C-572G, G-572G, C-572C генотипов rs1800796 гена *IL6* с особенностями клинического течения ДТЗ. Рецидив ТТ после прекращения консервативной терапии и отсутствие ремиссии ДТЗ чаще выявлялись у носителей аллеля -572G (генотипы G-572G и G-572C), чем у гомозиготных носителей аллеля -572C данного варианта гена *IL6*.

4.2 Однонуклеотидный вариант C-1112T гена интерлейкина-13 (rs1800925 вариант)

По результатам обследования 470 жителей Санкт-Петербурга (270 больных ДТЗ и 200 человек группы контроля) распределение C-1112C, C-1112T и T-1112T генотипов гена *IL13* было следующим: носителями генотипа C-1112C были 58,3% человека, C-1112T - 36,8% человек, T-1112T - 4,9% человек.

В группе пациентов ДТЗ распределение генотипов было следующим: C-1112T – n=112 (41,3%); C-1112C – n=140 (51,7%); TT – n=18 (7%). В группе сравнения – CT – n=80 (40%), CC – n=105 (52,5%), TT – n=15 (7,5%). У пациентов ДТЗ и группе сравнения встречаемость аллелей и распределение C-1112C, C-1112T и T-1112T генотипов гена *IL13* не различались (C 0,73, T 0,27 и C 0,72, T

0,28, соответственно) (таблица 22). Распределение генотипов в группе больных ДТЗ и группе сравнения находилось в равновесии с законом Харди-Вайнберга (0,487 и 0,002, соответственно).

Таблица 22 – Распределение С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов и встречаемость -1112С и -1112Т аллелей гена интерлейкина-13 у пациентов диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

Группы		Генотипы			Встречаемость аллеля	
		С-1112С	С-1112Т	Т-1112Т	-1112С	-1112Т
Группа сравнения	п	105	80	15	0,72	0,28
	%	52,5	40,0	7,5		
Больные ДТЗ	п	140	112	18	0,73	0,27
	%	51,7	41,3	7,0		
р		р>0,05	р>0,05	р>0,05	р>0,05	р>0,05
Примечание – р – достоверность различий.						

Различий в распределении генотипов между мужчинами и женщинами как у пациентов ДТЗ, так и в группе сравнения не выявлено (р=0,48).

Взаимосвязи варианта rs1800925 гена *IL13* с риском развития ДТЗ не выявлено.

Анализ лабораторных данных показал, что исходные уровни св.Т4 и св.Т3 были выше у гомозигот С-1112С, по сравнению с носителями С-1112Т генотипа гена *IL13* (таблица 23).

Таблица 23 – Лабораторные данные пациентов с диффузным токсическим зобом С-1112С, С-1112Т, Т-1112Т генотипами rs1800925 гена *IL13* на момент постановки диагноза

Показатели	Генотипы гена <i>IL13</i>			p
	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
св.Т4, (пмоль/л)	41,21±2,53	34,21±1,72	37,52±4,21	p_{1,2}=0,02 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,5
св.Т3, (пмоль/л)	18,79±1,12	15,73±0,91	18,45±2,61	p_{1,2}=0,03 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,3
Соотношение св.Т3/ св.Т4	0,51±0,01	0,57±0,02	0,51±0,05	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,9
ТТГ, (мМЕ/л)	0,02±0,04	0,02±0,09	0,01±0,02	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,06 p _{2,3} =0,1
АТ к ТПО, (МЕ/мл)	63,15±13,51	45,71±5,52	32,61±10,52	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,08 p _{2,3} =0,3
АТ к рТТГ, (МЕ/л)	14,43±1,1	18,93±3,83	12,85±1,92	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,1
Примечание – p – достоверность различий.				

Исходно, до назначения анти тиреоидной терапии у пациентов ДТЗ был оценен уровень ИЛ-13. Было выявлено достоверное различие содержания ИЛ-13

крови у носителей различных генотипов варианта С-1112Т гена *IL13*. У пациентов ДТЗ, носителей аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и Т-1112С) уровень ИЛ-13 был значимо выше, чем у носителей С-1112С генотипа ($12,0 \pm 1,5$ и $4,5 \pm 0,7$ пг/мл, соответственно; $p=0,01$) гена *IL13* (рисунок 15).

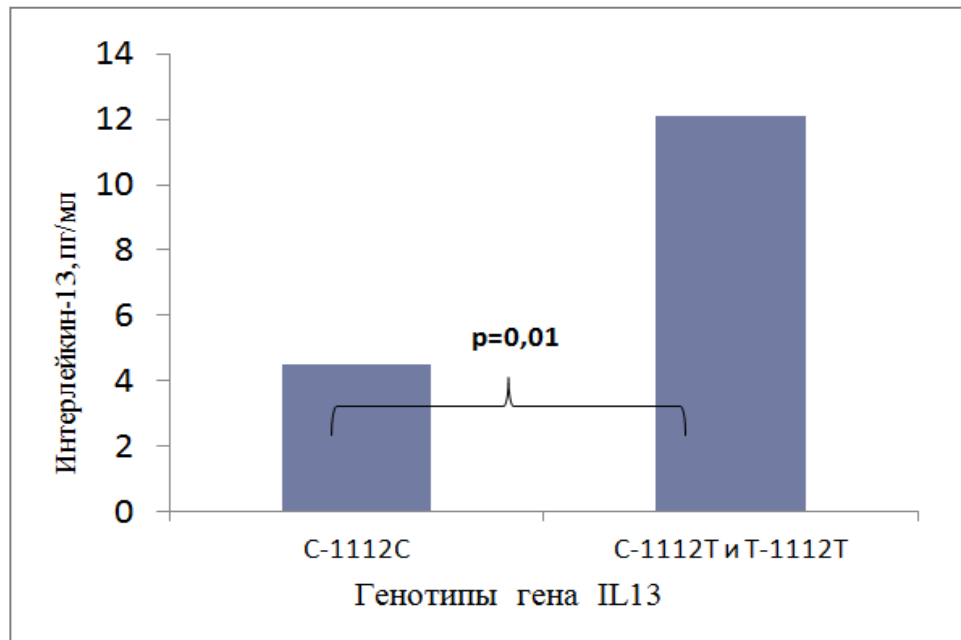


Рисунок 15 – Уровень интерлейкина-13, носителей разных аллельных вариантов и С-1112С, С-1112, Т-1112Т генотипов гена *IL13* у пациентов диффузным токсическим зобом

Далее был проведен анализ лабораторных показателей (гормонов ЩЖ и уровней АТ к рТТГ, АТ к ТПО) через 12-18 месяцев консервативной терапии у больных ДТЗ с различными генотипами варианта гена *IL13*. Уровень ТТГ был выше в группе пациентов, которые являлись носителями аллеля -1112С (генотипы С-1112С и С-1112Т) гена *IL13*, чем у носителей генотипа Т-1112Т ($1,3 \pm 0,2$ и $0,8 \pm 0,2$ мМЕ/л, соответственно, $p=0,04$). У носителей генотипов С-1112С и С-1112Т был выявлен более высокий уровень АТ к ТПО по сравнению с носителями Т-1112Т генотипа гена *IL13*. Статистически значимых различий уровней по св.Т4, св.Т3, АТ к рТТГ в изучаемых группах больных выявлено не было (таблица 24).

Таблица 24 – Динамика лабораторных показателей у пациентов диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* через 12-18 месяцев антитиреоидной терапии

Показатели		Генотипы гена <i>IL13</i>			p
		С-1112С (n=140)	С-1112Т (n=112)	Т-1112Т (n=18)	
св.Т4, (пмоль/л)	до лечения	41,21±2,52	34,24±1,75	37,56±4,22	p_{1,2}=0,02 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,5
	через 12-18 месяцев лечения	17,15±2,51	15,36±1,71	16,24±4,12	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,8
св.Т3, (пмоль/л)	до лечения	18,78±1,12	15,76±0,91	18,4±2,62	p_{1,2}=0,03 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,3
	через 12-18 месяцев лечения	8,62±1,11	7,67±0,91	7,26±2,11	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,8
ТТГ, (мМЕ/л)	до лечения	0,02±0,04	0,02±0,09	0,01±0,02	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,06 p _{2,3} =0,1
	через 12-18 месяцев лечения	1,31±0,21	1,31±0,20	0,80±0,20	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,05 p_{2,3}=0,04

Продолжение таблицы 24

Показатели		Генотипы гена <i>IL13</i>			p
		C-1112C (n=140)	C-1112T (n=112)	T-1112T (n=18)	
Соотношение св.Т3/св.Т4	до лечения	0,51±0,01	0,50±0,02	0,50±0,05	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,9
	через 12-18 месяцев лечения	0,61±0,06	0,61±0,06	0,51±0,07	p _{1,2} =0,7 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,7
АТ к ТПО, (МЕ/мл)	до лечения	63,13±13,55	45,74±5,51	32,66±10,51	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,08 p _{2,3} =0,3
	через 12-18 месяцев лечения	45,24±11,11	44,16±8,71	15,62±7,41	p _{1,2} =0,9 p_{1,3}=0,03 p_{2,3}=0,02
АТ к рТТГ, (МЕ/л)	до лечения	14,42±1,13	18,93±3,81	12,82±1,94	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,1
	через 12-18 месяцев лечения	8,23±1,21	10,34±2,31	7,91±2,22	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,5
Примечание – p – достоверность различий.					

Далее проанализирован объем ЩЖ у пациентов ДТЗ, которые являлись носителями разных генотипов варианта гена *IL13*. У носителей генотипа C-1112C гена *IL13* у мужчин средний объем ЩЖ составил – 38,8±3,5 см³, у женщин, 33,7±2,5 см³. У пациентов ДТЗ гомозигот по аллелю -1112Т гена *IL13*, объем ЩЖ на момент постановки диагноза не различался по сравнению с носителями аллеля

-1112С. Далее был оценен объем ЩЖ через 12-18 месяцев консервативной терапии у больных с ДТЗ. Как среди женщин, так и мужчин статистически значимого различия в объеме ЩЖ, которые являлись носителями различных вариантов гена *IL13*, установлено не было. У женщин носителей аллеля -1112С (генотипы С-1112С и С-1112Т), объем ЩЖ через 12-18 месяцев антитиреодной терапии достоверно увеличился. Объем ЩЖ через 12-18 месяцев лечения у носителей Т-1112Т генотипа гена *IL13* не изменился. Объем ЩЖ через 12-18 месяцев лечения у мужчин, носителей С-1112С генотипа гена *IL13*, увеличился, а носителей С-1112Т и Т-1112Т генотипов не изменился (таблица 25).

Таблица 25 – Динамика объема щитовидной железы у пациентов диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* до и через 12-18 месяцев антитиреодной терапии

Показатели		Генотипы гена <i>IL13</i>			p
		С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	До лечения	38,81±3,54	36,22±3,63	53,01±11,3 2	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,2
	Через 12-18 месяцев лечения	51,86±7,74	44,84±9,11	60,36±8,62	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,2
Достоверность различий		p=0,001	p=0,026	p=0,3	–

Продолжение таблицы 25

Показатели		Генотипы гена <i>IL13</i>			p
		С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	до лечения	33,75±2,55	30,53±1,82	32,11±6,16	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,8
	через 12-18 месяцев лечения	40,55±3,32	37,15±3,71	41,44±14,8 4	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,8
Достоверность различий		p=0,013	p=0,1	p=0,1	–
Примечание – p – достоверность различий.					

У носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* было установлено, что у больных, носителей генотипа С-1112С, манифестация ДТЗ была более в молодом возрасте, чем у носителей аллеля -1112Т (Т-1112Т + С-1112Т) (таблица 26).

Пациенты ДТЗ с ЭО в 47,5% случаев (n=48) были носителями генотипа С-1112С; у 8,9% больных был генотип Т-1112Т; 43,6% пациентов (n=43) были гетерозиготными носителями полиморфного варианта гена. Корреляционных взаимосвязей между полиморфным локусом гена и частотой выявления ЭО выявлено не было (p=0,3).

Таблица 26 – Наличие эндокринной офтальмопатии и возраст начала заболевания, у пациентов диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* (rs1800925)

Показатели	Генотипы гена <i>IL13</i>		p
	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т и Т-1112Т (n=130) 2	
Наличие ЭО, n (%)	48 (34,2)	52 (40)	p _{1,2} =0,21
Возраст начала заболевания, (лет)	40,22±1,13	43,31±1,23	p_{1,2}=0,04
Примечание – p – достоверность различий.			

Риск рецидива ТТ и отсутствия ремиссии ДТЗ был выше в 2,3 раза у носителей С-1112С генотипа, чем у носителей аллеля -1112Т (Т-1112Т и С-1112Т генотипы) гена *IL13* (rs1800925 вариант) (p=0,026, ОШ=2,29, 95% ДИ 1,11-4,82) (таблица 27).

Таблица 27 – Частота рецидива заболевания и ремиссии у пациентов диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* (rs1800925)

Показатели	Генотипы гена <i>IL13</i>				
	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т и Т-1112Т (n=130) 2
Рецидив ТТ и отсутствие ремиссии, n (%)	128 (91,4)	91 (81,2)	16 (88,9)	128 (91,4)	107 (82,3)

Продолжение таблицы 27

Показатели	Генотипы гена <i>IL13</i>				
	C-1112C	C-1112T	T-1112T	C-1112C	C-1112T и T-1112T
	(n=140) 1	(n=112) 2	(n=18) 3	(n=140) 1	(n=130) 2
Ремиссия ДТЗ, n (%)	12 (8,6)	21 (18,8)	2 (11,9)	12 (8,6)	23 (17,7)
p	p=0,04			p = 0,03	
ОШ	–			2,29 95% ДИ 1,11-4,82	
Примечание – p – достоверность различий.					

8.3 Однонуклеотидный вариант С/Т гена *микрРНК-125А* (rs12976445 вариант)

У всех обследуемых распределение СТ, СС, ТТ генотипов и аллелей варианта rs12976445 гена *MIR125A* не различались (таблица 28). По результатам проведенного анализа большинство пациентов с ДТЗ были носителями аллеля Т: лица с генотипом ТТ – n=139 (51,5%), в то время как n=111 (41,1%) были гетерозиготы СТ. Носителями генотипа СС среди данной выборки были 7,4 % пациентов (n=20). В группе сравнения распределение генотипов было следующим: ТТ – n=106 (52%), СТ n=80 (41%), СС n=14 (7%). Встречаемость аллелей С и Т и распределение генотипов находились в равновесии с законом Харди-Вайнберга.

Значимых различий между группами мужчин и женщин по распределению аллелей и генотипов исследуемого варианта гена *MIR125A* выявлено не было.

Таблица 28 – Распределение СТ, ТТ, СС генотипов и аллелей полиморфного варианта rs12976445 гена *MIR125A* у пациентов диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

Генетический вариант	Пациенты ДТЗ, %	Группа сравнения, %	p
СТ	41,1 (111)	41 (80)	p>0,05
ТТ	51,5 (139)	52 (106)	p>0,05
СС	7,4 (20)	7 (14)	p>0,05
аллель С	0,72	0,73	p>0,05
аллель Т	0,28	0,27	p>0,05
Примечание – p – достоверность различий.			

Анализ распределения генотипов СС, СТ, ТТ гена *MIR125A* в группе сравнения показал, что женщины были носителями СТ генотипа чаще, чем мужчины (p=0,006). Результаты представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Распределение СТ, СС, ТТ генотипов и встречаемость аллелей гена *MIR125A* (rs12976445 вариант) у мужчин и женщин в группе сравнения

Группа		Варианты генотипов			Встречаемость аллеля	
		СС	СТ	ТТ	аллель С	аллель Т
Общее количество	n	5	61	134	0,18	0,82
	%	2,5	30,5	67,0		
Мужчины	n	2	5	37	0,1	0,9
	%	4,6	11,3	84,1		
Женщины	n	3	56	97	0,11	0,89
	%	1,9	35,9	62,2		
p		p>0,05	p=0,006	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Далее у пациентов ДТЗ была проведена оценка функции ЩЖ как на момент постановки диагноза, так и через 12-18 месяцев консервативной терапии. Среди носителей различных генотипов однонуклеотидного варианта гена *MIR125A* было выявлено значимое различие по уровню ТТГ крови. У носителей генотипа СС до начала антитиреоидной терапии уровень ТТГ был ниже, чем у носителей аллеля Т данного варианта гена *MIR125A*. При сопоставлении уровней св.Т3, св.Т4, соотношения св.Т3/св.Т4 у носителей разных генотипов изучаемого варианта гена *MIR125A* у больных ДТЗ значимых различий выявлено не было (таблица 30).

Таблица 30 – Лабораторные показатели пациентов диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами rs12976445 гена *MIR125A* на момент постановки диагноза

Показатели	Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
	СС n=20	СТ n=111	ТТ n=139	
св.Т3, (пмоль/л)	16,63±2,62	16,14±0,91	18,63±1,11	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,06
св.Т4, (пмоль/л)	41,22±6,26	37,47±2,55	38,15±1,92	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,8
ТТГ, (мМЕ/л)	0,01±0,001	0,02±0,004	0,02±0,007	p_{1,2}=0,01 p_{1,3}=0,014 p _{2,3} =0,4
Соотношение св.Т3/св.Т4	0,49±0,05	0,47±0,02	0,49±0,02	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,4

Продолжение таблицы 30

Показатели	Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
	СС n=20	СТ n=111	ТТ n=139	
Соотношение св.Т3/св.Т4	0,49±0,05	0,47±0,02	0,49±0,02	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,4
АТ к ТПО, (МЕ/мл)	42,9±14,3	51,3±5,3	57,0±13,4	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,7
АТ к рТТГ, (МЕ/л)	16,9±2,7	15,5±1,3	16,5±3,1	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,7
Примечание – p – достоверность различий.				

У пациентов ДТЗ, носителей разных аллельных вариантов изучаемого гена *MIR125A* значимых различий в уровнях АТ к рТТГ и АТ к ТПО выявлено не было. Через 12-18 месяцев терапии у пациентов ДТЗ у носителей генотипа ТТ уровень св.Т4 и соотношение св.Т3/св.Т4 были значимо выше, чем у носителей аллеля С гена *MIR125A*. По уровню АТ к ТПО и АТ к рТТГ через 12-18 месяцев терапии среди носителей разных генотипов данного ОНП гена разницы выявлено не было (таблица 31).

Таблица 31 – Динамика лабораторных данных у пациентов диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами rs12976445 гена *MIR125A* через 12-18 месяцев антитиреоидной терапии

Показатели		Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
		СС n=20	СТ n=111	ТТ n=139	
св.Т4, (пмоль/л)	до лечения	41,24±6,21	37,44±2,52	38,17±1,91	p _{1,2} = 0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,8
	через 12-18 месяцев лечения	16,54±2,35	14,71±1,89	20,45±2,62	p _{1,2} =0,09 p _{1,3} =0,3 p_{2,3}=0,01
ТТГ, (мМЕ/л)	до лечения	0,01±0,001	0,02±0,004	0,02±0,007	p_{1,2}= 0,01 p_{1,3}=0,014 p _{2,3} = 0,4
	через 12-18 месяцев лечения	1,24±0,55	1,41±0,22	1,22±0,11	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,7 p _{2,3} =0,4
св.Т3, (пмоль/л)	до лечения	16,64±2,62	16,16±0,91	18,61±1,17	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,06
	через 12-18 месяцев лечения	10,52±2,11	6,94±0,92	8,76±1,11	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,2

Продолжение таблицы 31

Показатели		Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
		СС n=20	СТ n=111	ТТ n=139	
Соотношение св.Т3/св.Т4	до лечения	0,53±0,05	0,55±0,02	0,51±0,02	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,4
	через 12-18 месяцев лечения	0,42±0,07	0,52±0,05	0,65 ±0,06	p _{1,2} =0,2 p_{1,3}=0,03 p _{2,3} =0,2
АТ к ТПО, (МЕ/мл)	до лечения	42,93±14,33	51,31±5,32	57,06±13,41	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,7
	через 12-18 месяцев лечения	43,41±17,36	40,63±8,71	43,11±10,66	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,8
АТ к рТТГ, (МЕ/л)	до лечения	16,95±2,71	15,51±1,31	16,54±3,11	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,7
	через 12-18 месяцев лечения	11,52±2,64	10,81±1,72	8,22±1,71	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,2

Примечание – p – достоверность различий.

Далее у носителей различных генотипов полиморфного варианта гена *MIR125A* был проведен анализ содержания уровня ИЛ-6. Связь ИЛ-6 и ОНП гена *MIR125A* была выявлена в подгруппах пациентов с ДТЗ. Различие уровня ИЛ-6 было выявлено у женщин. Так, женщины носители аллеля Т rs12976445 гена *MIR125A* имели более высокую концентрацию ИЛ-6, по сравнению с носителями

генотипа СС ($15,32 \pm 7,21$ пг/мл и $2,96 \pm 0,81$ пг/мл, соответственно, $p=0,03$; рисунок 16).

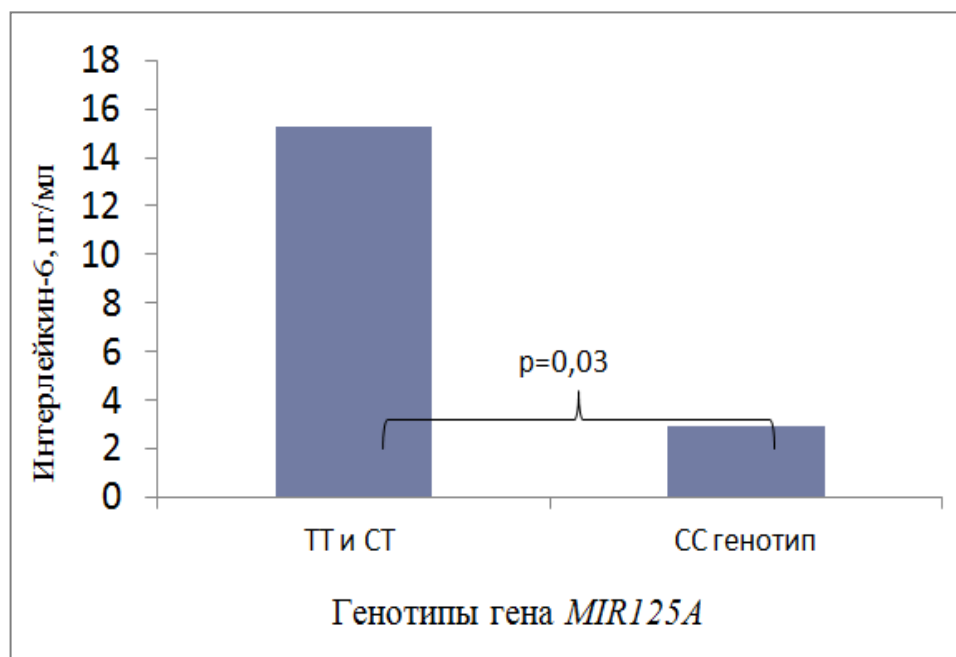


Рисунок 16 – Уровень интерлейкина-6 у пациентов диффузным токсическим зобом, носителей генотипа СС и аллеля Т rs12976445 гена *MIR125A*

По объему ЩЖ до начала антитиреоидной терапии носителей разных генотипов варианта rs12976445 гена *MIR125A* выявлено не было. При сопоставлении объема у мужчин и женщин было выявлено, что у женщин больных ДТЗ, носителей СТ и ТТ генотипов гена *MIR125A*, объем ЩЖ на фоне терапии увеличился. А у пациентов с ДТЗ с СС генотипом объем ЩЖ не изменился на фоне лечения. У мужчин, носителей ТТ генотипа гена *MIR125A*, было увеличение объем ЩЖ через 12-18 месяцев терапии, а у пациентов с СС генотипом объем ЩЖ не менялся (таблица 32).

Таблица 32 – Объем щитовидной железы у пациентов диффузным токсическим зобом носителей СТ, СС, ТТ генотипов однонуклеотидного варианта rs12976445 гена *MIR125A* на момент постановки диагноза и через 12-18 месяцев терапии

Показатели		Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
		СТ n=111 (2)	СС n=20 (1)	ТТ n=139 (3)	
Объем ЩЖ у мужчин, (см ³)	до лечения	35,22±3,91	44,11±7,42	40,34±3,72	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,3
	через 12-18 месяцев терапии	43,61± 7,31	57,85±12,32	51,85±7,42	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,4
Достоверность различий		p=0,08	p=0,21	p=0,02	–
Объем ЩЖ у женщин, (см ³)	до лечения	32,54±1,92	29,77±3,82	32,21±2,52	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,9
	через 12-18 месяцев терапии	40,62±4,31	33,96±5,12	38,45±3,22	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,7
p		p=0,2	p=0,006	p=0,001	–
Примечание – p – достоверность различий					

Таким образом, уровень ТТГ на момент постановки диагноза ДТЗ у носителей аллеля С (генотипы СС и ТС) гена *MIR125A* был ниже, чем у гомозигот ТТ. Объем ЩЖ у пациентов ДТЗ носителей ТТ генотипа гена *MIR125A* значимо увеличился через 12-18 месяцев антитиреоидной терапии по сравнению с объемом ЩЖ носителей СС генотипа. Статистически значимых различий по

уровням АТ к ТПО и АТ к рТТГ среди пациентов с ДТЗ, носителей различных генотипов ОНП rs12976445 гена *MIR125A* в данном исследовании выявлено не было.

По результатам исследования 90% пациентов ДТЗ с ЭО были носителями аллеля Т варианта rs12976445 гена *MIR125A*. Из них 48,5% были гомозиготными носителями аллеля Т (генотип ТТ), 41,5% – генотипа СТ. Среди носителей различных генотипов гена *MIR125A* различий в частоте выявления ЭО получено не было ($p=0,4$). Таким образом, в данном исследовании взаимосвязи между полиморфным вариантом гена *MIR125A* и развитием ЭО не выявлено.

В результате оценки рецидива ДТЗ, частоты наступления ремиссии заболевания и отсутствия ремиссии среди носителей различных генотипов варианта rs12976445 гена *MIR125A* было получено, что у носителей ТТ генотипа, риск рецидива ТТ в 2,6 раз выше, чем у больных ДТЗ, носителей аллеля С (СС и СТ генотипы) гена *MIR125A* (rs12976445 вариант) ($p=0,011$, ОШ=2,6, 95% ДИ 1,22-5,57) (таблица 33).

Таблица 33 – Частота отсутствия и достижения ремиссии у больных диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами однонуклеотидного варианта rs12976445 гена *MIR125A*

Показатели	Генотипы гена <i>MIR125A</i>				
	СС n=20 (1)	СТ n=111 (2)	ТТ n=139 (3)	СС+СТ n=131	ТТ n=139
Рецидив ТТ и отсутствие ремиссии, n (%)	17 (85,0)	90 (81,2)	128 (92,0)	107 (81,6)	128 (92,0)

Продолжение таблицы 33

Показатели	Генотипы гена <i>MIR125A</i>				
	СС n=20 (1)	СТ n=111 (2)	ТТ n=139 (3)	СС+СТ n=131	ТТ n=139
Ремиссия ДТЗ, n (%)	3 (15,0)	21 (18,8)	11 (8,0)	24 (18,4)	11 (8,0)
p	p=0,04			p = 0,01	
ОШ	—			2,6 95% ДИ 1,22-5,57	
Примечание – p – достоверность различий.					

ГЛАВА 5

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ДИФфуЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ ЗА ПЕРИОД С 1970 ПО 2018 ГОДА

5.1 Характеристика обследованных пациентов с диффузным токсическим зобом и различными вариантами оперативного лечения

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. Пациенты были прооперированы из-за отсутствия ремиссии заболевания после проведения консервативной терапии сроком не менее 12-18 месяцев. Средний возраст больных на момент исследования составил $44,26 \pm 0,91$ лет ($42,77 \pm 1,18$ лет у женщин и $45,65 \pm 1,15$ лет у мужчин).

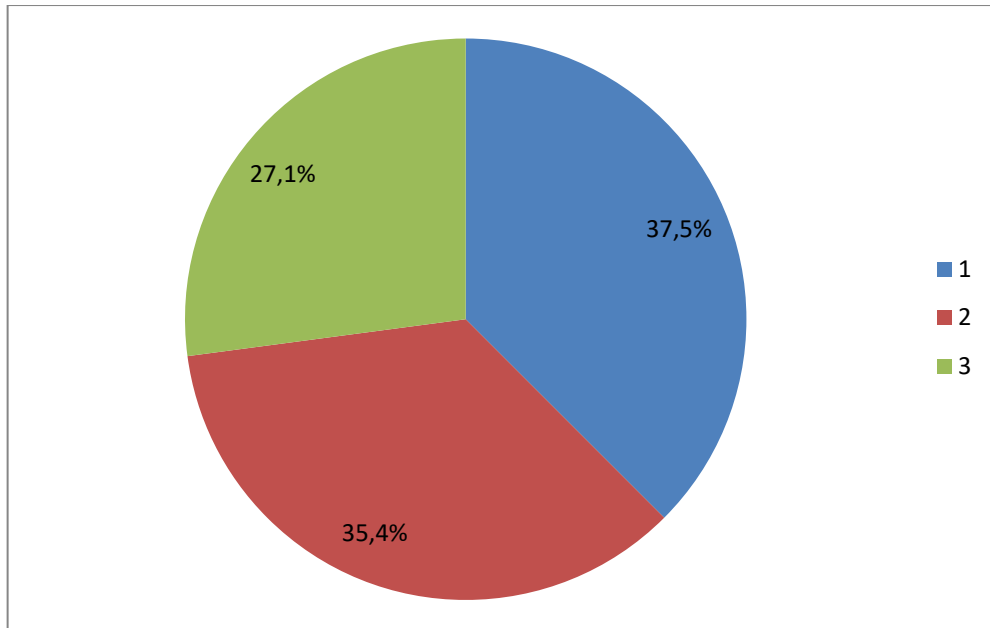
Для дальнейшего анализа пациенты были разделены на две группы: группа 1 – выполнена субтотальная резекция ЩЖ (операция по методике Е.С. Драчинской – послеоперационный объем ЩЖ составляет 4-8 см³) (n=192); группа 2 – экстирпация ЩЖ (n=118), сравнительная характеристика представлена в таблице 34.

Прооперированные пациенты группы 1 и группы 2 были сопоставимы перед оперативным лечением по полу, возрасту, исходному объему ЩЖ, а также лабораторным показателям (св. Т4, св. Т3, АТ к ТПО, АТ к рТТГ, ТТГ крови), таблица 34.

Таблица 34 – Клинико-лабораторные и инструментальные показатели у прооперированных больных диффузным токсическим зобом с различным объемом хирургического лечения

Показатель	Группа 1 (n=192)	Группа 2 (n=118)	p
Возраст на момент операции, (лет)	44,28±1,62	45,51±2,01	0,63
Пол (ж/м), %	75/25	71/29	0,32
Наличие офтальмопатии, (%)	37,0	41,3	0,42
Объем ЩЖ у женщин перед операцией, (см ³)	52,20±3,14	48,85±4,21	0,17
Объем ЩЖ у мужчин перед операцией, (см ³)	64,71±5,21	64,21±4,09	0,43
св. Т4 перед операцией, (пмоль/л)	13,31±1,12	12,29±1,11	0,32
св. Т3 перед операцией, (пмоль/л)	4,43±0,99	5,01±1,12	0,43
Антитела к рецептору ТТГ перед операцией, (МЕ/л)	2,7±0,21	2,46±0,32	0,52
Антитела к ТПО перед операцией, (МЕ/мл)	101,23±10,25	143,21±9,21	0,05
ТТГ перед операцией, (мМЕ/л)	0,97±0,22	0,88±0,32	0,05
Примечание – группа 1 – выполнена субтотальная резекция щитовидной железы; группа 2 – выполнена экстирпация щитовидной железы; p – достоверность различий.			

Далее в группе 1 (выполнена субтотальная резекция ЩЖ) был проведен анализ послеоперационных исходов не менее чем через год после операции. Временной промежуток между проведенной операцией и оценкой послеоперационного исхода составил 3,12±0,59 лет. Стойкий эутиреоз сохранялся у 72 из 192 больных (37,5%), гипотиреоз развился у 68 из 192 больных (35,4%), а рецидив тиреотоксикоза у 52 из 192 больных (27,1%), рисунок 17.



Примечание – группы обследованных больных, после субтотальной резекции щитовидной железы: 1 – стойкий эутиреоз; 2 – послеоперационный гипотиреоз; 3 – послеоперационный рецидив тиреотоксикоза.

Рисунок 17 – Распределение обследованных больных диффузным токсическим зобом, после субтотальной резекции щитовидной железы в зависимости от результатов оперативного лечения

В зависимости от послеоперационного исхода пациенты были разделены на три группы: группа I – сохраняли эутиреоз после субтотальной резекции ЩЖ; группа II – развился гипотиреоз после субтотальной резекции ЩЖ; группа III – развился тиреотоксикоз после субтотальной резекции ЩЖ. Характеристика больных ДТЗ с различными послеоперационными исходами представлена в таблице 35.

Таблица 35 – Клинико-лабораторная и инструментальная характеристика обследованных больных диффузным токсическим зобом с различными послеоперационными исходами после субтотальной резекции щитовидной железы

Показатель	Группы больных ДТЗ			p
	группа I	группа II	группа III	
Средний возраст больных перед операцией, (лет)	39,26±3,14	44,20±1,88	41,75±2,57	p _{I-II} =0,78 p _{II-III} =0,61 p _{I-III} =0,77
Наличие офтальмопатии, (%)	11,1	13,2	38,5	p _{I-II} =0,31 p _{II-III} <0,001 p _{I-III} <0,001
Св.Т4 перед операцией, (пмоль/л)	12,16±1,42	10,50±0,69	17,57±4,89	p _{I-II} =0,62 p _{II-III} =0,04 p _{I-III} =0,05
Св.Т3 перед операцией, (пмоль/л)	5,45±0,75	5,56±0,67	8,46±1,44	p _{I-II} =0,11 p _{II-III} =0,06 p _{I-III} =0,06
ТТГ перед операцией, (мМЕ/л)	0,93±0,20	2,44±0,99	0,63±0,16	p _{I-II} =0,04 p _{II-III} =0,03 p _{I-III} =0,11
Антитела к ТПО перед операцией, (МЕ/мл)	341,88±95,15	417,33±53,2	194,00±43,1	p _{I-II} =0,26 p _{II-III} =0,03 p _{I-III} =0,65
Антитела к рецептору ТТГ перед операцией, (МЕ/л)	1,51±0,12	1,58±0,49	5,99±1,19	p _{I-II} =0,61 p _{II-III} =0,04 p _{I-III} =0,006

Продолжение таблицы 35

Показатель	Группы больных ДТЗ			p
	группа I	группа II	группа III	
Объем щитовидной железы перед операцией у женщин, (см ³)	49,52±0,33	39,40±2,96	60,19±3,84	p_{I-II}=0,01 p_{II-III}=0,03 p_{I-III}=0,04
Объем щитовидной железы перед операцией у мужчин, (см ³)	52,45±8,48	54,56±6,07	110,50±27,50	p _{I-II} =0,51 p_{II-III}<0,001 p_{I-III}<0,001
Примечание – группа I – больные ДТЗ, которые сохраняли эутиреоз после субтотальной резекции ЩЖ; группа II – больные ДТЗ, у которых развился гипотиреоз после субтотальной резекции ЩЖ; группа III – больные ДТЗ, у которых развился тиреотоксикоз после субтотальной резекции ЩЖ; p – достоверность различий.				

Значимой разницы по возрасту пациентов ДТЗ перед операцией в анализируемых группах выявлено не было. ЭО значимо чаще встречалась у пациентов с развитием после операции ТТ. Анализ лабораторных данных выявил, что у пациентов с рецидивом ТТ после операции уровень ТТГ крови до операции был достоверно ($p=0,03$) ниже, а содержание св. Т4 ($p=0,04$) значимо выше, чем у больных с послеоперационным гипотиреозом (табл. 35). Уровень АТ к ТПО был значимо выше ($p=0,03$) у пациентов с послеоперационным гипотиреозом по сравнению с пациентами, у которых развился рецидив ТТ. Уровень АТ к рТТГ был выше в группе пациентов с послеоперационным тиреотоксикозом ($p=0,04$). Объем ЩЖ перед оперативным лечением был значимо больше как у мужчин, так и у женщин с развитием в последующем послеоперационного ТТ ($p=0,01$).

У пациентов с рецидивом ТТ после субтотальной резекции ЩЖ установлена отрицательная корреляционная связь времени наступления рецидива ТТ от длительности заболевания ДТЗ ($r=-0,6$, $p=0,001$) (рисунок 18).

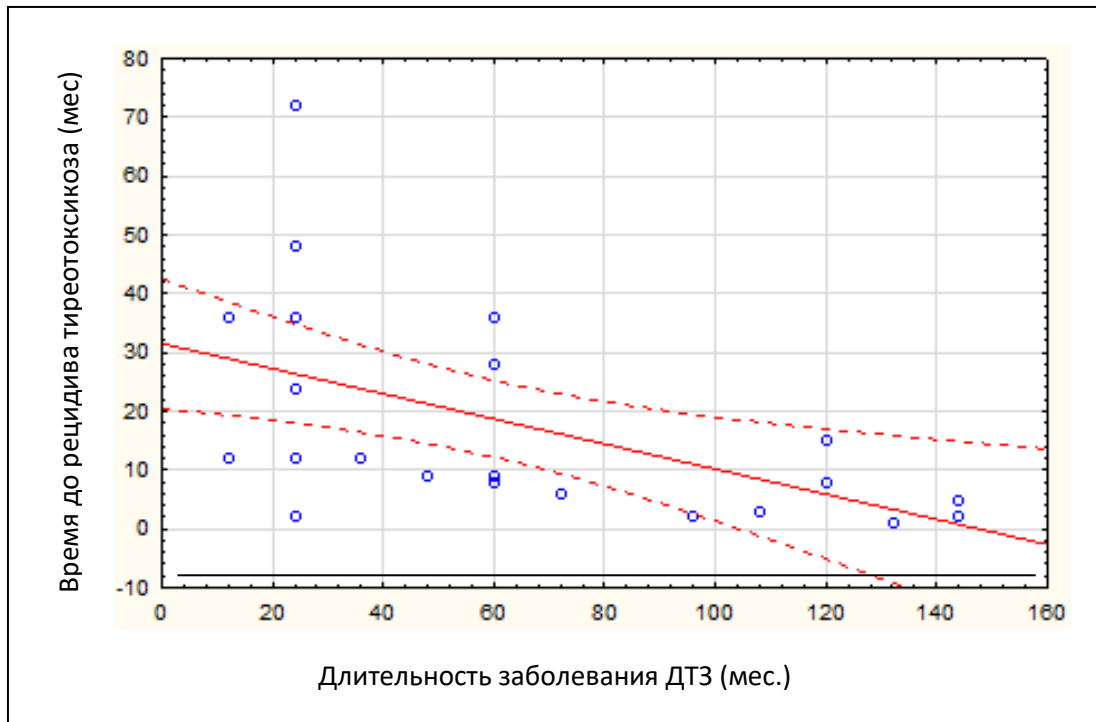
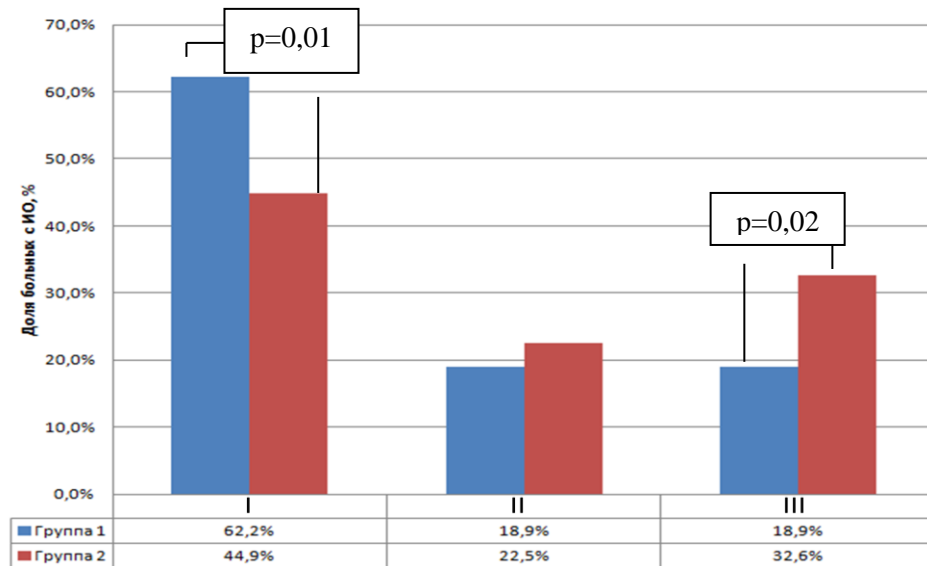


Рисунок 18 – Корреляционная связь между длительностью диффузного токсического зоба и временем возникновения рецидива тиреотоксикоза

Далее была проанализирована степень ЭО в течение 1 года после выполнения различных вариантов операции у больных ДТЗ. Пациенты были разделены на три группы в соответствии с течением ЭО: группа I – с улучшением течения эндокринной офтальмопатии, группа II – без изменения течения ЭО, группа III – ухудшение течения ЭО. Процент больных диффузным токсическим зобом с различным течением ЭО после экстирпации и субтотальной резекции щитовидной железы представлена на рисунке 19.

У пациентов с экстирпацией ЩЖ чаще выявляют утяжеление течения ЭО ($p=0,01$), в то время как у больных, которым была выполнена субтотальная резекция ЩЖ, чаще было установлено улучшение течения ЭО после выполнения операции ($p=0,02$).



Примечание – группа 1 – пациенты, которым была выполнена субтотальная резекция щитовидной железы; группа 2 – пациенты, которым была выполнена экстирпация щитовидной железы; I – доля больных диффузным токсическим зобом с улучшением течения эндокринной офтальмопатии; II – доля больных диффузным токсическим зобом без изменения течения эндокринной офтальмопатии; III – доля больных диффузным токсическим зобом с ухудшением течения эндокринной офтальмопатии; р–достоверность различий.

Рисунок 19 – Процент больных диффузным токсическим зобом с различным течением эндокринной офтальмопатией после экстирпации и субтотальной резекции щитовидной железы

Для выявления группы риска развития послеоперационного ТТ у больных, перенесших субтотальную резекцию ЩЖ, был проведен дискриминантный анализ, для которого пациенты с послеоперационным эутиреозом и гипотиреозом были объединены в одну группу (группа благоприятного исхода) (группа 1), а больные с рецидивом ТТ рассматривались отдельно (группа неблагоприятного исхода) (группа 2). В анализируемых группах больных значимых различий по полу ($p=0,67$) и наследственному фактору заболевания ($p=0,77$) выявлено не было.

В качестве группирующей переменной использовалась качественная переменная – исход после операции (1 – нет рецидива ТТ, 2 – рецидив ТТ). Для

выявления переменных, максимально влияющих на результат лечения и построения прогнозирующей функции проводилась процедура пошагового дискриминантного анализа со всеми изучаемыми показателями. При определении прогноза рецидива ТТ после операции главными дискриминантными переменными оказались исходный объем ЩЖ и исходный уровень св. Т4. Были определены коэффициенты значимости, данные представленные в таблице 36.

Таблица 36 – Значимые переменные, влияющие на послеоперационный прогноз после субтотальной резекции щитовидной железы у пациентов с диффузным токсическим зобом

Номер переменной	Дискриминантные переменные	Коэффициенты значимости
1	Исходный объем ЩЖ, (см ³)	0,12464
2	Исходный св. Т4, (пмоль/л)	0,07065
Константа		-5,19593

На основании выявленных двух значимых переменных (исходный объем ЩЖ и исходный св. Т4) была составлена прогностическая формула вероятного послеоперационного исхода при субтотальной резекции ЩЖ:

$$D_3 = 0,12464 \times \text{исходный объем ЩЖ (см}^3\text{)} + 0,07065 \times \text{исходный св. Т4 (пмоль/л)}, \quad (5)$$

Значение D_3 вычисляется по данной формуле для каждого конкретного пациента. Если $D_3 \geq 5,19593$, то после субтотальной резекции ЩЖ у пациента наступит рецидив ТТ с вероятностью 70%. Если $D_3 < 5,19593$, то после операции у пациента будет сохраняться эутиреоз или разовьется гипотиреоз, вероятность прогноза 100%.

Достигнутый общий процент правильной классификации составил 88,9%, что говорит о высокой степени значимости результатов прогностической формулы и представлен в таблице 37.

Таблица 37 – Данные правильной классификации послеоперационных исходов больных диффузным токсическим зобом

Исходные данные	Исход: гипотиреоз (прогноз)	Исход: тиреотоксикоз (прогноз)	% правильной классификации
Группа 1: эутиреоз или гипотиреоз	121*	0	100,00
Группа 2: тиреотоксикоз	19	52*	73,2
Всего	140	52	88,9
Примечание – * – отмечены те пациенты, которые классифицированы правильно.			

Для оценки качества полученного прогноза был проведен ROC-анализ. Соответствующая ROC-кривая представлена на рисунке 20.

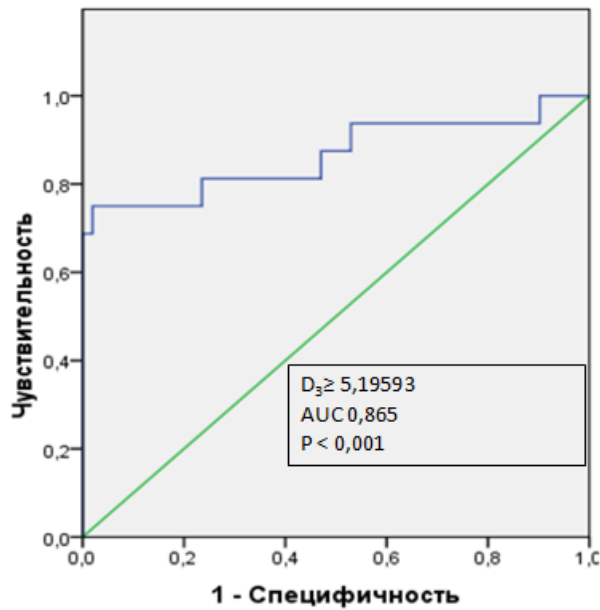


Рисунок 20 – ROC-кривая для оценки качества дискриминантного анализа при составлении прогностической формулы вероятности послеоперационного исхода при субтотальной резекции ЩЖ

Площадь подкривой составила 0,865, что говорит о высоком качестве построенной модели.

Таким образом, к факторам, определяющим вероятность развития рецидива тиреотоксикоза после выполнения субтотальной резекции ЩЖ у пациентов ДТЗ относятся - длительный анамнез заболевания, большой объем ЩЖ перед операцией, наличие ЭО, низкий предоперационный уровень ТТГ, высокий уровень АТ к рТТГ, а также $D_3 > 5,19593$ в прогностической формуле.

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

В данную часть исследования было включено 156 пациентов ДТЗ (124 женщины – 79,5% и 32 мужчин – 20,5%), средний возраст составил $41,24 \pm 2,13$ лет. В зависимости от объема оперативного лечения пациенты с ДТЗ были разделены на 2 группы: группа 1 – была выполнена органосохраняющая операция

(по Е.С. Драчинской) (n=87); группа 2 – выполнена экстирпация ЩЖ (n=69). Показатели функционального состояния щитовидной железы у этих пациентов были оценены до операции, через 1 месяц и через 1 год после операции, результаты представлены в таблице 38.

Таблица 38 – 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±0,53*	1,26±0,26*	0,94
ТТГ крови через 1 месяц после операции, (мМЕ/л)	3,83±0,36**	2,96±0,31**	0,02
ТТГ крови через 1 год после операции, (мМЕ/л)	3,22±0,97***	6,36±1,43***	0,01
p	*_**=0,04 *_***=0,05 **_***=0,72	*_**=0,05 *_***=0,002 **_***=0,01	–
Примечание – группа 1 – выполнена субтотальная резекция щитовидной железы по методике Е.С. Драчинской; группа 2 – экстирпация щитовидной железы; p – достоверность различий.			

Перед оперативным лечением уровень ТТГ крови был в норме у всех больных и различий между группами выявлено не было (p=0,94). У пациентов после выполнения субтотальной резекции средний уровень ТТГ крови через 1 месяц после операции был значимо выше (p=0,02), чем у больных перенесших экстирпацию ЩЖ. Вероятно, это обусловлено тем, что пациентам, которым была выполнена экстирпация ЩЖ, сразу назначалась терапия L-тироксином в расчете на массу тела, в то время как после органосохраняющей операции только у части

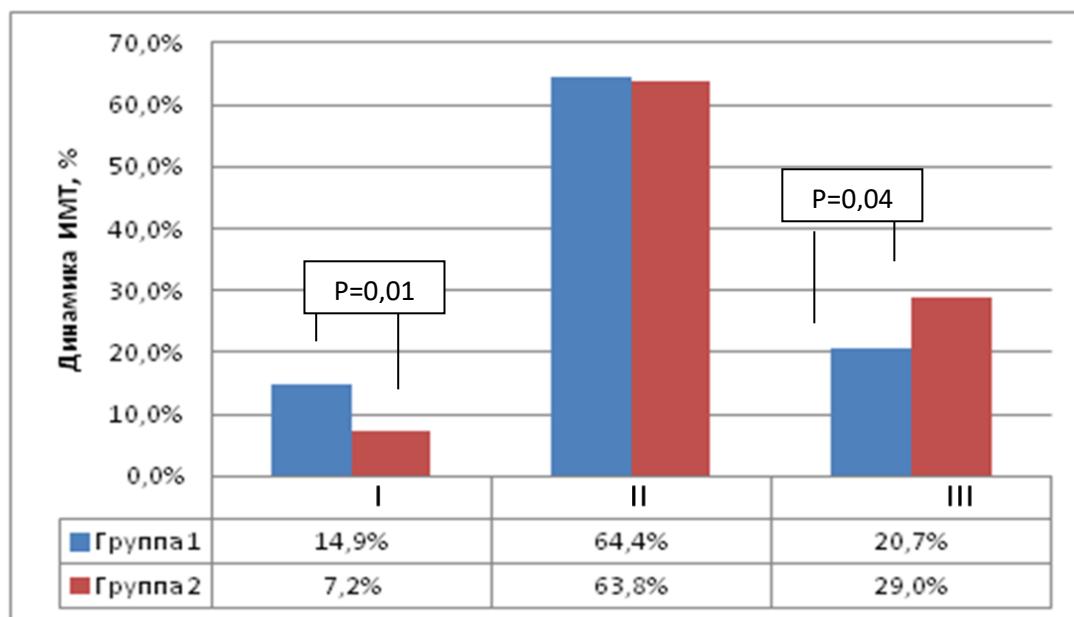
больных (19%) был назначен L-тироксин. Всем пациентам, со значением ТТГ крови выше нормы была скорректирована доза L-тироксина.

Через один год после оперативного вмешательства всем пациентам был осуществлен контроль ТТГ крови. У пациентов с экстирпацией ЩЖ (группа 2) 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%) ($p=0,02$).

Корреляционный анализ показал, что повышение уровня ТТГ крови не зависело от возраста пациента ($p=0,608$, $r=0,055$). В группе 1 (оперативное лечение по Е.С. Драчинской) средний возраст на момент операции варьировал от 25 до 71 года и в среднем составил $41,32 \pm 1,50$ лет; в группе 2 (выполнена экстирпация ЩЖ) – от 23 до 77 лет и в среднем составил $43,02 \pm 2,91$ года. Таким образом, лица репродуктивного возраста также имели повышение уровня ТТГ крови.

Далее был проанализирован ИМТ в обследованных группах. Как видно из представленных данных по ИМТ 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 21).

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 21 – 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 веса в течение года и ТТГ крови через 1 год после операции ($p=0,02$, $r=0,247$).

По результатам проведенного исследования было показано, что после тиреоидэктомии, выполненной по поводу ДТЗ, у больных отмечается значимо большее увеличение ИМТ и чаще встречается некомпенсируемый гипотиреоз, чем у пациентов после субтотальной резекции ЩЖ.

ГЛАВА 6
СОСТОЯНИЕ КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ,
ПРООПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ
ДИФФУЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА

6.1 Послеоперационная гипокальциемия у больных
диффузным токсическим зобом с разными вариантами оперативного
лечения

В исследование было включено 101 больной ДТЗ (76 женщины – 75,3% и 25 мужчин – 24,7%), которые были оперированы из-за отсутствия ремиссии заболевания после проведения консервативной терапии сроком не менее 12-18 месяцев (операция выполнена с 2012 по 2015 года). Из них 34 пациента ДТЗ перенесли субтотальную резекцию ЩЖ (по Е.С. Драчинской), 67 пациента ДТЗ – экстирпацию ЩЖ. Средний возраст обследованных составил $41,91 \pm 2,11$ года.

Для дальнейшего анализа пациенты были разделены на две группы: группа 1 – выполнена субтотальная резекция ЩЖ (операция по методике Е.С. Драчинской – послеоперационный объем ЩЖ составляет 4-8 см³) (n=34), группа 2 – экстирпация ЩЖ (n=67), сравнительная характеристика представлена в таблице 39.

Таблица 39 – Клинико-лабораторные и инструментальные показатели у прооперированных больных диффузным токсическим зобом с различным объемом хирургического лечения

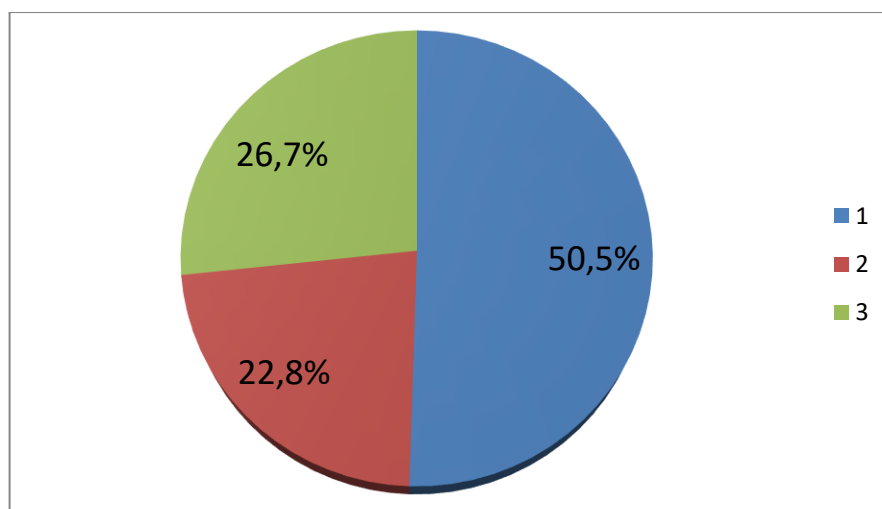
Показатель	Группа		p
	группа 1	группа 2	
Возраст на момент операции, (лет)	$41,30 \pm 2,11$	$42,82 \pm 2,21$	0,63
Пол (ж/м), %	72/28	70/30	0,52
Наличие офтальмопатии, (%)	23,0	21,3	0,42

Продолжение таблицы 39

Показатель	Группа		p
	группа 1	группа 2	
Объем ЩЖ у женщин перед операцией перед операцией (см ³)	53,30±4,14	49,85±4,81	0,47
Объем ЩЖ у мужчин перед операцией (см ³)	67,41±2,21	64,21±3,09	0,13
св. Т4 перед операцией, (пмоль/л)	13,11±1,62	13,89±1,51	0,35
св. Т3 перед операцией, (пмоль/л)	4,83±0,39	5,11±1,24	0,33
Антитела к рецептору ТТГ перед операцией, (МЕ/л)	2,81±0,11	2,56±0,42	0,51
Антитела к ТПО перед операцией, (МЕ/мл)	121,23±9,24	133,21±5,21	0,12
ТТГ перед операцией, (мМЕ/л)	0,97±0,22	0,89±0,52	0,09
Общий кальций перед операцией, (ммоль/л)	2,28±0,12	2,32±0,09	0,09
Ионизированный кальций перед операцией, (ммоль/л)	1,21±0,15	1,19±0,07	0,41
Паратиреоидный гормон перед операцией, (пг/мл)	55,32±3,98	59,22±4,01	0,06
Уровень 25(ОН)D перед операцией, (нг/мл)	31,51±2,38	32,34±1,52	0,12
Примечание – группа 1 – выполнена субтотальная резекция щитовидной железы; группа 2 – выполнена экстирпация щитовидной железы; p – достоверность различий.			

Прооперированные пациенты группы 1 и группы 2 были сопоставимы перед оперативным лечением по полу, возрасту, исходному объему ЩЖ, а также лабораторным показателям (св. Т4, св. Т3, АТ к ТПО, АТ к рТТГ, ТТГ крови). Показатели кальциевого обмена также были сопоставимы в этих группах больных (таблица 39).

Пациенты были проанализированы по обеспеченности витамином D перед операцией, результаты представлены на рисунке 22.



Примечание – 1 – доля больных диффузным токсическим зобом с дефицитом 25(OH)D;
 2 – доля больных диффузным токсическим зобом с недостаточностью 25(OH)D;
 3 – доля больных с нормальным уровнем 25(OH)D.

Рисунок 22 – Встречаемость дефицита, недостатка и нормального уровня обеспеченности витамином D у больных диффузным токсическим зобом

У 51 больного ДТЗ (51%) 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 общий и ионизированный кальций, ПТГ, 25(OH)D. У 27 больного (26,7%) была выявлена гипокальциемия (снижение общего кальция $\leq 2,0$ ммоль/л и/или ионизированного кальция $\leq 1,00$ ммоль/л). Пациенты, соответственно были разделены на 2 группы: группа I – уровень общего и/или ионизированного кальция снижен; группа II – уровень общего и ионизированного кальция в пределах нормальных значений. Сравнительная характеристика представлена в таблице 22. У двух пациентов в группе I были зарегистрированы клинические симптомы гипокальциемии в виде судорог периоральных мышц. У остальных пациентов гипокальциемия носила бессимптомный характер. Дальнейший анализ этих двух пациентов показал, что гипокальциемия у них была обусловлена гипопаратиреозом вследствие повреждения паращитовидных желез. Результаты обследования больных

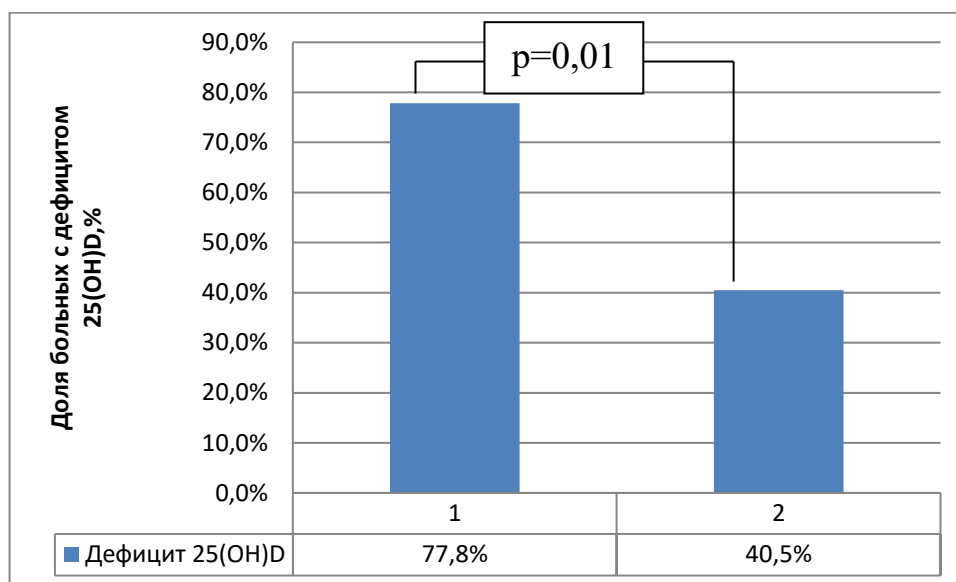
диффузным токсическим зобом с различным уровнем кальция через 1 сутки после операции представлены в таблице 40.

Таблица 40 – Клинико-лабораторные и инструментальные показатели прооперированных больных диффузным токсическим зобом с различным уровнем кальция через 1 сутки после операции

Показатель	Группа		p
	группа I	группа II	
Возраст на момент операции, (лет)	46,84±2,74	46,5±1,94	0,8
Длительность заболевания, (лет)	7,95±1,51	4,07±0,63	0,01
Уровень общего кальция перед операцией, (ммоль/л)	2,27±0,02	2,32±0,16	0,06
Уровень ионизированного кальция перед операцией, (ммоль/л)	1,17±0,01	1,19±0,01	0,06
Уровень ПТГ перед операцией, (пг/мл)	45,22±4,01	48,02±2,54	0,3
Уровень общего кальция через 1 сутки после операции, (ммоль/л)	1,17±0,02	2,33±0,01	<0,0001
Уровень ионизированного кальция через 1 сутки после операции, (ммоль/л)	0,96±0,02	1,20±0,02	<0,0001
Уровень ПТГ через 1 сутки после операции, (пг/мл)	41,00±5,99	58,50±2,36	0,02
Уровень 25(OH)D перед операцией, (нг/мл)	28,61±1,38	33,34±1,32	0,05
Объем ЩЖ перед операцией, (см ³)	56,39±13,07	42,26±2,83	0,01
Примечание – группа I – уровень общего и/или ионизированного кальция снижен; группа II – уровень общего и ионизированного кальция в пределах нормальных значений; p – достоверность различий.			

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 ($p=0,05$).

Доля больных с дефицитом 25(OH)D была больше в группе пациентов с послеоперационной гипокальциемией, ($p=0,01$) (рисунок 23).



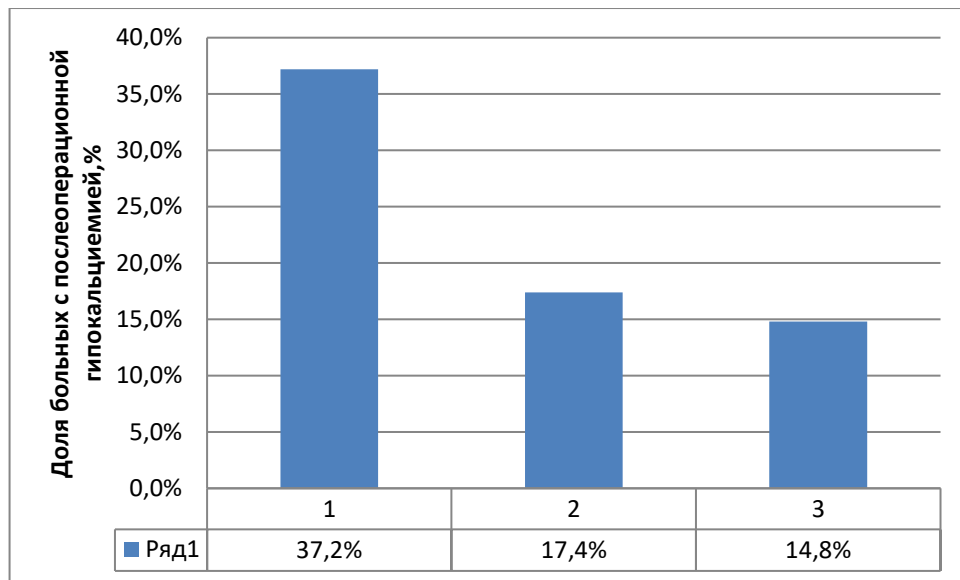
Примечание – 1– группа I – уровень общего и/или ионизированного кальция снижен;
2– группа II – уровень общего и ионизированного кальция в пределах нормальных значений;
p – достоверность различий.

Рисунок 23 – Доля больных с дефицитом 25(OH)D в группах с послеоперационной гипокальциемией и нормокальциемией

У пациентов с послеоперационной гипокальциемией дефицит 25(OH)D был выявлен у 77,8% процентов больных ДТЗ, в то время как у больных с нормокальциемией в 40,5% случаев ($p=0,01$). Недостаточность 25(OH)D была больше в группе больных с послеоперационной нормокальциемией и выявлялась у 28,4% больных, а у больных послеоперационной гипокальциемией – в 7,4%

случаев ($p=0,01$). При нормокальциемии нормальный уровень 25(OH)D был у 31,1% больных, при гипокальциемии нормальный уровень 25(OH)D был у 14,8% больных ($p=0,02$). Таким образом, у больных с послеоперационной гипокальциемией значимо больше была доля больных с дефицитом витамина D и меньше с нормальным его значением.

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 (рисунок 24).



Примечание – 1 – больные диффузным токсическим зобом с дефицитом 25(OH)D;

2 – больные диффузным токсическим зобом с недостаточностью 25(OH)D;

3 – больные с нормальным уровнем 25(OH)D.

Рисунок 24 – Доля больных с гипокальциемией в зависимости от предоперационного уровня 25(OH)D

При дефиците 25(OH)D частота гипокальциемии через 1 сутки после операции составила 37,2%, в то время как при недостаточном уровне 25(OH)D – 17,4%, при нормальном значении 25(OH)D – 14,8% ($p_{1-2}=0,01$, $p_{1-3}=0,01$, $p_{2-3}=0,23$).

Выявляемость послеоперационной гипокальциемии различалась в зависимости от варианта оперативного лечения (рисунок 25).

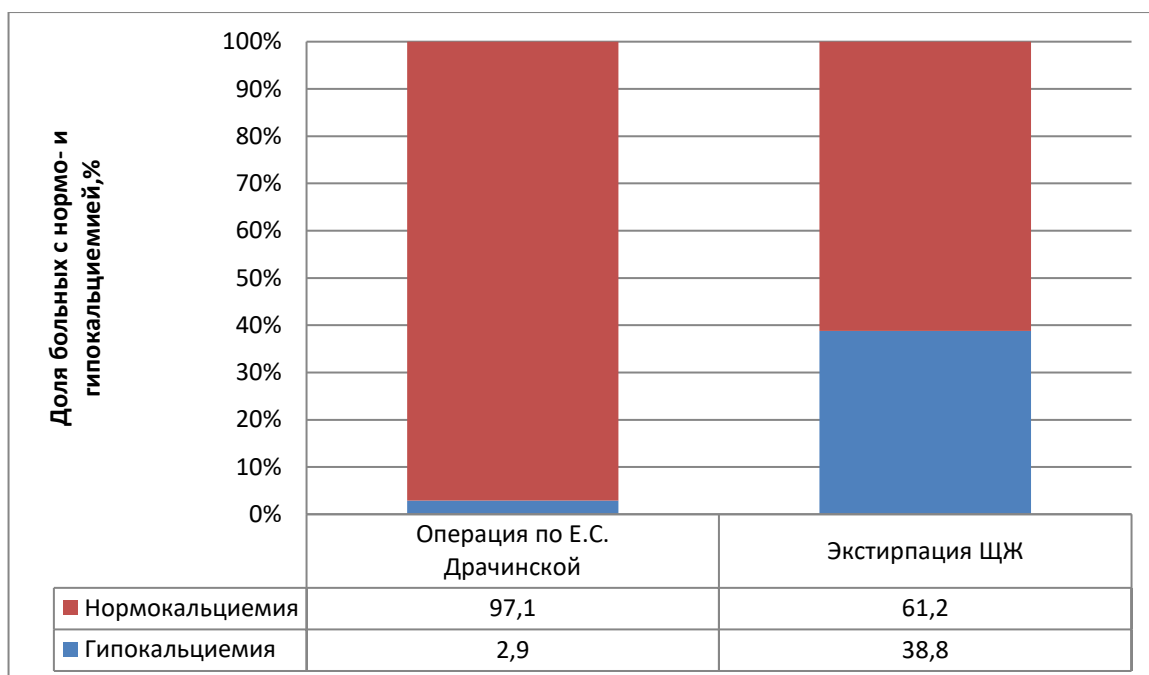


Рисунок 25 – Выявляемость гипокальциемии
в зависимости от объема оперативного вмешательства

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) ($p < 0,001$). Далее был проведен корреляционный анализ изучаемых показателей, значимые результаты этого исследования представлены в таблице 41.

Таблица 41 – Корреляционная связь между клиническими, лабораторными, инструментальными показателями у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

Пара маркеров	Больные ДТЗ	
	r	p
25(OH)D-возраст начала заболевания	-0,26	0,03
25(OH)D-курение	0,44	0,001
25(OH)D- вес	-0,34	0,005
25(OH)D-ИМТ	-0,45	<0,0001

Продолжение таблицы 41

Пара маркеров	Больные ДТЗ	
	r	p
Уровень ионизированного кальция через 1 сутки после операции - длительность заболевания	-0,33	0,008
Общий кальций-курение	-0,31	0,02
Курение - антитела к ТПО	-0,34	0,02
Курение-пол	0,34	<0,0001
ИМТ - уровень паратиреоидного гормона через 1 сутки после операции	0,29	0,02

При проведении корреляционного анализа были выявлены следующие закономерности. Уровень витамина 25(ОН)D положительно коррелировал с весом и отрицательно с возрастом. Обратная корреляционная зависимость была выявлена между уровнем ионизированного кальция и длительностью заболевания до операции.

Через 6 месяцев всем пациентам повторно был определен уровень общего кальция. У одного пациента, с первичным гипопаратиреозом, сохранялся низкий кальций, несмотря на прием препаратов кальция и витамина Д3. У остальных пациентов ДТЗ уровень кальция был в пределах нормальных значений, среднее значение составило $2,34 \pm 0,02$ ммоль/л.

6.2 Проспективное исследование эффективности терапии витамином D до экстирпации щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с различной исходной концентрацией 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови

С целью изучения влияния терапии препаратом витамина D (колекальциферол) перед операцией на частоту развития гипокальциемии

в послеоперационном периоде было выполнено проспективное исследование, в которое было включено 74 женщины с ДТЗ. Всем этим больным через 1 месяц была запланирована операция – экстирпация ЩЖ. Средний возраст обследованных составил $39,00 \pm 1,72$ года.

Пациенты в зависимости от уровня 25 (ОН)D за 1 месяц до операции были разделены на 3 группы: группа 1 (n=23) – уровень витамина D менее 20 нг/мл (дефицит витамина D); группа 2 (n=27) – уровень витамина D 20-30 нг/мл (недостаточность витамина D); группа 3 (n=24) – уровень витамина D более 30 нг/мл (нормальный уровень витамина D). Клинико-лабораторные и инструментальные показатели обследуемых больных ДТЗ представлены в таблице 42.

Таблица 42 – Клинико-лабораторные и инструментальные показатели больных диффузным токсическим зобом с разным обеспечением витамином D до операции

Показатель	Группа			p
	группа 1	группа 2	группа 3	
Возраст, (лет)	$40,11 \pm 3,24$	$38,87 \pm 3,02$	$39,50 \pm 2,87$	$p_{1-2}=0,12$ $p_{1-3}=0,64$ $p_{2-3}=0,76$
ИМТ, (кг/м ²)	$33,50 \pm 2,17$	$25,25 \pm 2,99$	$25,50 \pm 2,99$	$p_{1-2}=0,02$ $p_{1-3}=0,005$ $p_{2-3}=0,32$
Общий кальций, (ммоль/л)	$2,25 \pm 0,05$	$2,30 \pm 0,02$	$2,47 \pm 0,02$	$p_{1-2}=0,05$ $p_{1-3}=0,01$ $p_{2-3}=0,01$
Ионизированный кальций, (ммоль/л)	$1,19 \pm 0,02$	$1,21 \pm 0,03$	$1,18 \pm 0,03$	$p_{1-2}=0,28$ $p_{1-3}=0,79$ $p_{2-3}=0,36$

Продолжение таблицы 42

Показатель	Группа			p
	группа 1	группа 2	группа 3	
Паратиреоидный гормон, (пг/мл)	84,18±2,60	52,60±2,24	46,00±4,22	p₁₋₂=0,001 p₁₋₃<0,0001 p ₂₋₃ =0,07
Объем щитовидной железы у женщин, (см ³)	42,21±2,21	44,49±3,21	39,31±1,99	p ₁₋₂ =0,38 p ₁₋₃ =0,41 p ₂₋₃ =0,42
Объем щитовидной железы у мужчин, (см ³)	49,71±1,19	51,10±2,21	50,99±2,98	p ₁₋₂ =0,28 p ₁₋₃ =0,29 p ₂₋₃ =0,26
Примечание – 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 D более 30 нг/мл (нормальный уровень витамина D); p – достоверность различий.				

Все пациенты ДТЗ были сопоставимы по возрасту. У больных с исходно низким уровнем витамина D уровень общего кальция был ниже ($p=0,01$) и выше ПТГ ($p=0,001$) до начала терапии. У больных группы 1 (с дефицитом витамина D) значимо больше был ИМТ ($p=0,005$). Возможно, это связано с депонированием витамина D в подкожно-жировой клетчатке и недоступностью для центрального кровотока. Значимых различий по ионизированному кальцию в исследованных группах выявлено не было.

Проведенный корреляционный анализ выявил следующие взаимосвязи: положительную связь между уровнем витамина D и общего кальция крови ($p<0,0001$, $r=0,76$); отрицательную связь между уровнями витамином D и ПТГ ($p=0,002$, $r=-0,61$); отрицательную связь между значениями общего кальция крови и ПТГ ($p<0,0001$, $r=-0,62$).

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 [24] к терапии 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). Данную терапию все больные принимали до операции в течение месяца.

Через сутки после операции была проведена оценка кальциевого обмена, результаты представлены в таблице 43. У 73 больных по результатам проведенного обследования уровни Са общ. и ион. были в пределах нормальных значений. Только у одного пациента из 74 (1,4%) через сутки после операции был низкий уровень ион. кальция (0,99 ммоль/л), уровень общ. кальция был в норме. Еще через одни сутки был повторно выполнен анализ крови на ионизированный кальций у этого пациента, результат был в норме.

Таблица 43 – Лабораторные показатели пациентов диффузным токсическим зобом через сутки после экстирпации щитовидной железы

Показатель	Среднее значение	Минимальное значение	Максимальное значение
Ионизированный кальций, (ммоль/л)	1,17±0,02	1,06	1,28
Общий кальций, (ммоль/л)	2,31±0,02	2,17	2,49
Паратиреоидный гормон, (пг/мл)	48,62±3,94	29	78

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что назначение витамина D и диеты, богатой кальцием за один месяц до операции снижает риск развития послеоперационной транзиторной гипокальциемии у 98,6% больных, перенесших тиреоидэктомию по поводу ДТЗ.

ГЛАВА 7

РОЛЬ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ИСХОДОВ У БОЛЬНЫХ ДИФфуЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ

7.1 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 – 43,34±1,39 лет. Распределение больных ДТЗ по возрасту было равномерным (таблица 44).

Таблица 44 – Распределение больных диффузным токсическим зобом по возрасту на момент выполнения операции

Количество случаев	Возраст в годах				
	20-30	30-40	40-50	50-60	старше 60
(n=97)	9	19	19	29	21
	9,3%	19,6%	19,6%	29,9%	21,6%

При гистологическом исследовании структура ЩЖ у обследуемых больных ДТЗ была неоднородной. Участки тиреоидной ткани без функциональной активности сочетались с участками ткани с признаками повышенной активности. «Классический» токсический зоб встречался у 37% больных, зоб с диффузной умеренной пролиферацией эпителия и очаговым склерозом стромы у 26% больных, зоб с выраженной лимфоидной инфильтрацией у 27% больных,

смешанный зоб у 10%. Кроме того, у 4 больных был диагностирован папиллярный рак, который до оперативного лечения выявлен не был.

Для дальнейшего анализа все пациенты были разделены на три группы в зависимости от исходов оперативного лечения: группа 1 – больные, которые сохраняли стойкий эутиреоз; группа 2 – больные, у которых развился послеоперационный гипотиреоз; группа 3 – больные, у которых был диагностирован послеоперационный тиреотоксикоз. Результаты клинко-инструментального обследования представлены в таблице 45.

Таблица 45 – Клинико-инструментальные и лабораторные показатели прооперированных больных диффузным токсическим зобом, имеющих гистологическое описание

Показатель	Группа			p
	группа 1 (n=24)	группа 2 (n=49)	группа 3 (n=24)	
Возраст начала заболевания, (лет)	39,25±3,44	44,06±2,01	42,31±3,03	p ₁₋₂ =0,31 p ₁₋₃ =0,39 p ₂₋₃ =0,42
Наследственность, (%)	27,8	21,3	38,3	p ₁₋₂ =0,09 p ₁₋₃ =0,13 p₂₋₃=0,04
Возраст на момент операции, (лет)	43,60±3,25	50,41±1,98	48,69±3,06	p ₁₋₂ =0,87 p ₁₋₃ =0,52 p ₂₋₃ =0,66
Объем ЩЖ исходный, (см ³)	31,79±2,49	51,92±6,90	53,76±10,39	p₁₋₂=0,01 p₁₋₃=0,01 p ₂₋₃ =0,14

Продолжение таблицы 45

Показатель	Группа			p
	группа 1 (n=24)	группа 2 (n=49)	группа 3 (n=24)	
Объем ЩЖ перед операцией, (см ³)	58,29±3,95	61,78±10,10	74,95±3,29	p ₁₋₂ =0,56 p₁₋₃=0,02 p ₂₋₃ =0,36
Наличие офтальмопатии, (%)	10,5	38,8	41,7	p₁₋₂=0,01 p₁₋₃=0,01 p ₂₋₃ =0,98
Наличие офтальмопатии, (%)	10,5	38,8	41,7	p₁₋₂=0,01 p₁₋₃=0,01 p ₂₋₃ =0,98
Антитела к рецептору ТТГ перед операцией, (МЕ/л)	4,42±1,32	7,58±1,92	13,83±5,39	p¹⁻²=0,03 p ¹⁻³ =0,33 p²⁻³=0,03
Антитела к ТПО перед операцией, (мМЕ/л)	360,35±21,2	485,00±38,30	293,00±23,77	p ¹⁻² =0,09 p ¹⁻³ =0,41 p²⁻³=0,03
Примечание – группа 1 – больные, которые сохраняли стойкий эутиреоз; группа 2 – больные, у которых развился послеоперационный гипотиреоз; группа 3 – больные у которых был диагностирован послеоперационный тиреотоксикоз; p – достоверность различий.				

Как видно из представленных данных все прооперированные пациенты были сопоставимы по возрасту дебюта заболевания и возрасту на момент операции. Пациенты с рецидивом ТТ чаще имели наследственный фактор заболеваний ЩЖ (p=0,04). Объем ЩЖ как на момент постановки диагноза, так и

перед операцией был значимо больше в группе больных с рецидивом ТТ ($p=0,01$). Анализ уровней антител показал, что АТ к рТТГ крови были значимо больше в группе 3 ($p=0,03$), а АТ к ТПО в группе 2 ($p=0,03$).

Далее была проведена оценка морфометрических показателей прооперированных больных, результаты представлены в таблице 46.

Таблица 46 – Морфометрические показатели у прооперированных больных диффузным токсическим зобом

Показатель	Группа			p
	группа 1 (n=24)	группа 2 (n=49)	группа 3 (n=24)	
Наружный диаметр ТФ, (мкм)	3,28±0,25	3,17±0,36	4,04±0,40	$p_{1-2}=0,09$ $p_{1-3}=0,05$ $p_{2-3}=0,05$
Средний диаметр ядер клеток ФЭ, (мкм)	1,17±0,25	1,37±0,03	1,42±0,04	$p_{1-2}=0,11$ $p_{1-3}=0,29$ $p_{2-3}=0,05$
Высота тиреоцитов, (мкм)	5,27±0,25	5,17±0,36	6,04±0,40	$p_{1-2}=0,11$ $p_{1-3}=0,29$ $p_{2-3}=0,02$
Площадь фолликулов, (мкм)	17107,94± 5539,54	12439,66± 1711,24	7174,07± 541,48	$p_{1-2}=0,69$ $p_{1-3}=0,01$ $p_{2-3}=0,01$
Фолликулярно-коллоидный индекс	7,21±1,12	6,61±1,12	10,11±2,21	$p_{1-2}=0,28$ $p_{1-3}=0,06$ $p_{2-3}=0,03$

Продолжение таблицы 46

Показатель	Группа			p
	группа 1 (n=24)	группа 2 (n=49)	группа 3 (n=24)	
Ядерно-цитоплазматический индекс	4,21±1,00	4,61±1,01	5,11±1,21	p ₁₋₂ =0,28 p ₁₋₃ =0,09 p ₂₋₃ =0,06
Примечание – группа 1 – больные, которые сохраняли стойкий эутиреоз; группа 2 – больные, у которых развился послеоперационный гипотиреоз; группа 3 – больные у которых был диагностирован послеоперационный тиреотоксикоз; p – достоверность различий.				

Как видно из представленных данных, у пациентов ДТЗ с развившимся послеоперационным тиреотоксикозом высота тиреоцитов была значимо больше ($p=0,02$) по сравнению с данными пациентов, у которых после операции развился гипотиреоз, что может свидетельствовать о большей функциональной активности тиреоцитов в группе 3. На рисунках 26 и 27 представлены примеры высоты тиреоцитов больных ДТЗ, у которых после операции (субтотальной резекции ЩЖ по Е.С. Драчинской) развился тиреотоксикоз, на рисунке 28 – гипотиреоз.

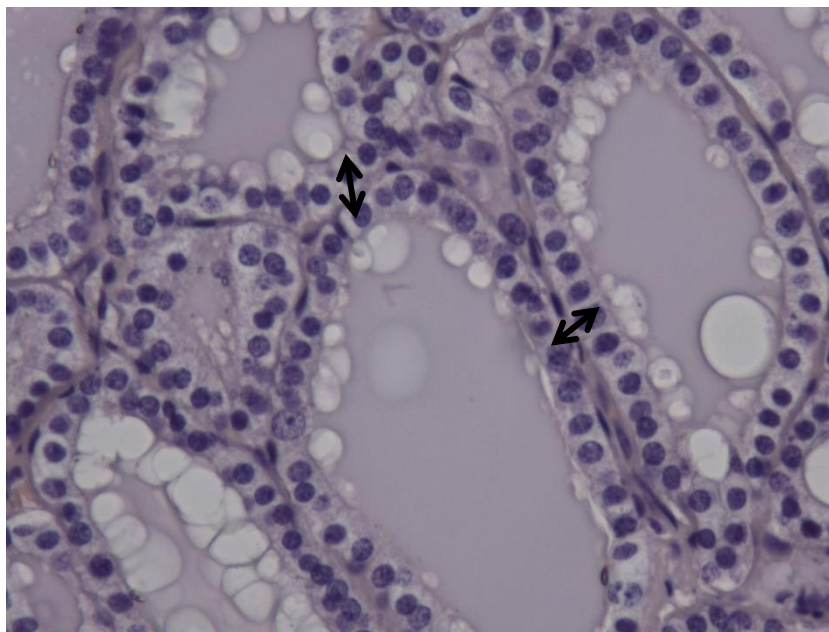


Рисунок 26 – Высота тиреоцитов у пациента К. (42 года), с развитием тиреотоксикоза через 4 месяца после выполнения субтотальной резекции щитовидной железы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

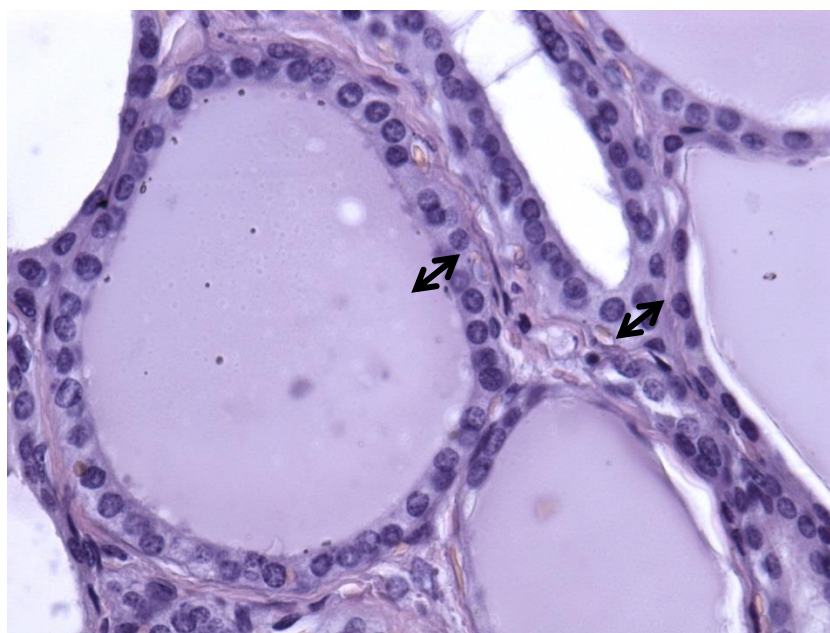


Рисунок 27 – Высота тиреоцитов у пациента Р. (49 лет), с развитием тиреотоксикоза через 12 месяцев после выполнения субтотальной резекции щитовидной железы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

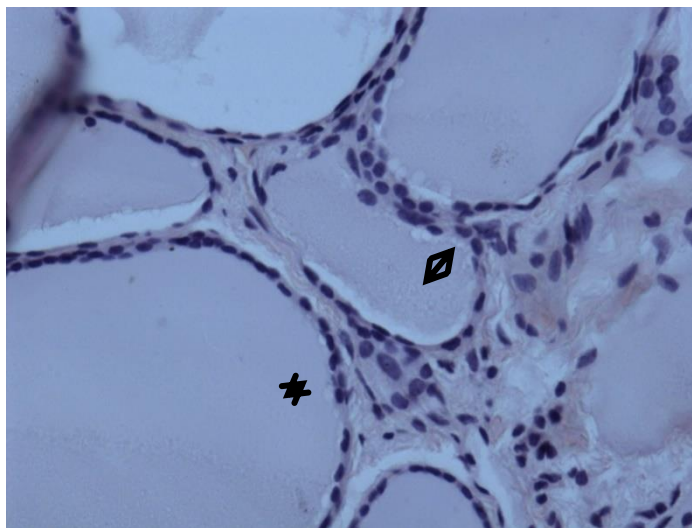


Рисунок 28 – Высота тиреоцитов у пациента Л. (39 лет), с развитием гипотиреоза через 11 месяцев после операции.

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) и значимо меньше в группе 3 ($7174,07 \pm 541,48$ мкм) ($p=0,01$) (рисунки 29, 30).

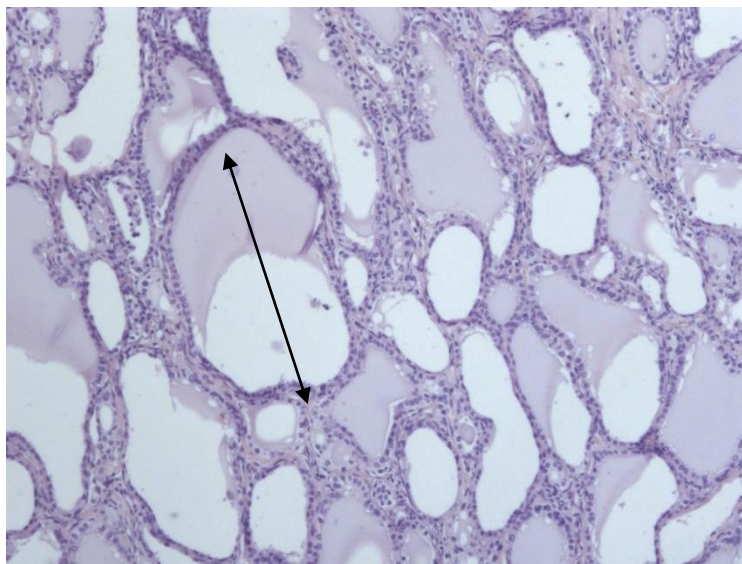


Рисунок 29 – Площадь фолликулов у пациента М. (39 лет), с развитием тиреотоксикоза через 18 месяцев после операции.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 10$

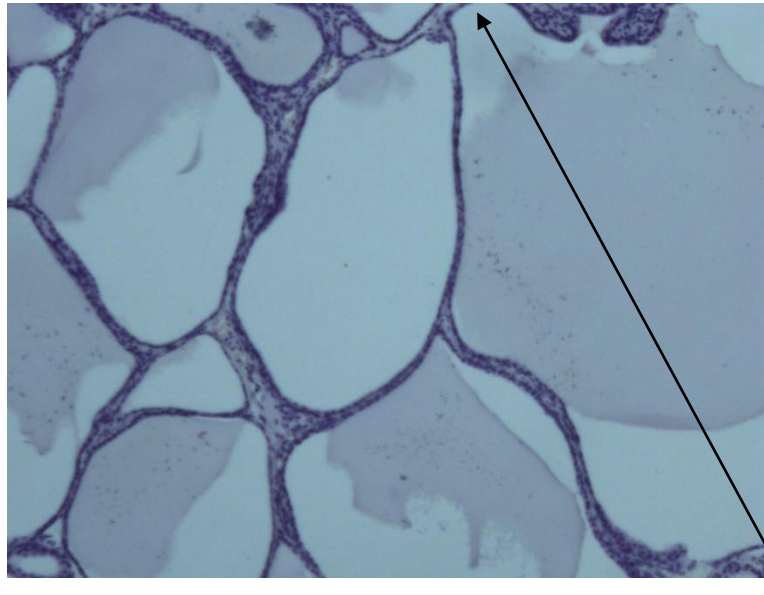


Рисунок 30 – Площадь фолликулов у пациента Р. (38 лет), с развитием гипотиреоза через 11 месяцев после операции.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 10$

Таким образом, морфометрическая характеристика ЩЖ у больных ДТЗ с рецидивом ГТ характеризовалась увеличением высоты тиреоцитов и большей площадью фолликулов. Стромальный компонент был более выражен у пациентов с послеоперационным гипотиреозом ($p=0,03$), фолликулярно-коллоидный индекс был больше у пациентов группы 3 ($p=0,03$), что также свидетельствует о более выраженной функциональной активности тиреоцитов.

Был проведен корреляционный анализ между изучаемыми показателями (таблица 47).

Таблица 47 – Корреляционная зависимость между клиническими, лабораторными и морфофункциональными показателями у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

Пара маркеров	Пациенты диффузным токсическим зобом	
	r	p
Высота тиреоцитов – площадь фолликулов	-0,41	0,002

Продолжение таблицы 47

Пара маркеров	Пациенты диффузным токсическим зобом	
	r	p
Высота тиреоцитов – доля интрафолликулярного эпителия	0,53	0,005
Высота тиреоцитов – фолликулярно-коллоидный индекс	0,39	0,01
Высота тиреоцитов – фолликулярно-коллоидный индекс	0,52	0,006
Фолликулярно-коллоидный индекс – доля фолликулярного эпителия	0,67	<0,0001
Высота тиреоцитов – антитела к рецептору ТТГ	0,61	0,01
Фолликулярно-коллоидный индекс – доля стромального компонента	0,59	0,001
Фолликулярно-коллоидный индекс – доля интрафолликулярного эпителия	0,71	<0,0001
Объем ЩЖ - антитела к рецептору ТТГ	0,52	0,008
Фолликулярно-коллоидный индекс – объем ЩЖ	0,50	0,03
Доля интрафолликулярного эпителия – антитела к рецептору ТТГ	0,68	0,005

Выявлена значимая корреляционная связь между уровнем АТ к рецептору ТТГ и объемом ЩЖ, уровнем АТ к рецептору ТТГ и площадью фолликулов, объемом ЩЖ и высотой тиреоцитов. Корреляционный анализ подтверждает тесные взаимосвязи между клиническими, иммунологическими и структурными показателями у прооперированных пациентов ДТЗ.

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

В исследование было включено 24 пациента ДТЗ. Все обследованные были женщинами, которые за период с 2000 по 2011 гг. перенесли субтотальную резекцию ЩЖ по методике Е.С. Драчинской. Средний возраст пациенток ДТЗ составил $45,71 \pm 2,56$ лет. 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; группа 2 – больные, у которых развился послеоперационный гипотиреоз; группа 3 – больные, у которых был диагностирован послеоперационный тиреотоксикоз. Результаты иммуногистохимических результатов обследования представлены в таблице 48.

Таблица 48 – Иммуногистохимические показатели пациентов диффузным токсическим зобом

Показатель	Группа 1 (n=8)	Группа 2 (n=8)	Группа 3 (n=8)	p
Vcl-2, (%)	$1,36 \pm 0,25$	$1,24 \pm 0,29$	$3,13 \pm 0,29$	$p^{1-2}=0,72$ $p^{1-3}=0,003$ $p^{2-3}=0,001$
Ki-67, (%)	$0,07 \pm 0,06$	$0,31 \pm 0,11$	$2,04 \pm 0,40$	$p^{1-2}=0,16$ $p^{1-3}<0,001$ $p^{2-3}<0,001$
Вах, (%)	$1,12 \pm 0,15$	$0,77 \pm 0,28$	$1,46 \pm 0,40$	$p^{1-2}=0,19$ $p^{1-3}=0,28$ $p^{2-3}=0,13$

Продолжение таблицы 48

Показатель	Группа 1 (n=8)	Группа 2 (n=8)	Группа 3 (n=8)	p
Vcl-2/Вах, (%)	1,20±0,10	1,09±0,23	7,68±3,80	p ¹⁻² =0,79 p¹⁻³=0,001 p²⁻³=0,004
Fas-L, (%)	1,08±0,31	1,88±0,19	0,82±0,12	p ¹⁻² =0,04 p ¹⁻³ =0,35 p²⁻³=0,002
CD 34	7,75±0,90	9,00±0,42	12,00±0,71	p ¹⁻² =0,28 p¹⁻³=0,003 p²⁻³=0,005
FGF, %	–	0,11±0,01	0,16±0,01	p²⁻³=0,001
VEGF, %	–	22,12±1,67	35,62±1,83	p²⁻³=0,001
Металлопротеиназа, %	–	0,15±0,02	0,16±0,01	p ²⁻³ =0,78
Каспаза-8, %	1,25±0,27	0,73±0,25	1,43±0,52	p ¹⁻² =0,43 p ¹⁻³ =0,79 p ²⁻³ =0,18
Примечание – группа 1 – больные, которые сохраняли стойкий эутиреоз; группа 2 – больные, у которых развился послеоперационный гипотиреоз; группа 3 – больные, у которых был диагностирован послеоперационный тиреотоксикоз; p – достоверность различий.				

Как видно из представленных данных в обследованных группах больных ДТЗ была установлена значимо большая экспрессия у пациентов с послеоперационным ТТ следующих ростовых факторов: Ki-67 (p=0,001), Vcl-2 (p=0,001), CD 34 (p=0,005), , FGF (p=0,001), VEGF (p=0,001), соотношения экспрессии Vcl-2/Вах (p=0,004). Экспрессия антиапоптотического белка Fas-L была выше у пациентов с послеоперационным гипотиреозом (p=0,002).

Далее был проведен анализ показателей инструментальных и лабораторных методов исследования у больных ДТЗ. Данные представлены в таблице 49.

Таблица 49 – Лабораторные и инструментальные показатели пациентов диффузным токсическим зобом

Показатель	Группа 1 (n=8)	Группа 2 (n=8)	Группа 3 (n=8)	p
Объем ЩЖ перед операцией, (см ³)	46,45±6,62	40,99±6,41	58,10±21,89	p ¹⁻² = 0,42 p ¹⁻³ = 0,96 p ²⁻³ =0,88
Уровень антител к ТПО, (мМЕ/л)	340,38±188,43	536,38±135,22	149,88±91,25	p ¹⁻² = 0,64 p ¹⁻³ = 0,94 p ²⁻³ =0,02
Уровень антител к рецептору ТТГ, (МЕ/л)	6,85±2,89	2,51±0,59	12,98±4,68	p ¹⁻² = 0,65 p ¹⁻³ = 0,02 p ²⁻³ =0,01
Примечание – группа 1 – больные, которые сохраняли стойкий эутиреоз; группа 2 – больные, у которых развился послеоперационный гипотиреоз; группа 3 – больные, у которых был диагностирован послеоперационный тиреотоксикоз; p – достоверность различий.				

При оценке лабораторных показателей уровень АТ к рецептору ТТГ был значимо выше у больных с рецидивом тиреотоксикоза (p=0,011), а уровень антител к ТПО значимо выше у больных с развитием послеоперационного гипотиреоза (p=0,021).

Далее был проведен корреляционный анализ между изучаемыми иммуногистохимическими показателями и послеоперационным развитием тиреотоксикоза (таблица 50).

Таблица 50 – Степень корреляции между иммуногистохимическими показателями и исходом операции у больных диффузным токсическим зобом

Показатель	Рецидив тиреотоксикоза	
	r	p
Ki-67	0,73	<0,001
Bcl-2	0,63	0,001
Bax	0,17	0,43
Bcl-2/Bax	0,40	0,05
Fas-L	-0,25	0,34
CD-34	0,67	<0,001
VEGF	0,82	<0,001
FGF	0,76	0,001
Каспаза-8	0,12	0,69
Металлопротеиназа	0,11	0,71

Как видно из представленных данных 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 Bcl-2 и развитием тиреотоксикоза ($r=0,638$; $p=0,001$). 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 ($r=0,756$; $p=0,001$).

Проведенный корреляционный анализ между изучаемыми ростовыми факторами, лабораторно-инструментальными и морфофункциональными показателями представлен в таблице 51.

Таблица 51 – Корреляционная зависимость между иммуногистохимическими, лабораторно-инструментальными, морфофункциональными показателями у больных прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

Пара маркеров	Больные ДТЗ	
	r	p
Vcl–антитела к ТПО	-0,42	0,03
Vcl–антитела к рецептору ТТГ	0,66	<0,001
Vax–Объем ЩЖ	0,58	0,003
Vax–антитела к рецептору ТТГ	0,65	0,001
Ki-67–антитела к ТПО	-0,42	0,041
Ki-67– объем ЩЖ	0,59	<0,001
FGF–антитела к рецептору ТТГ	0,59	0,013
Ki-67–антитела к ТПО	0,65	0,005
FGF–антитела к рецептору ТТГ	0,63	0,001
FGF–объем ЩЖ	0,56	0,002
VEGF–антитела к рецептору ТТГ	0,74	0,002
Vcl–площадь фолликулов	-0,52	0,009
Vax–высота тиреоцитов	0,41	0,04
Fas-L–площадь фолликулов	0,54	0,03
Объем ЩЖ – антитела к рецептору ТТГ	0,56	0,004
Антитела к рецептору ТТГ - площадь фолликулов	-0,59	0,002
Объем ЩЖ – высота тиреоцитов	0,53	0,008

Проведенный корреляционный анализ выявил тесные взаимосвязи между иммунологическими и структурными показателями ЩЖ у больных ДТЗ. Выявлена значимая корреляционная связь между уровнем антител к рецептору ТТГ и объемом ЩЖ, объемом ЩЖ и высотой тиреоцитов, уровнем антител к

рецептору ТТГ и площадью фолликулов, уровнем антител к рецептору ТТГ и Vcl-2, уровнем антител к ТПО и Vcl-2, объемом ЩЖ и Вах, антителами к рецептору ТТГ и Вах, уровнем антител к ТПО и Ki-67, уровнем антител к рецептору ТТГ и FGF, уровнем антител к рецептору ТТГ и VEGF, объемом ЩЖ и FGF, FGF и Ki-67.

Выявленная положительная корреляционная связь у обследованных пациентов ДТЗ между уровнем антител к рецептору ТТГ с объемом ЩЖ и с антиапоптотическим белком Vcl-2 может свидетельствовать об активности пролиферативных механизмов, происходящих в ЩЖ. Была выявлена сильная корреляционная связь между уровнем антител к рТТГ и сосудистыми факторами роста (VEGF, FGF). Можно предположить, что чем активнее стимуляция рецептора ТТГ, тем более выражен синтез сосудистых факторов роста. Можно предположить, что усиление ангиогенеза в свою очередь приводит к еще большей пролиферации тиреоцитов и соответственно утяжелению течения ДТЗ, что подтверждается в представленной работе значимыми корреляционными связями между объемом ЩЖ, белком пролиферации Ki-67 и FGF.

Клинический пример 1

Больная С., 41 год. Поступила в клинику факультетской хирургии ПСПбГМУ в 2013 году. Из анамнеза известно, что диагноз ДТЗ был установлен в 2010 году, в течении трех лет получала лечение тиреостатиками (Тирозол). В связи с отсутствием ремиссии, увеличением объема ЩЖ с 31 см³ до 72 см³ пациентке было предложено оперативное лечение – субтотальная резекция ЩЖ. Гормоны ЩЖ на фоне медикаментозной терапии в норме (эутиреоз), уровень АТ рТТГ перед операцией был 8,5 Ед/л. Была прооперирована в плановом порядке. Послеоперационный период без осложнений. Выписана на 8-е сутки после оперативного вмешательства. Через 2 года ухудшение самочувствия – появились жалобы на сердцебиение, чувство жара, потливость. По результатам гормонального обследования был диагностирован рецидив тиреотоксикоза: уровень ТТГ составил 0,001 мкЕД/мл, св. Т4 – 27,2 пмоль/л. Ретроспективно

были проанализированы изучаемые морфометрические и иммуногистохимические показатели. При морфологическом исследовании были выявлены выраженные пролиферативные изменения: пролиферация эпителия с образованием сосочков, клетки кубической формы (рисунки 31-33). Была выражена экспрессия антиапоптотического белка Bcl-2 (рисунок 34), белка пролиферации Ki-67 (рисунок 35).

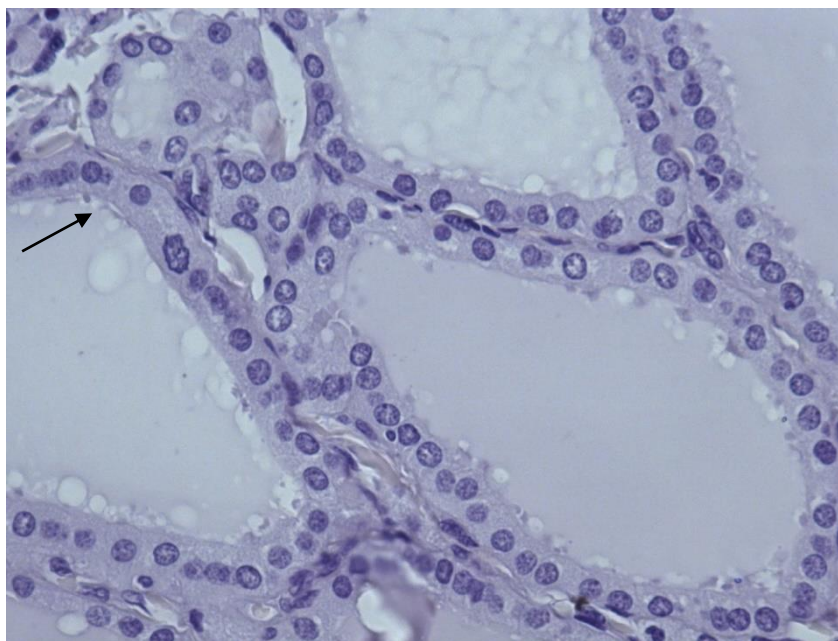


Рисунок 31 – Микрофотограмма препарата щитовидной железы. Больная С., 41 год. Проплиферация эпителия, формирование сосочков (указано стрелкой).

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

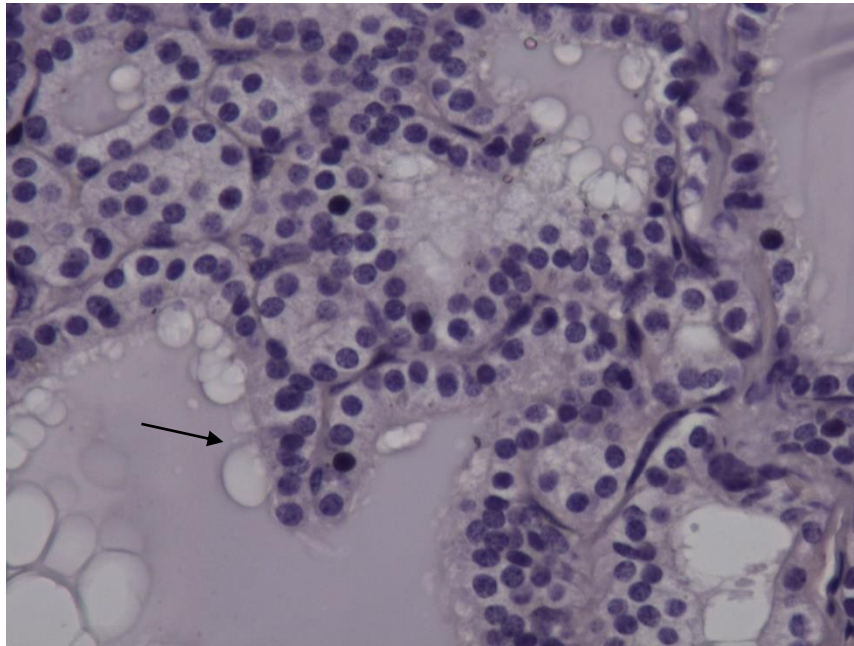


Рисунок 32 – Микрофотограмма препарата щитовидной железы. Больная С., 41 год. Проплиферация эпителия, формирование сосочков (указано стрелкой).

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

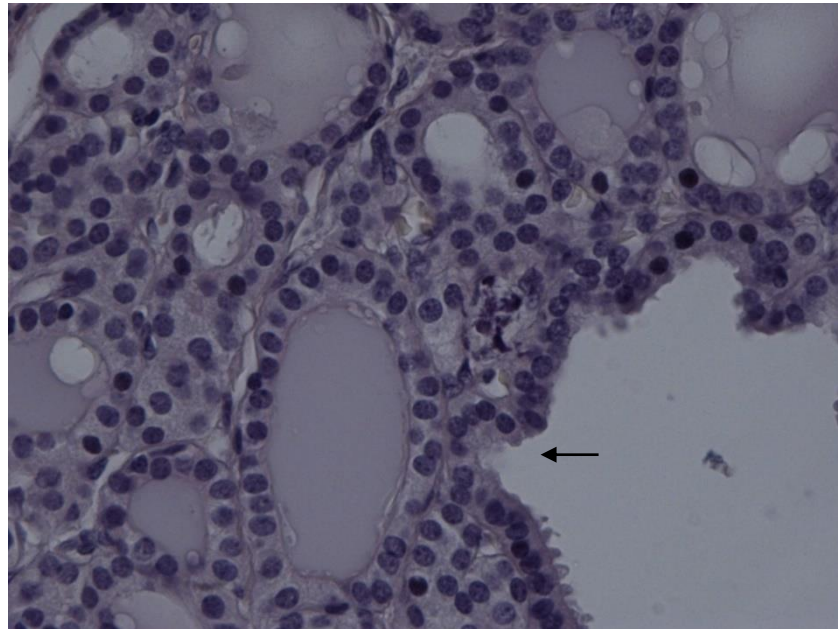


Рисунок 33 – Микрофотограмма препарата щитовидной железы. Больная С., 41 год. Проплиферация эпителия, формирование сосочков (указано стрелкой).

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

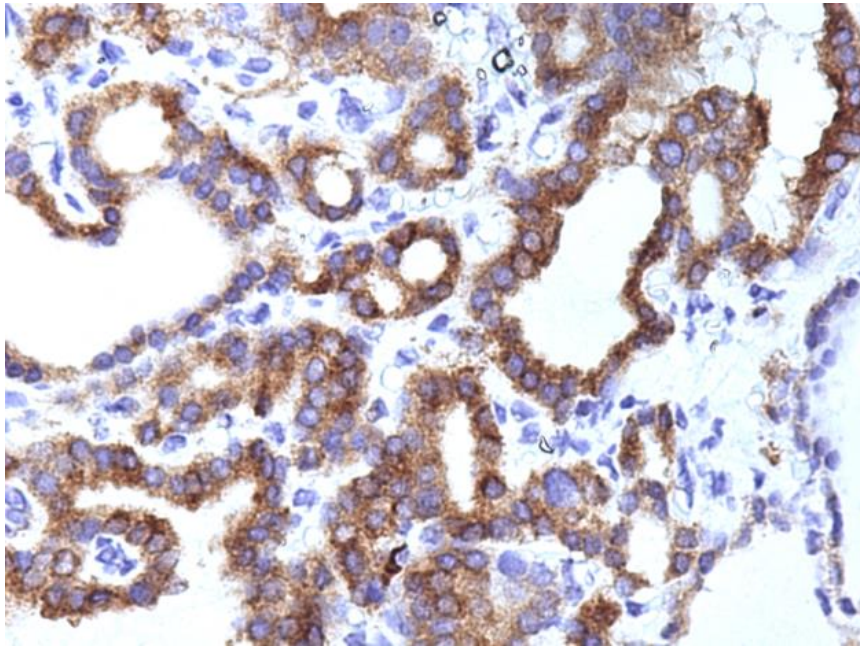


Рисунок 34 – Ядерная экспрессия белка Vcl-2 в ЦЖ. Больная С., 41 год.

Увеличение $\times 40$

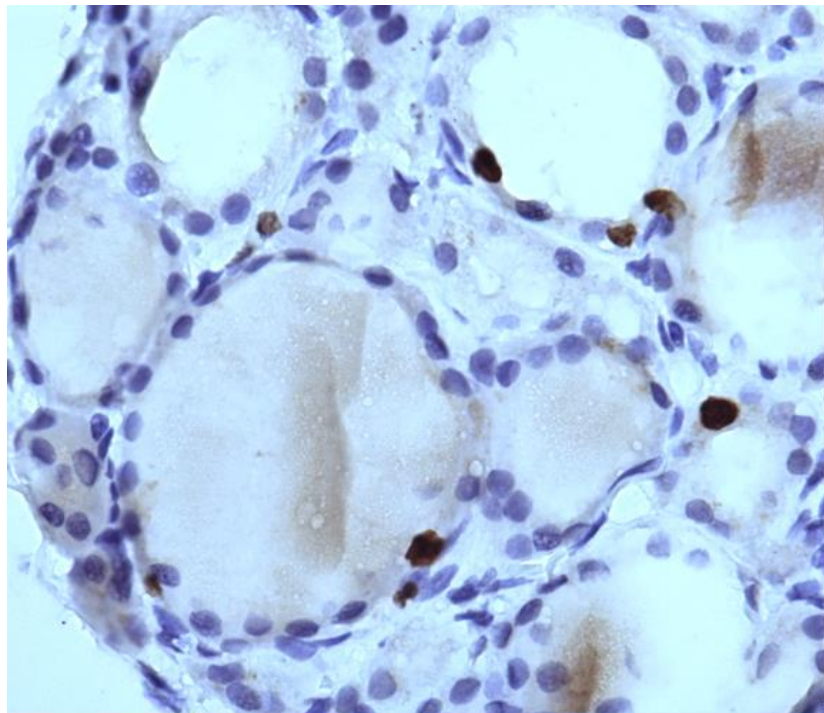


Рисунок 35 – Ядерная экспрессия белка Ki-67 в ЦЖ. Больная С., 41 год.

Увеличение $\times 40$

Клинический пример 2

Больная М., 45 лет. Поступила в клинику факультетской хирургии ПСПбГМУ в 2012 году. Из анамнеза известно, что диагноз ДТЗ был установлен в 2009 году, в течение двух лет получала лечение тиреостатиками (Мерказолил). В связи с рецидивом тиреотоксикоза после операции пациентке было предложено оперативное лечение – субтотальная резекция ЩЖ. Гормоны ЩЖ перед операцией на фоне медикаментозной терапии в норме (эутиреоз), уровень АТ рТТГ перед операцией был 2,1 Ед/л. Была прооперирована в плановом порядке, послеоперационный период без осложнений. Выписана на 7-е сутки после оперативного вмешательства. Через 1 год при плановом контроле ТТГ крови, выявлено повышение показателя до 7,1 мМЕл, таким образом, был диагностирован послеоперационный гипотиреоз. Была назначена заместительная терапия Эутироксом. Ретроспективно были проанализированы изучаемые морфометрические и иммуногистохимические показатели. При морфологическом исследовании фолликулы выстланы низким цилиндрическим эпителием, пролиферативные изменения были выражены слабо или отсутствовали (рисунки 36, 37).

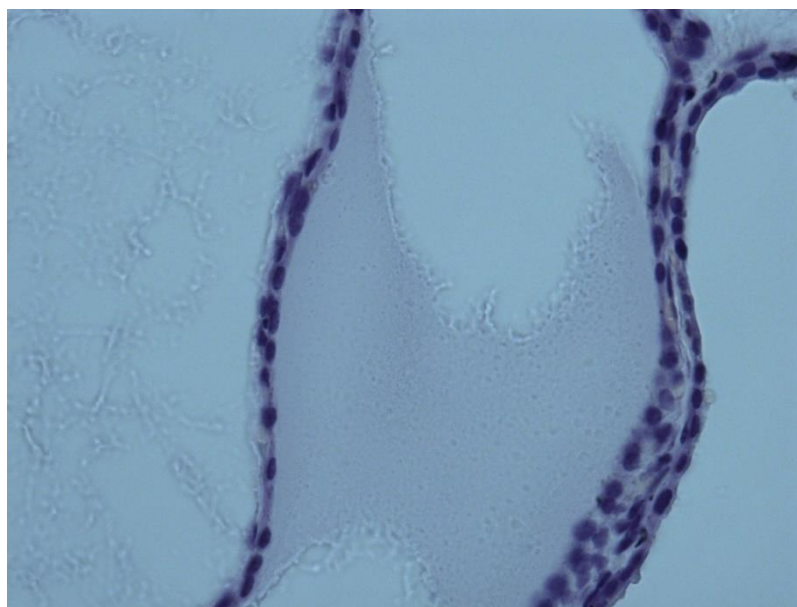


Рисунок 36 – Микрофотограмма препарата щитовидной железы. Больная М., 45 лет. Фолликулы, выстланные низким цилиндрическим эпителием (указано стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

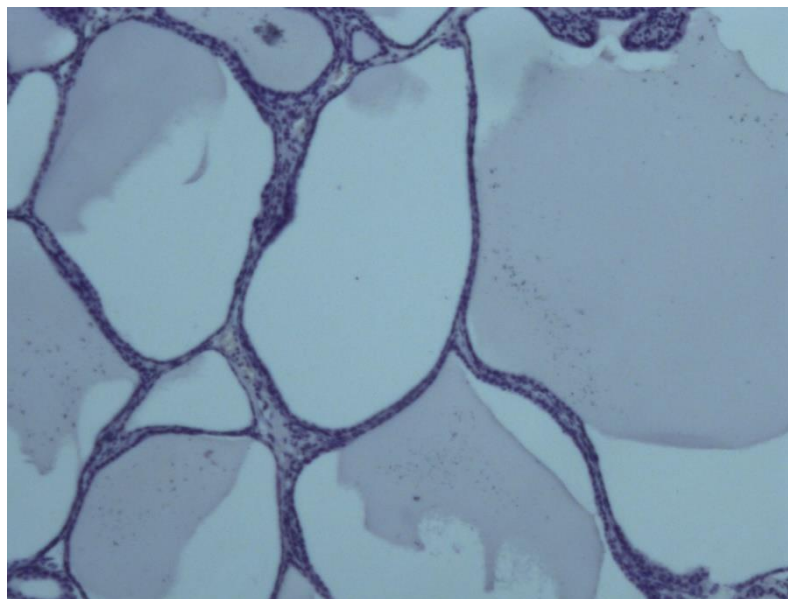


Рисунок 37 – Микрофотограмма препарата щитовидной железы. Больная М., 45 лет. Фолликулы, выстланные низким цилиндрическим эпителием (указано стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 20$

Анализ изучаемых ростовых факторов у этой больной выявил снижение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2, белка пролиферации Ki-67 (рисунки 38, 39).

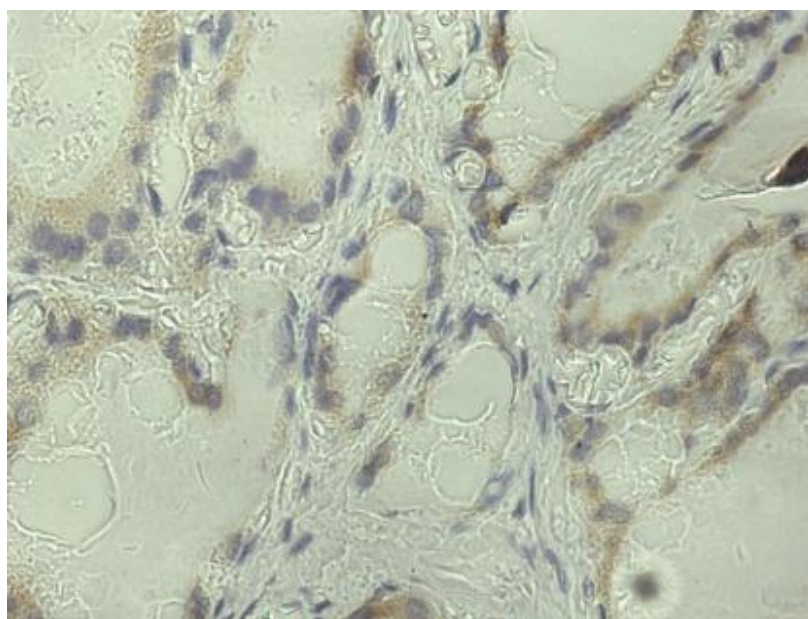


Рисунок 38 – Ядерная экспрессия белка Bcl-2 в ЩЖ. Больная М., 45 лет.
Увеличение $\times 40$

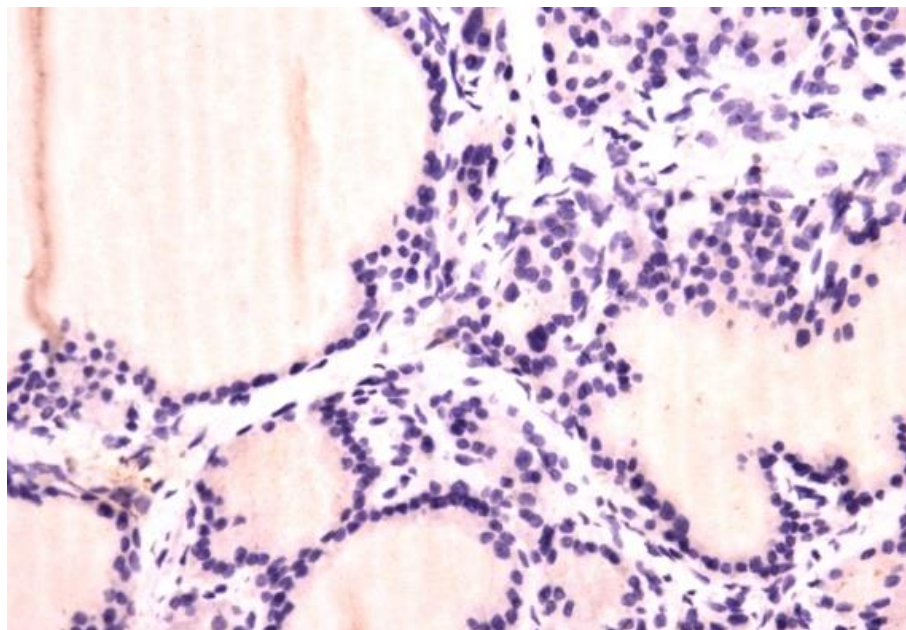


Рисунок 39 – Ядерная экспрессия белка Ki-67 в ЩЖ. Больная М., 45 лет.

Увеличение $\times 40$

Таким образом, изменения морфологических показателей ткани ЩЖ связаны с активностью аутоиммунного процесса. При высоком уровне АТ к рТТГ описаны морфологические изменения с преобладанием процессов трансформации и пролиферации эпителия. Это, в свою очередь, может приводить к развитию гиперпластических процессов ткани ЩЖ и на фоне сохраняющейся высокой аутоиммунной стимуляции вероятно к рецидиву ТТ при выполнении органосохраняющей операции.

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, Вах, Fas-L, CD 34, VEGF, FGF, каспазы-8, ММ).

При проведении регрессионного анализа была выявлена статистическая значимость модели, в которую были включены такие показатели, Vcl-2 и Ki-67 (таблица 52).

Таблица 52 – Факторы, влияющие на клиническое течение диффузного токсического зоба (результаты логистического регрессионного анализа)

Фактор	B	Стандартная ошибка	χ^2 Вальда	ОШ	ДИ	p
Vcl-2, (%)	0,551	0,231	5,696	1,735	1,104-2,728	0,017
Ki-67, (%)	0,679	0,251	7,324	1,972	1,206-3,226	0,007
Примечание – χ^2 Вальда – хи-квадрат Вальда; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; p– достоверность различий.						

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) (рисунок 40).

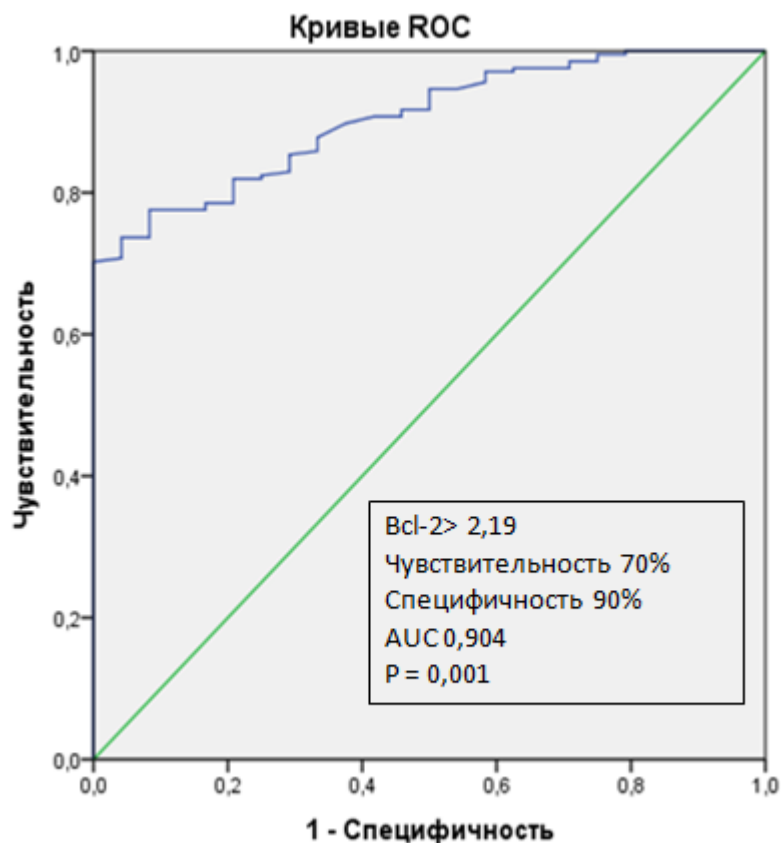


Рисунок 40 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива тиреотоксикоза после выполнения субтотальной резекции щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом для объема Vcl-2.

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) (рисунок 40). Результат ROC-анализа представлен на рисунке 41.

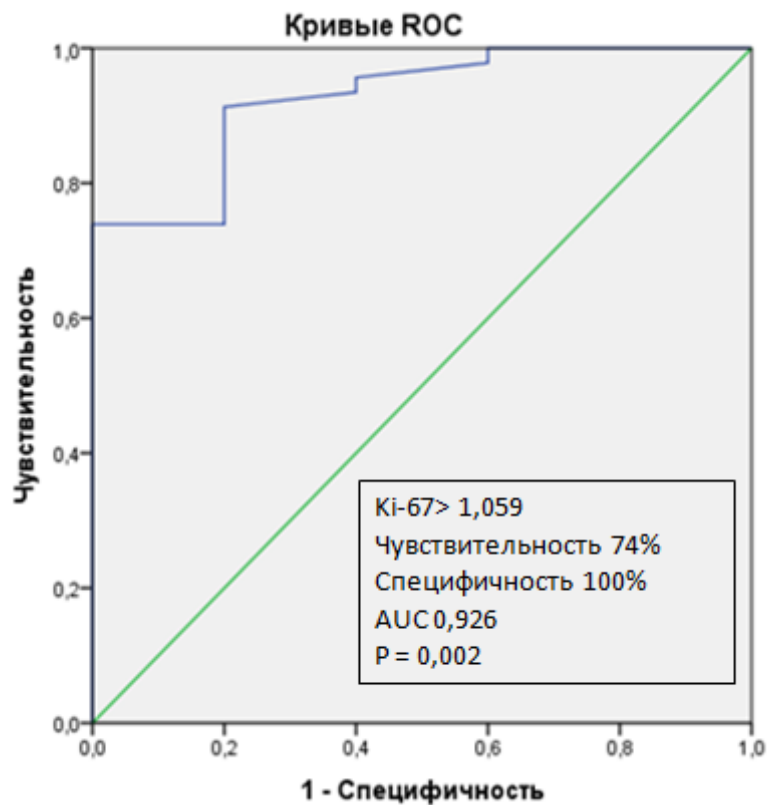


Рисунок 41 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива тиреотоксикоза после выполнения субтотальной резекции щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом для объема Ki-67.

Изучение механизмов рецидивирующего течения ДТЗ важно не только с теоретической точки зрения, но и имеет большое практическое значение. В настоящее время в связи с невозможностью прогнозировать послеоперационные исходы у больных ДТЗ при выполнении органосохраняющих операций выполняется экстирпация ЩЖ и пациенты после экстирпации ЩЖ пожизненно принимают L-тироксин. Выявленные в нашей работе особенности морфогенеза, экспрессии белков пролиферации, апоптоза и ангиогенеза позволяют выделить группу пациентов с ДТЗ с высоким риском развития послеоперационного ТТ. По результатам нашего исследования у больных ДТЗ послеоперационным ТТ была установлена значимо большая экспрессия:

антиапоптоического белка Bcl-2, маркера пролиферации Ki-67, сосудистых факторов роста (FGF, VEGF) и CD 34.

Полученные в исследовании данные позволяют более точно прогнозировать результаты оперативного лечения, персонифицировать лечебную тактику у больных ДТЗ.

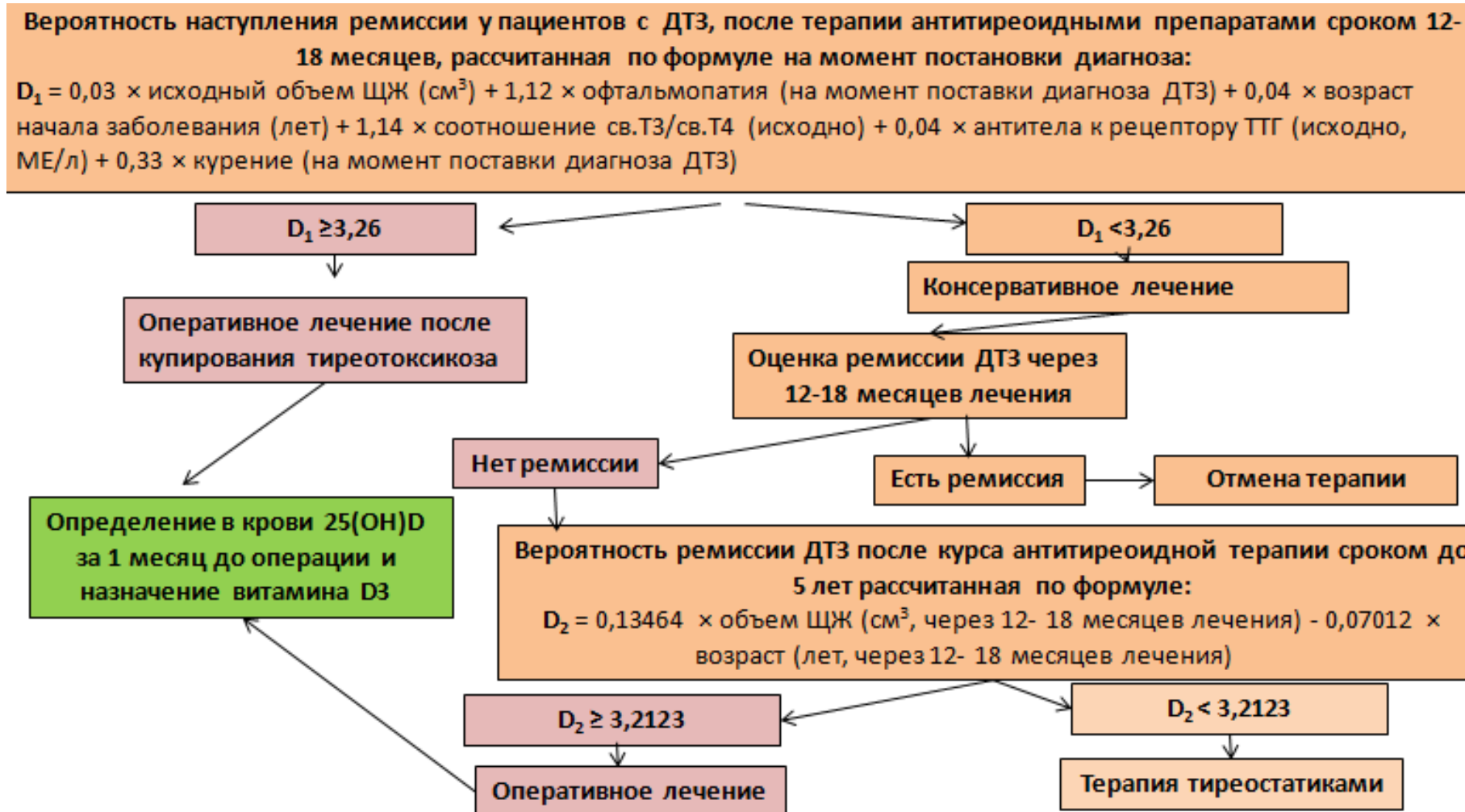
ГЛАВА 8

АЛГОРИТМ ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ У БОЛЬНЫХ 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 42). 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 42.



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

Рисунок 42 – Алгоритм лечебной тактики у пациентов с диффузным токсическим зобом

ГЛАВА 9

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение характера течения ДТЗ и оптимизация лечебной тактики является важной научной и клинической проблемой [229]. Длительно персистирующий тиреотоксикоз оказывает неблагоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему, фосфорно-кальциевый обмен и качество жизни [133, 167, 295, 368].

В настоящем исследовании представлен анализ клинико-лабораторных, инструментальных данных 722 больных ДТЗ за период с 1970 по 2018 гг. По данным проведенного исследования было показано, что процент пациентов ДТЗ со стойкой ремиссией заболевания за период с 1970 до 2011 года снижался. До 1990 года процент таких пациентов составил 43,5%, тогда как в период с 2006 до 2011 года ремиссия была установлена только у 13,0% пациентов ДТЗ. Также изменился интервал между окончанием антитиреоидной терапии и рецидивом тиреотоксикоза. До 1970 года время ремиссии составляло $225,88 \pm 32,38$ мес., в то время как в 2010-2018 годах – $7,83 \pm 1,56$ мес. Длительное наблюдение за пациентами ДТЗ указывает на то, что ремиссия заболевания достигается редко. Полученные результаты исследования по частоте рецидива ТТ у пациентов ДТЗ согласуются с литературными данными [378, 394, 395]. Чаще всего изменение характера течения ДТЗ регистрируется на фоне происходящих внешних событий с сильными стрессовыми факторами [240, 250, 374], например война [358], а также зависит от уровня йодобеспечения региона, в котором проживают больные [213, 253]. В проведенном исследовании у пациентов, имевших скрытое течение ДТЗ, на фоне увеличения потребления йода могла развиваться манифестация заболевания. До 1999 года Санкт-Петербург по данным литературы относился к регионам с пограничным уровнем йодобеспечения. В результате проводимых в городе профилактических мероприятий по устранению йододефицита, медиана йодурии в Санкт-Петербурге увеличилась со 104 до 148 мкг/л [52]. Таким образом, за последние десятилетия клиническое течение ДТЗ представляется

более агрессивным: уменьшилось количество ремиссий ДТЗ, выросло число больных с рецидивирующим течением заболевания.

Всем пациентам с ДТЗ, включенным в настоящее исследование, в качестве начальной терапии были назначены тиреостатики в монотерапии. В случае развития медикаментозного гипотиреоза к терапии был добавлен L-тироксин, в дозе необходимой для достижения эутиреоза (схема «блокируй-замещай»). В соответствии с существующими рекомендациями [35] консервативное лечение проводилось 12-18 месяцев. Далее в зависимости от выбранного режима терапии была проведена оценка характера течения заболевания. Статистически значимых различий выявлено не было. Схема «блокируй-замещай» впервые была использована профессором К. Hashizume в 1992 году. Однако в дальнейшем было показано, что число ремиссий ДТЗ не увеличивалось на фоне комбинированной терапии, а рецидивы тиреотоксикоза возникали более чем у 30% больных [87, 251].

После 12-18 месяцев консервативной терапии решается вопрос о вероятности ремиссии ДТЗ [186]. Представлялось актуальным выявить клинические и лабораторные показатели, определяющие вероятность развития рецидива диффузного токсического зоба после проведения антитиреоидной терапии. Для выявления параметров, которые могут влиять на клиническое течение ДТЗ, был проведен многофакторный анализ. По результатам проведенного анализа было установлено, что у больных с отсутствием ремиссии ДТЗ чаще выявлялась эндокринная офтальмопатия, исходно (до начала терапии) были выше уровни АТ к рТТГ, св.Т3 и соотношение св.Т3/св.Т4, чем в группе пациентов, в которой была достигнута ремиссия заболевания на фоне консервативной терапии. Пациенты с отсутствием ремиссии ДТЗ были моложе. Методом логистического регрессионного анализа и ROC-анализа были установлены пороговые значения для возраста дебюта заболевания, уровней АТ к рТТГ, св.Т3, св. Т4 и объема ЩЖ, при которых риск рецидива ТТ и отсутствия ремиссии ДТЗ был выше. Полученные результаты в целом согласуются с данными отечественной и зарубежной литературы [315]. Для оценки

клинического течения заболевания и прогноза вероятности ремиссии ДТЗ используется совокупность клинических и лабораторных показателей [372, 398]. Большинство авторов полагают, что прогностическая значимость каждого фактора в отдельности невелика [402].

На основании отбора наиболее информативных клинических и лабораторных признаков был проведен пошаговый дискриминантный анализ и создано уравнение для расчета вероятности ремиссии ДТЗ у каждого пациента. Для каждого пациента вычисляется индивидуальное значение D_1 . Если $D_1 \geq 3,26$, то пациент не будет иметь ремиссии ДТЗ (точность прогноза составила 75%). Представляется важным, что для оценки чувствительности и специфичности разработанной модели было выполнено проспективное открытое нерандомизированное неконтролируемое исследование, которое включало 198 больных с впервые диагностированным ДТЗ (106 (54%) женщин и 92 (46%) мужчин). Срок наблюдения составил 4 года. По результатам проведенного исследования было показано, что расчетная модель оценки вероятности ремиссии ДТЗ обладает высокой чувствительностью (81%) и специфичностью (73%). Имеющиеся в Европе модели прогноза ремиссии ДТЗ имеют меньшие показатели чувствительности и специфичности [17, 18]. В 2010 году X.G. Vos et al. предложили шкалу оценки вероятности ремиссии ДТЗ GRATE (Graves Recurrent Events After Therapy), вероятность рецидива ТТ в группе больных высокого риска по этой шкале составила 68%. По результатам шкалы CSS (Clinical Severity Score) было показано, что в период последующего наблюдения риск рецидива ТТ в группе больных с низкой его вероятностью был равен 36%, а если исходный риск рецидива ТТ был умеренным или высоким, в последующем он увеличивался до 50% и 59% соответственно.

Разработанная в проводимом исследовании расчетная модель вероятности ремиссии ДТЗ была сопоставлена с европейскими шкалами CSS и GREAT. Модели вероятности ремиссии ДТЗ CSS и GREAT были рассчитаны для групп больных, участвовавших в представленном исследовании. Чувствительность и специфичность шкалы CSS составила 64% и 35% соответственно.

Чувствительность и специфичность шкалы GRATE составили 66% и 39% соответственно. Таким образом, прогностическая модель вероятности ремиссии ДТЗ, разработанная в отделе эндокринологии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова имеет явное преимущество по чувствительности и специфичности перед европейскими шкалами CSS и GREAT и может быть использована в рутинной клинической практике.

Следует отметить, что современные рекомендации, как отечественные, так и зарубежные не предполагают моделирование прогноза ДТЗ после курса анти тиреоидной терапии. Следующий этап исследования был посвящен обследованию и наблюдению за пациентами ДТЗ, у которых отсутствовала ремиссия на фоне анти тиреоидной терапии проводимой в течение 12-18 месяцев. В этот этап исследования было включено 92 пациента ДТЗ. Анти тиреоидная терапия назначалась в поддерживающих дозах сроком до пяти лет. Через 5 лет у 72 (78,3%) больных ДТЗ была установлена ремиссия ДТЗ, у 20 (21,7%) больных ремиссии не было и им было рекомендовано оперативное лечение или радиоiodтерапия. На основании полученных данных была разработана математическая модель прогноза течения ДТЗ после проведения анти тиреоидной терапии сроком 12-18 месяцев. По результатам наблюдения за этой группой больных было рассчитано пороговое значение дискриминантной функции D_2 , которое составило 3,2123. Если значение D_2 , через 12-18 месяцев лечения тиреостатическими препаратами $\geq 3,2123$, то ремиссии заболевания не будет после проведения анти тиреоидной терапии в течение более длительного срока. При значении $D_2 < 3,2123$ – вероятность ремиссии ДТЗ высокая и таким пациентам рекомендовано назначение анти тиреоидной терапии на более длительный срок (до 5 лет). В настоящее время имеются работы, которые показывают преимущество длительной анти тиреоидной терапии, сроком до пяти лет [215]. Известно, что анти тиреоидные препараты блокируют синтез тиреоидных гормонов в щитовидной железе, что, возможно, способствует снижению иммуногенности ткани ЩЖ и увеличивают вероятность спонтанной ремиссии

ДТЗ. У больных с D_2 менее 3,2123 представляется целесообразным длительное лечение поддерживающими дозами тиреостатиков.

Генетический дефект в иммунной системе, а также внешние факторы лежат в основе патогенеза ДТЗ [92, 93, 187, 189]. С целью поиска генетических факторов риска развития ДТЗ неоднократно проводились исследования по выявлению генов-кандидатов предрасположенности к ДТЗ [85, 97, 201].

Были выявлены локусы генов, вариант которых может приводить к развитию ДТЗ [45, 105, 178, 286, 308, 356]. Варианты полиморфизмов генов интерлейкинов-6, 13 и микроРНК-125А, 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. Цитокины, которые синтезируются тиреоцитами могут играть важную роль как в развитии ДТЗ, так и в особенностях клинического течения [107, 162, 186, 272, 317, 323, 354]. Одним из изучаемых интерлейкинов является - ИЛ-6, который относится к цитокинам, обладающим плеiotропным механизмом действия. ИЛ-6 — это ключевое звено в иммунном ответе при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях [76, 176]. Экспрессия уровня ИЛ-6 может регулироваться вариантами гена *IL6*. Однонуклеотидные замены в разных областях гена *IL6* влияют и на степень его транскрипционной активности и на концентрацию кодируемого им белка. В связи с этим наибольший интерес вызывает однонуклеотидный вариант (ОНП) в промоторной области гена – С-572G [34, 36]. В проведенном исследовании у 87 пациентов ДТЗ до начала лечения антигипотиреоидными препаратами проводилась оценка концентрации ИЛ-6 в крови. По результатам исследования уровень ИЛ-6 у носителей генотипа С-572С был ниже, чем у носителей аллеля -572G (генотипы G-572G и С-572G) ($p=0,01$). Анализ клинического течения ДТЗ показал, что у носителей аллеля -572G (G-572G и G-572С генотипы) гена *IL6* вероятность отсутствия ремиссии ДТЗ и риск рецидива ТТ был выше в 3,6 раза, чем у носителей генотипа С-572С ($p=0,03$, ОШ=3,6, 95% ДИ 1,25-9,6). Кроме того, у больных ДТЗ, носителей аллеля -572G (G-572G и G-572С генотипы) гена *IL6*, были более высокие показатели

уровня св.Т3 и соотношения св.Т3/св.Т4 через 12-18 месяцев лечения, чем у носителей С-572 генотипа. Также у больных ДТЗ, носителей аллеля -572G (G-572G и G-572C генотипы) гена *IL6* был больший объем ЩЖ как на момент постановки диагноза ДТЗ, так и лечения сроком 12-18 месяцев.

По результатам проведенной работы наиболее часто встречался генотип G-572G гена *IL6*, как у женщин, так и у мужчин, наиболее редким вариантом было носительство генотипа С-572С. Значимых различий по частоте выявления различных аллельных вариантов изучаемого варианта гена *IL6* между группой пациентов ДТЗ и группой сравнения не выявлено. Таким образом, в данной работе не было выявлено взаимосвязи варианта С-572G гена *IL6* с предрасположенностью к ДТЗ.

Частоте встречаемости генотипов и аллельных вариантов С-572G гена *IL6* была изучена среди больных ДТЗ в китайской и японской популяциях [38, 39, 82, 121, 149]. Процентное соотношение генотипов в этих работах отличается от данных, представленных в настоящем исследовании. Вероятно, это связано с этническими различиями обследованных групп пациентов с ДТЗ. Изучения распределения аллельного варианта С-572G гена *IL6* среди пациентов с ДТЗ в разных областях РФ не проводились. Дальнейшее изучение распределения аллельных вариантов полиморфного варианта гена *IL6* среди больных ДТЗ в различных регионах РФ представляется крайне актуальным.

ОНП С-572G гена *IL6* связан с болезнями сердечно-сосудистой системы [35, 42, 181], системными заболеваниями соединительной ткани и аутоиммунными заболеваниями [41, 123]. Имеются исследования по изучению распределения генотипов среди здоровой популяции жителей как зарубежных стран, так и РФ. В работе Л.В. Топчиевой и соавторов было показано, что встречаемость аллельного варианта -572G выявлялась чаще, чем аллеля -572С [11]. Эти результаты согласуются с данными литературы, полученными среди российской популяции.

С целью идентификации генов предрасположенности к ДТЗ при проведении полногеномных ассоциативных поисков был выявлен локус на 5 хромосоме – 5q31-33. В данной зоне кодируются следующие цитокины - ИЛ-3, ИЛ-5, ИЛ-9,

ИЛ-13 [112]. Этот цитокиновый профиль регулирует секрецию иммуноглобулина Е, который, повышается у больных ДТЗ и ЭО. Таким образом, еще одним изучаемым цитокином является ИЛ-13. Известно, что ИЛ-13 секретируется Т-хелперами 2 типа [228]. Имеются работы по изучению различных ОНП гена *IL13*. Наибольший интерес вызывает вариант в промоторной области гена *IL13* – С-1112Т [112]. Имеются данные по оценке взаимосвязи риска развития ДТЗ и полиморфного варианта гена *IL13* [37, 38, 113, 114]. Эти данные носят противоречивый характер. Это может быть обусловлено с небольшими выборками обследованных, этническими особенностями пациентов с ДТЗ. В исследовании M.J. Simmonds et al. [98], не выявлено ассоциации между вариантом С-1112Т гена *IL13* и риском развития ДТЗ. В исследованиях на азиатской популяции больных ДТЗ, также не удалось выявить связи между предрасположенностью к ДТЗ и полиморфным вариантом гена [37, 39, 47]. В работе авторов Y. Hiromatsu et al. были получены противоположные данные. На японской популяции больных была выявлена ассоциация ОНП гена *IL13* (С-1112Т и G2044А) с предрасположенностью к ДТЗ. В исследовании N. Inoue et al. была изучена связь варианта гена *IL13* и риска развития ДТЗ, а также оценено клиническое течение заболевания у носителей различных генотипов изучаемого ОНП гена. По результатам данного исследования, пациенты со стойкой ремиссией ДТЗ чаще были носителями аллеля -1112Т гена *IL13* [39].

В проведенном исследовании пациенты с ДТЗ чаще были носителями аллеля -1112С гена *IL13*. В группе пациентов с ДТЗ и группе сравнения различий по частоте выявления генотипов и аллельных вариантов гена *IL13* не выявлено. Таким образом, связь ОНП С-1112Т с предрасположенностью к развитию ДТЗ в РФ отсутствует, что согласуется с литературными данными. Особенностью данного исследования было проведение оценки особенностей клинического течения у пациентов с ДТЗ, которые были носителями разных генотипов изучаемого ОНП гена *IL13*. Было установлено, что на момент постановки диагноза ДТЗ (до начала лечения) для носителей генотипа С-1112С были характерны более высокие уровни св.Т4, более низкий уровень ИЛ-13, чем у

носителей аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и С-1112Т) ОНП С-1112Т гена *IL13*. У гомозигот по аллелю -1112С дебют ДТЗ был в более молодом возрасте, чем у носителей аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и С-1112Т) – $40,2 \pm 1,1$ и $43,3 \pm 1,2$ лет, соответственно ($p=0,04$). У больных ДТЗ, носителей С-1112С генотипа, отмечалось увеличение объема ЩЖ в сравнении с изучаемым параметром у носителей С-1112Т и Т-1112Т генотипов. Было рассчитано, что риск рецидива ТТ был выше в 2,3 раза у больных ДТЗ, которые носителей генотипа С-1112С, по сравнению с больными носителями Т-1112Т и С-1112Т генотипов ($p=0,026$, ОШ=2,29, 95% ДИ 1,11-4,82). У пациентов с ДТЗ носительство аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и С-1112Т) связано и с повышенным синтезом ИЛ-13. Эти данные схожи с результатами, полученными в работе Hiromatsu et al. Возможно, что генетически детерминированное повышение синтеза ИЛ-13 (носительство аллеля -1112Т) приводит к наступлению ремиссии ТТ опосредованно влияя на другие провоспалительные ИЛ. Таким образом, ИЛ-13 выполняет протективную функцию при ДТЗ. Изучение этих закономерностей на больших группах больных ДТЗ в РФ является весьма актуальным.

Для изучения ассоциации ОНП гена *IL13* с предрасположенностью к ЭО. было обследовано 100 больных с ЭО. Большинство больных ДТЗ с ЭО были носителями аллеля -1112С (генотипы С-1112 и С-1112Т), но достоверного различия у пациентов с отсутствием или наличием ЭО в распределении генотипов и аллельных вариантов изучаемого варианта гена *IL13* установить не удалось. Таким образом, в представленном исследовании не выявлено взаимосвязи между риском развития ЭО и ОНП С-1112Т гена *IL13*. Полученные результаты согласуются с большинством работ, проведенных как среди европейской, так и среди азиатской популяции пациентов с ДТЗ.

Важный механизм эпигенетической регуляции экспрессии гена опосредуется при помощи микроРНК (miR) - малых некодирующих молекул [86, 198]. За последние годы в патогенезе и клиническом течении ДТЗ изучена роль нескольких микро-РНК. В исследованиях, выполненных на азиатской популяции пациентов с ДТЗ, выявлено, что некоторые варианты гена *MIR125A* могут

ассоциироваться с риском развития аутоиммунных заболеваний ЩЖ и влиять на его течение. Однако эти данные носят противоречивый характер.

В настоящем исследовании не было выявлено взаимосвязи между риском развития ДТЗ и вариантом rs12976445 гена *MIR125A*. Надо отметить, что распределение частот генотипов в представленной работе отличалось от китайской и японской популяции пациентов с ДТЗ, это обусловлено этническими особенностями обследованных пациентов [48, 148].

По результатам проведенного исследования ассоциаций между уровнями ТТГ, св.Т4, св.Т3, АТ к рТТГ, АТ к ТПО и различными вариантами rs1276445 гена *MIR125A* выявлено не было, что сопоставимо с данными, представленным в работе Y. Inoue et al. [48].

В работе H. Li et al. было показано, что miR125a влияет на экспрессию провоспалительных цитокинов - ИЛ-6, TNF- α [125, 138]. Также, предполагается, что происходит изменение первичной структуры miR125A в случае варианта rs12976445 гена *MIR125A*. В работе T.P. Lehmann et al., 2013 года было установлено, что у носителей аллеля С (генотипы СС и ТС) наблюдается снижение продукции miR125A и, следовательно, уровни провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-2, TNF- α) выше среди носителей аллеля С, чем у гомозигот ТТ [168]. Надо отметить, что оценки уровня ИЛ-6 у носителей разных генотипов варианта rs12976445 гена *MIR125A* в приведенных работах не выполнялось.

В проведенном исследовании у носителей разных генотипов варианта гена *MIR125A*, было выявлено, что у женщин носительство аллеля Т ассоциировано с более высокой концентрацией ИЛ-6 в крови, чем у гомозиготных носителей аллеля С. Было установлено, что через 12-18 месяцев проводимой анти тиреоидной терапии уровни св.Т4 и соотношение св.Т3/св.Т4 сохраняются выше, отмечалось увеличение объема ЩЖ у носителей аллеля Т варианта rs12976445 гена *MIR125A*, чем у носителей генотипа СС. Также было установлено, что риск рецидива ТТ и отсутствия ремиссии ДТЗ был в 2,6 раз выше у носителей генотипа ТТ варианта rs12976445 гена *MIR125A*, чем у

носителей аллеля С изучаемого однонуклеотидного варианта гена *MIR125A* ($p=0,011$, ОШ=2,6, 95% ДИ 1,22-5,57).

Далее представлялось важным определить послеоперационный прогноз рецидива тиреотоксикоза у больных ДТЗ в зависимости от клинико-лабораторных, иммуногистохимических показателей, объема оперативного вмешательства. С этой целью было обследовано 310 больных, оперированных по поводу ДТЗ. Все пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили пациенты, которым была выполнена субтотальная резекция ЩЖ ($n=192$). Им проводились общеклинические исследования и изучение функционального состояния ЩЖ до и после оперативного вмешательства с целью выявления предикторов возможного рецидива тиреотоксикоза после субтотальной резекции ЩЖ. Во вторую группу вошли пациенты, которым была выполнена тиреоидэктомия по поводу ДТЗ ($n=118$). У пациентов ДТЗ после субтотальной резекции ЩЖ стойкий эутиреоз сохранялся у 37,5% больных, гипотиреоз развился у 35,4%, а рецидив тиреотоксикоза у 27,1% больных. По данным зарубежных исследований было показано, что функциональное состояние ЩЖ у прооперированных больных ДТЗ было сопоставимо с результатами проведенного исследования [367].

В связи с большим процентом вероятности развития послеоперационного рецидива ТТ после субтотальной резекции ЩЖ в настоящее время как в РФ, так и в странах Европы выполняется экстирпация ЩЖ [212, 369, 371, 375]. Следствием такой операции является развитие гипотиреоза с назначением пожизненной заместительной терапии L-тироксина [254]. Независимо от характера перенесенной операции, пациентам с послеоперационным гипотиреозом назначалась заместительная гормонотерапия L-тироксина. Среди пациентов, которым была выполнена тиреоидэктомия, в 30,4% случаев, несмотря на прием L-тироксина, сохранялся гипотиреоз. Среднее значение ТТГ в группе этих пациентов составило $6,36 \pm 1,43$ мМЕ/л, что значительно выше нормальных значений. По данным литературы также имеются работы, в которых показано, что пациенты после перенесенной тиреоидэктомии имеют значимо больший уровень

ТТГ крови [214]. Изучение динамики ИМТ прооперированных больных показало, что у пациентов после субтотальной резекции ЩЖ 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 ($p=0,002$). Прибавка веса была высокой в обеих группах: в группе 1 – 20,75%, в группе 2 – 29,0%. У больных с прибавкой веса была выявлена положительная корреляционная связь между прибавкой веса в течение года и ТТГ крови через 1 год после операции ($p=0,02$, $r=0,247$). По литературным данным, некоторые авторы также отмечают прибавку веса у больных ДТЗ после перенесенной тиреоидэктомии в первый год наблюдения [370, 379], но имеются работы, в которых показано, что разницы в весе в зависимости от варианта оперативного лечения нет [226, 227]. Таким образом, экстирпация ЩЖ ассоциирована с некомпенсируемым гипотиреозом и прибавкой веса, что в целом отражает неблагоприятный метаболический профиль.

В последние годы изучаются причины развития такого послеоперационного осложнения тиреоидэктомии как гипокальциемия [237]. Представлялось актуальным оценить влияние предоперационного уровня 25(ОН)D на риск развития транзиторной гипокальциемии после тиреоидэктомии и разработать меры профилактики данного осложнения. Имеющиеся в настоящее время исследования по превенции послеоперационной гипокальциемии у прооперированных больных ДТЗ достаточно противоречивы. По данным работы J. Kirkby-Bott et al. было показано, что дефицит витамина D перед оперативным лечением способствует более высокой вероятности развития послеоперационной гипокальциемии [293], в то время как A. Jacques таких закономерностей не выявил [386]. В отечественных рекомендациях по лечению ДТЗ профилактического назначения витамина D для предотвращения гипокальциемии не представлено.

Для оценки обеспеченности витамином D больных диффузным токсическим зобом и влияния дефицита 25-гидроксивитамина D на развитие послеоперационной гипокальциемии был обследован 101 больной ДТЗ. Из них 67 больным была выполнена экстирпация ЩЖ, 34 больным – субтотальная резекция

ЩЖ по Е.С. Драчинской. Через 1 сутки был оценен кальциевый обмен. У 19 (28,4%) больных ДТЗ, которым была выполнена экстирпация ЩЖ, была выявлена послеоперационная гипокальциемия. При субтотальной резекции ЩЖ послеоперационная гипокальциемия была диагностирована только у 2,9% больных. Анализ 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. Анализ литературы показывает, что точных критериев прогнозирующих послеоперационную гипокальциемию нет. Часть исследователей полагают, что предоперационный уровень витамина D играет ключевую роль в профилактике этого осложнения [223]. Однако есть исследования, которые не выявили таких закономерностей [227].

Далее было проведено проспективное исследование эффективности терапии витамином D до экстирпации щитовидной железы, у больных диффузным токсическим зобом с различной исходной концентрацией 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови. В зависимости от концентрации витамина D в сыворотке крови были рекомендованы прием витамина D3 за месяц до оперативного лечения, доза которого определялась в соответствии с рекомендациями РФ [223]. На фоне профилактики витамином D перед операцией было показано, что у большинства больных (96%) в послеоперационном периоде сохранялся нормальный уровень кальция и ПТГ. Таким образом, было показано, что профилактическое назначение витамина D в дозах, соответствующих федеральным рекомендациям, предотвращает развитие послеоперационной гипокальциемии.

До настоящего времени патогенез ДТЗ не изучен. Представляется актуальным изучением процессов, происходящих в самой ЩЖ – апоптозом, пролиферацией, ангиогенезом [17, 170, 191, 210, 390].

По результатам проведенного обследования на основании выявленных особенностей морфометрии и экспрессии белков пролиферации, апоптоза и ангиогенеза удалось выделить группу пациентов ДТЗ с высоким риском развития послеоперационного ТТ. У пациентов ДТЗ с развитием ТТ после операции была повышена экспрессия антиапоптотического белка Bcl-2, маркера пролиферации

Ki-67, сосудистых факторов роста (FGF, VEGF) и CD 34 [42]. На основании дискриминантного анализа было установлено, что при относительной площади экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 более 6,1639 и белка пролиферации Ki-67 более 3,1161 вероятность развития послеоперационный ТТ составляет 87,5%. Выявленная положительная корреляционная связь антител к рТТГ с объемом ЩЖ и с антиапоптотическим белком Bcl-2 свидетельствует о пролиферативном потенциале ЩЖ у больных ДТЗ. Полученные результаты исследования представляются крайне важными для понимания механизмов развития ДТЗ и формирования ремиссии заболевания. В источниках литературы представлено крайне мало работ по изучению роли ростовых факторов в патогенезе ДТЗ и имеющиеся данные крайне противоречивы.

Имеются экспериментальные работы, в которых установлено, что сосудистый фактор роста - VEGF может секретироваться непосредственно фолликулярными клетками ЩЖ. Возможно, это происходит в результате стимуляции рецептора ТТГ [323]. В проведенной работе была выявлена сильная корреляционная связь между сосудистыми факторами роста (VEGF, FGF) и уровнем антител к рецептору ТТГ ($r=0,74$, $p=0,002$ и $r=0,59$ $p=0,001$, соответственно). Можно предположить, что чем выражение синтез сосудистых факторов роста, тем активнее стимуляция рецептора ТТГ. Возможно, усиление процессов ангиогенеза в свою очередь приводит к еще большей пролиферации тиреоцитов и соответственно утяжелению течения ДТЗ, что подтверждается в проведенной работе значимыми корреляционными связями между объемом ЩЖ и факторами роста (белком пролиферации Ki-67 и FGF) ($r=0,72$, $p=0,002$ и $r=0,53$, $p=0,001$, соответственно).

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 « 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 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 Bcl-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 « D_1 », 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 анти тиреоидными 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 анти тиреоидными препаратами продолжительностью 12-18 месяцев для определения дальнейшего прогноза заболевания рекомендовано рассчитать пороговое значение « D_2 » 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 радиоiodтерапии, 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 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	– однонуклеотидный полиморфизм
ОПЭ	– относительная площадь экспрессии
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
CC генотип	– последовательность нуклеиновых оснований цитозин-цитозин
CSS	– Clinical Severity Score
D 25(OH)D	– 25 – гидроксивитамина
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 – Нью-Йоркская классификация Функциональных классов
U	– Критерий Манна-Уитни

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдурахманов, Ш.М. Динамика иммунологических параметров больных тиреотоксикозом при расширенной резекции щитовидной железы с реимплантацией : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.36 / Абдурахманов Ш.М. – Ташкент, 2007. – 132 с.
2. Алексеева, О.А. Восстановление клинических и инструментальных показателей состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с диффузным токсическим зобом после ликвидации тиреотоксикоза / О.А. Алексеева, И.И. Шапошник, Д.В. Богданов // Альманах клинической медицины. – 2019. – Т. 47, № 2. – С. 138-148.
3. Андреев, М.М. Отдаленные результаты и качество жизни пациентов после хирургического лечения диффузного токсического зоба / М.М. Андреев // Аспирантский вестник Поволжья. – 2010. – № 7-8. – С. 153-157.
4. Адриановская, Н.В. Отдаленные результаты хирургического лечения больных диффузным токсическим зобом в эндемическом районе : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Адриановская Н.В. – Пермь, 2007. – 144 с.
5. Антитела к рецептору ТТГ в дифференциальной диагностике токсического зоба / В.В. Фадеев, Н.А. Абрамова, С.А. Прокофьев [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2005. – Т. 51, № 4. – С. 10-18.
6. Аристархов, В.Г. К вопросу об объеме оперативного вмешательства у больных с диффузным токсическим зобом / В.Г. Аристархов // Материалы симп. – Челябинск, 2010. – С. 23-25.
7. Аристархов, В.Г. О влиянии морфологической структуры оставшейся ткани щитовидной железы на послеоперационный гипотиреоз у больных с диффузным токсическим зобом (в помощь практическому врачу) / В.Г. Аристархов, М.И. Шилова, А.В. Квасов // Материалы II Україно-Российського симпозиума / под общ. ред. Ю.И. Караченцева, А.П. Калинина. – Харьков, 2011. – С. 26-31.

8. Аристархов, В.Г. Современное представление об оперативном лечении болезни Грейвса / В.Г. Аристархов, А.В. Квасов, Д.А. Пузин // Материалы конференции. – Рязань, 2012. – С. 75-77.
9. Аристархов, В.Г. Хирургическое лечение диффузного токсического зоба в свете профилактики послеоперационного гипотиреоза / В.Г. Аристархов // Современные аспекты хирургической эндокринологии : материалы XI (XIII) Российского симпозиума с международным участием по хирургической эндокринологии. – Санкт-Петербург, 2003. – С. 16-23.
10. Ассоциация полиморфных маркеров генов-кандидатов с риском манифестации эндокринной офтальмопатии у пациентов с болезнью Грейвса / Н.А. Петунина, Н.С. Мартиросян, Л.В. Трухина [и др.] // Терапевтический архив. – 2018. – Т. 90, № 10. – С. 35-39.
11. Аутоантитела, иммуноглобулины и цитокиновый профиль у пациентов с болезнью Грейвса и эндокринной офтальмопатией / Н.Ю. Свириденко, Е.Г. Бессмертная, И.М. Беловалова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2020. – Т. 66, № 5. – С. 15-23.
12. Балаболкин, М.И. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская. – Москва: Медицинское информационное агентство, 2008. – 752 с. – ISBN 978-5-8948-1673-9.
13. Бирюкова, Е.В. Болезнь Грейвса: современные подходы к лечению / Е.В. Бирюкова, Н.М. Платонова // Эффективная фармакотерапия. – 2018. – № 36. – С. 50-58.
14. Бовыкина, Г.А. Значение результатов интраоперационной цитоморфометрии при выборе объема операции у больных диффузным токсическим зобом / Г.А. Бовыкина, А.В. Меньков // Материалы симпозиума. – Саранск, 2007. – С. 32.
15. Болезни щитовидной железы / под ред. Л.И. Бравермана; пер. с англ. – Москва, 2000. – 432 с.

16. Ванушко, В.Э. Гипотиреоз как исход хирургического лечения диффузного токсического зоба / В.Э. Ванушко, В.В. Фадеев // Справочник поликлинического врача. – 2012. – № 6. – С. 43-45.
17. Варга, О.А. Апоптоз: понятие, механизмы реализации, значение / О.А. Варга, В.А. Рябков // Экология человека. – 2006. – № 7. – С. 28-32.
18. Введение в методологию исследования апоптоза при онкологических заболеваниях / В.Н. Цыган, А.М. Иванов, В.А. Бубнов [и др.]. – Санкт-Петербург: ВМедА, 2010. – 63 с.
19. Герасимов, Г.А. Йод и аутоиммунные заболевания щитовидной железы / Г.А. Герасимов, Н.А. Петунина // Проблемы эндокринологии. – 1993. – № 3. – С. 52-54.
20. Гудиева, М.Б. Пути улучшения результатов хирургического лечения диффузного токсического зоба : дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Гудиева М.Б. – Санкт-Петербург, 2017. – 103 с.
21. Дедов, И.И. Диффузный токсический зоб / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Г.Ф. Александрова // Клиническая медицина. – 1992. – № 5. – С. 65-70.
22. Дедов, И.И. Молекулярно-генетические аспекты новообразований щитовидной железы / И.И. Дедов, Е.А. Трошина, Н.В. Мазурина // Проблемы эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 22-30.
23. Дедов, И.И. Эндокринология / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, В.В. Фадеев. – Москва, 2008. – 432 с.
24. Дефицит витамина Д : клинические рекомендации / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко Ж.Е. Белая [и др.]; Российская ассоциация эндокринологов. – URL: https://rae-org.ru/system/files/documents/pdf/kr_deficit_vitamina_d_2021.pdf.
25. Диффузный токсический зоб : клинические рекомендации / В.А. Петеркова, О.Б. Безлепкина, Е.И. Нагаева [и др.]; Российская ассоциация эндокринологов. – Москва, 2021. – URL: https://www.endocrincentr.ru/sites/default/files/specialists/science/clinic-recomendations/klinreki_dtz_final.pdf (дата обращения 21.01.2022).

26. Жураев, Ш.Ш. Способ хирургического лечения диффузного токсического зоба / Ш.Ш. Жураев, Б.Б. Баймаханов, Ж.Н. Кыжыров // Хирургия. – 2009. – № 5. – С. 68-71.
27. Заболевания и состояния, связанные с дефицитом йода : клинические рекомендации / Ф.М. Абдулхабирова, О.Б. Безлепкина, Д.Н. Бровин [и др.]; Российская ассоциация эндокринологов; Российская ассоциация врачей ультразвуковой диагностики. – Москва, 2020. – URL: http://disuria.ru/_ld/9/985_kr20DefIodMZ.pdf (дата обращения: 03.02.2022).
28. Заболевания щитовидной железы и факторы, влияющие на их распространенность в популяции / С.А. Штандель, И.Р. Барияк, В.В. Хазиев, И.В. Гопкалов // Экологическая генетика человека. – 2010. – Т. VIII, № 1. – С. 42-49.
29. Изменение некоторых цитокинов в крови у больных диффузным токсическим зобом при лечении радиоактивным йодом / Н.А. Захарова, О.В. Серебрякова, В.И. Просьяник, М.К. Балаян // Забайкальский медицинский вестник. – 2013. – № 1. – С. 26-30.
30. Иммунорегуляторные белки и цитокины в крови пациентов с болезнью Грейвса / Т.П. Маклакова, В.Н. Зорина, А.В. Янышева [и др.] // Проблемы Эндокринологии. – 2019. – Т. 65, № 1. – С. 4-9.
31. Иоффе, И.В. Исследование концентрации иммунорегуляторных цитокинов сыворотки при аутоиммунных тиреопатиях / И.В. Иоффе, Е.П. Храброва, Е.А. Ляшенко // Украинский журнал клинической и лабораторной медицины. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 143-146.
32. Исмаилов, С.И. Качество жизни пациентов на фоне терапии тироксином и комбинацией тироксина и трийодтиронина после тотальной тиреоидэктомии вследствие болезни Грейвса / С.И. Исмаилов, А.М. Акбутаев, А.А. Элов // Международный эндокринологический журнал. – 2014. – Т. 61, № 5. – С. 52-55.
33. К механизмам пролиферации и гибели тиреоцитов при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы / В.И. Кандрор, И.В. Крайнова,

- И.В. Крюкова, Н.А. Мкртумова // Вестник РАМН. – 2006. – Т. 10, № 9. – С. 56-60.
34. Качество жизни пациентов с гипотиреозом / Т.Б. Моргунова, Ю. Мануйлова, М. Модьярова [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреологическая. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 62-67. – <https://doi.org/10.14341/ket20106262-67>.
35. Клинические рекомендации по диагностике и лечению тиреотоксикоза с диффузным зобом (диффузный токсический зоб, болезнь Грейвса-Базедова), узловым / многоузловым зобом / В.Э. Ванушко, Н.А. Петунина, П.О. Румянцев [и др.]; Российская ассоциация эндокринологов. – Москва, 2014. – URL: https://www.endocrincentr.ru/sites/default/files/specialists/science/clinic-recomendations/rec_dtz_2014.pdf (дата обращения 21.01.2022).
36. Кузнецов, Н.С. Гипопаратиреоз / Н.С. Кузнецов, Н.В. Латкина, О.В. Симакина // Эндокринная хирургия. – 2012. – № 3. – С. 47-52.
37. Лебедева, Д.В. Современные аспекты хирургического лечения диффузного токсического зоба / Д.В. Лебедева, Е.А. Ильичева, Е.Г. Григорьев // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2019. – Т. 158, № 3. – С. 28-35.
38. Макаров, И.В. Отдаленные результаты и их прогнозирование хирургическом лечении диффузного токсического зоба / И.В. Макаров, Р.А. Галкин, М.М. Андреев // Эндокринная хирургия. – 2013. – № 2. – С. 45-52.
39. Мануйлова, Ю.А. Прогностические факторы послеоперационной гипокальциемии / Ю.А. Мануйлова, М.А. Свиридонова, А.Е. Шведова // Клиническая и экспериментальная тиреологическая. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 42.
40. Масалова, Н.Н. Эффективность радиойодтерапии и основные предикторы отдаленных результатов при лечении тиреотоксикоза / Н.Н. Масалова, Р.В. Захаренко // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 35-37.
41. Мельниченко, Г.А. Современные подходы к лечению синдрома тиреотоксикоза / Г.А. Мельниченко, Н.Д. Петрова // Клиническая фармакология и терапия. – 1997. – № 1. – С. 60-65.

42. Молекулярно-биологические маркеры пролиферации, апоптоза и ангиогенеза при диффузном токсическом зобе / С.В. Дора, М.Г. Рыбакова, Д.А. Алексеев [и др.] // Архив патологии. – 2017. – Т. 79, № 6. – С. 3-7.
43. Некоторые вопросы консервативного и оперативного лечения диффузного токсического зоба / В.С. Полтырев, Б.Е. Циммерин, Н.А. Дроздова [и др.] // Актуальные вопросы клинической хирургии : сборник научных трудов. – Иваново, 1997. – Вып. 2. – С. 193-197.
44. Пантелеев, И.В. Морфофункциональное обоснование объема резекции щитовидной железы при диффузном токсическом зобе : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Пантелеев, И.В. – Рязань, 1996. – 22 с.
45. Пейкришвили, Н.Э. Полиморфные варианты генов интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК-125а у больных диффузным токсическим зобом: дис. ... канд. мед. наук: 24.01.22 / Пейкришвили Н.Э. – Санкт-Петербург, 2022. – 142 с.
46. Петрова, Н.Д. Отдаленные результаты консервативного и оперативного лечения больных диффузным токсическим зобом / Н.Д. Петрова, В.Н. Хомякова, Г.А. Мельниченко // Проблемы эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 12-18. – <https://doi.org/10.14341/probl11878>.
47. Петунина, Н.А. Болезнь Грейвса – нерешенные вопросы в лечении / Н.А. Петунина, Л.В. Трухина, Н.С. Мартиросян // Доктор.Ру. – 2014. – Т. 96, № 8-2. – С. 49-53.
48. Петунина, Н.А. Консервативное лечение диффузного токсического зоба: возможности, проблемы, пути решения / Н.А. Петунина // Эффективная фармакотерапия в эндокринологии. – 2009. – № 3. – С. 14-20.
49. Прогностическая ценность паратиреоидного гормона для диагностики и ранней послеоперационной гипокальциемии после тиреоидэктомии / О.В. Симакина, Н.В. Латкина, И.В. Ким, Н.С. Кузнецов // Эндокринная хирургия. – 2014. – № 2. – С. 4-8.

50. Профилактика послеоперационной гипокальциемии у больных диффузным токсическим зобом / М.Б. Гудиева, С.В. Дора, А.Р. Волкова [и др.] // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2016. – Т. XXIII, № 2. – С. 59-61.
51. Результаты мониторинга йододефицитных заболеваний в Российской Федерации (2000-2005 гг.) : руководство для врачей / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Н.М. Платонова [и др.]. – Москва, 2005. – 124 с.
52. Результаты эпидемиологического исследования по оценке йодного обеспечения Санкт-Петербурга / С.В. Дора, Е.И. Красильникова, А.Р. Волкова [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2011. – № 3. – С. 37-42.
53. Роль апоптоза в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / Ю.В. Недосекова, О.И. Уразова, Е.Б. Кравец, А.В. Чайковский // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 64-70. – <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2009-1-64-70>.
54. Романчишен, А.Ф. Хирургия щитовидной и околощитовидных желез / А.Ф. Романчишен. – Санкт-Петербург: ИПК Вести, 2009. – 412 с.
55. Рыжов, С.В. Молекулярные механизмы апоптотических процессов / С.В. Рыжов, В.В. Новиков // Российский биотерапевтический журнал. – 2002. – Т. 1, № 3. – С. 27-33.
56. Сахипов, Д.Р. Дифференцированная тактика при хирургическом лечении больных с диффузным токсическим зобом : дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Сахипов Д.Р. – Самара, 2016. – 155 с.
57. Симакина, О.В. Факторы, определяющие развитие гипокальциемии у пациентов с болезнью Грейвса после тиреоидэктомии / О.В. Симакина, Н.В. Латкина, Н.С. Кузнецов // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2014. – Т. 10, № 2. – С. 43-48.
58. Сипина, Л.В. Оценка минеральной плотности костной ткани и показателей костного метаболизма у женщин с диффузным токсическим зобом : дис. канд. мед. наук: 14.00.03 / Сипина Л.В. – Москва, 2003. – 124 с.

59. 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 СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2014. – Т. XXI, № 3. – С. 18-20.
60. Содержание интерлейкина-6 у здоровых и больных эссенциальной артериальной гипертензией с разными генотипами по $-572G>C$ полиморфному маркеру гена *IL6* / Л.В. Топчиева, И.Е. Малышева, И.В. Курбатова [и др.] // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. – 2015. – Т. 147, № 2. – С. 39-44.
61. Солдатова, Т.В. Ультразвуковое исследование щитовидной железы / Т.В. Солдатова // Эндокринология национальное руководство / под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – Москва, 2013. – Гл. 3. – С. 177-186.
62. Спиричев, В.Б. Что могут витамины. Парадоксы правильного питания / В.Б. Спиричев. – Москва: АСТ-Пресс Книга, 2011. – 288 с.
63. Сравнительная оценка предикторов гипокальциемии у больных раком щитовидной железы на до- и послеоперационном этапе / О.В. Симакина, Н.В. Латкина, Н.С. Кузнецов [и др.] // Эндокринная хирургия. – 2014. – № 3. – С. 14-21.
64. Суаришвили Н.З. Дисфункция щитовидной железы после оперативного лечения диффузного токсического зоба : автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.27 / Суаришвили Н.З. – Санкт-Петербург, 2008. – 22 с.
65. Трошина, Е.А. Профилактика йододефицитных заболеваний у беременных и кормящих. Современные рекомендации по использованию йодида калия / Е.А. Трошина // Гинекология. – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 72-76.
66. Тупикина, Е.Б. Морфофункциональная характеристика клеточных и тканевых компонентов щитовидной железы при ее патологии / Е.Б. Тупикина, С.А. Степанов, Н.В. Богомолова // Архив патологии. – 2000. – № 5. – С. 24-29.
67. Уитман, Э. Этиология, диагностика и лечение болезни Грейвса / Э. Уитман // Тиронет. – 2003. – № 2. – С. 2-11.

68. Фадеев, В.В. Болезнь Грейвса / В.В. Фадеев, Г.А. Мельниченко // Регулярные выпуски «РМ» № 6 от 03.03.2005. – С. 353.
69. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению эндокринной офтальмопатии при аутоиммунной патологии щитовидной железы / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Н.Ю. Свириденко [и др.]. – Москва, 2014. – 36 с.
70. Фомина, Д.В. Состояние иммунной системы при болезни Грейвса / Д.В. Фомина, М.А. Дудина, С.А. Догадин // Забайкальский медицинский вестник. – 2020. – № 3. – С. 131-140.
71. Хамнуева, Л.Ю. Синдром тиреотоксикоза: этиология, патогенез, диагностика, лечение : учебное пособие / Л.Ю. Хамнуева, Л.С. Андреева, Е.А. Хантакова. – Иркутск: ИГМУ, 2018. – 52 с.
72. Харинцева, С.В. Значение интерлейкинов 17, 23 и антител к рецептору тиреотропного гормона в патогенезе эндокринной офтальмопатии / С.В. Харинцева, Е.С. Таскина // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2018. – Т. 14, № 2. – С. 72-80.
73. Хирургическое лечение болезни Грейвса: консенсус эндокринолога и хирурга / Н.А. Петунина, Л.В. Трухина, Н.С. Мартиросян [и др.] // Доктор.Ру. – 2019. – Т. 159, № 4. – С. 46-48.
74. Хирургическое лечение диффузного токсического зоба и возможности прогнозирования его результатов / М.И. Балаболкин, П.С. Ветшев, Н.А. Петунина, Л.В. Трухина // Проблемы эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 4. – С. 34-38.
75. Хмельницкий, О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы / О.К. Хмельницкий. – Санкт-Петербург: Сотис, 2002. – 288 с.
76. Хрыщанович, В.Я. Гипотиреоз после гемитиреоидэктомии: частота встречаемости, факторы риска, лечение / В.Я. Хрыщанович, С.И. Третьяк, Е.В. Богомазова // Новости хирургии. – 2010. – Т. 18, № 6. – С. 21-28.

77. Цуркан, А.А. Влияние дефицита микроэлемента йода в окружающей среде на щитовидную железу / А.А. Цуркан // Молодежный инновационный вестник. – 2021. – Т. 1, № 51. – С. 99-104.
78. Цуркан, А.Ю. Иммунологическое прогнозирование результатов хирургического лечения диффузного токсического зоба / А.Ю. Цуркан // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. XIX, № 2. – С. 283-286.
79. Цуркан, А.Ю. Современные подходы к лечению рецидивного зоба / А.Ю. Цуркан // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т. XX, № 2. – С. 254- 257.
80. Шадлинский, В.Б. Особенности морфометрических показателей элементов паренхимы щитовидной железы при различных видах зоба / В.Б. Шадлинский, А.Б. Исаев, Г.М. Ганиева // Журнал анатомии и гистологии. – 2013. – Т. 2, № 2. – С. 56-59.
81. A critical review and meta-analysis of the association between overt hyperthyroidism and mortality / F. Brandt, A. Green, L. Hegedus, T.H. Brix // Eur. J. Endocrinol. – 2011. – Vol. 165. – P. 491-497.
82. A patient with stress-related onset and exacerbations of Graves disease / R. Vita, D. Lapa, G. Vita [et al.] // Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. – 2009. – Vol. 5, № 1. – P. 55-61. – doi: 10.1038/ncpendmet1006.
83. A second course of antithyroid drug therapy for recurrent Graves' disease: an experience in endocrine practice / X. Liu, W. Qiang, X. Liu [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2015. – Vol. 172, № 3. – P. 321-326. – doi: 10.1530/EJE-14-0704.
84. A systematic review and meta-analysis of total thyroidectomy versus bilateral subtotal thyroidectomy for Graves' disease / F. Feroci, M. Rettori, A. Borrelli [et al.] // Surgery. – 2014. – Vol. 155, № 3. – P. 529-540.
85. A 2013 European survey of clinical practice patterns in the management of Graves' disease / L. Bartalena, H.B. Burch, K.D. Burman, G.J. Kahaly // Clin. Endocrinol. (Oxf). – 2016. – Vol. 84, № 1. – P. 115-120.
86. Acute cardiovascular events and all-cause mortality in patients with hyperthyroidism: a population-based cohort study / O.M. Dekkers, E. Horváth-

- Puhó, S.C. Cannegieter [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 176, № 1. – P. 1-9.
87. Administration of thyroxine in treated Graves' disease' Effects on the level of antibodies to thyroid stimulating hormone receptors and on the risk of recurrence of hyperthyroidism / K. Hashizume, K. Ichikawa, A. Sakurai [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1991. – Vol. 324, № 14. – P. 947-953.
88. Age May Influence the Impact of TRAbs on Thyroid Function and Relapse-Risk in Patients With Graves Disease / A. Bano, E. Gan, C. Addison [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2019. – Vol. 104, № 5. – P. 1378-1385. – doi: 10.1210/jc.2018-01738.
89. Al-Adhami, A. Quality of life after surgery for Graves' disease: comparison of those having surgery intended to preserve thyroid function with those having ablative surgery / A. Al-Adhami, W. Craig, Z.H. Krukowski // *Thyroid.* – 2012. – Vol. 22, № 5. – P. 494-500.
90. Al-Heety, R.A. Correlation of circulating miRNA-146a-5p and let-7b expression with thyroid-stimulating hormone receptor antibody in patients with graves disease / R.A. Al-Heety, H.S. Al-Hadithi, K.M. Turki // *Gene Reports.* – 2020. – Vol. 19. – P. 100608.
91. American Thyroid Association Guidelines for diagnosis and management of hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis / D.S. Ross, H.B. Burch, D.S. Cooper [et al.] // *Thyroid.* – 2016. – Vol. 26, № 10. – P. 1343-1421.
92. Amr, K. Assessment of the -174G/C (rs1800795) and -572G/C (rs1800796) interleukin 6 gene polymorphisms in Egyptian patients with rheumatoid arthritis / K. Amr, R. El-Awady, H. Raslan // *Open Access Macedonian J. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 4, № 4. – P. 574-577.
93. An elevation of serum immunoglobulin E provides a new aspect of hyperthyroid Graves' disease / T. Yamada, A. Sato, I. Komiya [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metabolism.* – 2000. – Vol. 85. – P. 2775-2778.

94. Analysis of nearly one thousand mammalian mirtrons reveals novel features of dicer substrates / J. Wen, E. Ladewig, S. Shenker [et al.] // *PLOS Comput. Biol.* – 2015. – Vol. 11. – P. e1004441.
95. Analysis of the expression of Fas, FasL and Bcl-2 in the pathogenesis of autoimmune thyroid disorders / S. Chen, S.M. Fazle Akbar, Z. Zhen [et al.] // *Cell. Mol. Immunol.* – 2004. – Vol. 1, № 3. – P. 224-228.
96. Antithyroid drug regimen for treating Graves' hyperthyroidism / P. Abraham, A. Avenell, W.A Watson [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2010. – Vol. 2. – P. CD003420.
97. Antithyroid Drug Therapy for Graves' Disease and Implications for Recurrence / J. Liu, J. Fu, Y. Xu, G. Wang // *Int. J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 3813540. – doi: 10.1155/2017/3813540.
98. Antithyroid drug treatment for Graves' disease: baseline predictive models of relapse after treatment for a patient-tailored management / E. Masiello, G. Veronesi, D. Gallo [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2018. – Vol. 41, № 12. – P. 1425-1432.
99. Antithyroid drugs and Graves' disease: a prospective randomized evaluation of the efficacy of treatment duration / H. Allannic, R. Fauchet, J. Orgiazzi [et al.] // *J. Clin. Endocrinol Metab.* – 1990. – Vol. 70. – P. 675-679.
100. Antithyroid drugs in treatment of hyper-thyroidism in Graves' disease long-term follow-up of 434 patients / F.J. Headly, R.E. Young, S.J. Jones [et al.] // *Clin. Endocrinology.* – 1989. – Vol. 31. – P. 209-218.
101. Assessing American Thyroid Association Guidelines for Total Thyroidectomy in Graves' Disease / S. Akram, D.M. Elfenbein, H. Chen [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2020. – Vol. 245. – P. 64-71. – doi: 10.1016/j.jss.2019.07.029.
102. Association between IL6-174 G/C polymorphism and Graves' disease: a systematic review and meta-analysis / D. Imani, R. Rezaei, B. Razi [et al.] // *Acta Medica Iranica.* – 2017. – Vol. 55. – P. 665-671.
103. Association between interleukin-6/6R gene polymorphisms and coronary artery disease in Russian population: influence of interleukin-6/6R gene polymorphisms

- on inflammatory markers / V. Mitrokhin, A. Nikitin, O. Brovkina [et al.] // *J. Inflamm. Res.* – 2017. – Vol. 10. – P. 151.
104. Association between polymorphism within interleukin related genes and Graves' disease: a meta-analysis of 22 case-control studies / Y. Tu, G. Fan, T. Zeng [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 58. – P. 98993-99002. – doi: 10.18632/oncotarget.20114.
105. Association of CTLA-4 and IL13 gene polymorphisms with Graves' disease and ophthalmopathy in Chinese children / K.K. Chong, S.W. Chiang, G.W. Wong [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2008. – Vol. 49, № 6. – P. 2409-2415. – doi: 10.1167/iovs.07-1433.
106. Association of cytokine Th2 gene polymorphisms with autoimmune thyroid diseases in Tunisian population / S. Mestiri, I. Zaaber, O. Inoubli [et al.] // *Int. J. Immunogenetics.* – 2020. – Vol. 47, № 3. – P. 294-308. – doi: 10.1111/iji.12472.
107. Association of functional polymorphisms in promoter regions of IL5, IL6 and IL13 genes with development and prognosis of autoimmune thyroid diseases / N. Inoue, M. Watanabe, M. Morita [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2011. – Vol. 163. – P. 318-323.
108. Association of functional polymorphisms related to the transcriptional level of FOXP3 with prognosis of autoimmune thyroid diseases / N. Inoue, M. Watanabe, M. Morita [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2010. – Vol. 162. – P. 402-406.
109. Association of interleukin-6 gene polymorphism (rs1800796) with severity and functional status of osteoarthritis in elderly individuals / M.T. Fernandes, K.B. Fernandes, A.S. Marquez [et al.] // *Cytokine.* – 2015. – Vol. 75, № 2. – P. 316-320.
110. Association of interleukin-6 genetic polymorphisms and environment factors interactions with coronary artery disease in a chinese han population / H. Chen, S. Ding, X. Liu [et al.] // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2018. – Vol. 40. – P. 514-517.
111. Association of interleukin-6 polymorphisms with obesity or metabolic traits in young Mexican-Americans / K. Boeta-Lopez, J. Duran, D. Elizondo [et al.] // *Obes. Sci. Pract.* – 2017. – Vol. 4, № 1. – P. 85-96. – doi: 10.1002/osp4.138.

112. Association of PTPN22 polymorphism and its correlation with Graves' disease susceptibility in Polish adult population-A preliminary study / N. Wawrusiewicz-Kurylonek, O.M. Koper-Lenkiewicz, J. Gościk [et al.] // *Mol. Genet. Genomic Med.* – 2019. – Vol. 7, № 6. – P. e661. – doi: 10.1002/mgg3.661.
113. Association of PTPN22 1858C/T Polymorphism with Autoimmune Diseases: A Systematic Review and Bayesian Approach / K. Tizaoui, S.H. Kim, G.H. Jeong [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2019. – Vol. 8, № 3. – P. 347. – doi: 10.3390/jcm8030347.
114. Association of the polymorphisms of chemokine genes (IL8, RANTES, MIG, IP10, MCP1 and IL16) with the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases / M. Akahane, M. Watanabe, N. Inoue [et al.] // *Autoimmunity.* – 2016. – Vol. 49. – P. 312-319.
115. Association study between the IL4, IL13, IRF1 and UGRP1 genes in chromosomal 5q31 region and Chinese Graves' disease / Y. Yang, S. Lingling, J. Ying [et al.] // *J. Hum. Genet.* – 2005. – Vol. 50, № 11. – P. 574-582. – doi: 10.1007/s10038-005-0297-x.
116. Associations of single nucleotide polymorphisms in precursor-microRNA (miR)-125a and the expression of mature MIR125A with the development and prognosis of autoimmune thyroid diseases / Y. Inoue, M. Watanabe, N. Inoue [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2014. – Vol. 178, № 2. – P. 229-235. – doi: 10.1111/cei.12410.
117. Autoantibodies to the thyroid microsomal/thyroid peroxi-dase antigen are polyclonal and directed to several distinct antigenic sites / N.D. Doble, J.P. Banga, R. Pope [et al.] // *Immunology.* – 1988. – Vol. 64. – P. 23-29.
118. Avian VEGF-C: cloning, embryonic expression pattern and stimulation of the differentiation of VEGFR2-expressing endothelial cell precursors / A. Eichmann, C. Corbel, T. Jaffredo [et al.] // *Development .* – 1998. – Vol. 125, № 4. – P. 743-752.
119. Azizi, F. Long-Term Antithyroid Drug Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis / F. Azizi, R. Malboosbaf // *Thyroid.* – 2017. – Vol. 27. – P. 1223-1231.

120. Azizi, F. Safety of long-term antithyroid drug treatment? A systematic review / F. Azizi, R. Malboosbaf // *J. Endocrinol. Investig.* – 2019. – Vol. 42, № 11. – P. 1273-1283.
121. Bagnasco, M. Stress and autoimmune thyroid diseases / M. Bagnasco, I. Bossert, G. Pesce // *Neuroimmunomodulation.* – 2006. – Vol. 13. – P. 309-317.
122. Bartalena, L. Management of hyperthyroidism due to Graves' disease: frequently asked questions and answers (if any) / L. Bartalena, L. Chiovato, P. Vitti // *J. Endocrinol Invest.* – 2016. – Vol. 39, № 10. – P. 1105-1114.
123. Benvenga, S. Molecular mimicry and autoimmune thyroid disease / S. Benvenga, F. Guarneri // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2016. – Vol. 17. – P. 485-498.
124. Bobanga, I.D. Treatment of patients with Graves' disease and the appropriate extent of thyroidectomy / I.D. Bobanga, C.R. McHenry // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2019. – Vol. 33. – P. 101319. – doi: 10.1016/j.beem.2019.101319.
125. Body weight change is unpredictable after total thyroidectomy / R. Glick, P. Chang, P. Michail [et al.] // *ANZ J. Surg.* – 2018. – Vol. 88, № 3. – P. 162-166.
126. Body weight changes in a large cohort of patients subjected to thyroidectomy for a wide spectrum of thyroid diseases / M. Rotondi, L. Croce, C. Pallavicini [et al.] // *Endocr. Pract.* – 2014. – Vol. 20, № 11. – P. 1151-1158.
127. Borgerson, K.L. The role of Fas-mediated apoptosis in thyroid autoimmune disease / K.L. Borgerson, J.D. Bretz, J.R. Baker Jr // *Autoimmunity.* – 1999. – Vol. 30, № 4. – P. 251-264. – doi: 10.3109/08916939908993806.
128. Bulging at the root: an inflammatory tale / M.D. Benson, C.J. Lapedis, D.S. Adler [et al.] // *Circulation.* – 2016. – Vol. 133. – P. 1969-1977.
129. Burch, H.B. Anniversary review: antithyroid drug therapy: 70 years later / H.B. Burch, D.S. Cooper // *Eur. J. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 179, № 5. – P. R261-R274.
130. Burch, H.B. Management of Graves Disease: A Review / H.B. Burch, D.S. Cooper // *JAMA.* – 2015. – Vol. 314, № 23. – P. 2544-2554.

131. Calcagni, E. Stress system activity, innate and T helper cytokines, and susceptibility to immune-related diseases / E. Calcagni, I. Elenkov // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 1069. – P. 62-76.
132. Can we predict relapse in Graves' disease? Results from a systematic review and meta-analysis / T. Struja, H. Tehlberg, A. Kutz [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 176. – P. 87-97.
133. Cardiovascular Morbidity and Mortality After Treatment of Hyperthyroidism with Either Radioactive Iodine or Thyroidectomy / E. Ryödi, S. Metso, H. Huhtala [et al.] // *Thyroid.* – 2018. – Vol. 28, № 9. – P. 1111-1120. – doi: 10.1089/thy.2017.0461.
134. Change in newly diagnosed Graves' disease phenotype between the twentieth and the twenty-first centuries: meta-analysis and meta-regression / S. Ippolito, C. Cusini, P. Lasalvia [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2021. – Vol. 44. – P. 1707-1718. – doi: 10.1007/s40618-020-01479-z.
135. Change of surgical strategy for Graves' disease from subtotal thyroidectomy to total thyroidectomy: a single institutional experience / K. Sugino, M. Nagahama, W. Kitagawa [et al.] // *Endocr. J.* – 2019. – Vol. 66, № 2. – P. 181-186.
136. Chemokines in hyperthyroidism / S.M. Ferrari, I. Ruffilli, G. Elia [et al.] // *J. Clin. Transl. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 16. – P. 100196.
137. Chindavijak, S. Prediction of Hypocalcemia in Postoperative Total Thyroidectomy using Single Measurement of Intra-operative Parathyroid Hormone Level / S. Chindavijak // *J. Med. Assoc. Thai.* – 2007. – Vol. 90. – P. 1167-1171.
138. Chiovato, L. Stressful life events and Graves' disease / L. Chiovato, A. Pinchera // *Eur. J. Endocrinol.* – 1996. – Vol. 134. – P. 680-682.
139. Circulating microRNAs in autoimmune thyroid diseases / H. Yamada, M. Itoh, I. Hiratsuka, S. Hashimoto // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2014. – Vol. 81. – P. 276-281.
140. Clinical and Socioeconomic Factors Influence Treatment Decisions in Graves' Disease / D.M. Elfenbein, D.F. Schneider, J. Havlena [et al.] // *Ann. Surg. Oncol.* – 2015. – Vol. 22. – P. 1196-1199.

141. Cochrane Database Radioiodine therapy versus antithyroid medications for Graves' disease / C. Ma, J. Xie, H. Wang [et al.] // *Syst Rev.* – 2016. – Vol. 2. – P. CD010094. – doi: 10.1002/14651858.CD010094.pub2.
142. Comparative Effectiveness of Therapies for Graves' Hyperthyroidism: A Systematic Review and Network Meta-Analysis / V. Sundaresh, J.P. Brito, Z. Wang [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98, № 9. – P. 3671-3677.
143. Complications of thyroid surgery: analysis of a multicentric study on 14,934 patients operated on in Italy over 5 years / L. Rosato, N. Avenia, P. Bernante [et al.] // *World J. Surg.* – 2004. – Vol. 28. – P. 271-276.
144. Cooper, D.S. Antithyroid drugs for the treatment of hyperthyroidism caused by Graves' Disease / D.S. Cooper // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* – 1998. – Vol. 27. – P. 225-247.
145. Current trends in the management of Graves' disease / B. Solomon, D. Glinioer, R. Lagasse, L. Wartofsky // *J. Clin. Endocrin. Metab.* – 1992. – Vol. 70. – P. 1518-1524.
146. De Leo, S. Hyperthyroidism / S. De Leo, S.Y. Lee, L.E. Braverman // *Lancet.* – 2016. – Vol. 388. – P. 906-918.
147. Decreased expression of microRNA-125a-3p upregulates interleukin-23 receptor in patients with Hashimoto's thyroiditis / H. Peng, Y. Liu, J. Tian [et al.] // *Immunol. Res.* – 2015. – Vol. 62, № 2. – P. 129-136. – doi: 10.1007/s12026-015-8643-3.
148. Dedivitis, R.A. Hypoparathyroidism after thyroidectomy: prevention, assessment and management / R.A. Dedivitis, F.T. Aires, C.R. Cernea // *Curr. Opin Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2017. – Vol. 25, № 2. – P. 142-146.
149. Determinants of postoperative hypocalcemia in vitamin D deficient Graves' patients after total thyroidectomy / Y. Erbil, N.C. Ozbey, S. Sari [et al.] // *Am. J. Surg.* – 2011. – Vol. 201. – P. 685-691.
150. Disease presentation and remission rate in Graves disease treated with antithyroid drugs: is gender really a factor? / T. Diker-Cohen, H. Duskin-Bitan, I. Shimon [et al.] // *Endocr. Pract.* – 2019. – Vol. 25, № 1. – P. 43-50.

151. Disturbed Th1 and Th2 balance in patients with Graves' disease / Y. Eshaghkhani, M.H. Sanati, M. Nakhjavani [et al.] // *Minerva Endocrinol.* – 2016. – Vol. 41, № 1. – P. 28-36.
152. Do HLA-DR-typing and measurement of TSH-receptor antibodies help in the prediction of the clinical course of Graves' thyrotoxicosis after antithyroid drug treatment? / H. Schleusener, J. Schwander, G. Holl [et al.] // *Acta Endocrinol.* – 1987. – Vol. 281, Suppl. – P. 318-324.
153. Doi, Y. High prevalence of secondary hyperparathyroidism due to vitamin D insufficiency in Graves' disease / Y. Doi, H. Yamashita, S. Noguchi // *Clin. Calcium.* – 2005. – Vol. 15. – P. 68-70.
154. Dralle, H. Surgical assessment of complications after thyroid gland operations / H. Dralle // *Chirurg.* – 2015. – Vol. 86, № 1. – P. 70-77.
155. Dunn, D. Hypothyroidism in Women / D. Dunn, C. Turner // *Nurs Womens Health.* – 2016. – Vol. 20, № 1. – P. 93-98.
156. Dysregulation of microRNA-125a contributes to obesity-associated insulin resistance and dysregulates lipid metabolism in mice / R. Liu, M. Wang, E. Li [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Biol. Lipids.* – 2020. – Vol. 1865, № 5. – P. 158640. – doi: 10.1016/j.bbalip.2020.158640.
157. Effect of the 2004 mid niigata prefecture earthquake on patients with endocrine disorders / K. Kamoi, M. Tanaka, T. Ikarashi, M. Miyakoshi // *Endocr. J.* – 2006. – Vol. 53, № 4. – P. 511-521.
158. Effectiveness of preventative and other surgical measures on hypocalcemia following bilateral thyroid surgery: a systematic review and meta-analysis / R. Antakia, O. Edafe, L. Uttley, S.P. Balasubramanian // *Thyroid.* – 2015. – Vol. 25, № 1. – P. 95-106.
159. Endemic goiter and iodine deficiency status among Guinea-Bissau school-age children / A.C. Carvalho, A. Machado, A.R. Embalo, A.A. Bordalo // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2018. – Vol. 72, № 11. – P. 1576-1582.

160. Epidemiology, management and outcomes of Graves' disease-real life data / Y.S. Hussain, J.C. Hookham, A. Allahabadia, S.P. Balasubramanian // *Endocrine*. – 2017. – Vol. 56, № 3. – P. 568-578.
161. Epi-drugs in combination with immunotherapy: a new avenue to improve anticancer efficacy / R. Mazzone, C. Zwergel, A. Mai, S. Valente // *Clin. Epigenetics*. – 2017. – Vol. 9. – P. 59. – doi: 10.1186/s13148-017-0358-y.
162. Epigenetic profiling in CD4+ and CD8+ T cells from graves' disease patients reveals changes in genes associated with T cell receptor signaling / M. Limbach, M. Saare, L. Tserel [et al.] // *J. Autoimmun.* – 2016. – Vol. 67. – P. 46-56. – doi: 10.1016/j.jaut.2015.09.006.
163. Epigenetic silencing of miR-125b is required for normal B-cell development / G. Li, A.Y.-L. So, R. Sookram [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 131. – P. 1920-1930.
164. Epigenetics mechanisms mediate the MIR125A/BRMS1 axis to regulate invasion and metastasis in gastric cancer / J. Xiong, Y. Tu, Z. Feng [et al.] // *Onco Targets Ther.* – 2019. – Vol. 12. – P. 7513-7525. – doi: 10.2147/OTT.S210376.
165. Erbil, Y. Predictive value of age and serum parathormone and vitamin D3 levels for postoperative hypocalcemia after total thyroidectomy for nontoxic multinodular goiter / Y. Erbil, A. Bozbora, N. Ozbey // *Arch. Surg.* – 2007. – Vol. 142. – P. 1182-1187.
166. European Thyroid Association Guideline for the management of Graves' hyperthyroidism / G.J. Kahaly, L. Bartalena, L. Hegedüs [et al.] // *Eur. Thyroid J.* – 2018. – Vol. 7, № 4. – P. 167-186.
167. Excess mortality in treated and untreated hyperthyroidism is related to cumulative periods of low serum TSH / M. Lillevang-Johansen, B. Abrahamsen, H.L. Jørgensen [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2017. – Vol. 102. – P. 2301-2009.
168. Expression level and clinical significance of IL-2, IL6 and TGF- β in elderly patients with goiter and hyperthyroidism / L.F. Lv, H.Y. Jia, H.F. Zhang, Y.X. Hu // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2017. – Vol. 21. – P. 4680-4686.

169. Expression of Bcl-2 family proteins in thyrocytes from young patients with immune and nonimmune thyroid diseases / A. Bossowski, B. Czarnocka, K. Bardadin [et al.] // *Horm Res.* – 2008. – Vol. 70, № 3. – P. 155-156.
170. Expression of estrogen and progesterone receptors and Ki-67 antigen in Graves' disease and nodular goiter / P. Domsławski, M. Podhorska-Okolow, B. Pula [et al.] // *Folia Histochem Cytobiol.* – 2013. – Vol. 51, № 2. – P. 135-140.
171. Expression profiles and function of IL6 in polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells / M. Ibrahim, C. Lu, J.D. Klement [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2020. – Vol. 69, № 11. – P. 2233-2245. – doi: 10.1007/s00262-020-02620-w.
172. External validation of the GREAT score to predict relapse risk in Graves' disease: results from a multicenter, retrospective study with 741 patients / T. Struja, M. Kaeslin, F. Boesiger [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 176, № 4. – P. 413-419. – doi: 10.1530/eje-16-0986.
173. Extrathyroidal sites of autoantibody synthesis in Graves' disease / A.P. Weetman, A.M. McGregor, M.H. Wheeler, R. Hall / *Clin. Exp. Immunol.* – 1984. – Vol. 56. – P. 330.
174. Factors influencing the outcome of thyrostatic drug therapy in Graves' disease / B. Winsa, P.A. Dahlberg, R. Jansson [et al.] // *Acta Endocrinol (Copenh).* – 1990. – Vol. 122. – P. 622-728.
175. Fahad Al-Dhahri, S. Accuracy of postthyroidectomy parathyroid hormone and corrected calcium levels as early predictors of clinical hypocalcemia / S. Fahad Al-Dhahri, Y.A. Al-Ghonaim, A. Sulieman Terkawi // *J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2010. – Vol. 39. – P. 342-348.
176. Fas/FasL mediated apoptosis of thyrocytes in Graves' disease / N. Sera, A. Kawakami, T. Nakashima [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2001. – Vol. 124, № 2. – P. 197-207.
177. Feldt-Rasmussen, U. Analytical and clinical performance goals for testing autoanti-bodies to thyroperoxidase, thyroglobulin and thyrotropin receptor / U. Feldt-Rasmussen // *Clin.Chem.* – 1996. – Vol. 42. – P. 160-163.

178. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries: an autocrine mechanism contributing to angiogenesis / G. Seghezzi, S. Patel, C.J. Ren [et al.] // *J. Cell. Biol.* – 1998. – Vol. 141, № 7. – P. 1659-1673.
179. Fibroblast growth factor-2 free from extracellular matrix is increased in papillary thyroid carcinomas and Graves' thyroids / N. Emoto, H. Onose, H. Sugihara [et al.] // *Thyroid.* – 1998. – Vol. 8, № 6. – P. 491-497.
180. Frommer, L. Type 1 Diabetes and Autoimmune Thyroid Disease-The Genetic Link / L. Frommer, G.J. Kahaly // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2021. – Vol. 12. – P. 618213. – doi: 10.3389/fendo.2021.618213.
181. fT3:fT4 ratio in Graves' disease - correlation with TRAb level, goiter size and age of onset / M. Minasyan, A. Duleba, A. Smalarz [et al.] // *Folia Med. Cracov.* – 2020. – Vol. 60, № 2. – P. 15-27. – doi: 10.24425/fmc.2020.135010.
182. Gebert, L.F.R. Regulation of microRNA function in animals / L.F.R. Gebert, I.J. MacRae // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2019. – Vol. 20. – P. 21-37.
183. Gender Influences the Clinical Presentation and Long-Term Outcome of Graves Disease / F. Magri, F. Zerbini, M. Gaiti [et al.] // *Endocr. Pract.* – 2016. – Vol. 22, № 11. – P. 1336-1342. – doi: 10.4158/EP161350.OR.
184. Gene polymorphisms of pro-inflammatory cytokines may affect the risk of Graves' disease: a meta-analysis / P. Zhu, X. Wu, J. Zhou [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2021. – Vol. 44, № 2. – P. 311-319. – doi: 10.1007/s40618-020-01300-x.
185. General and Specific Genetic Polymorphism of Cytokines-Related Gene in AITD / C. Xiaoheng, M. Yizhou, H. Bei [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 3916395. – doi: 10.1155/2017/3916395.
186. Genetic predictors of the development and recurrence of Graves' disease / D. Vejrazkova, J. Vcelak, E. Vaclavikova [et al.] // *Physiol. Res.* – 2018. – Vol. 67, Suppl. 3. – P. S431-S439. – doi: 10.33549/physiolres.934018.
187. Genetic Study in a Large Cohort Supported Different Pathogenesis of Graves' Disease and Hashimoto's Hypothyroidism / Q.Y. Zhang, W. Liu, L. Li [et al.] //

- J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2020. – Vol. 105, № 7. – P. dgaa170. – doi: 10.1210/clinem/dgaa170.
188. Genome-wide DNA methylation analysis in Graves' disease / T.T. Cai, F.S. Muhali, R.H. Song [et al.] // *Genomics*. – 2015. – Vol. 105, № 4. – P. 204-210. – doi: 10.1016/j.ygeno.2015.01.001.
189. Genotype and phenotype predictors of relapse of Graves' disease after antithyroid drug withdrawal / P.W. Wang, I.Y. Chen, S.H. Juo [et al.] // *Eur. Thyroid J.* – 2013. – Vol. 1. – P. 251-258.
190. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism / P.N. Taylor, D. Albrecht, A. Scholz [et al.] // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 14, № 5. – P. 301-316. – doi: 10.1038/nrendo.2018.18.
191. Graves-Basedow disease goiter: a model of Bax-Bcl2 regulated apoptosis / F. Labat-Moleur, O. Chabre, C. Guillermet [et al.] // *Thyroid*. – 1999. – Vol. 9, № 5. – P. 483-492.
192. Graves' disease and gene polymorphism of TNF- α , IL-2, IL6, IL-12, and IFN- γ / M. Anvari, O. Khalilzadeh, A. Esteghamati [et al.] // *Endocrine*. – 2010. – Vol. 37. – P. 344-348.
193. Graves' disease: Clinical manifestations, immune pathogenesis (cytokines and chemokines) and therapy / A. Antonelli, P. Fallahi, G. Elia [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2020. – Vol. 34, № 1. – P. 101388. – doi: 10.1016/j.beem.2020.101388.
194. Graves' disease: Epidemiology, genetic and environmental risk factors and viruses / A. Antonelli, S.M. Ferrari, F. Ragusa [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2020. – Vol. 34, № 1. – P. 101387.
195. Graves' disease: introducing new genetic and epigenetic contributors / E. Razmara, M. Salehi, S. Aslani [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 2021. – Vol. 66, № 2. – P. R33-R55. – doi: 10.1530/JME-20-0078.
196. Graves' disease: Introduction, epidemiology, endogenous and environmental pathogenic factors / A. Antonelli, S.M. Ferrari, F. Ragusa [et al.] // *Ann. Endocrinol (Paris)*. – 2018. – Vol. 79, № 6. – P. 599-607.

197. Graves' disease / T.F. Davies, S. Andersen, R. Latif [et al.] // *Nature Rev. Dis. Primers.* – 2020. – Vol. 6, № 1. – doi: 10.1038/s41572-020-0184-y.
198. Heeb, L.E.M. Evolution and function of interleukin-4 receptor signaling in adaptive immunity and neutrophils / L.E.M. Heeb, C. Egholm, O. Boyman // *Genes Immun.* – 2020. – Vol. 21. – P. 143-149.
199. Hesarghatta Shyamasunder, A. Measuring TSH receptor antibody to influence treatment choices in Graves' disease / A. Hesarghatta Shyamasunder, P. Abraham // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2017. – Vol. 86, № 5. – P. 652-657. – doi: 10.1111/cen.13327.
200. Histone hypoacetylation and increased histone deacetylases in peripheral blood mononuclear cells from patients with graves' disease / N. Yan, J.Z. Zhou, J.A. Zhang [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 414. – P. 143-147. – doi: 10.1016/j.mce.2015.05.037.
201. Hwangbo, Y. Genome-Wide Association Studies of Autoimmune Thyroid Diseases, Thyroid Function, and Thyroid Cancer / Y. Hwangbo, Y.J. Park // *Endocrinol. Metab. (Seoul).* – 2018. – Vol. 33, № 2. – P. 175-184. – doi: 10.3803/EnM.2018.33.2.175.
202. Hypocalcaemia after total thyroidectomy for Graves' disease and for benign atoxic multinodular goitre / P. Hallgrímsson, E. Nordenström, A. Bergenfelz, M. Almquist // *Langenbecks Arch Surg.* – 2012. – Vol. 397, № 7. – P. 1133-1137.
203. Identification of apoptotic proteins in thyroid gland from patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis / A. Bossowski, B. Czarnocka, K. Bardadin [et al.] // *Autoimmunity.* – 2008. – Vol. 41, № 2. – P. 163-173. – doi: 10.1080/08916930701727749.
204. IL13 and chromosome 5q31-q33: problems of identifying association within regions of linkage to Graves' disease / M.J. Simmonds, J.M. Heward, J.A. Franklyn [et al.] // *Clin. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 63. – P. 695-697.
205. Imbalance of Th17/Treg in different subtypes of autoimmune thyroid diseases / C. Li, J. Yuan, Y.F. Zhu [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2016. – Vol. 40. – P. 245-252.

206. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far? / A. Pyzik, E. Grywalska, B. Matyjaszek-Matuszek, J. Roliński // *J. Immunol. Res.* – 2015. – 2015. – P. 979167. – doi: 10.1155/2015/979167.
207. Immune system effects on the endocrine system / M. Tsoli, G. Boutzios, G. Kaltsas [et al.]. – South Dartmouth (MA). MDText.com, Inc., 2000. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279139>.
208. Immunogenetics of autoimmune thyroid diseases: a comprehensive review / H.J. Lee, C.W. Li, S.S. Hammerstad [et al.] // *J. Autoimmun.* – 2015. – Vol. 64. – P. 82e90.
209. Immunoglobulin E-Mediated Autoimmunity / M. Maurer, S. Altrichter, O. Schmetzer [et al.] // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 689. – doi: 10.3389/fimmu.2018.00689.
210. Immunohistochemical analysis of bcl-2, Bax and Bak expression in thyroid glands from patients with Graves' disease / Y. Hiromatsu, H. Kaku, T. Mukai [et al.] // *Endocr. J.* – 2004. – Vol. 51, № 4. – P. 399-405.
211. Immunological aspects of autoimmune thyroid disease - Complex interplay between cells and cytokines / J. Luty, K. Ruckemann-Dziurdzińska, J.M. Witkowski, E. Bryl // *Cytokine.* – 2019. – Vol. 116. – P. 128-133. – doi: 10.1016/j.cyto.2019.01.003.
212. Impact of surgery versus medical management on cardiovascular manifestations in Graves disease / A. Elnahla, A.S. Attia, H.S. Khadra [et al.] // *Surgery.* – 2021. – Vol. 169, № 1. – P. 82-86. – doi: 10.1016/j.surg.2020.03.023.
213. Incidence of thyroid diseases in Zhejiang Province, China, after 15 years of salt iodization / F. Gu, G. Ding, X. Lou [et al.] // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2016. – Vol. 36. – P. 57-64.
214. Incidences of Hypothyroidism Associated With Surgical Procedures for Thyroid Disorders: A Nationwide Population-Based Study / S.H. Tsai, S.C. Chien, P.A. Nguyen [et al.] // *Front Pharmacol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1378. – doi: 10.3389/fphar.2019.01378.

215. Increased Remission Rates After Long-Term Methimazole Therapy in Patients with Graves' Disease: Results of a Randomized Clinical Trial / F. Azizi, A. Amouzegar, M. Tohidi [et al.] // *Thyroid*. – 2019. – Vol. 29, № 9. – P. 1192-1200. – doi: 10.1089/thy.2019.0180.
216. Increased risk of postoperative complications after total thyroidectomy with Graves' disease / H. Kwon, J.K. Kim, W. Lim [et al.] // *Head Neck*. – 2019. – Vol. 41, № 2. – P. 281-285. – doi: 10.1002/hed.25484.
217. Infections, genetic and environmental factors in pathogenesis of autoimmune thyroid diseases / S.K. Shukla, G. Singh, S. Ahmad, P. Pant // *Microb. Pathog.* – 2018. – Vol. 116. – P. 279-288. – doi: 10.1016/j.micpath.2018.01.004.
218. Infectome: A platform to trace infectious triggers of autoimmunity / D.P. Bogdanos, D.S. Smyk, P. Invernizzi [et al.] // *Autoimmunity Rev.* – 2013. – Vol. 12. – P. 726-740.
219. Infertility and hypothyroidism / S.G. Perminova, M.H. Ibragimova, T.A. Nazarenko [et al.] // *Problems of women's health*. – 2008. – Vol. 3, № 2. – P. 65-75. (In Russ).
220. Integrated miRNA and mRNA expression profiling identifies novel targets and pathological mechanisms in autoimmune thyroid diseases / R. Martínez-Hernández, A. Serrano-Somavilla, A. Ramos-Leví [et al.] // *EBioMedicine*. – 2019. – Vol. 50. – P. 329-342. – doi: 10.1016/j.ebiom.2019.10.061.
221. Interleukin 13 gene polymorphism and susceptibility to asthma: a meta-regression and meta-analysis / M. Omraninava, M.M. Eslami, S. Aslani [et al.] // *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* – 2020. – doi: 10.23822/EurAnnACI.1764-1489.180 (Online ahead of print).
222. Interleukin-13 gene polymorphisms confer the susceptibility of Japanese populations to Graves' disease / Y. Hiromatsu, T. Fukutani, M. Ichimura [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005. – Vol. 90. – P. 296-301.
223. Interleukin-13 gene polymorphisms in patients with Graves' disease / T. Bednarczuk, G. Placha, K. Jazdzewski [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. – 2003. – Vol. 59. – P. 519-525.

224. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses / A. Minty, P. Chalon, J.M. Derocq [et al.] // *Nature*. – 1993. – Vol. 362, № 6417. – P. 248-250.
225. Interleukin-13 Promoter Genotypes and Taiwanese Breast Cancer Susceptibility / C.L. Tsai, C.W. Tsai, W.S. Chang [et al.] // *Anticancer Res.* – 2020. – Vol. 40, № 12. – P. 6743-6749. – doi: 10.21873/anticancerres.14697.
226. Intraindividual variation of microRNA expression levels in plasma and peripheral blood mononuclear cells and the associations of these levels with the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases / H. Otsu, M. Watanabe, N. Inoue [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2017. – Vol. 55, № 5. – P. 626-635.
227. Jonklaas, J. Weight changes in euthyroid patients undergoing thyroidectomy / J. Jonklaas, H. Nsouli-Maktabi // *Thyroid*. – 2011. – Vol. 21, № 12. – P. 1343-1351.
228. Junttila, I.S. Tuning the Cytokine Responses: An Update on Interleukin (IL)-4 and IL13 Receptor Complexes / I.S. Junttila // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 888.
229. Kahaly, G.J. Management of Graves Thyroidal and Extrathyroidal Disease: An Update / G.J. Kahaly // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2020. – Vol. 105, № 12. – P. 3704-3720.
230. Khryshchanovich, V.Ya. The estimation of the quality of life parameters of patients with primary postoperative hypothyroidism in – dependence on L-thyroxine dosage / V.Ya. Khryshchanovich // *Medical journal*. – 2005. – Vol. 1, № 11. – P. 103-105. (In Russ).
231. Kobayashi, H. RISC assembly: coordination between small RNAs and Argonaute proteins / H. Kobayashi, Y. Tomari // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – Vol. 1859. – P. 71-81.
232. Koyyada, A. Role of hypothyroidism and associated pathways in pregnancy and infertility: Clinical insights / A. Koyyada, P. Orsu // *Tzu Chi Med. J.* – 2020. – Vol. 32, № 4. – P. 312-317.

233. Lack of association between pro-inflammatory cytokine (IL6, IL-8 and TNF-alpha) gene polymorphisms and Graves' disease / R.H. Chen, W.C. Chen, T.Y. Wang [et al.] // *Int. J. Immunogenet.* – 2005. – Vol. 32, № 6. – P. 343-347. – doi: 10.1111/j.1744-313X.2005.00536.x.
234. Lack of Association between the IL13 C-1112T, G2044A Polymorphisms and Graves' Disease Risk: Evidence from a Meta-analysis / M.-L. Chen, N. Liao, H. Zhao [et al.] // *Immunol. Invest.* – 2014. – Vol. 43, № 4. – P. 337-348. – doi: 10.3109/08820139.2013.879170.
235. Lee, J.S. Interleukin 6 gene polymorphism in patients with degenerative lumbar scoliosis: A cohort study / J.S. Lee, J.K. Shin, T.S. Goh // *Eur. Spine J.* – 2018. – Vol. 27. – P. 607-612. – doi: 10.1007/s00586-017-5074-y.
236. Lee, R.C. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* / R.C. Lee, R.L. Feinbaum, V. Ambros // *Cell.* – 1993. – Vol. 75, № 5. – P. 843-854. – doi: 10.1016/0092-8674(93)90529-y.
237. Left-shifted relation between calcium and parathyroid hormone in Graves' disease / M. Annerbo, H. Hultin, P. Stålberg, P. Hellman // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99, № 2. – P. 545-51. – doi: 10.1210/jc.2013-2500.
238. Levothyroxine treatment of subclinical hypothyroidism, fatal and nonfatal cardiovascular events, and mortality / S. Razvi, J.U. Weaver, T.J. Butler, S.H. Pearce // *Arch. Intern. Med.* – 2012. – Vol. 172, № 10. – P. 811-817.
239. Li, H. Elevated Serum Inflammatory Cytokines in Lupus Nephritis Patients, in Association with Promoted *hsa-MIR125A* / H. Li, G. Ding // *Clin. Lab.* – 2016. – Vol. 62, № 4. – P. 631-638. – doi: 10.7754/clin.lab.2015.150812.
240. Lidz, T. Emotional factors in the etiology of hyperthyroidism. The report of a preliminary survey / T. Lidz // *Psychosomatic Medicine.* – 1949. – Vol. 11. – P. 2-8.
241. Liu, X. Valuable predictive features of relapse of Graves' disease after antithyroid drug treatment / X. Liu, B. Shi, H. Li // *Ann. d'Endocrinol.* – 2015. – Vol. 76, № 6. – P. 679-683.

242. Lloyd, C.M. Type 2 immunity: Expanding our view / C.M. Lloyd, R.J. Snelgrove // *Sci. Immunol.* – 2018. – Vol. 3, № 25. – P. eaat1604. – doi: 10.1126/sciimmunol.aat1604.
243. Long-term changes in parathyroid function after subtotal thyroidectomy for graves' disease / Y. Yano, M. Nagahama, K. Sugino [et al.] // *World J. Surg.* – 2008. – Vol. 32, № 12. – P. 2612-2616.
244. Long-Term effect of surgery in graves' disease: 20 years experience in a single institution / T.Y. Sung, Y.M. Lee, J.H. Yoon [et al.] // *Int. J. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 542641. – P. 6. – doi: 10.1155/2015/542641.
245. Long-term remission following antithyroid drug withdrawal in patients with Graves' hyperthyroidism: parameters with prognostic value / R.V. García-Mayor, P. Álvarez-Vázquez, E. Fluiters [et al.] // *Endocrine.* – 2019. – Vol. 63. – P. 316-322. – doi: 10.1007/s12020-018-1785-z.
246. Management of Graves' disease during pregnancy in the Poitou-Charentes Region / C. Hawken, M. Sarreau, M. Bernardin [et al.] // *Ann. Endocrinol. (Paris).* – 2016. – Vol. 77, № 5. – P. 570-577.
247. Marcocci, C. Oxidative stress in Graves' disease / C. Marcocci, M. Leo, M.A. Altea // *Eur. Thyroid J.* – 2012. – Vol. 1. – P. 80-87.
248. McLachlan, S.M. Breaking tolerance to thyroid antigens: changing concepts in thyroid autoimmunity / S.M. McLachlan, B. Rapoport // *Endocr. Rev.* – 2014. – Vol. 35. – P. 59e105.
249. Mdarty, D.G. Subsequential assessment during drug treatment of thyrotoxicosis / D.G. Mdarty, P. Horton. A.D. Pharmakiotis // *Clinical Endocrinology.* – 1973. – Vol. 2. – P. 43-50.
250. Mechanisms in endocrinology. Role of emotional stress in the pathophysiology of Graves' disease / G. Falgarone, H.M. Heshmati, R. Cohen, G. Reach // *Eur. J. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 168, № 1. – P. R13-18.
251. Medical therapy of Graves' disease: does thyrox-ine prevent recurrence of hyperthyroid-ism? / A. Lucas, I. Salinas, F. Rius [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1997. – Vol. 82. – P. 2410-2413.

252. Mehta, D. Baltimore, MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic / D. Mehta // *Nat. Rev. Immunol.* – 2016. – Vol. 16. – P. 279-294.
253. Melse-Boonstra, A. Iodine deficiency, thyroid function and hearing deficit: a review / A. Melse-Boonstra, I. Mackenzie // *Nutr. Res. Rev.* – 2013. – Vol. 26, № 2. – P. 110-117.
254. Miccoli, P. Levothyroxine Therapy in Thyroectomized Patients / P. Miccoli, G. Materazzi, L. Rossi // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2021. – Vol. 11. – P. 626268.
255. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II / Y. Lee, M. Kim, J. Han [et al.] // *EMBO J.* – 2004. – Vol. 23, Iss. 20. – P. 4051-4060.
256. MicroRNA Signature for Evaluation of Risk and Severity of Autoimmune Thyroid Diseases / R. Martínez-Hernández, M. Sampedro-Núñez, A. Serrano-Somavilla [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2018. – Vol. 103, № 3. – P. 1139-1150. – doi: 10.1210/jc.2017-02318.
257. MicroRNA-125a-5p partly regulates the inflammatory response, lipid uptake, and ORP9 expression in oxLDL-stimulated monocyte/macrophages / T. Chen, Z. Huang, L. Wang [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 83. – P. 131-139.
258. MicroRNAs MIR125A and MIR-125b constitutively activate the NF-kappaB pathway by targeting the tumor necrosis factor alpha induced protein 3 (TNFAIP3, A20) / S.W. Kim, K. Ramasamy, H. Bouamar [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2012. – Vol. 109. – P. 7865-7870.
259. MIR125A enhances self-renewal, lifespan, and migration of murine hematopoietic stem and progenitor cell clones / E.E. Wojtowicz, M.J.C. Broekhuis, E. Weersing [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 4785. – doi: 10.1038/s41598-019-38503-z.
260. MiR125a targets effector programs to stabilize Treg-mediated immune homeostasis / W. Pan, S. Zhu, D. Dai [et al.] // *Nat. Commun.* – 2015. – Vol. 6. – 12 p. – URL: <https://www.nature.com/articles/ncomms8096.pdf>.

261. MIR125A-5p decreases the sensitivity of treg cells toward IL6-mediated conversion by inhibiting IL6r and STAT3 expression / D. Li, C. Kong, A. Tsun [et al.] // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5. – P. 14615.
262. miRNA-125a modulates autophagy of thyroiditis through PI3K/Akt/mTOR signaling pathway / D. Chen, X. Huang, S. Lu [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2019. – Vol. 17, № 4. – P. 2465-2472. – doi: 10.3892/etm.2019.7256.
263. Mohammadi, M. Iodine deficiency status in the WHO Eastern Mediterranean Region: a systematic review / M. Mohammadi, F. Azizi, M. Hedayati // *Environ Geochem Health.* – 2018. – Vol. 40, № 1. – P. 87-97.
264. Mohlin, E. Long-term prognosis after medical treatment of Graves' disease in a northern Swedish population 2000-2010 / E. Mohlin, H. Filipsson Nystrom, M. Eliasson // *Eur. J. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 170, № 3. – P. 419-427. – doi: 10.1530/EJE-13-0811.
265. Moosavi, A. Role of epigenetics in biology and human diseases / A. Moosavi, A.A. Motevalizadeh // *Iran Biomed. J.* – 2016. – Vol. 20, № 5. – P. 246-258.
266. Morphology and function-based surgery in different forms of hyperthyroidism / H.D. Röher, F.A. Horster, A. Frilling, P.E. Goretzki // *Chirurg.* – 1991. – Vol. 62, № 3. – P. 176-181.
267. Morshed, S.A. Delineating the autoimmune mechanisms in Graves' disease / S.A. Morshed, R. Latif, T.F. Davies // *Immunol. Res.* – 2012. – Vol. 54, № 1-3. – P. 191-203.
268. Murakami, M. Pleiotropy and Specificity: Insights from the Interleukin 6 Family of Cytokines / M. Murakami, D. Kamimura, T. Hirano // *Immunity.* – 2019. – Vol. 50, № 4. – P. 812-831. – doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.027.
269. Nyström, H.F. Incidence rate and clinical features of hyperthyroidism in a long-term iodine sufficient area of Sweden (Gothenburg) 2003-2005 / H.F. Nyström, S. Jansson, G. Berg // *Clin. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 78. – P. 768-776.
270. Orgiazzi, L. Reduction of the risk of relapse after withdrawal of medical therapy for Graves' disease / L. Orgiazzi, A.M. Madec // *Thyroid.* – 2002. – Vol. 12. – P. 849-853.

271. Outcomes in relapsed Graves' disease patients following radioiodine or prolonged low dose of methimazole treatment / D. Villagelin, J.H. Romaldini, R.B. Santos [et al.] // *Thyroid*. – 2015. – Vol. 25, № 12. – P. 1282-1290. – doi: 10.1089/thy.2015.0195.
272. Pathogenic Th17 and Th22 cells are increased in patients with autoimmune thyroid disorders / M. Vitales-Noyola, A.M. Ramos-Levi, R. Martínez-Hernández [et al.] // *Endocrine*. – 2017. – Vol. 57. – P. 409-417.
273. Patients' perceptions and views of surgery and radioiodine ablation in the definitive management of Graves' disease / J. Hookham, P. Truran, A. Allahabadia, S.P. Balasubramanian // *Postgrad Med. J.* – 2016. – Vol. 93, № 1099. – P. 1-21.
274. Patterns of use, efficacy and safety of treatment options for patients with Graves' disease: A Nationwide Population-Based Study / J.P. Brito, S. Payne, N. Singh-Ospina [et al.] // *Thyroid*. – 2020. – Vol. 3. – P. 357-364. – doi: 10.1089/thy.2019.0132.
275. Pedro, A.B. Changes of serum cytokines in hyperthyroid Graves' disease patients at diagnosis and during methimazole treatment / A.B. Pedro, J.H. Romaldini, K. Takei // *Neuroimmunomodulation*. – 2011. – Vol. 18. – P. 45-51.
276. Pesce, C.E. Postoperative hypocalcemia after thyroidectomy for Gravesdisease / C.E. Pesce, Z. Shiue, H. Tsai // *Thyroid*. – 2010. – Vol. 20. – P. 1279-1283.
277. Polymorphisms in MIR499A and MIR125A gene are associated with autoimmune thyroid diseases / T.T. Cai, J. Li, X. An [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 440. – P. 106-115. – doi: 10.1016/j.mce.2016.11.017.
278. Polymorphisms in the TNFA and IL6 genes represent risk factors for autoimmune thyroid disease / C. Durães, C.S. Moreira, I. Alvelos [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – P. e105492.
279. Prabahar, A. MicroRNA mediated network motifs in autoimmune diseases and its crosstalk between genes, functions and pathways / A. Prabahar, J. Natarajan // *J. Immunol. Methods*. – 2017. – Vol. 440. – P. 19-26. – doi: 10.1016/j.jim.2016.10.002.

280. Predicting hypocalcemia after total thyroidectomy: parathyroid hormone level vs. serial calcium levels / A.T. Graff, F.R. Miller, C.E. Roehm, T.J. Prihoda // *Ear. Nose Throat J.* – 2010. – Vol. 89. – P. 462-465.
281. Predicting relapse of Graves' disease following treatment with antithyroid drugs / L. Liu, H. Lu, Y. Liu [et al.] // *Exp. Therap. Med.* – 2016. – Vol. 11, № 4. – P. 1443-1458.
282. Predicting the Relapse of Hyperthyroidism in Treated Graves' Disease with Orbitopathy by Serial Measurements of TSH-Receptor Autoantibodies / M. Stöhr, M. Oeverhaus, S.D. Lytton [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 2021. – Vol. 53, № 4. – P. 235-244. – doi: 10.1055/a-1373-5523.
283. Predicting the Risk of Recurrence Before the Start of Antithyroid Drug Therapy in Patients With Graves' Hyperthyroidism / X.G. Vos, E. Endert, A.H. Zwinderman [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 101, № 4. – P. 1381-1389. – doi: 10.1210/jc.2015-3644.
284. Prediction of hypothyroidism after hemithyroidectomy: a biochemical and pathological analysis / Y.W. Koh, S.W. Lee, E.C. Choi [et al.] // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* – 2008. – Vol. 265, № 4. – P. 453-457.
285. Predictive value of age and serum parathormone and vitamin D3 levels for postoperative hypocalcaemia after total thyroidectomy for nontoxic multinodular goiter / Y. Erbil, A. Bozboru, N. Ozbey [et al.] // *Arch. Surg.* – 2007. – Vol. 142. – P. 1182-1187.
286. Predictive Value of Gene Polymorphisms on Recurrence after the Withdrawal of Antithyroid Drugs in Patients with Graves' Disease / J. Liu, J. Fu, Y. Duan, G. Wang // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2017. – Vol. 8. – P. 258.
287. Predictors of hypocalcemia occurring after a total/near total thyroidectomy / M. Kara, G. Tellioglu, O. Krand [et al.] // *Surgery Today.* – 2009. – Vol. 39 – P. 752-757.
288. Predictors of Initial and Sustained Remission in Patients Treated with Antithyroid Drugs for Graves' Hyperthyroidism: The RISG Study / J. Karmisholt,

- S.L. Andersen, I. Bulow-Pedersen [et al.] // J. Thyroid Res. – 2019. – Vol. 2019. – P. 5945178.
289. Predictors of outcome and comparison of different drug regimens for the prevention of relapse in patients with Graves' disease / B.G. Nedrebo, P. Holm, S. Uhlving [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2002. – Vol. 147, № 5. – P. 583-589.
290. Pregnancy after definitive treatment for Graves' disease--does treatment choice influence outcome? / M.S. Elston, K. Tu'akoi, G.Y. Meyer-Rochow [et al.] // Aust N Z J Obstet Gynaecol. – 2014. – Vol. 54, № 4. – P. 317-321.
291. Preoperative PTH as a marker of risk for post-thyroidectomy hypocalcemia / P. Del Rio, L. Sommaruga, L. Bezer [et al.] // // Minerva Endocrinol. – 2010. – Vol. 35 – P. 47-52.
292. Preoperative serum alkaline phosphatase as a predictive indicator of post-operative hypocalcaemia in patients undergoing total thyroidectomy / M.S. Miah, S. Mahendran, C. Mak [et al.] // J. Laryngol Otol. – 2015. – Vol. 129, № 11. – P. 1128-1132.
293. Preoperative vitamin D deficiency predicts postoperative hypocalcemia after total thyroidectomy / J. Kirkby-Bott, H. Markogiannakis, A. Skandarajah [et al.] // World J. Surg. – 2011. – Vol. 35, № 2. – P. 324-330.
294. Preventing postoperative hypocalcemia in patients with Graves disease: a prospective study / S.C. Oltmann, A.V. Brekke, D.F. Schneider [et al.] // Ann. Surg. Oncol. – 2015. – Vol. 22, № 3. – P. 952-958.
295. Primary therapy of Graves' disease and cardiovascular morbidity and mortality: a linked-record cohort study / O.E. Okosieme, P.N. Taylor, C. Evans [et al.] // Lancet Diabetes Endocrinol. – 2019. – Vol. 7, № 4. – P. 278-287. – doi: 10.1016/S2213-8587(19)30059-2.
296. Prognostic value of thyroid stimulating antibodies and TSH-binding inhibiting immunoglobulins in the follow-up of Graves disease / R. Hormann, B.R. Saller, R. Müller, K. Mann // Klin. Wochenschr. – 1985. – Vol. 63. – P. 1247-1252.

297. Prospective Study of Perioperative Factors Predicting Hypocalcemia After Thyroid and Parathyroid Surgery / S.H. Chia, R.A. Weisman, D. Tieu [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2006. – Vol. 132. – P. 41-45.
298. Prunty, J.J. Graves' Disease Pharmacotherapy in Women of Reproductive Age / J.J. Prunty, C.D. Heise, D.G. Chaffin // Pharmacotherapy. – 2016. – Vol. 36, № 1. – P. 64-83.
299. Psychological well-being in patients on 'adequate' doses of l-thyroxine: results of a large, controlled community-based questionnaire study / P. Saravanan, W.F. Chau, N. Roberts [et al.] // Clin. Endocrinol. (Oxf). – 2002. – Vol. 57, № 5. – P. 577-585.
300. Quality of life in patients with primary hypothyroidism is related to BMI / N. Kelderman-Bolk, T.J. Visser, J.G. Tijssen, A. Berghout // Eur. J. Endocrinol. – 2015. – Vol. 173, № 4. – P. 507-515.
301. Qubaisi Al, M. Hypocalcemia after Total Thyroidectomy in Graves Disease / M. Al Qubaisi, P.I. Haigh // Perm. J. – 2019. – Vol. 23. – P. 18-188. – doi: 10.7812/TPP/18-188.
302. Querat Surgical management of hyperthyroidism / C. Querat, N. Germain, J.M. Dumollard [et al.] // Ann. Otorhinolaryngol Head Neck Dis. – 2015. – Vol. 132, № 2. – P. 63-66. – doi: 10.1016/j.anorl.2014.04.005.
303. Radosavljević, V.R. Stressful life events in the pathogenesis of Graves' disease / V.R. Radosavljević, S.M. Janković, J.M. Marinković // Eur. J. Endocrinol. – 1996. – Vol. 134. – P. 699-701.
304. Ramos-Levi, A.M. Pathogenesis of thyroid autoimmune disease: the role of cellular mechanisms / A.M. Ramos-Levi, M. Marazuela // Endocrinol. Nutr. – 2016. – Vol. 63, № 8. – P. 421-429.
305. Rapoport, B. Reflections on Thyroid Autoimmunity: A Personal Overview from the Past into the Future / B. Rapoport, S. McLachlan // Horm. Metab. Res. – 2018. – Vol. 50. – P. 840-852. – doi: 10.1055/a-0725-9297.
306. Rapoport, B. TSH receptor cleavage into subunits and shedding of the A subunit; a molecular and clinical perspective / B. Rapoport, S.M. McLachlan // Endocr. Rev. – 2016. – Vol. 37. – P. 114-134.

307. Ratanachaiyawong, S. Im-munosuppressive effects of antithyroid drugs / S. Ratanachaiyawong, A.M. McGregor // Clinics Endocrin Melab. – 1985. – Vol. 14. – P. 449-466.
308. Recurrence of Graves' Disease: What Genetics of HLA and PTPN22 Can Tell Us / D. Vejrazkova, J. Vcelak, E. Vaclavikova [et al.] // Front Endocrinol (Lausanne). – 2021. – Vol. 12. – P. 761077.
309. Regulation of apoptosis in endocrine autoimmunity: insights from Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease / C. Salmaso, M. Bagnasco, G. Pesce [et al.] // Ann. N Y Acad. Sci. – 2002. – Vol. 966. – P. 496-501. – doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04253.x.
310. Regulation of MIR125A expression by rs12976445 single-nucleotide polymorphism is associated with radiotherapy-induced pneumonitis in lung carcinoma patients / X. Huang, T. Zhang, G. Li [et al.] // J. Cell. Biochem. – 2019. – Vol. 120, № 3. – P. 4485-4493. – doi: 10.1002/jcb.27736.
311. Remission rates with antithyroid drug therapy: Continued influence of iodine intake? / B. Solomon, J.E. Evaul, K.D. Burman, L. Wartofsky // Ann. Intern. Med. – 1987. – Vol. 107. – P. 510-512.
312. Riccabona, G. Changes in thyroid surgery during iodine prophylaxis of endemic goiter / G. Riccabona, D. Ladurner, E. Steiner // World J. Surg. – 1983. – Vol. 2, № 7. – P. 195-200.
313. Risk factors for hypocalcemia and hypoparathyroidism following thyroidectomy: A retrospective Chinese population study / Y.H. Wang, A. Bhandari, F. Yang [et al.] // Cancer Manag. Res. – 2017. – Vol. 9. – P. 627-635. – doi: 10.2147/CMAR.S148090.
314. Risk factors for medically treated hypocalcemia after surgery for Graves' disease: a Swedish multicenter study of 1,157 patients / P. Hallgrimsson, E. Nordenström, M. Almquist, A.O. Bergenfelz // World. J. Surg. – 2012. – Vol. 36, № 8. – P. 1933-1942.

315. Risk Factors for the Relapse of Graves' Disease Treated With Antithyroid Drugs: a Systematic Review and Meta-Analysis / H. Shi, R. Sheng, Y. Hu [et al.] // *Clin. Ther.* – 2020. – Vol. 42. – P. 662-675. – doi: 10.1016/j.clinthera.2020.01.022.
316. Roh, J.L. Prevention of postoperative hypocalcemia with routine oral calcium and vitamin D supplements in patients with differentiated papillary thyroid carcinoma undergoing thyroidectomy plus central neck dissection / J.L. Roh, J.Y. Park, C.I. Park // *Cancer.* – 2009. – Vol. 115 – P. 251-258.
317. Role of Cytokines in the Pathogenesis and Suppression of Thyroid Autoimmunity / B.B. Ganesh, P. Bhattacharya, A. Gopisetty, B.S. Prabhakar // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2011. – Vol. 31. – P. 721-731.
318. Role of genetic and non-genetic factors in the etiology of Graves' disease / M. Marinò, F. Latrofa, F. Menconi [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2015. – Vol. 38. – P. 283-294.
319. Role of iodine, selenium and other micronutrients in thyroid function and disorders / V. Triggiani, E. Tafaro, V.A. Giagulli [et al.] // *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders, Drug Targets.* – 2009. – Vol. 9, № 3. – P. 277–294.
320. Role of oral calcium supplementation alone or with vitamin D in preventing post-thyroidectomy hypocalcaemia: a meta-analysis / T. Xing, Y. Hu, B. Wang, J. Zhu // *Medicine (Baltimore).* – 2019. – Vol. 98, № 8. – P. e14455.
321. Role of the T and B lymphocytes in pathogenesis of autoimmune thyroid diseases / M. Rydzewska, M. Jaromin, I.E. Pasierowska [et al.] // *Thyroid Res.* – 2018. – Vol. 11. – P. 2. – doi: 10.1186/s13044-018-0046-9.
322. Root-Berstein, R. Complexities in the relationship between infection and autoimmunity / R. Root-Berstein, D. Fairweather // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2014. – Vol. 14. – P. 407.
323. Rose-John, S. Interleukin-6 Family Cytokines / S. Rose-John // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2018. – Vol. 10, № 2. – P. a028415. – doi: 10.1101/cshperspect.a028415.

324. Ross, D.S. Current Therapeutic Approaches to Hyperthyroidism / D.S. Ross // Trends Endocrinol. Metab. – 1993. – Vol. 4, № 9 – P. 281-285 – doi: 10.1016/1043-2760(93)90046-h.
325. Rotondi, M. Vitamin D deficiency in patients with Graves' disease: probably something more than a casual association / M. Rotondi, L. Chiovato // Endocrine. – 2013. – Vol. 43, № 1. – P. 3-5.
326. Routine postoperative administration of vitamin D and calcium after total thyroidectomy: a metaanalysis / A. Sanabria, L.C. Dominguez, V. Vega [et al.] // International Journal of Surgery. – 2011. – Vol. 9. – P. 46-51.
327. rs12976445 variant in the pri-MIR125A correlates with a lower level of hsa-MIR125A and ERBB2 overexpression in breast cancer patients / T.P. Lehmann, K. Korski, M. Ibbs [et al.] // Oncol. Lett. – 2013. – Vol. 5. – P. 569-573.
328. Rupaimoole, R. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases / R. Rupaimoole, F.J. Slack // Nat. Rev. Drug. Discov. – 2017. – Vol. 16, № 3. – P. 203-222. – doi: 10.1038/nrd.2016.246.
329. Rushood Al, M. Interleukin-4 and Interleukin-13 Gene Polymorphisms in Children With Idiopathic Nephrotic Syndrome / M. Al Rushood, A.A. Al-Eisa, M.Z. Haider // Front Pediatr. – 2020. – Vol. 8. – P. 591349. – doi: 10.3389/fped.2020.591349.
330. Saeki, Y. Infection-immunity liaison: Pathogen-driven autoimmunemimicry / Y. Saeki, K. Ishihara // Autoimmunity Rev. – 2014. – Vol. 13. – P. 1064-1069.
331. Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease / S. Costagliola, N.G. Morgenthaler, R. Hoer-mann [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84. – P. 90-97.
332. Serum interferon levels associated with the disease activity in women with overt Graves' disease / C.W. Cheng, W.F. Fang, K.T. Tang, J.D. Lin // Cytokine. – 2021. – Vol. 138. – P. 155353. – doi: 10.1016/j.cyto.2020.155353.
333. Serum Parathyroid Hormone Is Not an Accurate Predictor of Postthyroidectomy Hypocalcemia in Vitamin D-Deficient Patients: A Pilot Study / A.H. Sam, W.S. Dhillon, M. Donaldson [et al.] // Clinical Chemistry. – 2011. – Vol. 57. – P. 1206-1207.

334. Serum T3 Level and Duration of Minimum Maintenance Dose Therapy Predict Relapse in Methimazole-Treated Graves Disease / Y. Thewjitcharoen, K. Karndumri, W. Chatchomchuan [et al.] // *J. Endocr. Soc.* – 2021. – Vol. 5, № 1. – P. 1-10. – doi: 10.1210/jendso/bvaa170.
335. Serum thyroglobulin concentration as an indicator for assessing thyroid stimulation in patients with Graves' disease during antithyroid drug therapy / T. Aizawa, M. Ishihara, Y. Koizumi [et al.] // *Am. J. Med.* – 1990. – Vol. 89. – P. 175-180.
336. Serum vitamin D levels are decreased in patients without remission of Graves' disease / T. Yasuda, Y. Okamoto, N. Hamada [et al.] // *Endocrine.* – 2013. – Vol. 43, № 1. – P. 230-232.
337. Single measurement of intact parathyroid hormone after thyroidectomy can predict transient and permanent hypoparathyroidism: a prospective study / M. Suwannasarn, W. Jongjaroenprasert, P. Chayangsu [et al.] // *Asian J. Surg.* – 2017. – Vol. 40, № 5. – P. 350-356.
338. Smith, T.J. Graves' Disease / T.J. Smith, L. Hegedüs // *N. Engl. J. Med.* – 2016. – Vol. 375, № 16. – P. 1552-1565. – doi: 10.1056/NEJMra1510030.
339. Smoke and autoimmunity: the fire behind the disease / C. Perricone, M. Versini, D. Ben-Ami [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2016. – Vol. 15. – P. 354e74.
340. Soheli, M.M.H. Circulating microRNAs as biomarkers in cancer diagnosis / M.M.H. Soheli // *Life Sci.* – 2020. – Vol. 248. – P. 117473. – doi: 10.1016/j.lfs.2020.117473.
341. Soluble IL6R expressed by myeloid cells reduces tumor-specific Th1 differentiation and drives tumor progression / H. Tsukamoto, K. Fujieda, M. Hirayama [et al.] // *Cancer Res.* – 2017. – Vol. 77. – P. 2279-2291.
342. Stan, M.N. Risk factors for development or deterioration of Graves' ophthalmopathy / M.N. Stan, R.S. Bahn // *Thyroid.* – 2010. – Vol. 7. – P. 777-783.
343. Stefan, M. Genetics of Thyroid-Stimulating Hormone Receptor-Relevance for Autoimmune Thyroid Disease / M. Stefan, L.C. Faustino // *Front Endocrinol. (Lausanne).* – 2017. – Vol. 8. – P. 57. – doi: 10.3389/fendo.2017.00057.

344. Subekti, I. Current Diagnosis and Management of Graves' Disease / I. Subekti, L.A. Pramono // *Acta Med. Indones.* – 2018. – Vol. 50, № 2. – P. 177-182.
345. Surgical treatment of Graves' disease: subtotal or total thyroidectomy? / P. Miccoli P. Vitti, T. Rago [et al.] // *Surgery.* – 1996. – Vol. 120, № 6. – P. 1020-1044. – doi: 10.1016/s0039-6060(96)80049-3.
346. Szczurek, Z. Morphological picture of the thyroid gland in Graves – Basedow's disease / Z. Szczurek, F. Zych, K. Zwirska-Korczala // *Pol. Tyg. Lek.* – 1980. – Vol. 35, № 41. – P. 1565-1567.
347. Tabaei, S. Systematic review and meta-analysis of association of polymorphisms in inflammatory cytokine genes with coronary artery disease / S. Tabaei, M. Motallebnezhad, S.S. Tabaei // *Inflamm. Res.* – 2020. – Vol. 69, № 10. – P. 1001-1013. – doi: 10.1007/s00011-020-01385-3.
348. The association between HLA class II haplotype with Graves' disease in Thai population / T. Wongsurawat, J. Nakkuntod, P. Charoenwongse [et al.] // *Tissue Antigens.* – 2006. – Vol. 67, № 1. – P. 79-83.
349. The impact of age, vitamin D(3) level, and incidental parathyroidectomy on postoperative hypocalcemia after total or near total thyroidectomy / Y. Erbil, U. Barbaros, B. Temel [et al.] // *Am. J. Surg.* – 2009. – Vol. 197. – P. 439-446.
350. The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a metaanalysis / A. Garmendia Madariaga, S. Santos Palacios, F. Guillen-Grima, J.C. Galofre // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99. – P. 923-931.
351. The involvement of T cell pathogenesis in thyroid-associated ophthalmopathy / Y. Huang, S. Fang, D. Li [et al.] // *Eye (Lond).* – 2019. – Vol. 33. – P. 176-182.
352. The longer the antithyroid drug is used, the lower the relapse rate in Graves' disease: a retrospective multicenter cohort study in Korea / S.Y. Park, B.H. Kim, M. Kim [et al.] // *Endocrine.* – 2021. – Vol. 74, № 1. – P. 120-127. – doi: 10.1007/s12020-021-02725-x.
353. The long-term outcomes of thyroid function after subtotal thyroidectomy for Graves' hyperthyroidism / Y.S. Lin, J.D. Lin, C.C. Hsu [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2017. – Vol. 220. – P. 112-118. – doi: 10.1016/j.jss.2017.06.091.

354. The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases: New T lymphocytes - Cytokines circuits beyond the Th1-Th2 paradigm / Q. Li, B. Wang, K. Mu, J.A. Zhang // *J. Cell. Physiol.* – 2019. – Vol. 234, № 3. – P. 2204-2216. – doi: 10.1002/jcp.27180.
355. The prognostic value of TSH receptor binding and thyroid stimulating antibodies following antithyroid drug treatment of Graves' disease / R. Wilson, W.D. Fraser, J.H. McKillop, J.A. Thomson // *Acta Endocri-Nologica.* – 1989. – Vol. 121. – P. 666-670.
356. The Role of Cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4 (CTLA-4) Gene, Thyroid Stimulating Hormone Receptor (TSHR) Gene and Regulatory T-cells as Risk Factors for Relapse in Patients with Graves Disease / F. Eliana, P. Suwondo, A. Asmarinah [et al.] // *Acta Med. Indones.* – 2017. – Vol. 49, № 3. – P. 195-204.
357. The role of stress in the mosaic of autoimmunity: An overlooked association / K. Sharif, A. Watad, L. Coplan [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2018. – Vol. 17, № 10. – P. 967-983.
358. The significant increase in incidence of Graves' disease in eastern Serbia during the civil war in the former Yugoslavia (1992 to 1995) / N. Paunkovic, J. Paunkovic, O. Pavlovic, Z. Paunovic // *Thyroid.* – 1988. – Vol. 1. № 8. – P. 37-41. – doi: 10.1089/thy.1998.8.37.
359. The 2016 European Thyroid Association/European Group on Graves' Orbitopathy Guidelines for the Management of Graves' Orbitopathy / L. Bartalena, L. Baldeschi, K. Boboridis [et al.] // *Eur. Thyroid J.* – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 9-26. – doi: 10.1159/000443828.
360. Thi-onamide therapy in Graves' Disease: relation of relapse rate to duration of therapy / H. Tamai, T. Nakagawa, O. Fukino [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1980. – Vol. 92. – P. 488-490.
361. Thomopoulos, P. Present management of Graves' hyperthyroidism: an effective but symptomatic approach / P. Thomopoulos // *Eur. J. Med.* – 1993. – Vol. 2, № 2. – P. 67-69.

362. Thomusch, O. The impact of surgical technique on postoperative hypoparathyroidism in bilateral thyroid surgery: a multivariate analysis of 5846 consecutive patients / O. Thomusch, A. Machens, C. Sekulla // *Surgery*. – 2003. – Vol. 133. – P. 180-185.
363. Thyroglobulin thyrotropin and thyrotropin binding inhibiting immuno-globulins assayed at the withdrawal of antithyroid drug therapy as predictors of relapse of Graves' disease within one year / J.N. Talbot, F. Duron, R. Feron [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 1989. – Vol. 12. – P. 589-593.
364. Thyroid cell proliferation in Graves' disease. Use of MIB-1 monoclonal antibody / G.M. Mazeto, M.L. Oliveira, C.R. Padovani [et al.] // *Acta Cytol.* – 2004. – Vol. 48, № 1. – P. 57-63.
365. Thyroid dysfunction: An autoimmune aspect / F.A. Khan, N. Al-Jameil, M.F. Khan [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, № 5. – P. 6677-6681.
366. Thyroid Function Affects the Risk of Stroke via Atrial Fibrillation: A Mendelian Randomization Study / E. Marouli, A. Kus, M.F. Del Greco [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2020. – Vol. 105, № 8. – P. 2634-2641. – doi: 10.1210/clinem/dgaa239.
367. Thyroid function after subtotal thyroidectomy in patients with Graves' hyperthyroidism / E.J. Limonard, P.H. Bisschop, E. Fliers, E.J. Nieveen van Dijkum // *Sci. World J.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 548796. – doi: 10.1100/2012/548796.
368. Thyroid Hormones and Cardiovascular Function and Diseases / S. Razvi, A. Jabbar, A. Pingitore [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2018. – Vol. 71, № 16. – P. 1781-1796.
369. Thyroid surgery for Graves' disease and Graves' ophthalmopathy / Z.W. Liu, L. Masterson, B. Fish [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2015. – Vol. 11. – P. CD010576. – doi: 10.1002/14651858.CD010576.
370. Thyroidectomy as primary treatment optimizes body mass index in patients with hyperthyroidism / D.F. Schneider, R. Nookala, T.J. Jaraczewski [et al.] // *Ann.*

- Surg. Oncol. – 2014. – Vol. 21, № 7. – P. 2303-2309. – doi: 10.1245/s10434-014-3542-8.
371. Thyroidectomy for Graves hyperthyroidism. Retrospective study of patients appreciation / N. Palestini, M. Grivon, R. Durando [et al.] // Ann. Ital. Chir. – 2007. – Vol. 78, № 5. – P. 405-412.
372. Thyrotropin Receptor Antibody Levels at Diagnosis and After Thionamide Course Predict Graves' Disease Relapse / N.N. Tun, G. Beckett, N.N. Zammit [et al.] // Thyroid. – 2016. – Vol. 26, № 8. – P. 1004-1009. – doi: 10.1089/thy.2016.0017.
373. TLR4/NF- κ B signaling pathway gene single nucleotide polymorphisms alter gene expression levels and affect ARDS occurrence and prognosis outcomes / Y. Ding, Q. Feng, J. Chen, J. Song // Medicine (Baltimore). – 2019. – Vol. 98, № 26. – P. e16029.
374. Tomer, Y. The etiology of autoimmune thyroid disease: A story of genes and environment / Y. Tomer, A. Huber // J. Autoimmunity. – 2009. – Vol. 32, № 3-4. – P. 231-239.
375. Total thyroidectomy as a method of choice in the treatment of Graves' disease – analysis of 1432 patients / T. Bojic, I. Paunovic, A. Diklic [et al.] // BMC Surg. – 2015. – Vol. 15. – P. 39.
376. Total versus near-total thyroidectomy in Graves' disease: a systematic review and meta-analysis of comparative studies / L. Mu, C. Ren, J. Xu [et al.] // Gland Surg. – 2021. – Vol. 10, № 2. – P. 729-738. – doi: 10.21037/gs-20-757.
377. Total Versus Near-total Thyroidectomy in Graves Disease: Results of the Randomized Controlled Multicenter TONIG-trial / E. Maurer, K. Maschuw, A. Reuss [et al.] // Ann. Surg. – 2019. – Vol. 270, № 5. – P. 755-761. – doi: 10.1097/SLA.0000000000003528.
378. Treatment of adult Graves' disease / B. Corvilain, A. Hamy, L. Brunaud [et al.] // Ann. Endocrinol. (Paris). – 2018. – Vol. 79, № 6. – P. 618-635.
379. Treatment of subclinical hyperthyroidism: effect on body composition / D. Boj-Carceller, A. Sanz-París, E. Sánchez-Oriz [et al.] // Nutr. Hosp. – 2015. – Vol. 32, № 5. – P. 2331-2337.

380. Treiber, T. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways / T. Treiber, N. Treiber, G. Meister // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2019. – Vol. 20, № 1. – P. 5-20. – doi: 10.1038/s41580-018-0059-1.
381. Uciechowski, P. Interleukin-6: A Masterplayer in the Cytokine Network / P. Uciechowski, W.C.M. Dempke // *Oncology.* – 2020. – Vol. 98, № 3. – P. 131-137. – doi: 10.1159/000505099.
382. Vanderpump, M.P. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey / M.P. Vanderpump // *Clin. Endocrinol.* – 1995. – Vol. 43. – P. 55-68.
383. Vascular endothelial growth factor--marker for proliferation in thyroid diseases? / P. Malkomes, E. Oppermann, W.O. Bechstein, K. Holzer // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* – 2013. – Vol. 121, № 1. – P. 6-13.
384. Vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptors expression and microvascular density in benign and malignant thyroid diseases / A. Jebreel, J. England, K. Bedford [et al.] // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2007. – Vol. 88, № 4. – P. 271-277.
385. Vejrazkova, D. Genetic predictors of the development and recurrence of Graves' disease / D. Vejrazkova // *Physiol Res.* – 2018. – Vol. 67, № 3. – P. 431-439.
386. Vitamin D deficiency contributes to post-thyroidectomy hypocalcemia / A. Jacques, C. Page, E. Justinien [et al.] // *Endocrine Abstracts.* – 2010. – Vol. 22. – P. 772.
387. Volpe, R. Autoimmune thyroid disease / R. Volpe // *Autoimmunity and Endocrine Disease.* – New York and Basel: Marcel Dekker, 1985. – P. 109-286.
388. Volumetric analysis of thyroid lobes by real-time ultrasound (author's transl) / J. Brunn, U. Block, G. Ruf [et al.] // *Dtsch Med. Wochenschr.* – 1981. – Vol. 106. – P. 1338-1340.
389. Wang, J.K. MicroRNA-125 in Immunity and Cancer / J.K. Wang, Z. Wang, G. Li // *Cancer Letters.* – 2019. – Vol. 454. – P. 134-145. – doi: 10.1016/j.canlet.2019.04.015.

390. Wang, S.H. The role of apoptosis in thyroid autoimmunity / S.H. Wang, J.R. Baker // *Thyroid* . – 2007. – Vol. 17, № 10. – P. 975-979. – doi: 10.1089/thy.2007.0208.
391. Weetman, A.P. How antithyroid drugs work in Graves' disease / A.P. Weetman // *Clin Endocrinol.* – 1992. – Vol. 37. – P. 317-318.
392. Weetman, A.P. Thyroid peroxidase as an antigen in autoimmune thyroiditis / A.P. Weetman // *Clin. Exp. Immunol.* – 1990. – Vol. 80. – P. 1-3.
393. Wei, Q. Association of Single Nucleotide Polymorphisms of the IL6, IL-10, and TNF- α Genes with Susceptibility to Gestational Diabetes Mellitus / Q. Wei, X. Chen, H. Chen // *Genet. Test Mol. Biomarkers.* – 2020. – Vol. 24, № 7. – P. 390-398. – doi: 10.1089/gtmb.2020.0069.
394. What is the best definitive treatment for Graves' disease? A systematic review of the existing literature / B.M. Genovese, S.I. Noureldine, E.M. Gleeson [et al.] // *Ann. Surg. Oncol.* – 2013. – Vol. 20, № 2. – P. 660-667.
395. Wiersinga, W.M. Graves' Disease: Can It Be Cured? / W.M. Wiersinga // *Endocrinol Metab (Seoul).* – 2019. – Vol. 34, № 1. – P. 29-38.
396. Wilhelm, S.M. Total thyroidectomy is superior to subtotal thyroidectomy for management of Graves disease in the United States / S.M. Wilhelm, C.R. McHenry // *World J. Surg.* – 2010. – Vol. 34. – P. 1261-1264.
397. Yamashita, H. Postoperative tetany in Graves disease. Important role of vitamin D metabolites / H. Yamashita, T. Murakami, S. Noguchi [et al.] // *Ann. Surg.* – 1998. – Vol. 229. – P. 237-245.
398. Yoshizawa, K. Predictive effect of persistent negative TRAb for relapse of Graves' disease / K. Yoshizawa, K. Aso, M. Satoh // *Pediatr. Int.* – 2022. – Vol. 64, № 1. – e14749. – doi: 10.1111/ped.14749.
399. Zaletel, K. Ten-year follow-up of thyroid epidemiology in Slovenia after increase in salt iodization / K. Zaletel // *Croat Med. J.* – 2011. – Vol. 52, № 5. – P. 615-621.
400. Zimmermann, M.B. Iodine deficiency and thyroid disorders / M.B. Zimmermann, K. Boelaert // *Lancet Diabetes Endocrinol.* – 2015. – Vol. 3, № 4. – P. 286-295.

401. Zimmermann, M. Iodine supplementation of pregnant women in Europe: a review and recommendations / M. Zimmermann, F. Delange // Eur. J. Clin. Nutr. – 2005. – Vol. 58. – P. 979-984.
402. 2018 European Thyroid Association Guideline for the Management of Graves' Hyperthyroidism / G.J. Kahaly, L. Bartalena, L. Hegedüs [et al.] // Eur. Thyroid J. – 2018. – Vol. 7, № 4. – P. 167-186.