

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

ПЕЙКРИШВИЛИ

Наталия Эдуардовна

**ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6,
ИНТЕРЛЕЙКИНА-13 И микроРНК-125А
У БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ**

3.1.19 – Эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Шляхто Евгений Владимирович
доктор медицинских наук, профессор
академик РАН

Санкт-Петербург – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1 Современное представление об этиопатогенезе диффузного токсического зоба	15
1.2 Эпигенетические и генетические факторы патогенеза диффузного токсического зоба.....	20
1.2.1 Роль микроРНК и однонуклеотидного полиморфизма С/Т rs12976445 гена микроРНК-125А в патогенезе диффузного токсического зоба	21
1.2.2 Роль однонуклеотидного полиморфизма С-572G (rs1800796) гена интерлейкина-6 и полиморфизма С-1112Т (rs1800925) гена интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом.....	26
1.3 Основные методы лечения диффузного токсического зоба	30
1.3.1 Консервативное лечение диффузного токсического зоба	30
1.3.2 Хирургическое лечение диффузного токсического зоба.....	34
Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
2.1 Общая характеристика исследования	37
2.2 Методы исследования	41
2.2.1 Определение уровней тиреотропного гормона, свободного Т ₄ , свободного Т ₃	41
2.2.2 Определение содержания антител к рецепторам тиреотропного гормона и антител к тиреопероксидазе у больных диффузным токсическим зобом	41
2.2.3 Определение содержания интерлейкина-6 и интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом	42
2.2.4 Ультразвуковое исследование щитовидной железы.....	42

2.3 Молекулярно-генетическое исследование	43
2.3.1 Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты из лейкоцитов крови.....	43
2.3.2 Полимеразная цепная реакция и определение полиморфных вариантов генов интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК- 125А	44
2.3.2.1 Идентификация полиморфных вариантов С-572G (rs1800796) гена интерлейкина-6	45
2.3.2.2 Идентификация полиморфных вариантов С-1112Т (rs1800925) гена интерлейкина-13	46
2.3.2.3 Идентификация полиморфных вариантов С/Т (rs12976445) гена микроРНК-125А	47
2.4 Методы статистической обработки результатов исследования.....	48
 Глава 3 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ДИФFUЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ.....	49
3.1 Результаты клинического, лабораторного и инструментального обследования больных диффузным токсическим зобом, получавших консервативное лечение.....	49
3.2 Результаты клинического, лабораторного и инструментального обследования больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба	58
 Глава 4 ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ С-572G (RS1800796) ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-6, С-1112Т (RS1800925) ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-13 И С/Т (RS12976445) ГЕНА микроРНК-125А У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ ТЕЧЕНИЕМ ДИФFUЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА И В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ	62
4.1 Однонуклеотидный полиморфизм С-572G гена интерлейкина-6 (rs1800796 полиморфизм)	62

4.1.1	Распределение С-572G, G-572G, С-572С генотипов однонуклеотидного полиморфизма С-572G гена интерлейкина-6 у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения (rs1800796 полиморфизм)	62
4.1.2	Показатели тиреоидного статуса, уровни интерлейкина-6 и морфометрические параметры щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с С-572G, G-572G, С-572С генотипами гена интерлейкина-6 (rs1800796 полиморфизм)	65
4.1.3	Особенности клинического течения диффузного токсического зоба у носителей С-572G, G-572G, С-572С генотипов и аллельных вариантов однонуклеотидного полиморфизма С-572G гена интерлейкина-6 (rs1800796 полиморфизм)	72
4.2	Однонуклеотидный полиморфизм С-1112Т гена интерлейкина-13 (rs1800925 полиморфизм)	74
4.2.1	Распределение С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов однонуклеотидного полиморфизма С-1112Т гена интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения (rs1800925 полиморфизм)	74
4.2.2	Показатели тиреоидного статуса, уровни интерлейкина-13 и морфометрические параметры щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипами гена интерлейкина-13 (rs1800925 полиморфизм)	76
4.2.3	Особенности клинического течения диффузного токсического зоба у носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов однонуклеотидного полиморфизма С-1112Т гена интерлейкина-13 (rs1800925 полиморфизм).....	83
4.3	Однонуклеотидный полиморфизм С/Т гена микроРНК-125А (rs12976445 полиморфизм)	85

4.3.1 Распределение СС, СТ, ТТ генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs12976445 гена микроРНК-125А у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения	85
4.3.2 Показатели тиреоидного статуса и морфометрические параметры щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами гена микроРНК-125А (rs12976445 полиморфизм).....	87
4.3.3 Особенности клинического течения диффузного токсического зоба у носителей СС, СТ, ТТ генотипов и аллельных вариантов однонуклеотидного полиморфизма С/Т гена микроРНК-125А (rs12976445 полиморфизм).....	94
4.4 Факторы, влияющие на особенности клинического течения диффузного токсического зоба (логистический регрессионный анализ).....	96
Глава 5 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	113
ВЫВОДЫ	115
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	117
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ..	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	120

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) – аутоиммунное заболевание, возникающее вследствие врожденного дефекта в иммунной системе, в результате чего происходит образование антител к рецепторам тиреотропного гормона (АТ-рТТГ), что стимулирует продукцию гормонов щитовидной железы (ЩЖ). ДТЗ является основной причиной синдрома тиреотоксикоза в мире. Распространенность ДТЗ по данным эпидемиологических исследований составляет 2-4% среди населения и заболеваемость ДТЗ среди женщин значительно выше (соотношение женщин и мужчин 7:1) [64, 88, 182].

В настоящее время выбор оптимального метода лечения ДТЗ остается нерешенной проблемой. В России и во многих странах Европы в качестве первой линии терапии отдают предпочтение медикаментозному лечению, которое заключается в назначении на длительный срок (не менее 12-18 месяцев) анти tireоидных препаратов. Основным недостатком данного метода лечения является высокий процент рецидива тиреотоксикоза в первый год после прекращения лечения – до 50-70% случаев по данным разных авторов [30, 56, 172]. Важно отметить, что длительность тиреотоксикоза может влиять на развитие осложнений, прежде всего, со стороны сердечно-сосудистой системы, включая фатальные нарушения ритма (фибрилляция предсердий), хроническую сердечную недостаточность и другие проявления тиреотоксической кардиомиопатии, что ухудшает прогноз в отношении трудоспособности и продолжительности жизни [1, 17, 156]. Наиболее важной проблемой лечения ДТЗ является отсутствие достоверных критериев прогноза эффективности консервативной терапии. Значимость таких факторов, как молодой возраст пациента, мужской пол, большой объем ЩЖ, уровень АТ-рТТГ, степень тяжести тиреотоксикоза невелика [192]. В случае неэффективности консервативной терапии, обсуждается вопрос о хирургическом методе лечения. Объем

оперативного вмешательства при ДТЗ также остается предметом дискуссии. Согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению синдрома тиреотоксикоза с диффузным зобом от 2021 года необходимо выполнять экстирпацию ЩЖ. Столь радикальный метод вмешательства сопряжен с необходимостью назначения пожизненной заместительной гормональной терапии. Существует другой подход в выборе объема операции – выполнение субтотальной резекции ЩЖ. Однако основным недостатком данного метода является высокий риск рецидива тиреотоксикоза в отдаленные сроки (до 30% случаев) [19]. Предикторов прогноза послеоперационных исходов ДТЗ в настоящий момент также нет.

Общепризнанно, что в основе патогенеза ДТЗ лежат аутоиммунные изменения в сочетании с генетической предрасположенностью и влиянием факторов внешней среды [102, 109, 130]. Провоспалительные цитокины играют ключевую роль в индукции аутоиммунного процесса в ЩЖ. Важным звеном патогенеза ДТЗ является дисбаланс в Т-клеточном звене иммунного ответа [145, 183]. Полиморфизм генов различных интерлейкинов и изменение цитокинового профиля влияют не только на предрасположенность к ДТЗ, но и на особенности его клинического течения, в связи с чем является актуальным изучение роли этих факторов в прогнозе консервативного и хирургического методов лечения ДТЗ [75, 90].

Интерлейкин-6 (ИЛ-6) является провоспалительным цитокином, продуцируемым Т-хелперами 2 типа и многими другими типами клеток. ИЛ-6 обладает плеiotропным механизмом действия. Основной биологический эффект заключается в воздействии на все субпопуляции Т-клеток, представляя собой важный фактор регуляции роста и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов. ИЛ-6 стимулирует синтез АТ-рТТГ, которые являются ключевым звеном патогенеза ДТЗ [142, 189].

Ген ИЛ-6 (*IL6*) располагается на хромосоме 7p21. Результаты исследований, посвященных изучению роли однонуклеотидного полиморфизма в промоторной области гена в патогенезе ДТЗ, носят противоречивый характер. Установлено, что

среди японской популяции больных полиморфизм C-572G (rs1800796) гена *IL6* связан с риском развития ДТЗ и влияет на характер течения заболевания [39]. Подобные результаты были получены и в туниССкой популяции больных ДТЗ [38]. Однако среди европейской и китайской популяции данной взаимосвязи выявлено не было [121, 149]. Среди российской популяции больных ДТЗ подобные исследования не проводились.

Не менее важным фактором в патогенезе ДТЗ является ИЛ-13. Как известно, данный цитокин продуцируется CD4⁺ Т-клетками и регулирует функцию макрофагов, моноцитов и В-лимфоцитов, способствуя «переключению» последних на синтез иммуноглобулина Е (IgE) [118]. К настоящему моменту имеющиеся данные о роли ИЛ-13 при ДТЗ носят спорный характер. В нескольких работах было показано, что у пациентов с инфильтративной офтальмопатией (ИО) значительно повышены уровни IgE, в связи с чем обсуждается роль ИЛ-13 в развитии ИО и степени ее активности [103, 122]. Помимо этого, полагают, что полиморфизм гена ИЛ-13 (*IL13*) (в частности, rs1800925) также ассоциирован с предрасположенностью к ДТЗ в азиатской [39, 113] и туниССкой [38], но не в европейской популяции больных ДТЗ [114].

В современной литературе последние годы активно изучается роль микроРНК в развитии и течении ДТЗ. Как известно, микроРНК (MIRNA, miR) – это малые некодирующие молекулы длиной 18-25 нуклеотидов. МикроРНК контролируют экспрессию гена путем связывания с комплементарными последовательностями 3'-нетранслируемой области таргетной матричной РНК (мРНК) и являются негативными регуляторами активности гена на посттранскрипционном уровне либо путем подавления трансляции, либо за счет деградации таргетной мРНК [134]. В связи с этим изменения регуляции микроРНК и ее экспрессии влечет за собой нарушение иммунной толерантности к собственным антигенам и приводит к развитию многочисленных аутоиммунных заболеваний [111, 150]. Одной из изучаемых микроРНК, связанной с развитием и прогнозом ДТЗ, является MIRNA-125а [117]. В нескольких работах был проведен анализ не только изменения экспрессии данной микроРНК у пациентов с ДТЗ,

но и оценка взаимосвязи аллельных вариантов гена микроРНК-125А (*MIR125A*) с особенностями клинического течения заболевания. Отмечено, что микроРНК-125а регулирует синтез и секрецию ИЛ-6, RANTES, TGF- β и, таким образом, опосредованно влияет на дифференцировку Т-хелперов 17 типа [125, 140]. Роль полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* в клиническом течении заболевания была проанализирована только среди китайской и японской популяции пациентов с ДТЗ [48, 148].

В настоящее время вклад полиморфных вариантов различных микроРНК среди российской популяции больных ДТЗ не изучен. В связи с вышеизложенным не вызывает сомнения необходимость дальнейшего поиска прогностических маркеров неблагоприятного течения заболевания с целью расширения представления о патогенезе заболевания и создания персонализированного подхода в лечении каждого пациента с ДТЗ.

Степень разработанности темы исследования

В литературе имеются данные о различной роли полиморфных вариантов генов интерлейкина-6 [38, 39, 89, 121, 149], интерлейкина-13 [37, 38, 113, 114] и микроРНК-125А [48, 148] у больных диффузным токсическим зобом. В ряде исследований было показано, что клиническое течение диффузного токсического зоба различается у носителей определенных генотипов гена интерлейкина-6 (полиморфизм С-572G, rs1800796), гена интерлейкина-13 (полиморфизм С-1112Т, rs1800925) и гена микроРНК-125А (полиморфизм rs12976445) среди европейской и азиатской популяции больных. До настоящего времени не установлена роль полиморфных вариантов генов интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК-125А у российской популяции больных диффузным токсическим зобом. Таким образом, представляется актуальным дальнейшее изучение вклада генетических и эпигенетических факторов в особенности клинического течения диффузного токсического зоба.

Цель исследования

Определить особенности клинического течения диффузного токсического зоба у больных с различными генотипами однонуклеотидных полиморфизмов rs1800796 гена интерлейкина-6, rs1800925 гена интерлейкина-13 и rs12976445 гена микроРНК-125А и выявить предикторы неблагоприятного течения заболевания.

Задачи исследования

1. Изучить особенности клинического течения диффузного токсического зоба у жителей Санкт-Петербурга.
2. Оценить уровни интерлейкина-6 и интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом, имеющих различные полиморфные варианты генов интерлейкина-6 (rs1800796), интерлейкина-13 (rs1800925), микроРНК-125А (rs12976445).
3. Оценить распределение генотипов и встречаемость аллелей однонуклеотидного полиморфизма rs1800796 гена интерлейкина-6, rs1800925 гена интерлейкина-13 и rs12976445 гена микроРНК-125А у больных диффузным токсическим зобом и у лиц без диффузного токсического зоба.
4. Изучить и сопоставить особенности клинического течения диффузного токсического зоба у больных с различными генотипами однонуклеотидного полиморфизма rs1800796 гена интерлейкина-6, rs1800925 гена интерлейкина-13 и rs12976445 гена микроРНК-125А.
5. Сравнить функциональное состояние и морфометрические показатели щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом, имеющих различные полиморфные варианты генов интерлейкина-6 (rs1800796), интерлейкина-13 (rs1800925), микроРНК-125А (rs12976445).
6. На основании результатов клинических, лабораторных и молекулярно-генетических исследований выявить маркеры неблагоприятного течения диффузного токсического зоба.

Научная новизна исследования

В результате проведенного исследования впервые определены распределение генотипов и встречаемость аллелей однонуклеотидного полиморфизма rs1800796 гена интерлейкина-6, rs1800925 гена интерлейкина-13 и rs12976445 гена микроРНК-125А у жителей Санкт-Петербурга с диффузным токсическим зобом и среди лиц без диффузного токсического зоба.

Впервые установлено, что у больных диффузным токсическим зобом – носителей аллеля -572G (rs1800796 полиморфизм) гена интерлейкина-6 уровни свободных T_4 и T_3 , интерлейкина-6 на момент выявления заболевания и исходный объем щитовидной железы больше, чем у больных диффузным токсическим зобом с генотипом С-572С данного гена.

Показано, что риск рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии у носителей аллеля -572G (rs1800796 полиморфизм) гена интерлейкина-6 в 3,6 раз выше, чем у гомозиготных носителей аллеля -572С данного гена.

Установлено, что у гомозиготных носителей генотипа С-1112С (rs1800925 полиморфизм) гена интерлейкина-13 начало заболевания происходит в более молодом возрасте, ниже уровень интерлейкина-13 на момент выявления заболевания, выше исходные уровни свободных T_4 и T_3 , риск рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии в 2,3 раза выше, чем у носителей генотипов Т-1112Т и С-1112Т данного гена.

Выявлено, что носительство генотипа ТТ (rs12976445 полиморфизм) гена микроРНК-125А ассоциируется с более высоким риском рецидива тиреотоксикоза и с отсутствием ремиссии диффузного токсического зоба.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Проведенное исследование показало, что у больных диффузным токсическим зобом распределение генотипов и частот аллелей однонуклеотидного полиморфизма rs1800796 гена интерлейкина-6, rs1800925 гена

интерлейкина-13, rs12976445 гена микроРНК-125А не отличаются от распределения исследуемых аллелей и генотипов в группе людей без диффузного токсического зоба. На основании результатов исследования впервые установлена ассоциация полиморфных вариантов генов интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК-125А с особенностями клинического течения диффузного токсического зоба у жителей Санкт-Петербурга.

В результате проведенного исследования уточнены пороговые значения ('cut-off value') факторов-предикторов рецидива заболевания: уровень свободного Т₃ на момент выявления заболевания выше 10,5 пмоль/л и более 4,5 пмоль/л через 12-18 месяцев лечения, уровень антител к рецептору тиреотропного гормона на момент начала заболевания более 6,5 МЕ/л и выше 0,6 МЕ/л через 12-18 месяцев консервативной терапии, объем щитовидной железы у женщин – более 24,1 см³, у мужчин – более 30,1 см³. Установлено, что носительство аллеля -572G (rs1800796 полиморфизм) гена интерлейкина-6 и генотипа С-1112С (rs12976445 полиморфизм) гена интерлейкина-13 ассоциируется с повышением риска рецидива тиреотоксикоза и отсутствием ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии в 3,6 и 2,3 раза, соответственно. Выявлено, что у носителей генотипа ТТ (rs12976445 полиморфизм) гена микроРНК-125А риск неблагоприятного течения заболевания выше в 2,6 раз, чем у носителей генотипов СС и СТ гена микроРНК-125А. Полученные данные могут применяться в практической деятельности для выявления лиц с высоким риском рецидива тиреотоксикоза на фоне консервативной терапии.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа проведена в дизайне ретроспективного и проспективного исследований. Теоретической основой работы послужил проведенный анализ современных исследований отечественных и зарубежных авторов, работы которых были посвящены изучению роли полиморфных вариантов гена интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК-125А в патогенезе

и клиническом течении ДТЗ. Изучаемым объектом в исследовании были больные ДТЗ. С целью получения необходимой научной информации были применены следующие методы: клинический, лабораторный, молекулярно-генетический, инструментальный. При проведении исследования были использованы современные методы статистической обработки информации.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У больных диффузным токсическим зобом – жителей Санкт-Петербурга отмечается низкая эффективность консервативной терапии: ремиссия заболевания наблюдается в 44,5% случаев, стойкая ремиссия заболевания достигается лишь в 13% случаев.
2. Факторами неблагоприятного течения диффузного токсического зоба у жителей Санкт-Петербурга являются: уровень антител к рецепторам тиреотропного гормона более 6,5 МЕ/л на момент начала заболевания и более 0,6 МЕ/л через 12-18 месяцев консервативной терапии, уровень свободного Т₃ на момент выявления заболевания выше 10,5 пмоль/л и более 4,5 пмоль/л через 12-18 месяцев лечения, объем щитовидной железы у женщин более 24,1 см³, у мужчин – более 30,1 см³, наличие инфильтративной офтальмопатии и носительство генотипов G-572G, G-572C (rs1800796) гена интерлейкина-6, генотипа C-1112C (rs1800925) гена интерлейкина-13 и генотипа TT (rs12976445) гена микроРНК-125А.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности исследования обеспечивается объемом фактического материала, использованием современных методов исследования и статистической обработки данных. Опубликовано 6 печатных работ в журналах из перечня рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК. Результаты исследования доложены и обсуждены на совместном заседании

проблемной комиссии «Ангиология и кардиология» и кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой, в финале конкурса «Молодые, дерзкие, перспективные» (г. Санкт-Петербург, 2016 г.), на 40-м Конгрессе Европейской Тиреоидной Ассоциации (г. Белград, Сербия, 2017 г.). Результаты исследования используются в учебном процессе кафедры терапии факультетской ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автором лично были выполнены все основные этапы данной работы. Самостоятельно проведен анализ зарубежной и отечественной литературы, проведено обследование пациентов. Все этапы молекулярно-генетического исследования выполнены лично автором. Автор принимал участие в формировании базы данных на основании полученных результатов. Статистическая обработка, анализ и обобщение результатов исследования выполнены самостоятельно.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, состоит из следующих глав: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав результатов собственного исследования, главы обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций. Диссертация иллюстрирована 33 таблицами и 14 рисунками. Список литературы включает в себя 205 источников из них 16 отечественных и 189 зарубежных.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современное представление об этиопатогенезе диффузного токсического зоба

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) – аутоиммунное заболевание щитовидной железы (ЩЖ), в основе которого лежит образование антител к рецепторам тиреотропного гормона (АТ-рТТГ), что приводит к развитию синдрома тиреотоксикоза. При ДТЗ могут наблюдаться экстра tireоидные проявления такие, как инфильтративная офтальмопатия (ИО), претибиальная микседема, акропатия. Помимо этого, одним из тяжелых осложнений синдрома тиреотоксикоза является поражение сердечно-сосудистой системы и развитие тиреотоксической кардиомиопатии [64, 74].

По данным статистики различных стран заболеваемость ДТЗ колеблется в пределах 2-4% населения [64, 88, 93]. Ежегодно диагностируют не менее 1 случая заболеваемости ДТЗ на 2 тысячи населения [182]. Заболеваемость среди женщин значительно выше – соотношение женщин и мужчин 7:1. При этом наиболее часто страдают лица трудоспособного возраста (в возрасте 20-40 лет), но нередко ДТЗ диагностируют в пожилом возрасте, что ухудшает прогноз преимущественно за счет развития фатальных нарушений ритма и сердечной недостаточности на фоне синдрома тиреотоксикоза [58, 156].

ДТЗ является многофакторным заболеванием, в основе патогенеза которого лежат аутоиммунные изменения в сочетании с генетической предрасположенностью и влиянием факторов внешней среды, которые потенциально могут вызывать нарушение иммунного ответа (степень потребления йода и селена в регионе проживания, инфекционные агенты, некоторые лекарственные препараты) [52, 91, 166, 170].

За последние десятилетия отмечается неуклонный рост рецидива заболевания во многих странах мира. В среднем рецидив синдрома тиреотоксикоза наблюдается в 30-60% случаев после консервативной терапии [56, 172]. По данным Y. Thewjitcharoen et al. рецидив синдрома тиреотоксикоза наблюдался у 40% больных через 1 год после отмены тиреостатиков [172]. В связи с этим оценка риска рецидива заболевания является важным этапом при выборе метода лечения.

К настоящему времени широко обсуждается роль системы цитокинов в развитии аутоиммунного ответа при ДТЗ [4, 90]. Известно, что при аутоиммунных заболеваниях наблюдается дефект в механизмах иммунного ответа как центрального, так и периферического звеньев. Аутоиммунные заболевания могут быть опосредованы как Т-клетками, так и В-лимфоцитами [158]. В случае некоторых заболеваний результатом аутоиммунного процесса является деструкция «таргетной» ткани за счет её инфильтрации Т-клетками (сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный тиреоидит) [14, 100]. При ряде других аутоиммунных заболеваний происходит хроническое повреждение органа за счет стимулирующего воздействия аутоантител, что наблюдается в случае ДТЗ. И основополагающим в развитии ДТЗ является выработка аутоантител к рецепторам ТТГ [60, 131]. Считается, что индукции аутоиммунного ответа при ДТЗ способствует дефект в иммунной системе, который заключается в дисбалансе активности регуляторных (Tregs) и эффекторных (Teff) Т-клеток.

Является неоспоримым, что повреждение тиреоцитов вызвано различными механизмами с вовлечением в процесс аутореактивных Т-клеток, натуральных киллеров (natural killers, NK) и цитокинов [104]. На основании многочисленных работ установлено, что наличие лишь аутоантител недостаточно для развития ДТЗ, в связи с чем дисбаланс в активации различных субпопуляции Т-хелперов, а также нарушение взаимосвязи Т-хелперов 17 типа и Т-регуляторных лимфоцитов (Tregs) считается одним из ключевых этапов патогенеза заболевания в совокупности с факторами внешней среды и генетической предрасположенностью [66, 163, 186].

Известно, что антиген-представляющие клетки, которые относятся к главному комплексу гистосовместимости II класса (Main Histocompatibility Complex, МНС II), презентируют специфические антигены ЩЖ, что приводит к активации и пролиферации аутореактивных Т- и В-лимфоцитов. Вследствие этого активированные CD4⁺ Т-хелперы индуцируют формирование цитотоксических CD8⁺ Т- и В-лимфоцитов и происходит инфильтрация ткани ЩЖ [14, 104, 157].

Установлено, что за наличие иммунологически компетентных клеток с супрессорной активностью, которые предотвращают развитие аутоиммунного ответа, отвечают регуляторные Т-клетки CD4⁺CD25⁺ (Treg). Отсутствие или недостаточная эффективность данного звена иммунного ответа приводит к развитию разнообразных системных аутоиммунных заболеваний, в том числе и к развитию ДТЗ [100, 101, 157].

Как известно, существует 3 различные популяции CD4⁺ Т-лимфоцитов: Т-хелперы 1 типа (Th1), Т-хелперы 2 типа (Th2) и Т-хелперы 17 типа (Th17). Главным различием данных типов клеток является спектр продуцируемых ими цитокинов, отвечающих за развитие двух звеньев иммунного ответа – клеточного и гуморального. Установлено, что Th1 типа продуцируют следующие провоспалительные цитокины – ИЛ-2, интерферон – гамма (IFN- γ), ИЛ-1-бета, TNF (Tumor Necrosis Factor). Цитокины, синтезируемые Т-хелперами 2 типа (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13) могут подавлять продукцию цитокинов Т-хелперов 1 типа, стимулировать продукцию антител В-лимфоцитами и оказывать антиапоптотическое действие [165].

Установлено, что у пациентов с аутоиммунными заболеваниями ЩЖ (не только ДТЗ, но и аутоиммунным тиреоидитом) процентное соотношение Tregs к лимфоцитам значимо ниже. CD4⁺CD25⁺ Т-клетки составляют около 5-10% популяции CD4⁺ Т-лимфоцитов. Супрессорная активность Tregs обусловлена подавлением секреции провоспалительных цитокинов – ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, TGF- β [9]. Таким образом, Tregs ингибируют и модулируют иммунные ответы Т-хелперов всех трех типов (Th1, Th2, Th17) [99, 104]. Установлено, что изменения цитокинового профиля и различные полиморфные варианты генов

интерлейкинов влияют в большей степени не на предрасположенность к развитию ДТЗ, а на особенности его клинического течения [15, 171]. И многими авторами признается тот факт, что генетические и эпигенетические факторы являются ведущими маркерами прогноза и течения ДТЗ, которые опосредуются под воздействием факторов внешней среды [46, 75].

В виду многообразия воздействий особый интерес вызывает изучение роли ИЛ-6 в развитии ДТЗ. ИЛ-6 является цитокином, обладающим плеiotропным механизмом действия за счет участия в различных физиологических процессах организма: пролиферация и дифференцировка клеток, регуляция их жизнедеятельности и апоптоза [167]. ИЛ-6 играет важную роль в регуляции нервной, эндокринной, иммунной и гемopoэтической систем. Известно, что большинство клеток продуцируют ИЛ-6, включая Т-клетки, В-лимфоциты, эозинофилы, макрофаги/моноциты, тучные клетки, дендритные клетки, а также эндотелиальные клетки, тироциты, хондроциты [27, 38].

ИЛ-6 вовлечен в регуляцию обоих типов Т-хелперов (1 и 2 типов) и их иммунном ответе. ИЛ-6 способен стимулировать дифференцировку В-лимфоцитов и продукцию иммуноглобулинов, влиять на дифференцировку тимоцитов и Т-клеток, активировать натуральные киллеры, стимулировать продукцию белков острой фазы [199]. Также ИЛ-6 влияет на дифференцировку антиген-представляющих клеток [142].

Учитывая многогранность воздействий ИЛ-6, выполнены многочисленные исследования, в которых была проведена оценка уровня ИЛ-6 среди здоровой популяции и у пациентов с ДТЗ на разных стадиях заболевания – на момент выявления ДТЗ до начала приема анти тиреоидных препаратов, динамика изменения уровня ИЛ-6 на фоне проводимой терапии, при сочетании ДТЗ с инфильтративной офтальмопатии [3]. В работе Т.П. Маклаковой и соавторов, 2019 года была проведена оценка содержания ИЛ-6 у больных с ДТЗ до начала терапии и после лечения анти тиреоидными препаратами. Было установлено, что уровень ИЛ-6 был выше у пациентов с ДТЗ и на момент манифестации

заболевания, и через 4-6 месяцев лечения, чем в контрольной группе [5]. Похожие результаты были получены и в исследовании L.F. Lv et al., 2017 года [75].

Неоднократно было показано, что уровень ИЛ-6 выше у больных ДТЗ, чем в группе контроля [6]. Помимо этого, уровень ИЛ-6 коррелирует со степенью тяжести синдрома тиреотоксикоза [5, 147].

Как известно, ИЛ-13 синтезируется активированными Т-хелперами 2 типа и вовлечен в процессы созревания В-лимфоцитов. ИЛ-13 регулирует CD23 и экспрессию молекул МНС II класса. ИЛ-13 проявляет иммуносупрессивную и противовоспалительную активность путем подавления продукции других провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12 и TNF- α) и хемокинов, а также вовлечен в синтез иммуноглобулина E (IgE) [94, 127].

На основании результатов исследований, проведенных в Японии, известно, что уровень IgE был повышен более чем на 30-40% у пациентов с отсутствием ремиссии ДТЗ. Помимо этого, у больных ДТЗ была выявлена положительная корреляционная связь концентрации IgE и уровней периферических гормонов ЩЖ. Также у пациентов с ДТЗ были обнаружены депозиты IgE в ткани ЩЖ, скопление тучных клеток в глазодвигательных мышцах, в связи с чем обсуждалась роль IgE в развитии не только ДТЗ, но и инфильтративной офтальмопатии [122]. На основании этих данных было высказано предположение о том, что ИЛ-13 опосредованно через IgE может играть важную роль в индукции синдрома тиреотоксикоза у больных ДТЗ. Это послужило поводом для дальнейших исследований, в частности, оценки роли не только уровней цитокинов, но и выявления ассоциации между однонуклеотидными заменами гена *IL6* и *IL13* и особенностями течения ДТЗ.

1.2 Эпигенетические и генетические факторы патогенеза диффузного токсического зоба

ДТЗ является многофакторным заболеванием, которое возникает вследствие наличия генетической предрасположенности к заболеванию под влиянием факторов внешней среды. В связи с этим в последние годы активно проводятся генетические исследования, направленные на выявление генов-кандидатов, а также генов, влияющих на характер течения ДТЗ [36, 78, 102]. Учитывая доказанные изменения в иммунной регуляции в патогенезе ДТЗ, широко изучаются локусы генов, влияющие на иммунный ответ и способствующие развитию аутоиммунного процесса. Гены-кандидаты, предрасполагающие к развитию ДТЗ, можно разделить на следующие подгруппы: тиреоидспецифические гены – рецептор ТТГ, тиреоглобулин [187], гены системы HLA и не-HLA иммунорегуляторные гены, к которым относятся различные интерлейкины. Были проведены многочисленные работы по изучению роли полиморфных вариантов гена *HLA* [83, 84], гена нерецепторного белка тирозин фосфатазы 22 (*PTPN22*) [44], гена кластера дифференцировки 40 (*CD40*), гена цитотоксического Т-лимфоцитсвязанного антигена-4 (*CTLA-4*) у больных ДТЗ [109]. Более того, при помощи многофакторного анализа были созданы математические модели, позволяющие предсказывать характер течения ДТЗ на фоне консервативной терапии, учитывая клинические характеристики и наследование определенных генотипов генов *CTLA4*, *PTPN22* [87, 153]. Однако применение данных алгоритмов в России ограничено этническими различиями в распределении аллельных вариантов и генотипов изучаемых полиморфных вариантов генов. К настоящему времени в России выполнены немногочисленные исследования, посвященные идентификации генетических маркеров заболевания среди российской популяции больных ДТЗ.

**1.2.1 Роль микроРНК и однонуклеотидного полиморфизма
C/T rs12976445 гена микроРНК-125А
в патогенезе диффузного токсического зоба**

Накопленные за последние годы данные свидетельствуют о том, что эпигенетическая регуляция экспрессии гена играет важнейшую роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Механизмы эпигенетической регуляции экспрессии гена не изменяют первичную структуру ДНК, а оказывают свои влияния посредством деметилирования ДНК, модификации гистонов. Другим важным механизмом подобной регуляции являются микроРНК [69, 141]. В связи с этим на протяжении последних лет активно изучается роль микроРНК в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы [70, 86, 96].

Впервые микроРНК были выявлены в 1993г. учеными В. Амбромс, Р. Ли и Р. Фейнбраум при изучении гена *lin-14*, который участвует в развитии нематоды *Caenorhabditis elegans*. Выявлено, что количество белка LIN-14 регулировалось коротким РНК-продуктом гена *lin-4* [124]. В результате дальнейших исследований был обнаружен многочисленный класс так называемых малых некодирующих РНК.

Как известно, микроРНК (MIRNA, miR) – это малые некодирующие молекулы РНК длиной 18-25 нуклеотидов, которые играют важную роль в экспрессии гена на посттранскрипционном уровне. В ходе исследований, проведенных с момента обнаружения микроРНК, была показана их регуляторная роль в различных биологических процессах, включая дифференцировку и созревание клеток иммунной системы, функционирование как врожденного, так и приобретенного иммунитета, а также поддержание иммунного гомеостаза и его нормального функционирования [68, 137, 140]. В связи с этим неудивительно, что изменения регуляции микроРНК и ее экспрессии влечет за собой нарушение иммунной толерантности к собственным антигенам и приводит к развитию многочисленных заболеваний, в том числе к инфекционным,

нейродегенеративным, онкологическим [80, 132]. Изучение микроРНК приблизило к пониманию процессов канцерогенеза, позволило объяснить некоторые этапы патогенеза системных и органоспецифических аутоиммунных заболеваний [72, 169, 175].

МикроРНК (miR) контролирует экспрессию гена путем связывания с комплементарными последовательностями 3'-нетранслируемой области таргетной матричной РНК (мРНК) и являются негативными регуляторами активности гена на посттранскрипционном уровне либо путем подавления трансляции, либо за счет деградации таргетной мРНК [132, 134, 201].

Гены микроРНК транскрибируются РНК – полимеразой II с образованием первичной микроРНК (pri-MIRNA), размер которой составляет более тысячи пар нуклеотидов [133]. Дальнейшие преобразования pri-MIRNA происходит преимущественно при помощи комплекса Drosha в ядре клетки. Drosha является частью так называемого микропроцессорного комплекса, в состав которого также входит связывающий белок Pasha. В свою очередь Pasha отвечает за активность Drosha и способен связываться с одноцепочечными фрагментами pri-MIRNA. Pri-MIRNA подвергаются кэпированию и полиаденилированию с образованием предшественника микроРНК – pre-MIRNA (precursor MIRNA) [198].

В последующем pre-MIRNA при помощи экспортина 5 транспортируется в цитоплазму, где продолжается дальнейший процессинг. Благодаря ферменту Dicer (РНКаза III) образуется микро-РНК-дуплекс, одна из нитей которой превращается в зрелую микроРНК (mature MIRNA). Следующий этап – это образование мультибелкового комплекса – РНК-индуцируемого комплекса выключения гена (RNA-induced silencing complex, RISC), в состав которого входит каталитический фермент Argonaute [120].

В дальнейшем RISC образует комплекс с таргетной РНК. В зависимости от степени комплементарности «затравочной области» (seed region) микроРНК и мРНК наблюдаются разные механизмы регуляции экспрессии генов. При полной комплементарности это приводит к расщеплению мРНК, в случае же неполной комплементарности происходит подавление синтеза белка.

Однако наличие полной комплементарности с молекулой ДНК или таргетной РНК не является обязательным условием для функционирования микроРНК, что отличает её от малых интерферирующих РНК (миРНК) [198]. В последние годы также были изучены другие пути биогенеза miRNA, так называемые Drosha- и Dicer-независимые механизмы формирования микроРНК [29, 198].

Как известно, Т- и В-лимфоциты являются главными звеньями приобретенного иммунного ответа. На основании совокупности результатов изучения роли микроРНК в функционировании адаптивного иммунитета, выявлена четкая связь между нарушением биогенеза микроРНК в предшественниках лимфоцитов и развитием Т- и В-лимфоцитов. Нарушение синтеза микроРНК на ранних этапах, вызванное разрушением (делецией) гена Dicer, нарушает развитие Т-клеток со снижением количества Т-лимфоцитов как в тимусе, так и в периферических лимфоидных органах (лимфатические узлы, пейеровы бляшки). Также это приводит к aberrантной дифференцировке Т-хелперов и продукции ими провоспалительных цитокинов [71].

Учитывая плеiotропное влияние miR-125 на иммунный ответ, в частности, на экспрессию провоспалительных цитокинов при различных аутоиммунных заболеваниях, было выполнено несколько исследований, посвященных изучению роли miR-125 в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы [111, 150].

MicroRNA-125 (miR-125) представляет собой семейство микроРНК, которое состоит из miR125a и miR-125b. Каждый представитель семейства miR-125 имеет 2 разные зрелые молекулы – 5p и 3p, которые образуются из 5' и 3' участка пре-микроРНК (pre-miRNA), соответственно [201]. По данным исследования D. Li et al. было установлено, что miR-125a-5p регулирует иммунный ответ за счет влияния на переход регуляторных Т-клеток (Treg) в Т-хелперы 17 типа. Этот механизм действия обусловлен влиянием miR-125a на рецептор ИЛ-6 и на STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) [139]. Помимо этого, miR-125a может влиять на иммунорегуляторные эффекты Treg за счет подавления

активности таких факторов, как ИЛ-13, интерферон-гамма (IFN- γ) [138]. Согласно работе Н. Li et al., выявлено, что miR-125a влияет экспрессию таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-6, TNF- α [125]. В экспериментальном исследовании Д. Chen с коллегами было показано, что по механизму отрицательной обратной связи miR-125a повышает экспрессию провоспалительных цитокинов – ИЛ-18, ИЛ-6, ИЛ-1 β and TNF- α *in vitro* [140]. Изменение синтеза микроРНК влияет на дифференцировку В-лимфоцитов (переход из про- в пре-В-лимфоциты) и, как следствие, наблюдается изменение спектра синтезируемых антител. В работе Н. Peng et al., выявлено, что у больных аутоиммунным тиреоидитом продукция miR-125a-3p была снижена, а уровень ИЛ-23 и антител к тиреоглобулины были выше, чем в группе сравнения [65]. По данным исследования R.A. Al-Heety et al., 2020 года было отмечено, что у пациентов с ДТЗ уровень miR-146a-5p был выше, чем в контрольной группе. Помимо этого, была выявлена положительная корреляционная связь между уровнем miR-146a-5p и АТ-рТТГ [23].

В исследовании Н. Otsu, М. Watanabe et al., 2017 года, была проведена оценка уровней miR-146a и miR-125a у больных ДТЗ и в группе сравнения. Установлено, что уровень данных микроРНК был снижен в плазме у больных с отсутствием ремиссии ДТЗ [117], что согласуется с результатами работы Y. Inoue et al. [48]. Н. Yamada et al., в 2014 году опубликовали результаты исследования по оценке роли miR16, miR-22, miR-375 и miR-451 в патогенезе ДТЗ; было выявлено, что экспрессия данных miR была выше у пациентов с ДТЗ, чем в контрольной группе [61]. В то же время, что касается изучения однонуклеотидного полиморфизма генов MIRNA, подобные работы немногочисленны.

Ген микроРНК-125a (*MIR125A*), который кодирует микроРНК-125a, располагается на хромосоме 19q13.41 [132]. Как известно, микроРНК125a является негативным регулятором KLF13 (Kruppel-like factor 13) и TNF-альфа индуцированного протеина-3 (TNFAIP3), ингибирует продукцию хемокина, выделяемого Т-клетками при активации (regulated on activation normal T cell

expressed and secreted, RANTES) и активирует путь ядерного фактора каппа-В (NF-κB) [136, 138, 139, 201].

Как было сказано ранее, генетически обусловленная гиперпродукция ИЛ-6 и TGF-β связаны с развитием с ДТЗ, что неоднократно обсуждалось многими исследователями. Интересным представляется тот факт, что микроРНК125а подавляет продукцию ИЛ-6, TGF-β, активность Т-хелперов 17 типа [138]. В связи с этим предполагается, что подавление продукции микроРНК125а может приводить к развитию ДТЗ за счет не прямой стимуляции дифференцировки Т-хелперов 17 типа. В работе Y. Inoue et al., 2014 года впервые была выявлена ассоциация полиморфизма гена *MIR125A* с особенностями течения ДТЗ среди японской популяции больных. Было обследовано 155 пациентов с ДТЗ и 188 человек в качестве группы сравнения. По результатам работы установлено, что данный полиморфный вариант гена *MIR125A* связан с патогенезом и прогнозом ДТЗ. Выдвинуто предположение, что носительство аллеля С и генотипа СС ассоциировано с отсутствием ремиссии ДТЗ. Как предполагают авторы исследования, носительство аллеля С связано со снижением продукции микро-РНК-125а в связи с тем, что полиморфизм rs12976445 С/Т гена *MIR125A* блокирует переход pri-MIRNA в pre-MIRNA, что приводит к изменению степени экспрессии данной микроРНК [48].

В то же время, согласно данным работы X. Huang et al., было установлено, что носительство аллеля Т ассоциировано со сниженной экспрессией miR-125а в сравнении с пациентами, которые являются гомозиготами по аллелю С полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* [159].

В работе T. Cai et al., опубликованной в 2017 году, была обследована китайская популяция больных ДТЗ. В исследование было включено 701 пациент с ДТЗ и 938 человек в качестве группы сравнения (лица с нормальным уровнем ТТГ, отсутствием АТ-рТТГ, АТ-ТПО, без структурных изменений ЩЖ). Установлено, что носительство аллеля С (генотипы СС+СТ) было ассоциировано с развитием аутоиммунного тиреоидита, но не ДТЗ [148]. И, помимо этого, было выявлено, что данный полиморфный вариант гена не влияет на клиническое

течение заболевания, в отличие от результатов, полученных при обследовании японской группы больных.

К настоящему времени работы, посвященные изучению роли однонуклеотидного полиморфизма гена *MIR125A* в патогенезе заболевания, среди европейской и российской популяции больных ДТЗ не проводились. Не вызывает сомнения необходимость дальнейшего изучения роли микроРНК-125 не только в патогенезе ДТЗ, но и в особенностях его течения, в том числе и среди российской популяции больных.

1.2.2 Роль однонуклеотидного полиморфизма C-572G (rs1800796) гена интерлейкина-6 и полиморфизма C-1112T (rs1800925) гена интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом

В настоящее время патогенез ДТЗ остается не до конца изученным. Однако, накопленные данные, результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что в основе патогенеза ДТЗ лежит чрезмерная активация иммунной системы [145, 157, 183]. И некоторые исследователи предполагают, что полиморфизм в генах различных провоспалительных цитокинов может влиять на риск развития ДТЗ и инфильтративной офтальмопатии [2, 46, 75]. Результаты полногеномных поисков ассоциации (genome-wide association study, GWAS), проведенных у больных ДТЗ, позволили выявить локусы на хромосомах 7 и 5q31-q33, где расположены кластеры генов, кодирующих интерлейкины Т-хелперов 2 типа [36]. В связи с этим были проведены исследования по изучению полиморфных вариантов генов *IL6*, *IL13*, *IL10*, *IL1*, *TNF-α* и других провоспалительных цитокинов у больных ДТЗ [92].

Известно, что ген *IL6* расположен на хромосоме 7p21. В настоящее время в гене *IL6* выявлено 4 интрона и 5 экзонов [55]. Длина гена *IL6* составляет 5 kb. Установлено, что полиморфизм в промоторной области приводит к изменению

транскрипционной активности гена [34]. В связи с этим, среди изученных полиморфных вариантов гена *IL6*, наибольший интерес вызывают однонуклетидные полиморфизмы: $-174G/C$ (rs1800795) и $-572G/C$ (rs1800796) в промоторе гена [34, 36]. Полиморфизм G-572C связан с заменой нуклеотида гуанина (G) на цитозин (C) в -572 положении регуляторной области гена *IL6* [27]. Предполагается, что носительство аллельного варианта -572G (варианты G-572G и C-572G) проявляется повышенной продукцией ИЛ-6. В работе Q. Wei et al., 2020 года было выявлено, что у больных, носителей генотипов G-572G и C-572G полиморфизма rs1800796 гена *IL6*, уровень ИЛ-6 был выше в сравнении с носителями генотипа C-572C [202]. Полученные результаты согласуются с рядом других исследований, которые также выявили высокие уровни ИЛ-6 у носителей аллельного варианта -572G (варианты G-572G и C-572G) rs1800796 гена *IL6* [43, 193].

В ряде исследований показана роль G-572C полиморфизма гена *IL6* в клиническом течении ДТЗ. Так, в работе N. Inoue, M. Watanabe et al., в 2011 году проанализировали полиморфизм rs1800796 гена *IL6* у азиатской популяции больных ДТЗ. Было выявлено, что больные ДТЗ чаще являлись носителями аллеля -572G (генотипы G-572G и C-572G) изучаемого полиморфизма гена *IL6*, чем группа сравнения (лица без наличия АТ-рТТГ, с нормальным уровнем ТТГ). Таким образом, авторами было установлено, что у носителей аллеля -572G риск ДТЗ был выше в 1,65 раз, чем у носителей аллеля C полиморфизма rs1800796 гена *IL6*. В работе R.H. Chen et al., различий в распределении генотипов и аллелей полиморфного варианта C-572G гена *IL6* в группе больных ДТЗ и группе сравнения выявлено не было, в связи с чем исследователи сделали вывод об отсутствии взаимосвязи данного однонуклеотидного полиморфизма с предрасположенностью к ДТЗ [121]. Подобные результаты были получены и в работе C. Duraes (2014) [149]. Однако, по данным мета-анализа, выполненного P. Zhu, X. Wu et al. (2021) установлена связь полиморфизма rs1800796 гена *IL6* с развитием ДТЗ и в азиатской, и европейской группах больных ДТЗ [82]. Необходимо отметить, что не во всех перечисленных работах проводилась оценка

клинического течения ДТЗ – частота достижения ремиссии и частота рецидива ДТЗ, оценка уровней ИЛ-6, гормонов щитовидной железы у носителей различных генотипов данного полиморфизма гена *IL6*. Учитывая, что результаты исследований представлены на разных популяциях больных и носят противоречивый характер, представляется важным дальнейшее изучение роли полиморфных вариантов гена *IL6* у больных ДТЗ.

Впервые структура гена *IL13* была описана в 1993 году А. Minty et al. [115]. Известно, что ген *IL13* расположен на хромосоме 5q23-31 в одном регионе с генами, кодирующими такие цитокины, как *IL4*, *IL5*, *IL3* [112]. Вследствие чего структура гена *IL13* схожа с таковой у гена *IL4* [25]. Длина гена *IL13* составляет 1.4 kb. В промоторной области гена *IL13* расположен полиморфный вариант rs1800925. Полиморфизм С-1112Т (rs1800925) в промоторной области гена *IL13* обусловлен заменой нуклеотидов цитозина (С) на тимин (Т). Носительство Т-аллеля rs1800925 гена *IL13* может влиять на риск развития заболевания путем воздействия на транскрипционную активность гена [112]. Предполагается, что вблизи полиморфизма rs1800925 расположен сайт связывания с ядерным фактором активированных Т-клеток (nuclear factor of activated T cells, NFAT). И замена цитозина на тимин в данном участке гена может приводить к повышению аффинности сайта к ядерным факторам и, как следствие, повышению продукции ИЛ-13 [116]. Предполагают, что Т-аллель полиморфизма С-1112 Т гена *IL13* (rs1800925) в большей степени коррелирует с высокой активностью промоторной области гена, чем -1112С аллель данного гена. В ряде исследований, проведенных в различных популяциях групп больных ДТЗ, обсуждается наличие ассоциаций между полиморфным вариантом rs1800925 гена *IL13* и риском ДТЗ.

S. Mestiri et al. в 2020 году опубликовали результаты исследования, проведенного у больных ДТЗ и аутоиммунным тиреоидитом. Согласно их данным установлено, что у больных, носителей аллеля -1112Т (генотипы С-1112Т и Т-1112Т) rs1800925 гена *IL13*, риск развития ДТЗ был выше в 2,47 раз, чем у носителей генотипа С-1112С [38]. На основании результатов исследования Y. Hiromatsu et al., 2005 года, выполненного среди японской популяции пациентов

с ДТЗ, было показано, что больные ДТЗ чаще были носителями аллеля -1112С и генотипа С-1112С данного полиморфного варианта гена *IL13*, чем пациенты из группы сравнения (лица без отягощенной наследственности по заболеваниям щитовидной железы, с нормальным уровнем ТТГ и отсутствием АТ-рТТГ). В связи с этим авторы исследования предполагают наличие ассоциации между вариантом rs1800925 гена *IL13* и риском развития ДТЗ. Однако, в то же время, авторами не было выявлено различий в распределении частот аллелей и генотипов в группе больных ДТЗ с наличием и отсутствием инфильтративной офтальмопатии [113].

В исследовании N. Inoue, M. Watanabe et al., в результате проведенного анализа не было выявлено различий в распределении аллельных вариантов полиморфизма С-1112Т (rs1800925) гена *IL13* в группе больных ДТЗ и группе сравнения, на основании чего авторы делают вывод об отсутствии влияния данного полиморфного варианта гена *IL13* на риск развития ДТЗ. Однако, было выявлено, что больные ДТЗ с длительной (более 2 лет) ремиссией заболевания чаще были носителями аллеля -1112Т, чем больные с отсутствием ремиссии ДТЗ. [39].

В работе T. Bednarczuk et al. была обследована европейская группа больных ДТЗ. По результатам молекулярно-генетического исследования, проведенного у больных ДТЗ и в группе контроля, не было выявлено достоверного различия в распределении частот аллельных вариантов полиморфизма С-1112Т и G2044А гена *IL13*. Помимо этого, представленное исследование было единственным, в котором у больных ДТЗ, носителей различных генотипов полиморфизма С-1112Т (rs1800925) гена *IL13*, проводилась оценка уровней АТ-рТТГ, АТ-ТПО и тиреоидных гормонов. В результате проведенного анализа не было выявлено достоверного различия лабораторных показателей у больных, носителей разных аллельных вариантов гена. Более того, проводилась оценка уровня IgE, и было установлено, что у носителей аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т, С-1112Т) уровень IgE был выше, чем у носителей аллеля -1112С данного однонуклеотидного полиморфизма гена *IL13* [114]. В то же время по данным

мета-анализа M.-L. Chen. et al. утверждают, что полиморфизм C-1112T и G2044A гена *IL13* не ассоциируются с риском развития ДТЗ [122].

Результаты проведенных исследований среди разных этнических групп носят спорный характер. В российской популяции больных ДТЗ подобные исследования не проводились. В связи с чем представляется актуальным дальнейшее изучение роли полиморфизма rs1800796 гена *IL6* и rs1800925 гена *IL13* при ДТЗ.

1.3 Основные методы лечения диффузного токсического зоба

На настоящий момент существует 3 основных метода лечения ДТЗ: консервативное, хирургическое, терапия радиоактивным йодом. Однако ввиду отсутствия достоверных прогностических критериев, ни один из методов лечения не может гарантировать достижения стойкой ремиссии ДТЗ. Помимо этого, каждый из методов обладает своими недостатками и имеет противопоказания [203].

1.3.1 Консервативное лечение диффузного токсического зоба

Согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению тиреотоксикоза с диффузным зобом 2021 года в качестве первой линии терапии в России отдается предпочтение консервативному лечению, которое заключается в назначении на длительный срок (не менее 12-18 месяцев) антитиреоидных препаратов [7]. Такой же тактики придерживается большинство клиницистов в Европе и Азии [73]. К антитиреоидным препаратам относятся производные имидазола (тиамазол, тирозол) и тиоурацила (пропилтиоурацил). Основной

механизм действия заключается в подавлении синтеза тиреоидных гормонов за счет угнетения тиреопероксидазы, подавления окисления йода и йодирования тирозина, что препятствует превращению моно- и дийодтиронинов в трийодтиронин и тетраiodтиронин. Результаты изучения фармакокинетики антитиреоидных препаратов на экспериментальных моделях ДТЗ позволяют судить об их иммуносупрессивном действии [119]. Иммуномодулирующий эффект проявляется снижением активности лимфоцитов и блокированием синтеза аутоантител. Кроме того, происходит снижение лимфоцитарной инфильтрации ткани щитовидной железы; подавление синтеза провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1), простагландинов, белков теплового шока, рецепторов растворимого ИЛ-2. Помимо этого, установлено, что тионамиды изменяют иммуногенность тиреоглобулина, снижая его йодирование. Также для пропилтиоурацила важным свойством является торможение превращения тироксина в трийодтиронин в периферических тканях [10, 56].

Несмотря на длительный опыт применения тиреостатиков, до сих пор обсуждается вопрос о выборе более эффективной схемы их назначения. Одной из актуальных проблем является решение вопроса о продолжительности приема тиреостатиков с целью достижения стойкой (длительной) ремиссии заболевания. Наиболее предпочтительным является терапия сроком 12-18 месяцев [31, 63]. Однако, многими исследователями обсуждается эффективность длительной (более 18-24 месяцев) терапии тиреостатиками [49, 107, 146]. Применение же тиреостатиков на короткий период времени рассматривается преимущественно с целью нормализации тиреоидного статуса перед планируемым хирургическим лечением либо перед проведением терапии радиоактивным йодом. Помимо этого, остается спорным, является ли эффективным повторное назначение консервативного лечения в случае рецидива тиреотоксикоза [18, 144].

Согласно рекомендациям Российской Ассоциации Эндокринологов, следует назначать относительно высокие дозы тиреостатиков (20-30-40 мг Тиамозола либо 200-300-400 мг Пропилтиоурацила в зависимости от тяжести тиреотоксикоза) с последующим контролем тиреоидного статуса [7].

В большинстве случаев достичь эутиреоз удается в первые 3-6 недель после начала терапии, при этом длительное время может сохраняться субклинический тиреотоксикоз. В дальнейшем назначают поддерживающую дозу тиреостатиков с возможным добавлением к терапии левотироксина натрия. Основной целью назначения левотироксина является предупреждение развития медикаментозного гипотиреоза [31].

Учитывая тот факт, что после проведенной консервативной терапии чаще всего наблюдается рецидив синдрома тиреотоксикоза, проводятся работы по выявлению надежных факторов неэффективности применения анти тиреоидных препаратов, что позволит создать персонафицированный подход в лечении каждого пациента. К обсуждаемым в литературе факторам-предикторам развития рецидива синдрома тиреотоксикоза относятся молодой возраст пациента, мужской пол, курение, объем щитовидной железы более 30-40 см³, высокий уровень стимулирующих антител к рецепторам ТТГ, инфильтративная офтальмопатия, соотношение свободных фракции Т₃ и Т₄ и генетические особенности (наследование различных генотипов гена *HLA*, *CTLA-4*, *PTPN22*, рецептора ТТГ) [10, 22, 129, 205]. В литературе обсуждается, что у пациентов с высоким уровнем свободного Т₃ и соотношением Т₃ и Т₄ на момент выявления заболевания риск рецидива тиреотоксикоза выше [79]. В исследовании Т. Struja et al., 2017 года также было установлено, что больные ДТЗ с высокими уровнями Т₃ и Т₄ на момент манифестации заболевания имеют высокий риск рецидива тиреотоксикоза после отмены терапии [77]. В то же время в работе N.N. Tun et al., 2016 года было показано, что уровни Т₃ и Т₄ не влияют на частоту рецидива заболевания [192]. Также обсуждается, что длительно сохраняющийся сниженный уровень ТТГ на фоне проведения терапии является возможным неблагоприятным фактором рецидива ДТЗ [151, 192].

Как известно, ДТЗ развивается вследствие выработки антител, стимулирующих рецептор ТТГ (АТ-рТТГ). Предполагают, что не только исходный уровень АТ-рТТГ, но динамика его снижения на фоне анти тиреоидных препаратов является одним из важных маркеров эффективности консервативной

терапии и возможности достижения ремиссии заболевания [64]. Одни исследователи предполагают, что с целью оценки вероятности достижения ремиссии ДТЗ на фоне консервативного лечения важна оценка уровня АТ-рТТГ на момент манифестации заболевания, что подтверждается исследованиями А. Hesarghatta Shyamasunder, 2017 года [95]. В то же время в ряде других работ было показано, что прогностическое значение исходного уровня АТ-рТТГ невелика [87, 184]. По данным многофакторного анализа, проведенного Н. Shi et al., было установлено, что уровень АТ-рТТГ не влияет на риск рецидива ДТЗ [161]. Учитывая неоднозначные результаты исследований, многие авторы считают, что в клинической практике оценка только уровня АТ-рТТГ не всегда коррелирует с частотой рецидива заболевания после окончания терапии, в связи с чем важна оценка и других факторов риска.

Как было указано ранее, к возможным прогностическим факторам неэффективности консервативной терапии относится объем щитовидной железы. В нескольких исследованиях было установлено, что у пациентов с ДТЗ с нормальным или незначительно увеличенным объемом ЩЖ (определяемым при помощи пальпации ЩЖ) вероятность ремиссии заболевания выше, чем у больных с зобом 2-3 степени [126]. Подобные результаты были выявлены и по данным мета-анализа, проведенного Н. Shi et al. в 2020 году [161].

В литературе обсуждается, что молодой возраст манифестации ДТЗ может быть фактором риска рецидива синдрома тиреотоксикоза на фоне консервативного лечения. В исследовании Е. Masiello, G. Veronesi (2018) не было выявлено статистически значимого различия в частоте достижения ремиссии заболевания у пациентов с ДТЗ различных возрастных групп [32]. В то же время, в шкале GREAT, созданной в Дании, такие факторы, как молодой возраст больного (менее 40 лет), высокий уровень АТ-рТТГ и большой объем ЩЖ, признаны основными маркерами рецидива тиреотоксикоза [153].

Многие годы обсуждается роль курения как фактора, влияющего не только на частоту ремиссии ДТЗ, но и на тяжесть и активность инфильтративной офтальмопатии. Результаты мета-анализов доказывают, что табакокурение

в 3,3 раза повышает риск развития ДТЗ, а также способствует развитию эндокринной офтальмопатии, оказывая влияние на тяжесть течения ИО и на эффективность терапии [177]. Также было установлено, что среди курящих пациентов уровень антител к рецепторам ТТГ выше и в данной группе больных реже наблюдается длительная ремиссия. Считается, что механизм негативного воздействия табакокурения заключается в активации симпатической нервной системы и в непосредственном влиянии никотина и тиоцианата на щитовидную железу [174].

Таким образом, на риск рецидива ДТЗ на фоне отмены терапии тиреостатиков влияет многочисленное количество факторов – клинические характеристики больного, длительность лечения антитиреоидными препаратами, факторы внешней среды, генетические факторы [31]. При этом прогностическая значимость каждого фактора в отдельности невысока [57, 187]. В связи с этим представляется актуальным проведение дальнейших исследований с целью выявления дополнительных факторов прогнозирования эффективности консервативного лечения ДТЗ.

1.3.2 Хирургическое лечение диффузного токсического зоба

Согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению тиреотоксикоза с диффузным зобом от 2021 года при неэффективности медикаментозного лечения, при большом объеме щитовидной железы, при отказе больного от терапии радиоактивным йодом, обсуждается вопрос о проведении оперативного вмешательства [7]. Главным преимуществом хирургического лечения ДТЗ является быстрое достижение эутиреоза с низким риском рецидива заболевания, что, однако, является спорным и зависит от многочисленных факторов [8].

Основной проблемой хирургического лечения ДТЗ в настоящее время является решение вопроса об оптимальном объеме вмешательства. Результаты нескольких исследований свидетельствуют о том, что как в случае выполнения тотальной или предельно-субтотальной тиреоидэктомии, так и при субтотальной резекции ЩЖ наблюдаются и положительные, и отрицательные результаты [195-197, 204]. И зачастую от объема остатка ткани ЩЖ зависит дальнейший прогноз и риск рецидива заболевания. Проведение тотальной тиреоидэктомии в меньшей степени связано с риском рецидивом синдрома тиреотоксикоза [191]. Однако, считается, что такой объем вмешательства сопряжен с более высоким риском развития послеоперационных осложнений, чем после выполнения субтотальной резекции железы. В связи с этим решение вопроса об объеме оперативного вмешательства остается предметом дискуссии на протяжении не одного десятилетия.

При наличии таких факторов, как сочетание ДТЗ с раком щитовидной железы, при объеме ЩЖ более 40-50 см³ с признаками компрессии близлежащих органов, наличии инфильтративной офтальмопатии, наличии противопоказаний для проведения терапии радиоактивным йодом и назначения тиреостатиков (развитие агранулоцитоза или тяжелой аллергической реакции), отдается предпочтение тотальной тиреоидэктомии [10, 26, 64, 73]. Несколько исследований было посвящено изучению возможности проведения субтотальной резекции ЩЖ. Основной проблемой данного выбора хирургического лечения является то, что практически у 30% больных ДТЗ наблюдается рецидив заболевания [16, 185, 204]. При этом риск развития послеоперационного гипотиреоза незначительно ниже, чем после экстирпации ЩЖ [16]. Помимо этого, отдельной проблемой является решение вопроса об объеме остатка тиреоидной ткани в случае выполнения субтотальной резекции ЩЖ.

Ввиду высокого риска рецидива ДТЗ после субтотальной резекции железы и отсутствия достоверных прогностических факторов дальнейшего послеоперационного течения заболевания у каждого пациента в отдельности, на данный момент отдается предпочтение более радикальному объему

вмешательству – тотальной тиреоидэктомии [7, 26, 73, 105]. Основная причина выбора данного объема хирургического вмешательства обусловлена низкой частотой рецидива ДТЗ и составляет менее 5% случаев [33].

К наиболее распространенным осложнениям тиреоидэктомии относится послеоперационный гипопаратиреоз, который может носить как транзиторный (длительностью до 6 месяцев), так и постоянный характер (длительностью более 6 месяцев). Частота выявления транзиторной гипокальциемии составляет менее 10% [67]. По данным M. Al Qubaisi et al., было установлено, что у больных ДТЗ риск послеоперационного гипопаратиреоза после тиреоидэктомии в 2 раза выше, чем у пациентов, которым была проведена тиреоидэктомия по другим причинам [24]. Известно, что исходный большой объем ЩЖ (более 40-50 мл), выполняемый объем оперативного вмешательства, уровень паратгормона, наличие дефицита витамина Д перед операцией могут быть факторами риска развития послеоперационной гипокальциемии (послеоперационного гипопаратиреоза) [160]. Однако, по данным исследований назначение терапии препаратами кальция, витамином Д перед оперативным лечением снижает риск развития послеоперационной гипокальциемии [155, 164]. Помимо этого, после тиреоидэктомии нередко наблюдается развитие такого осложнения, как повреждение возвратного нерва, частота возникновения которого варьируют – от 1 до 20% и может проявляться различной степенью тяжести паралича гортани [108, 197]. Послеоперационный гипотиреоз многими авторами расценивается как ожидаемый исход тиреоидэктомии и требует назначения пожизненной заместительной терапии левотироксином натрия [106, 128, 180]. Однако, необходимо отметить, что вероятность развития осложнений и послеоперационный исход зависят от многочисленных факторов, в том числе от возраста пациента, объема ЩЖ, степени тяжести тиреотоксикоза, длительности заболевания, от опыта и квалификации хирурга [54, 62].

Глава 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика исследования

Работа проводилась на базе ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения РФ в период с 2012 по 2017 годы. Лабораторные исследования выполнены в Центральной клинико-диагностической лаборатории ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Молекулярно-генетическое исследование было выполнено в отделе молекулярно-генетических и нанобиологических технологий научно-исследовательского центра ПСПбГМУ им. И.П. Павлова (заведующая лабораторией медицинской генетики, доктор биологических наук Пчелиной С.Н.).

Все участники исследования относились к европеоидной расе и проживали на территории города Санкт-Петербург. Перед включением в исследование все больные подписали информированное согласие на участие в нем.

Критериями включения в исследование были: наличие ДТЗ, который был подтвержден наличием манифестного синдрома тиреотоксикоза, повышенным уровнем антител к рецепторам ТТГ, диффузным зобом по данным ультразвукового исследования щитовидной железы; возраст старше 18 лет, проживание на территории города Санкт-Петербурга не менее 3 лет и наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании. В исследование не включались пациенты с другими причинами синдрома тиреотоксикоза (многоузловой токсический зоб, токсическая аденома, йод-индуцированный тиреотоксикоз, медикаментозный тиреотоксикоз); с острыми воспалительными заболеваниями; при отказе больного от участия в исследовании.

В исследование было включено 470 человек – 366 женщин (78%) и 104 мужчины (22%). Среди участников исследования 270 человек – это пациенты с диффузным токсическим зобом (ДТЗ), средний возраст которых составил

57,6±3,5 лет. Среди пациентов с ДТЗ было 210 женщин (77,8%) и 60 мужчин (22,2%). Все больные ДТЗ проходили обследование и лечение в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова в различные периоды времени – с 2012 г. по 2017 г.

200 человек (155 женщин и 45 мужчин) составили группу сравнения – это лица без отягощенной наследственности по заболеваниям ЩЖ, без структурных изменений ЩЖ, с отсутствием клинических проявлений синдрома тиреотоксикоза на момент обследования, с нормальным уровнем ТТГ, средний уровень которого составил 2,1±0,4 мМЕ/л. Средний возраст пациентов группы сравнения составил 54±0,9 лет. Группы обследования были сопоставимы по полу и возрасту ($p>0,5$).

Схематически дизайн исследования представлен на рисунке 1.



ДТЗ – диффузный токсический зоб; ТТГ – тиреотропный гормон;

свТ₄ – свободный Т₄; свТ₃ – свободный Т₃; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ;

АТ к ТПО – антитела к тиреопероксидазе; ИЛ-6 – интерлейкин-6; ИЛ-13 – интерлейкин-13;

УЗИ – ультразвуковое исследование; ЩЖ – щитовидная железа.

Рисунок 1 – Дизайн исследования

Больным ДТЗ был выполнен тщательный сбор анамнеза, объективный осмотр, оценка тиреоидного статуса (ТТГ, свТ₄, свТ₃), уровней АТ-рТТГ, АТ-ТПО на момент выявления заболевания и через 12-18 месяцев лечения, также было выполнено УЗИ ЩЖ (оценка объема железы, наличие/отсутствие узловых образований, оценка кровотока). У всех больных ДТЗ проводилась оценка семейного анамнеза заболеваний ЩЖ, анамнеза курения. По данным анамнеза, объективного осмотра и результатам ранее проведенных исследований оценивалось наличие инфильтративной офтальмопатии (ИО). Диагноз ИО был верифицирован в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению эндокринной офтальмопатии при аутоиммунной патологии щитовидной железы от 2014 года [13]. Диагноз ИО был установлен на основании совокупности критериев: жалоб больного ДТЗ (на светобоязнь, двоение, ощущение «песка и сухости в глазах», снижение остроты зрения и прочие), данных объективного осмотра и инструментального обследования, проведенного эндокринологом и офтальмологом (наличие/отсутствие экзофтальма, ретракции века, инъекции конъюнктивы, хемоза). Тяжесть ИО оценивалась на основании классификации NOSPECS (1969, 1977 гг.), активность процесса – на основании классификации CAS (Clinical activity score) (1989 г.) [188]. Оценка изменения течения ИО (ее степень тяжести и активность) на фоне консервативного и хирургического лечения не являлось целью настоящего исследования, в связи с этим учитывался только факт наличия ИО.

У 183 пациентов с ДТЗ был проведен анализ характера течения заболевания и оценка лабораторно-инструментального исследований по данным ранее выполненных обследований.

87 больных ДТЗ были включены в исследование на момент выявления заболевания до начала проведения консервативной терапии. Данная группа больных составила проспективную часть исследования. У этих больных, помимо оценки показателей тиреоидного статуса, уровня АТ-рТТГ, ультразвукового исследования щитовидной железы, также была проведена оценка содержания ИЛ-6 и ИЛ-13 на момент выявления заболевания. В дальнейшем, пациентам из этой

группы была назначена терапия тиреостатиками согласно рекомендациям по лечению синдрома тиреотоксикоза, принятых в России [7].

Был проведен ретроспективный анализ течения заболевания на фоне медикаментозной терапии у всех больных ДТЗ (ретроспективная и проспективная группы больных). В зависимости от клинического течения ДТЗ пациенты были разделены на следующие группы: 1 группа – пациенты, которые достигли ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии (n=35, 13%); 2 группа – пациенты, у которых был рецидив тиреотоксикоза в первый год после отмены терапии (n=85, 31,5%) и 3 группа – больные, у которых не наблюдалась ремиссия ДТЗ на фоне терапии анти tireоидными препаратами сроком не менее 12 месяцев (n=150, 55,5%).

Исходно всем пациентам с ДТЗ была назначена консервативная терапия: 74% больных получали производные тиамазола; 26% пациентов с ДТЗ получали комбинированную терапию (схема «блокируй и замещай», т.е. комбинация тиреостатиков и левотироксина натрия). Производные тиамазола с равной частотой были назначены в группе пациентов как со стойкой ремиссией ДТЗ, так и с неблагоприятным течением заболевания (рецидив тиреотоксикоза и отсутствие ремиссии ДТЗ).

В виду отсутствия общепризнанных критериев ремиссии ДТЗ, в представленном исследовании в качестве ремиссии заболевания считали отсутствие клинических и лабораторных признаков синдрома тиреотоксикоза на протяжении не менее 2 лет после прекращения терапии анти tireоидными препаратами. Рецидивом ДТЗ считали появление клинических и лабораторных признаков синдрома тиреотоксикоза в первый год после отмены терапии тиреостатиками [7, 26, 73]. К группе пациентов с отсутствием ремиссии ДТЗ были отнесены те больные, у которых не удалось достичь стойкого эутиреоза, сохранялись повышенными уровни АТ-рТТГ, отмечалось увеличение объема ЩЖ, несмотря на проводимую терапию анти tireоидными препаратами.

Всем участникам исследования было выполнено молекулярно-генетическое исследование (определение аллельных вариантов генов *IL6*, *IL13*, *MIR125A*).

2.2 Методы исследования

2.2.1 Определение уровней

тиреотропного гормона, свободного T₄, свободного T₃

Всем участникам исследования забор крови был выполнен из локтевой вены утром после соблюдения не менее 10 часов голода. Сыворотка крови была получена методом центрифугирования в течение 10 минут при 3 000 об/мин. Сразу после получения образцы крови и сыворотки были помещены в морозильную камеру и хранились при температуре -70 °С до определения исследуемого показателя. Повторное замораживание сыворотки не допускалось.

Показатели тиреоидного статуса на момент выявления заболевания и через 12-18 месяцев приема антитиреоидных препаратов оценивались у всех пациентов с ДТЗ 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, T₄ свободного, T₃ свободного определялись в венозной крови иммунохимическим методом на анализаторе Access 2 (США). Единицы измерения ТТГ – мМЕ/л. Единицы измерения T₄ и T₃ свободных – пмоль/л. Референсные значения были следующими: ТТГ – 0,400-3,500 мМЕ/л, T₄ свободного 7,8-14,3 пмоль/л, T₃ свободного 3,5-6,4 пмоль/л

2.2.2 Определение содержания антител к рецепторам тиреотропного гормона и антител к тиреопероксидазе у больных диффузным токсическим зобом

Оценка уровня АТ-рТТГ на момент выявления заболевания была проведена у 145 (53,7%) больных ДТЗ; через 12-18 месяцев терапии антитиреоидными

препаратами – у 180 (66,6%) пациентов. Исследование концентрации АТ-ТПО на момент выявления ДТЗ было выполнено у 194 пациентов (71,9%), перед отменой терапии – у 78 больных (28,9%). Исследования были выполнены в лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Оценка содержания АТ-рТТГ и АТ-ТПО была выполнена методом иммуноферментного анализа с использованием диагностического набора Roche diagnostics, Швейцария; EuroImmun, Anti-TSH-Receptor (TRAb) Fast ELISA (IgG), Германия. Референсные значения АТ-ТПО были 0-35 МЕ/мл.; АТ-рТТГ <1,0 МЕ/л.

2.2.3 Определение содержания интерлейкина-6 и интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом

Концентрация ИЛ-6 оценивалась у 87 больных ДТЗ, не получавших терапию антитиреоидными препаратами. Оценка уровня ИЛ-13 была выполнена у 25 больных 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 IL-13 ELISA kit, Thermo Fisher Scientific). Единицы измерения пг/мл.

2.2.4 Ультразвуковое исследование щитовидной железы

Ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы (ЩЖ) было выполнено на аппарате «LOGIQ» с использованием линейного датчика 7-12 мГц. С учетом данных УЗИ ЩЖ проводилась оценка объема железы как на момент выявления заболевания, так и через 12-18 месяцев консервативной терапии.

Также определяли расположение ЩЖ, наличие либо отсутствие узловых образований. По данным цветового доплеровского картирования проводилась оценка кровотока в ЩЖ. В норме объем ЩЖ у мужчин до 25 см³, у женщин до 18 см³ [12]. Общий объем ЩЖ был рассчитан методом перемножения длины, ширины, толщины каждой доли с учетом коэффициента на эллипсоидность – 0,479 и суммированием полученных результатов [200].

2.3 Молекулярно-генетическое исследование

Молекулярно-генетические исследования были выполнены и в группе больных диффузным токсическим зобом (n=270), и в группе сравнения (n=200) и включали в себя следующие этапы: выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из лейкоцитов крови, проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР), определение полиморфных вариантов генов *IL6*, *IL13*, *MIR125A* методом рестрикционного анализа [39, 48, 148].

2.3.1 Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты из лейкоцитов крови

Забор крови из локтевой вены в объеме 5-7 мл проводился утром натощак в пробирку с 30 мкл ЭДТА (0,5М, рН 8,0) в качестве антикоагулянта. Собранная кровь замораживалась и хранилась при температуре -70 °С. 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 [53].

Этапы экстракции ДНК заключались в следующем – на первом этапе проводился лизис клеток методом Канкеля. К 500 мл исследуемой крови было

добавлено 500 мкл раствора Канкеля, состав которого включал в себя: 10 мМ NaCl, 29 мМ Tris-HCl pH 7,4, 3 мМ MgCl₂, 1% тритон, 5% сахароза. Далее пробирку аккуратно перемешивали и центрифугировали 10 минут при 5 000 оборотах в минуту. После сливали супернатант и повторяли дважды этап добавления раствора Канкеля и центрифугирования. 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, pH 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. После каждого добавления 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.

2.3.2 Полимеразная цепная реакция и определение полиморфных вариантов генов интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК-125А

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) была выполнена на амплификаторе ThermalCycler T100 (Bio Rad, США) в микроцентрифужных полипропиленовых пробирках объемом 200 мкл (Axygen, США). ПЦР проводили в объеме 15 мкл. В реакционную смесь на 1 пробу были добавлены: 1 мкл ДНК, 1,5 мкл dNTP, 1,5 мкл буфера, 1,5 мкл хлорида магния, по 1 мкл каждого праймера, 0,02 мкл TaqM полимеразы, 7,5 мкл стерильной воды.

2.3.2.1 Идентификация полиморфных вариантов C-572G гена интерлейкина-6 (rs1800796)

Полиморфизм 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):

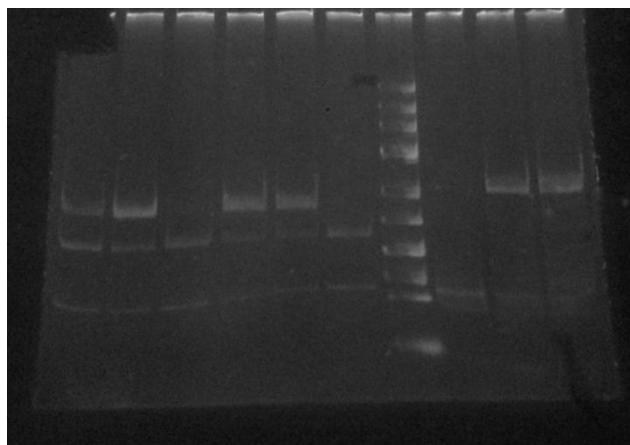
forward (прямой праймер) 5'-GAG ACG CCT TGA AGT AAC TG-3' ;

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

ПЦР включала в себя: первоначальную денатурацию при 95 °С в течение 5 минут, далее 36 циклов денатурации в течение 45 секунд при 95 °С, отжиг в течение 50 секунд при температуре 54 °С и синтез – 1 минута при 72 °С. Заключительный синтез проводился при 72 °С в течение 5 минут [39]. Длина ПЦР-продукта составила 182 пары нуклеотидов (п.н.).

Рестрикционный анализ проводился с использованием 0,1 мкл эндонуклеазы рестрикции BsrBI (производитель ThermoScientific, Литва) при температуре 37 °С в течение 24 часов по методике, описанной в работе Inoue et al., 2011 год. Электрофоретическое разделение рестрикционных фрагментов производилось в камере для вертикального электрофореза VE-10 (Helicon, Россия) в 8% полиакриламидном геле (ПААГ) при 120В. Длительность электрофореза отчисляла по движению в ПААГ красителей ксилен-цианола и метиленового синего. 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 C-572G гена *IL6* представлены на рисунке 2.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



1, 2, 4, 5 – варианты C-572G; 3, 6 – вариант C-572C;
7 – маркер молекулярного веса ДНК; 9, 10 – вариант G-572G.

Рисунок 2 – Результаты генотипирования полиморфных аллелей C-572G гена *IL6* (rs1800796)

2.3.2.2 Идентификация полиморфных вариантов C-1112T (rs1800925) гена интерлейкина-13

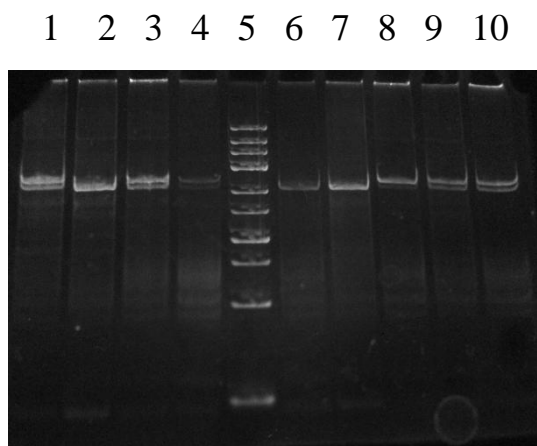
Полиморфизм C-1112T в промоторной области гена *IL13* обусловлен заменой нуклеотидов цитозина (C) на тимин (T), в результате чего происходит изменение транскрипционной активности гена. Амплификация данного фрагмента выполнена с использованием следующей последовательности олигонуклеотидов (производитель «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'.

ПЦР включала в себя следующие этапы: начальная денатурация в течение 3 минут при 96 °С, далее 33 цикла денатурации в течение 60 секунд при температуре 94 °С, отжиг в течение 60 секунд при 54 °С и синтез при 72 °С в течение 60 секунд. Заключительный синтез проводился при 72 °С в течение 5 минут. Длина фрагмента составила 247 п.н. 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 [39] (рисунок 3).



1, 2, 3, 9, 10 – вариант С-1112Т; 5 – маркер молекулярного веса ДНК;
6, 7 – вариант Т-1112Т; 4, 8 – вариант С-1112С.

Рисунок 3 – Результаты генотипирования полиморфных аллелей С-1112Т гена *IL13* (rs1800925)

2.3.2.3 Идентификация полиморфных вариантов С/Т (rs12976445) гена микроРНК-125А

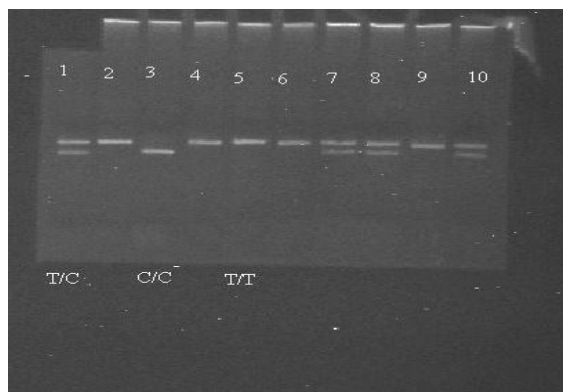
Полиморфный вариант rs12976445 С/Т гена *MIR125a* обусловлен заменой нуклеотида тимина (Т) на цитозин (С). Для проведения ПЦР были использованы следующие праймеры (производитель “ДНК-синтез”, Россия):

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

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

Аmplификация ДНК была проведена в несколько этапов, которые включали в себя: первоначальную денатурацию при температуре 95 °С в течение 5 минут, далее 35 циклов денатурации 94 °С в течение 30 секунд, отжиг на 58 °С в течение 30 секунд, синтез при 72 °С в течение 30 секунд, заключительный синтез

в течение 7 минут при температуре 72 °С. Рестрикционный анализ производился с использованием эндонуклеазы рестрикции BaeGI (New England Biolabs, США) [48, 148] (рисунок 4).



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

Рисунок 4 – Результаты генотипирования полиморфных аллелей C/T гена *MIR125A* (rs12976445)

2.4 Методы статистической обработки результатов исследования

Статистическая обработка результатов, полученных в ходе исследования, была произведена в программе STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Первоначально была проведена проверка нормальности распределения данных с помощью критерия Шапиро-Уилка. При сравнении двух групп с нормальным распределением был использован критерий Стьюдента. Для оценки значимости различий изучаемых показателей, которые отличались от нормального распределения, был использован непараметрический критерий Манна-Уитни. Различие частот аллелей и генотипов в изучаемых группах определяли с использованием таблиц сопряженности и критерия Хи-квадрат (χ^2), точного критерия Фишера. С целью выявления взаимосвязи фактора риска и исхода заболевания был проведен расчет отношения шансов (ОШ, odds ratio, OR). Статистически значимым считали различия при значениях p менее 0,05.

Глава 3

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ

3.1 Результаты клинического, лабораторного и инструментального обследования больных диффузным токсическим зобом, получавших консервативное лечение

В исследование было включено 270 пациентов с ДТЗ, средний возраст которых составил $57,6 \pm 3,5$ лет. Среди них было 210 женщин и 60 мужчин. Средний возраст на момент начала заболевания у женщин был $40,8 \pm 13,4$ лет, мужчин – $44,8 \pm 14,2$ лет. Таким образом, у женщин ДТЗ манифестировал в более молодом возрасте, чем у мужчин ($p=0,04$). Наследственность по заболеваниям ЩЖ была отягощена у 42 % больных ДТЗ ($n=112$) – у 90 женщин (80,4%) и у 22 мужчин (19,6%). Не выявлено статистического различия по такому фактору, как отягощенная наследственность, у женщин и мужчин больных ДТЗ (43,3% и 35%, соответственно, $p=0,07$). На момент обследования 66 больных (24%) ДТЗ являлись активными курильщиками, факт табакокурения в анамнезе был у 25 больных (9%).

Инфильтративная офтальмопатия (ИО) была диагностирована у 100 больных ДТЗ (40%). Среди всех пациентов с ИО было 75 женщин (75%) и 25 мужчин (25%), однако, различий в частоте выявления ИО у мужчин и женщин не было установлено ($p=0,2$). По данным УЗИ ЩЖ узловые образования были выявлены у 80 пациентов (29,6%). В среднем диаметр узлов составил от 1,6 до 1,8 см. Тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) узловых образований ЩЖ была выполнена 46 больным. По данным цитологического исследования установлено, что у 28 (60,9%) пациентов был коллоидный узел, у 13 человек (28,3%) – фолликулярная аденома, у 3 больных (6,5%) – аутоиммунный тиреоидит, папиллярный рак ЩЖ был выявлен у 2 больных (4,3%).

У больных с рецидивом синдрома тиреотоксикоза после прекращения анти tireоидной терапии ДТЗ развивался в более молодом возрасте, чем у больных, достигших ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии и больных, не достигших ремиссии на фоне терапии анти tireоидными препаратами сроком не менее 12-18 месяцев (таблица 1).

Таблица 1 – Клиническая характеристика больных диффузным токсическим зобом с различным течением заболевания

Параметры	Группа 1 n=35	Группа 2 n=85	Группа 3 n= 150	p
Возраст на момент манифестации ДТЗ, лет	43,1±2,5	38,5±1,2	43,2±1,2	p_{1,2}=0,01 p _{1,3} =0,9 p_{2,3}=0,006
Пол, муж./жен.	7/28	15/70	38/112	p _{1,2,3} =0,3
Курение, n (%)	7 (10,6)	22 (33,4)	37 (56)	p _{1,2,3} =0,2
Отягощенная наследственность, n (%)	13 (37,1)	35 (41,2)	63 (42)	p=0,9
Примечание – группа 1 – пациенты, достигшие ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза после отмены терапии; группа 3 – пациенты без ремиссии ДТЗ на фоне терапии анти tireоидными препаратами сроком не менее 12-18 месяцев; p – достоверность различий.				

По наличию отягощенного семейного анамнеза (заболевания ЩЖ) группы больных, достигших ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии, с рецидивом ТТ и не достигшие ремиссии на фоне терапии анти tireоидными препаратами были сопоставимы (37,1%, 41,2% и 42%, соответственно; p>0,05). Частота достижения ремиссии заболевания не различалась среди мужчин и женщин (13,7% и 11,7%, соответственно, p=0,4). Таким образом, не было

выявлено статистической значимости в характере течения ДТЗ среди мужчин и женщин.

По результатам лабораторного обследования больных ДТЗ было установлено, что у пациентов с неблагоприятным течением заболевания (2 и 3-ая группы) на момент выявления заболевания уровень АТ-рТТГ был выше, чем у больных со стойкой ремиссией заболевания. Помимо этого, для больных из 2 и 3 групп до начала консервативной терапии были характерны более высокий уровень свТ₃ и соотношение свТ₃/Т₄, чем у пациентов из 1 группы. Между группами больных значимых различий в исходных уровнях ТТГ, свТ₄ и АТ-ТПО в настоящей работе выявлено не было (таблица 2).

Таблица 2 – Лабораторные показатели у больных с различным течением диффузного токсического зоба на момент выявления заболевания

Параметры	Группа 1 n=35	Группа 2 n=85	Группа 3 n= 150	p
ТТГ, мМЕ/л	0,02±0,007	0,01±0,002	0,02±0,007	p _{1,2} =0,7 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,2
свТ ₄ , пмоль/л	41,3±7,9	36,4±1,9	38,2±1,6	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,7 p _{2,3} =0,5
свТ ₃ , пмоль/л	12,4±1,8	17,3±1,2	18,8±0,8	p_{1,2}=0,03 p_{1,3}=0,001 p _{2,3} =0,3
Соотн. свТ ₃ /Т ₄	0,37±0,04	0,49±0,02	0,51±0,02	p_{1,2}=0,01 p_{1,3}=0,003 p _{2,3} =0,5

Продолжение таблицы 2

Параметры	Группа 1 n=35	Группа 2 n=85	Группа 3 n= 150	p
АТ-рТТГ, МЕ/л	12,3±3,1	17,3±4,8	16,5±1,1	p_{1,2}=0,02 p_{1,3}=0,02 p _{2,3} =0,8
АТ-ТПО, МЕ/мл	70,1±12,1	48,6±8,9	53,1±12,3	p _{1,2} =0,1 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,7
Примечание – группа 1 – пациенты, достигшие ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза после отмены терапии; группа 3 – пациенты без ремиссии ДТЗ на фоне терапии анти tireоидными препаратами сроком не менее 12-18 месяцев; ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; p – достоверность различий.				

У 87 пациентов с ДТЗ до момента проведения консервативной терапии была проведена оценка концентрации ИЛ-6 в крови. Средний уровень ИЛ-6 в группе больных, у которых на консервативной терапии была достигнута ремиссия ДТЗ, был ниже, чем у пациентов с рецидивом синдрома ТТ и отсутствием ремиссии заболевания (3,8±0,9 пг/мл и 13,5±5,3 пг/мл, соответственно; p=0,02).

На основании выполненного корреляционного анализа не удалось установить достоверных связей между уровнем ИЛ-6 и такими параметрами, как уровень ТТГ, свТ₄, свТ₃, АТ-рТТГ, АТ-ТПО и объем ЩЖ (r=0,043, p=0,7) (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты корреляционного анализа уровня интерлейкина-6 и лабораторных показателей в группе больных диффузным токсическим зобом

Параметры	Коэффициент корреляции и его значимость
ИЛ-6, пг/мл и ТТГ, мМЕ/л	$r=0,009, p=0,9$
ИЛ-6, пг/мл и свТ ₄ , пмоль/л	$r=-0,045, p=0,7$
ИЛ-6, пг/мл и свТ ₃ , пмоль/л	$r=0,143, p=0,2$
ИЛ-6, пг/мл и соотн. свТ ₃ /Т ₄	$r=-0,046 p=0,8$
ИЛ-6, пг/мл и АТ-рТТГ, МЕ/л	$r=0,119, p=0,4$
ИЛ-6, пг/мл и АТ-ТПО, МЕ/мл	$r=-0,128, p=0,3$
Примечание – ИЛ-6 – интерлейкин-6; ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; p – достоверность различий; r – коэффициент корреляции.	

Далее была проведена оценка концентрации ИЛ-13 у пациентов с ДТЗ. Уровень ИЛ-13 в группе со стойкой ремиссией заболевания и в группе пациентов с отсутствием ремиссии ДТЗ (несмотря на проведенное лечение) не различался ($6,2 \pm 3,5$ пг/мл и $6,7 \pm 5,1$ пг/мл, соответственно; $p=0,9$).

По данным корреляционного анализа не было выявлено связи между уровнями ИЛ-13 и показателями тиреоидного статуса (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты корреляционного анализа уровня интерлейкина-13 и лабораторных показателей в группе больных диффузным токсическим зобом

Параметры	Коэффициент корреляции и его значимость
ИЛ-13, пг/мл и ТТГ, мМЕ/л	$r=-0,019 p=0,9$
ИЛ-13, пг/мл и свТ ₄ , пмоль/л	$r=0,102 p=0,6$
ИЛ-13, пг/мл и свТ ₃ , пмоль/л	$r=-0,055 p=0,8$

Продолжение таблицы 4

Параметры	Коэффициент корреляции и его значимость
ИЛ-13, пг/мл и соотн. свТ ₃ /Т ₄	r=-0,046 p=0,8
ИЛ-13, пг/мл и АТ-рТТГ, МЕ/л	r=-0,021 p=0,9
ИЛ-13, пг/мл и АТ-ТПО, МЕ/мл	r=0,099 p=0,7
Примечание – ИЛ-13 – интерлейкин-13; ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; p – достоверность различий; r – коэффициент корреляции.	

Вместе с тем были установлены положительные корреляционные связи между уровнем свТ₄ и АТ-рТТГ (r=0,409, p=0,01), свТ₃ (r=0,642, p=0,01) и объемом ЩЖ (r=0,249, p=0,01). Помимо этого, выявлена положительная корреляция уровня свТ₃ и АТ-рТТГ (r=0,493, p=0,01), объема ЩЖ (r=0,307, p=0,01), соотношения свТ₃/Т₄ (r=0,622, p=0,01).

Через 12-18 месяцев проводимой терапии антитиреоидными препаратами у пациентов со стойкой ремиссией заболевания был достигнут эутиреоз, то есть уровни ТТГ, свТ₄, свТ₃, соотношение свТ₃/Т₄ были в пределах референсных значений в сравнении с исследуемыми параметрами у пациентов 3 группы: уровень ТТГ был ниже у больных с отсутствием ремиссией ДТЗ, чем у пациентов со стойкой ремиссией заболевания. Помимо этого, у больных с отсутствием ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии сохранялись высокими уровни свТ₃ и свТ₄ (таблица 5). Различий в уровне АТ-ТПО через 12-18 месяцев медикаментозной терапии у больных различных групп выявлено не было (таблица 5).

Таблица 5 – Лабораторные показатели у больных с различным течением диффузного токсического зоба через 12-18 месяцев консервативной терапии

Параметры	Группа 1 n=35	Группа 2 n=85	Группа 3 n= 150	p
ТТГ, мМЕ/л	2,8±0,5	1,8±0,3	0,7±0,1	p _{1,2} =0,1 p_{1,3}=0,001 p_{2,3}=0,001
свТ ₄ , пмоль/л	11,4±0,5	16,5±4,4	17,1±1,7	p _{1,2} =0,2 p_{1,3}=0,003 p _{2,3} =0,9
свТ ₃ , пмоль/л	4,1±0,4	5,6±0,6	9,2±0,9	p_{1,2}=0,05 p_{1,3}=0,001 p_{2,3}=0,002
Соотн. свТ ₃ /Т ₄	0,37±0,03	0,42±0,02	0,6±0,05	p _{1,2} =0,2 p_{1,3}=0,001 p_{2,3}=0,001
АТ-рТТГ, МЕ/л	0,8±0,4	3,8±2,5	12,9±1,7	p _{1,2} =0,5 p_{1,3}=0,001 p_{2,3}=0,001
АТ-ТПО, МЕ/мл	66,1±18,2	38,4±8,7	35,4±9,7	p _{1,2} =0,1 p _{1,3} =0,1 p _{2,3} =0,8

Примечание – группа 1 – пациенты, достигшие ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза после отмены терапии; группа 3 – пациенты без ремиссии ДТЗ на фоне терапии анти tireоидными препаратами сроком не менее 12-18 месяцев; ТТГ – тиреотропный гормон; свТ₄ – свободный Т₄; свТ₃ – свободный Т₃; соотн. свТ₃/Т₄ – соотношение свободного Т₃ к Т₄; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; p – достоверность различий.

Результаты сопоставления объема ЩЖ на момент выявления заболевания и через 12-18 месяцев терапии антитиреоидными препаратами показали, что и у мужчин, и женщин с рецидивом синдрома тиреотоксикоза и отсутствием ремиссии ДТЗ объем ЩЖ был больше, чем у больных 1 группы. Было установлено, что наибольший объем ЩЖ на момент начала заболевания определялся у обследованных больных 3 группы: у женщин в среднем объем железы был $37,5 \pm 2,5 \text{ см}^3$, у мужчин – $43,4 \pm 3,5 \text{ см}^3$ (таблица 6).

Несмотря на проводимую терапию, через 12-18 месяцев лечения и у женщин, и у мужчин из 3 группы наблюдалось дальнейшее увеличение объема ЩЖ ($p=0,001$). У лиц с рецидивом синдрома тиреотоксикоза (2-ая группа) значимого изменения объема ЩЖ на фоне консервативной терапии не наблюдалось. В то же время, у лиц со стойкой ремиссией заболевания как у женщин, так и у мужчин отмечалось уменьшение объема ЩЖ, что явилось одним из критериев ремиссии ДТЗ ($p=0,01$ и $p=0,03$, соответственно) (таблица 6).

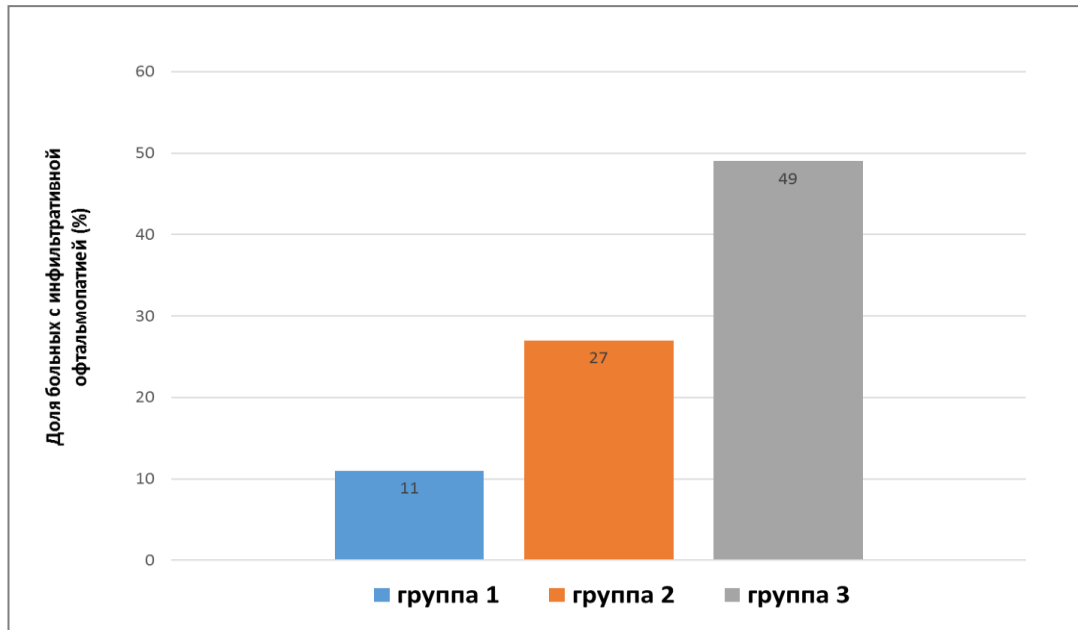
Таблица 6 – Объем щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с различным течением заболевания до и через 12-18 месяцев консервативного лечения

Параметры		Группа 1 n=35	Группа 2 n=85	Группа 3 n= 150	p
Объем ЩЖ у женщин, см^3	До терапии	$20,8 \pm 2,3$	$27,9 \pm 1,5$	$37,5 \pm 2,5$	$p_{1,2}=0,01$ $p_{1,3}=0,001$ $p_{2,3}=0,002$
	Через 12-18 месяцев терапии	$13,1 \pm 1,4$	$27,6 \pm 1,7$	$51,9 \pm 4,1$	$p_{1,2}=0,001$ $p_{1,3}=0,001$ $p_{2,3}=0,001$
Достоверность различий		$p=0,01$	$p=0,9$	$p=0,001$	–

Продолжение таблицы 6

Параметры		Группа 1 n=35	Группа 2 n=85	Группа 3 n= 150	P
Объем ЩЖ у мужчин, см ³	До терапии	28,9±3,8	32,8±3,8	43,4±3,5	p _{1,2} =0,4 p_{1,3}=0,01 p_{2,3}=0,04
	Через 12-18 месяцев терапии	14,8±3,2	33,3±4,7	63,2±7,3	p_{1,2}=0,005 p_{1,3}=0,001 p_{2,3}=0,001
Достоверность различий		p=0,03	p=0,3	p=0,001	–
Примечание – группа 1 – пациенты, достигшие ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза после отмены терапии; группа 3 – пациенты без ремиссий ДТЗ на фоне терапии анти тиреоидными препаратами сроком не менее 12-18 месяцев; ЩЖ – щитовидная железа; p – достоверность различий.					

ИО была выявлена у 100 больных ДТЗ. У пациентов со стойкой ремиссией заболевания (1-ая группа) реже наблюдались проявления ИО, чем у больных с неблагоприятным течением ДТЗ (p=0,001). Максимальное количество больных с ИО было выявлено в группе пациентов, у которых не удалось в дальнейшем достичь ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии (рисунок 5).



Примечание – группа 1 – пациенты, достигшие ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии; группа 2 – пациенты с рецидивом тиреотоксикоза после отмены терапии; группа 3 – пациенты без ремиссии диффузного токсического зоба на фоне терапии антитиреоидными препаратами сроком не менее 12-18 месяцев.

Рисунок 5 – Частота выявления инфильтративной офтальмопатии среди больных с различным течением диффузного токсического зоба

Таким образом, результаты настоящего исследования показали, что молодой возраст больного, большой объем ЩЖ на момент выявления заболевания, высокие уровни АТ-рТТГ и свТ₃, высокое соотношение свТ₃/Т₄ являются факторами неблагоприятного течения заболевания у больных диффузным токсическим зобом, включенных в представленное исследование.

3.2 Результаты клинического, лабораторного и инструментального обследования больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

В связи с отсутствием достижения ремиссии заболевания на фоне консервативного лечения 105 пациентам с ДТЗ было проведено оперативное

вмешательство. Тиреоидэктомия была выполнена 45 больным (42,8%), субтотальная резекция ЩЖ была выполнена 60 больным (57,2%). Средний объем ЩЖ перед оперативным вмешательством у больных ДТЗ составил $54,9 \pm 10,2$ см³. У 45 пациентов (42,8%), прооперированных по поводу ДТЗ, была выявлена инфильтративная офтальмопатия. Средний уровень ТТГ перед оперативным вмешательством был $6,8 \pm 5,2$ мМЕ/л, свТ₄ $13,1 \pm 9,1$ пмоль/л, свТ₃ $6,8 \pm 5,2$ пмоль/л (таблица 7).

Таблица 7 – Показатели тиреоидного статуса, объема щитовидной железы и наличие инфильтративной офтальмопатии у больных диффузным токсическим зобом перед оперативным вмешательством

Параметры	Группа 1 n=45	Группа 2 n=60	Р
ТТГ, мМЕ/л	$8,2 \pm 2,1$	$5,6 \pm 0,7$	$p_{1,2}=0,2$
свТ ₄ , пмоль/л	$14,6 \pm 4,2$	$12,2 \pm 0,9$	$p_{1,2}=0,5$
свТ ₃ , пмоль/л	$8,2 \pm 2,1$	$5,6 \pm 0,7$	$p_{1,2}=0,2$
Объем ЩЖ, см ³	$55,1 \pm 6,7$	$54,8 \pm 2,5$	$p_{1,2}=0,9$
ИО, n (%)	22 (48,9)	23 (51,1)	$p_{1,2}=0,3$
Примечание – группа 1 – тиреоидэктомия; группа 2 – субтотальная резекция щитовидной железы; ТТГ – тиреотропный гормон, свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; ЩЖ – щитовидная железа; ИО – инфильтративная офтальмопатия; р – достоверность различий.			

Такие послеоперационные осложнения, как повреждение возвратного нерва, гипопаратиреоз, были выявлены у 8 (7,6%) из 105 пациентов. Повреждение возвратного нерва наблюдалось у 5 больных (4,8%), гипопаратиреоз – у 3 пациентов (2,8%). Из 60 пациентов с ДТЗ, которым была выполнена субтотальная резекция ЩЖ, послеоперационные осложнения были выявлены у 3 человек (5% от всех пациентов). У больных, которым была проведена

тиреоидэктомия, осложнения были выявлены в 11,1% случаев. Среди пациентов, прооперированных по поводу ДТЗ, связи между исходным объемом ЩЖ и послеоперационными исходом и осложнениями (гипопаратиреоз, повреждение возвратного нерва) выявлено не было ($p=0,6$ и $p=0,14$, соответственно). Также не было установлено статистической значимости в частоте выявления послеоперационных осложнений в зависимости от объема операции ($p=0,2$) (таблица 8).

Таблица 8 – Частота выявления послеоперационных осложнений и послеоперационный исход у больных, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба

Параметры	Группа 1 n=45	Группа 2 n=60	P
Послеоперационный исход:			
п/о эутиреоз, n (%)	1 (2,2%)	16 (26,7%)	$p_{1,2}=0,0001$
п/о гипотиреоз, n (%)	42 (93,3%)	26 (43,3%)	
п/о ТТ, n (%)	2 (4,5%)	18 (30%)	
Послеоперационные осложнения, n (%)	5 (11,1%)	3 (5%)	$p_{1,2}=0,2$
Примечание – группа 1 – тиреоидэктомия; группа 2 – субтотальная резекция щитовидной железы; п/о – послеоперационный; ТТ – тиреотоксикоз; p – достоверность различий.			

Было выявлено статистически значимое различие в послеоперационном исходе в зависимости от объема операции. Практически у всех больных ДТЗ (93,3%), которым была выполнена тиреоидэктомия, через 1 год сохранялся послеоперационный гипотиреоз, несмотря на проводимую заместительную терапию левотиroxином. В группе пациентов, у которых была проведена субтотальная резекция ЩЖ, чаще наблюдался послеоперационный эутиреоз, чем

у больных после экстирпации железы (26,7% и 2,2%, соответственно; $p=0,01$). Однако важно отметить, что и послеоперационный тиреотоксикоз (рецидив ДТЗ) чаще наблюдался у пациентов после проведения субтотальной резекции ЩЖ, чем после тиреоидэктомии (30% и 4%, соответственно; $p=0,01$).

Как видно из представленных данных, после проведения субтотальной резекции ЩЖ чаще встречался рецидив синдрома тиреотоксикоза, чем после проведения тиреоидэктомии. Однако, при этом показатели тиреоидного статуса, объем ЩЖ перед хирургическим лечением не различались у больных, которым была выполнена субтотальная резекция ЩЖ или тиреоидэктомия. Таким образом, в представленном исследовании не удалось выявить предоперационных различий у больных ДТЗ.

По данным литературы на риск развития послеоперационных осложнений влияет несколько факторов – объем ЩЖ, тиреоидный статус, уровни кальция, витамина Д, паратгормона перед хирургическим вмешательством, а также важную роль играет квалификация и опыт хирурга. Результаты анализа характера послеоперационного периода у больных ДТЗ подтверждают необходимость дальнейшего поиска надежных маркеров рецидива заболевания с целью создания персонализированного подхода при выборе объема хирургического вмешательства.

Глава 4

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ С-572G (RS1800796) ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-6, С-1112Т (RS1800925) ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-13 И С/Т (RS12976445) ГЕНА микроРНК-125А У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ ТЕЧЕНИЕМ ДИФFUЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА И В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ

4.1 Однонуклеотидный полиморфизм С-572G гена интерлейкина-6 (rs1800796 полиморфизм)

4.1.1 Распределение С-572G, G-572G, С-572С генотипов однонуклеотидного полиморфизма С-572G гена интерлейкина-6 у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения (rs1800796 полиморфизм)

В отобранной выборке, которая включала в себя 470 жителей Санкт-Петербурга, генотипы полиморфного варианта С-572G гена *IL6* распределились следующим образом: носителями генотипа G-572G были 61,7% лиц (n=274); С-572G – 34% (n=173); С-572С – 4,3% (n=23). Среди женщин распределение генотипов было следующим: G-572G – 60,4% (n=220); С-572G – 36,1% (n=133); С-572С – 3,6% (n=36). Среди мужчин: G-572G – 66,3% (n=66), С-572G – 26,9% (n=28), С-572С – 6,7% (n=7). Таким образом, и мужчины, и женщины, включенные в исследование, чаще были носителями генотипа G-572G. Различий в распределении генотипов у мужчин и женщин не было (p>0,05) (таблица 9).

Таблица 9 – Распределение C-572G, G-572G, C-572C генотипов и встречаемость -572C, -572G аллелей (rs1800796) гена интерлейкина-6 у жителей Санкт-Петербурга

Группа обследованных		Генотипы			Встречаемость аллеля	
		G-572G	C-572G	C-572C	-572C	-572G
Общая группа	n	274	173	23	0,79	0,21
	%	61,7	34	4,3		
Женщины	n	220	133	36	0,79	0,21
	%	60,4	36,1	3,6		
Мужчины	n	66	28	7	0,80	0,20
	%	66,3	26,9	6,7		
P		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Примечание – p – достоверность различий.						

В группе сравнения распределение генотипов полиморфизма rs1800796 гена *IL6* было следующим: GG – 66,5% (n=133), CG – 30,5% (n=61), CC – 3,0% (n=6). Частота аллелей -572C и -572G у больных ДТЗ не отличалась от распространенности данных аллелей в группе сравнения (C 0,24, G 0,76 и C 0,19, G 0,81, соответственно). Распределение генотипов в исследуемых группах находилось в равновесии с законом Харди-Вайнберга. Результаты представлены в таблице 10.

Большинство пациентов с ДТЗ были носителями генотипа G-572G – 58,3% (n=156), 36,5% (n=100) больных – C-572G генотипа, 5,2% – C-572C. Среди мужчин с ДТЗ частота генотипов была следующей: генотип G-572G – 60,0% (n=36), C-572G – 33,3% (n=20), C-572C – 6,7% (n=4). Среди женщин с ДТЗ: G-572G – 57,6% (n=120), C-572G – 37,6% (n=80), C-572C – 4,8% (n=10). Таким образом, среди мужчин и женщин с ДТЗ, вошедших в исследование, преобладал генотип G-572G гена *IL6*. Распределение генотипов не различалось у мужчин и женщин с ДТЗ (таблица 11).

Таблица 10 – Распределение C-572G, G-572G, C-572C генотипов и -572C, -572G аллелей (rs1800796) гена интерлейкина-6 у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

Группа обследованных		Генотипы			Встречаемость аллеля	
		G-572G	C-572G	C-572C	-572C	-572G
Больные ДТЗ	n	156	100	14	0,24	0,76
	%	57,7	37,0	5,3		
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 – ДТЗ – диффузный токсический зоб; p – достоверность различий.

Таблица 11 – Распределение C-572G, G-572G, C-572C генотипов и встречаемость -572G, -572C аллелей гена интерлейкина-6 у мужчин и женщин больных диффузным токсическим зобом

Больные ДТЗ		Генотипы			Встречаемость аллеля	
		G-572G	C-572G	C-572C	-572C	-572G
Женщины	n	120	80	10	0,23	0,77
	%	57,6	37,6	4,8		
Мужчины	n	36	20	4	0,23	0,77
	%	60,0	33,3	6,7		
P		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание – ДТЗ – диффузный токсический зоб; p – достоверность различий.

Таким образом, в результате настоящего исследования различий в распределении генотипов и аллелей однонуклеотидного полиморфизма C-572G (rs1800796) гена *IL6* среди группы больных ДТЗ и группы сравнения выявлено не было.

4.1.2 Показатели тиреоидного статуса, уровни интерлейкина-6 и морфометрические параметры щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с C-572G, G-572G, C-572C генотипами гена интерлейкина-6 (rs1800796 полиморфизм)

У всех больных ДТЗ – носителей различных генотипов C-572G, G-572G, C-572C гена *IL6* была проведена оценка тиреоидного статуса (ТТГ, свТ₄ и свТ₃) как на момент выявления заболевания, так и через 12-18 месяцев терапии анти тиреоидными препаратами.

При сопоставлении лабораторных показателей было установлено, что у носителей аллеля -572G (генотипы G-572G и C-572G) были выше исходные уровни свТ₄, свТ₃ и соотношение свТ₃/Т₄, чем у носителей генотипа C-572C (p=0,02, p=0,03, p=0,03, соответственно), однако у носителей генотипа G-572G уровень ТТГ на момент выявления заболевания был выше, чем у носителей генотипа C-572C (p=0,01). Но при сравнении уровня ТТГ у носителей аллеля – 572G (C-572G и G-572G) и C-572C генотипа гена *IL6* различий установлено не было (p=0,7) (таблица 12).

Таблица 12 – Показатели тиреоидного статуса у больных диффузным токсическим зобом с G-572G, C-572G, C-572C генотипами rs1800796 гена интерлейкина-6 на момент выявления заболевания

Параметры	Генотипы гена <i>IL6</i>			p
	C-572C (n=14) 1	C-572G (n=100) 2	G-572G (n= 156) 3	
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

Продолжение таблицы 12

Параметры	Генотипы гена <i>IL6</i>			p
	C-572C (n=14) 1	C-572G (n=100) 2	G-572G (n= 156) 3	
свТ ₄ , пмоль/л	27,8±3,2	42,3±1,3	35,9±1,3	p_{1,2}=0,004 p_{1,3}=0,002 p _{2,3} =0,1
свТ ₃ , пмоль/л	12,5±1,9	17,3±1,2	18,8±0,8	p_{1,2}=0,04 p_{1,3}=0,006 p _{2,3} =0,3
Соотн. свТ ₃ /Т ₄	0,3±0,04	0,5±0,02	0,5±0,02	p_{1,2}=0,03 p_{1,3}=0,02 p _{2,3} =0,6
АТ-рТТГ, МЕ/л	12,9±3,1	17,3±4,8	16,5±1,1	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,8
АТ-ТПО, МЕ/мл	60,2±22,0	61,1±16,8	48,3±6,5	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,4
Примечание – ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; p – достоверность различий.				

В дальнейшем была выполнена статистическая оценка лабораторных данных в группе больных ДТЗ, у которых проводилась консервативная терапия тиреостатиками не менее 12-18 месяцев.

У носителей аллеля -572G (G-572C и G-572G генотипы) уровень свТ₃ (p=0,02) и соотношение свТ₃/Т₄ через 12-18 месяцев лечения были выше (p=0,02), чем у носителей генотипа С-572С данного полиморфного варианта гена. Значимых различий уровней ТТГ и свТ₄ на момент отмены терапии среди больных, которые были носителями разных аллельных вариантов данного гена, определено не было. Однако, вывлено, что у больных ДТЗ, носителей С-572С генотипа, уровни свТ₄ и свТ₃ на фоне консервативной терапии снизились в отличии от показателей у пациентов, которые были носителями аллеля -572G (G-572C и G-572G генотипы) (таблица 13).

Уровень антител к рецепторам ТТГ считается важным фактором прогнозирования неблагоприятного течения заболевания. Однако в настоящем исследовании у больных ДТЗ – носителей различных генотипов, статистически значимого различия уровней АТ-рТТГ и АТ-ТПО как на момент выявления заболевания, так и через 12-18 месяцев приема тиреостатиков выявлено не было (таблица 13).

Таблица 13 – Динамика показателей тиреоидного статуса у больных диффузным токсическим зобом с G-572G, С-572G, С-572С генотипами гена интерлейкина-6 (полиморфизм rs1800796) через 12-18 месяцев консервативной терапии

Параметры		Генотипы гена <i>IL6</i>			p
		С-572С (n= 14) 1	С-572G (n=100) 2	G-572G (n= 156) 3	
ТТГ, мМЕ/л	До терапии	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	1,8±0,7	1,1±0,1	1,4±0,2	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,7 p _{2,3} =0,1

Продолжение таблицы 13

Параметры		Генотипы гена <i>IL6</i>			p
		C-572C (n= 14) 1	C-572G (n=100) 2	G-572G (n= 156) 3	
Δ ТТГ		-1,8±0,8	-1,1±0,5	-1,4±0,2	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,1
свТ ₄ , пмоль/л	До терапии	27,8±3,2	42,3±1,3	35,9±1,3	p_{1,2}=0,004 p_{1,3}=0,002 p _{2,3} =0,1
	Через 12-18 месяцев лечения	13,9±0,8	17,2±2,7	15,8±1,9	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,6
Δ свТ ₄		15,9±3,7	28,2±4,9	20,9±2,8	p_{1,2}=0,04 p _{1,3} = 0,3 p _{2,3} =0,4
свТ ₃ , пмоль/л	До терапии	12,5±1,9	17,3±1,2	18,8±0,8	p_{1,2}=0,04 p_{1,3}=0,006 p _{2,3} =0,3
	Через 12-18 месяцев лечения	4,8±0,8	8,7±1,4	8,1±0,8	p_{1,2}=0,03 p_{1,3}=0,02 p _{2,3} =0,7
Δ свТ ₃		7,5±2,1	17,1±1,2	16,4±1,1	p_{1,2}=0,001 p_{1,3}= 0,017 p _{2,3} =0,6
Соотн. свТ ₃ /Т ₄	До терапии	0,3±0,04	0,5±0,02	0,5±0,02	p_{1,2}=0,03 p_{1,3}=0,02 p _{2,3} =0,6
	Через 12-18 месяцев лечения	0,3±0,05	0,5±0,07	0,6±0,04	p_{1,2}=0,01 p_{1,3}=0,02 p _{2,3} =0,8

Продолжение таблицы 13

Параметры		Генотипы гена <i>IL6</i>			p
		C-572C (n= 14) 1	C-572G (n=100) 2	G-572G (n= 156) 3	
Δ Соотн. свТ ₃ /Т ₄		0,08±0,07	-0,1±0,08	-0,03±0,05	p _{1,2} =0,1 p _{1,3} = 0,7 p _{2,3} =0,5
АТ-рТТГ, МЕ/л	До терапии	12,9±3,1	17,3±4,8	16,5 ±1,1	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,8
	Через 12-18 месяцев лечения	8,5±1,1	10,1±2,4	7,3±3,8	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,8
Δ АТ-рТТГ		2,6±6,4	11,1±3,6	4,9±1,7	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,7 p _{2,3} =0,1
АТ-ТПО, МЕ/мл	До терапии	60,2±22,0	61,1±16,8	48,3±6,5	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,4
	Через 12-18 месяцев лечения	69,3±23,3	34,4±9,7	40,7±8,4	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,6
Δ АТ-ТПО		16,7±16,4	30,1±10,4	40,8±6,9	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,4 p_{2,3}=0,04
Примечание – ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; Δ – дельта-показатель (динамика изменения уровня изучаемого показателя через 12-18 месяцев лечения); p – достоверность различий.					

У 87 больных ДТЗ до начала терапии антитиреоидными препаратами была проведена оценка уровня интерлейкина-6 (ИЛ-6). Установлено, что у пациентов с ДТЗ, носителей аллеля -572G, уровень ИЛ-6 был выше, чем у носителей генотипа С-572С ($12,8 \pm 4,8$ и $2,05 \pm 0,5$, соответственно, $p=0,03$). При этом, наибольший его уровень был у гетерозиготных носителей С-572G полиморфного варианта гена *IL6* ($24,3 \pm 15,2$ пг/мл, $p=0,01$) (рисунок 6).

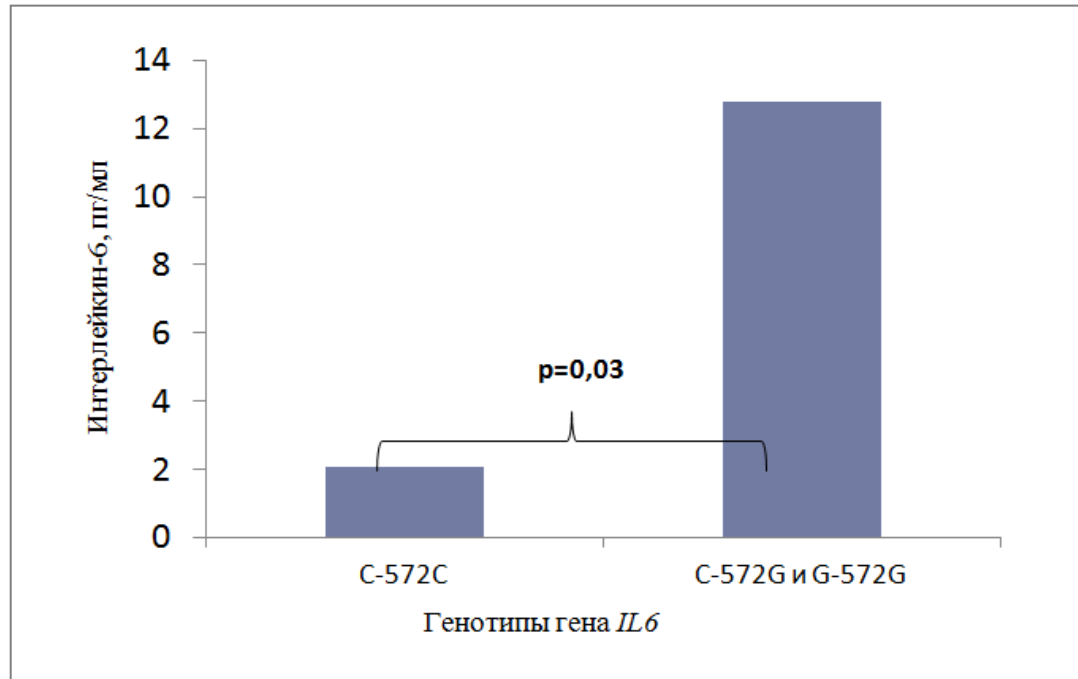


Рисунок 6 – Уровень интерлейкина-6 (пг/мл) у больных диффузным токсическим зобом, носителей разных аллельных вариантов гена интерлейкина-6 (полиморфизм rs1800796)

И у женщин, и у мужчин из группы пациентов с ДТЗ наибольший объем щитовидной железы был у носителей генотипа С-572G. Как у мужчин, так и у женщин больных ДТЗ, носителей аллеля -572G (G-572G, С-572G генотипы), объем щитовидной железы на момент выявления заболевания был больше, чем у носителей генотипа С-572С. Помимо этого, было установлено, что и у женщин, и у мужчин больных ДТЗ, которые были носителями G-572G генотипа гена *IL6* объем ЩЖ был больше через 12-18 месяцев лечения, чем объем ЩЖ у носителей С-572С генотипа гена *IL6* (таблица 14).

Таблица 14 – Объем щитовидной железы (см³) у больных диффузным токсическим зобом носителей G-572G, C-572G, C-572C генотипов гена интерлейкина-6 на момент выявления заболевания и через 12-18 месяцев лечения

Параметры		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 терапии	21,5± 3,2	37,6±3,1	29,5± 1,6	p_{1,2}=0,001 p_{1,3}=0,04 p_{2,3}=0,02
	Через 12-18 месяцев терапии	21,1±5,1	47,4±4,5	35,3±3,1	p_{1,2}=0,001 p_{1,3}=0,03 p_{2,3}=0,02
Достоверность различий		p=0,8	p=0,001	p=0,005	-
Объем ЩЖ у мужчин, см ³	До терапии	37,5±7,8	51,5±5,8	32,1±1,9	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,5 p_{2,3}=0,004
	Через 12-18 месяцев терапии	67,6±30,4	67,6±13,5	39,6±3,8	p _{1,2} =1,0 p _{1,3} =0,06 p _{2,3} =0,06
Достоверность различий		p=0,3	p=0,07	p=0,017	-
Примечание – ЩЖ – щитовидная железа; p – достоверность различий.					

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что у пациентов с ДТЗ, носителей аллеля -572G (G-572G и C-572G генотипы), не получавших лечение тиреостатиками на момент обследования, выявлен более высокий уровень ИЛ-6, чем у больных, носителей C-572C генотипа. Помимо этого, выявлено, что у носителей аллеля -572G выше уровни свТ₄, свТ₃ и больше объем ЩЖ на момент начала заболевания и после проведенного лечения, чем у носителей генотипа C-572C гена *IL6*. Также у больных ДТЗ, имеющих генотип

G-572G гена *IL6*, объем ЩЖ на фоне проводимой терапии увеличился, как у мужчин, так и у женщин.

4.1.3 Особенности клинического течения диффузного токсического зоба у носителей C-572G, G-572G, C-572C генотипов и аллельных вариантов однонуклеотидного полиморфизма C-572G гена интерлейкина-6 (*rs1800796* полиморфизм)

При анализе клинических особенностей заболевания было установлено следующее. У больных ДТЗ, носителей генотипов G-572G и C-572G, чаще наблюдался рецидив синдрома тиреотоксикоза после отмены консервативного лечения, чем у пациентов с генотипом C-572C (таблица 15). У носителей аллеля – 572G гена *IL6* риск рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания 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 15 – Частота достижения и отсутствия ремиссии заболевания у больных диффузным токсическим зобом с G-572G, C-572G, C-572C генотипами *rs1800796* гена интерлейкина-6

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

Инфильтративная офтальмопатия была выявлена у 100 пациентов с ДТЗ. Больные ДТЗ с ИО чаще были носителями аллеля -572G (генотипы G-572G и C-572G). Однако, частота выявления ИО достоверно не различалась среди больных ДТЗ, носителей различных генотипов полиморфизма C-572G гена *IL6* ($p=0,3$) (таблица 16).

Таблица 16 – Частота выявления инфильтративной офтальмопатии у больных диффузным токсическим зобом с G-572G, C-572G, C-572C генотипами гена интерлейкина-6 (полиморфизм rs1800796)

Параметры	Генотипы гена <i>IL6</i>		
	C-572C (n=14)	C-572G (n=100)	G-572G (n=156)
ИО (+), n (%)	3 (21,5)	41 (41)	56 (34)
ИО (-), n (%)	11 (78,5)	59 (59)	100 (64)
p	0,3		
Примечание – ИО (+) – наличие инфильтративной офтальмопатии; ИО (-) – отсутствие инфильтративной офтальмопатии; p – достоверность различий.			

Средний возраст больных ДТЗ, имеющих G-572G, C-572C и G-572C генотипы гена *IL6*, на момент выявления заболевания не различался ($41,5 \pm 0,8$ лет и $44,9 \pm 2,7$ лет, соответственно; $p=0,2$).

Полученные в исследовании результаты свидетельствуют о наличии связи G-572G, C-572G, C-572C генотипов rs1800796 гена *IL6* с особенностями течения ДТЗ – у носителей аллеля -572G (генотипы G-572G и G-572C) чаще наблюдается рецидив синдрома тиреотоксикоза после прекращения терапии антитиреоидными препаратами и отсутствие ремиссии заболевания, чем у гомозиготных носителей аллеля -572C данного полиморфного варианта гена *IL6*.

4.2 Однонуклеотидный полиморфизм С-1112Т гена интерлейкина-13 (rs1800925 полиморфизм)

4.2.1 Распределение С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов однонуклеотидного полиморфизма С-1112Т гена интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения (rs1800925 полиморфизм)

В наблюдаемой выборке, которая включала в себя 470 человек, распределение С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* было следующим: носителями генотипа С-1112С были 58,3% человека (n=274), С-1112Т – 36,8% (n=173), Т-1112Т – 4,9% (n=23).

В группе больных ДТЗ распределение генотипов было следующим: С-1112С – 51,7% (n=140); С-1112Т – 41,3% (n=112); ТТ – 7% (n=18). В группе сравнения – СС – 52,5% (n=105), СТ – 40% (n=80), ТТ – 7,5% (n=15). Распределение генотипов в группе больных ДТЗ и группе сравнения находилось в равновесии с законом Харди-Вайнберга (0,487 и 0,002, соответственно). Встречаемость аллелей и распределение С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* у больных ДТЗ и группе сравнения не различались (С 0,73, Т 0,27 и С 0,72, Т 0,28, соответственно) (таблица 17).

Различий в распределении генотипов среди женщин и мужчин в обеих группах (больные ДТЗ и группа сравнения) выявлено не было (p=0,48). Распределение генотипов и встречаемость аллелей гена *IL13* у женщин и мужчин, больных диффузным токсическим зобом, представлены в таблице 18.

Таблица 17 – Распределение С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов и встречаемость -1112С и -1112Т аллелей гена интерлейкина-13 у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

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

Таблица 18 – Распределение С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов и встречаемость -1112С и -1112Т аллелей гена интерлейкина-13 у женщин и мужчин, больных диффузным токсическим зобом

Генетический вариант	Женщины, %, n=210	Мужчины, %, n=60	р
С-1112С	50,5 (106)	56,7 (34)	р>0,05
С-1112Т	43,3 (91)	35 (21)	р>0,05
Т-1112Т	6,2 (13)	8,3 (5)	р>0,05
-1112С	0,72	0,74	р>0,05
-1112Т	0,28	0,26	р>0,05
Примечание – р – достоверность различий.			

Таким образом, в результате проведенного исследования не выявлено ассоциации полиморфного варианта rs1800925 гена *IL13* с риском развития диффузного токсического зоба.

4.2.2 Показатели тиреоидного статуса, уровни интерлейкина-13 и морфометрические параметры щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипами гена интерлейкина-13 (rs1800925 полиморфизм)

Сравнительный анализ лабораторных данных показал, что у гомозигот С-1112С исходные уровни свТ₄ и свТ₃ были выше, чем у носителей С-1112Т генотипа (41,2±2,5 и 34,2±1,7, p=0,02 и 18,7±1,1 и 15,7±0,9, p=0,03, соответственно). Различий в уровнях АТ-рТТГ и АТ-ТПО на момент выявления ДТЗ среди носителей различных аллельных вариантов изучаемого гена не выявлено (таблица 19).

Таблица 19 – Показатели тиреоидного статуса у больных диффузным токсическим зобом с С-1112С, С-1112Т, Т-1112Т генотипами rs1800925 гена интерлейкина-13 на момент выявления заболевания

Параметры	Генотипы гена <i>IL13</i>			p
	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
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
свТ ₄ , пмоль/л	41,2±2,5	34,2±1,7	37,5±4,2	p_{1,2}=0,02 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,5
свТ ₃ , пмоль/л	18,7±1,1	15,7±0,9	18,4±2,6	p_{1,2}=0,03 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,3

Продолжение таблицы 19

Параметры	Генотипы гена <i>IL13</i>			p
	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
Соотношение свТ ₃ /Т ₄	0,5±0,01	0,5±0,02	0,5±0,05	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,9
АТ-рТТГ, МЕ/л	14,4±1,1	18,9±3,8	12,8±1,9	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,1
АТ-ТПО, МЕ/мл	63,1±13,5	45,7±5,5	32,6±10,5	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,08 p _{2,3} =0,3
Примечание – ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; p – достоверность различий.				

До начала терапии анти тиреоидными препаратами у больных ДТЗ была проведена оценка уровня интерлейкина-13. Установлено достоверное различие содержания ИЛ-13 в сыворотке крови у носителей различных генотипов полиморфного варианта С-1112Т гена *IL13*. Выявлено, что у больных, носителей аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и Т-1112С) уровень ИЛ-13 был выше, чем у носителей С-1112С генотипа (12,0±1,5 и 4,5±0,7 пг/мл, соответственно; p=0,01) (рисунок 7).

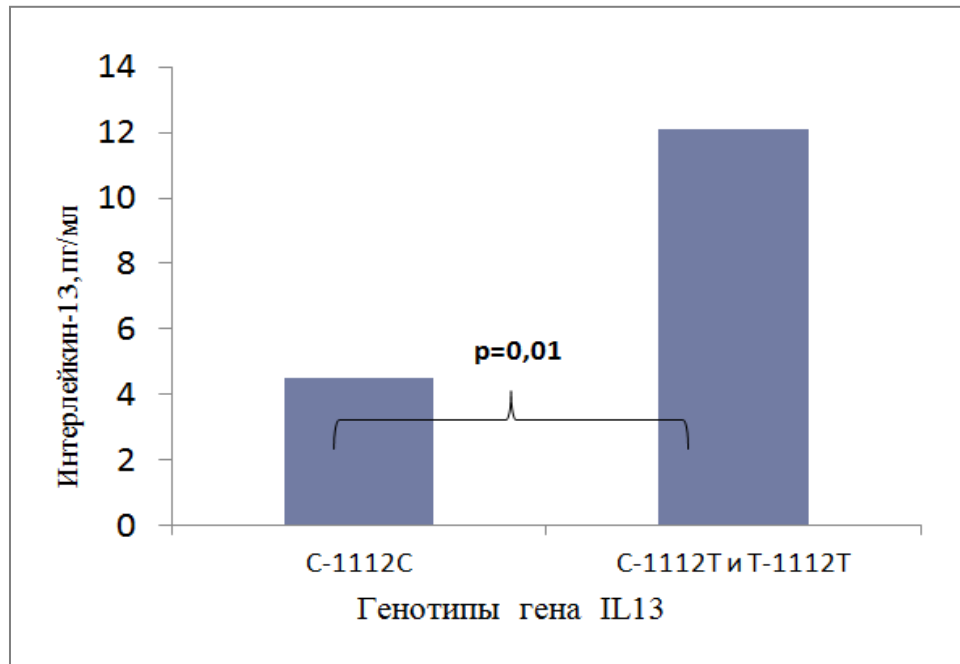


Рисунок 7 – Уровень интерлейкина-13 (пг/мл) у больных диффузным токсическим зобом, носителей разных аллельных вариантов и C-1112C, C-1112, T-1112T генотипов гена интерлейкина-13

Таким образом, выявлено, что у больных ДТЗ, которые являлись носителями генотипа C-1112C гена *IL13*, уровень свТ₄ на момент выявления заболевания выше, чем у носителей аллеля -1112T данного полиморфного варианта гена. В то же время, у больных, носителей генотипа C-1112C, уровень ИЛ-13 был ниже, чем у носителей аллеля -1112T.

В последующем был проведен сравнительный анализ показателей тиреоидного статуса и уровней АТ-рТТГ, АТ-ТПО через 12-18 месяцев терапии анти тиреоидными препаратами у пациентов с различными генотипами полиморфного варианта гена *IL13*. Установлено, что в группе больных, которые являлись носителями аллеля -1112C (генотипы C-1112C и C-1112T) уровень ТТГ был выше, чем у носителей генотипа T-1112T (1,3±0,2 и 0,8±0,2 мМЕ/л, соответственно, p=0,04). Помимо этого, для 1 и 2 групп больных (носителей генотипов C-1112C и C-1112T) был характерен более высокий уровень АТ-ТПО по сравнению с носителями T-1112T генотипа. Статистически значимых различий уровней свТ₄, свТ₃, АТ-рТТГ выявлено не было (таблица 20).

Таблица 20 – Динамика показателей тиреоидного статуса у больных диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена интерлейкина-13 через 12-18 месяцев консервативной терапии

Параметры		Генотипы гена <i>IL13</i>			p
		С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
ТТГ, мМЕ/л	До терапии	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	1,3±0,2	1,3±0,2	0,8±0,2	p _{1,2} =0,9 p_{1,3}=0,05 p_{2,3}=0,04
Δ ТТГ		-1,3±0,2	-1,3±0,2	-0,7±0,2	p _{1,2} =0,1 p_{1,3}= 0,05 p_{2,3}=0,04
свТ ₄ , пмоль/л	До терапии	41,2±2,5	34,2±1,7	37,5±4,2	p_{1,2}=0,02 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,5
	Через 12-18 месяцев лечения	17,1±2,5	15,3±1,7	16,2±4,1	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,8
Δ свТ ₄		26,6±4,2	20,1±3,4	23,9±5,3	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} = 0,7 p _{2,3} =0,5
свТ ₃ , пмоль/л	До терапии	18,7±1,1	15,7±0,9	18,4±2,6	p_{1,2}=0,03 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,3
	Через 12-18 месяцев лечения	8,6±1,1	7,6±0,9	7,2±2,1	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,8

Продолжение таблицы 20

Параметры		Генотипы гена <i>IL13</i>			p
		С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
Δ свТ ₃		17,5±1,1	14,1±1,1	17,6±2,6	p_{1,2}=0,02 p _{1,3} =0,1 p _{2,3} =0,2
Соотн. свТ ₃ /Т ₄	До терапии	0,5±0,01	0,5±0,02	0,5±0,05	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,9
	Через 12-18 месяцев лечения	0,6±0,06	0,6±0,06	0,5±0,07	p _{1,2} =0,7 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,7
Δ Соотн. свТ ₃ /Т ₄		-0,06±0,08	-0,02±0,06	-0,07±0,04	p _{1,2} =0,7 p _{1,3} =0,1 p _{2,3} =0,5
АТ-рТТГ, МЕ/л	До терапии	14,4±1,1	18,9±3,8	12,8±1,9	p _{1,2} =0,2 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,1
	Через 12-18 месяцев лечения	8,2±1,2	10,3±2,3	7,9±2,2	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,5
Δ АТ-рТТГ		5,9±1,9	10,1±4,1	5,5±1,9	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,1 p _{2,3} =0,5
АТ-ТПО, МЕ/мл	До терапии	63,1±13,5	45,7±5,5	32,6±10,5	p _{1,2} =0,2 p_{1,3}=0,08 p _{2,3} =0,3
	Через 12-18 месяцев лечения	45,2±11,1	44,1±8,7	15,6±7,4	p _{1,2} =0,9 p_{1,3}=0,03 p_{2,3}=0,02

Продолжение таблицы 20

Параметры	Генотипы гена <i>IL13</i>			p
	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т (n=112) 2	Т-1112Т (n=18) 3	
Δ АТ-ТПО	7,55±9,2	14,5±8,1	46,1±10,8	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,4
Примечание – ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; Δ – дельта-показатель (динамика изменения уровня изучаемого показателя через 12-18 месяцев лечения); p – достоверность различий.				

Была проведена оценка объема ЩЖ у женщин и мужчин с ДТЗ, которые являлись носителями разных генотипов полиморфного варианта гена *IL13*. У женщин, носителей генотипа С-1112С гена *IL13*, средний объем ЩЖ составил 33,7±2,5 см³, у мужчин – 38,8±3,5 см³. Среди пациентов с ДТЗ (как у мужчин, так и у женщин), которые являлись гомозиготами по аллелю -1112Т, объем ЩЖ на момент выявления заболевания не различался по сравнению с носителями аллеля -1112С. Также была проведена оценка объема ЩЖ через 12-18 месяцев терапии антиреοидными препаратами у пациентов с ДТЗ. Статистически значимого различия в объеме ЩЖ как среди женщин, так и мужчин, которые являлись носителями различных полиморфных вариантов гена *IL13*, установлено не было (таблица 21). Однако, было выявлено, что у женщин больных ДТЗ, носителей аллеля -1112С (генотипы С-1112С и С-1112Т), объем ЩЖ через 12-18 месяцев лечения достоверно стал больше, тогда как у носителей Т-1112Т генотипа гена *IL13* объем ЩЖ через 12-18 месяцев лечения не изменился. У мужчин больных ДТЗ, носителей С-1112С генотипа гена *IL13*, объем ЩЖ увеличился через 12-18 месяцев лечения. У мужчин, носителей С-1112Т и Т-1112Т генотипов, объем железы достоверно не изменился (таблица 21).

Таблица 21 – Объем щитовидной железы (см³) у больных диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена интерлейкина-13 до и через 12-18 месяцев консервативной терапии

Параметры		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 терапии	33,7±2,5	30,5±1,8	32,1±6,1	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,8
	Через 12-18 месяцев терапии	40,5±3,3	37,1±3,7	41,4±14,8	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,8
Достоверность различий		p=0,001	p=0,026	p=0,3	-
Объем ЩЖ у мужчин, см ³	До терапии	38,8±3,5	36,2±3,6	53,0±11,3	p _{1,2} =0,6 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,2
	Через 12-18 месяцев терапии	51,8±7,7	44,8±9,1	60,3±8,6	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,5 p _{2,3} =0,2
Достоверность различий		p=0,013	p=0,1	p=0,1	–
Примечание – ЩЖ – щитовидная железа; p – достоверность различий.					

4.2.3 Особенности клинического течения диффузного токсического зоба у носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов однонуклеотидного полиморфизма С-1112Т гена интерлейкина-13 (rs1800925 полиморфизм)

По данным анализа клинических особенностей течения ДТЗ у носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена *IL13* было установлено, что у пациентов, носителей генотипа С-1112С, манифестация заболевания наблюдалась в более молодом возрасте, чем у больных ДТЗ, носителей аллеля -1112Т (Т-1112Т + С-1112Т) ($40,2 \pm 1,1$ лет и $43,3 \pm 1,2$ лет, соответственно, $p=0,04$) (таблица 22).

Таблица 22 – Возраст начала заболевания, наличие инфильтративной офтальмопатии у больных диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена интерлейкина-13 (rs1800925)

Параметры	Генотипы гена <i>IL13</i>		P
	С-1112С (n=140) 1	С-1112Т и Т-1112Т (n=130) 2	
Возраст начала заболевания, лет	$40,2 \pm 1,1$	$43,3 \pm 1,2$	$p_{1,2}=0,04$
ИО (+), n (%)	48 (34,2)	52 (40)	$p_{1,2}=0,2$
Примечание – ИО (+) – наличие инфильтративной офтальмопатии; p – достоверность различий.			

В группе больных ДТЗ с инфильтративной офтальмопатией (ИО) 47,5% пациентов (n=48) были носителями генотипа С-1112С; 43,6% больных (n=43) были гетерозиготными носителями полиморфного варианта гена, у 8,9% больных был генотип Т-1112Т. Статистической значимости ассоциации данного полиморфного локуса гена и частотой выявления ИО как среди мужчин, так и женщин, больных ДТЗ, выявлено не было ($p=0,3$).

Установлено, что у больных ДТЗ, носителей С-1112С генотипа, риск рецидива ТТ и отсутствия ремиссии заболевания был выше в 2,3 раза, чем у пациентов с ДТЗ, носителей аллеля -1112Т (Т-1112Т и С-1112Т генотипы) гена *IL13* (rs1800925 полиморфизм) ($p=0,026$, ОШ=2,29, 95% ДИ 1,11-4,82) (таблица 23).

Таблица 23 – Частота ремиссии и рецидива заболевания у больных диффузным токсическим зобом носителей С-1112С, С-1112Т и Т-1112Т генотипов гена интерлейкина-13 (rs1800925)

Параметры	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
Ремиссия ДТЗ, n (%)	12 (8,6)	21 (18,8)	2 (11,9)	12 (8,6)	23 (17,7)
Рецидив ТТ и отсутствие ремиссии, n (%)	128 (91,4)	91 (81,2)	16 (88,9)	128 (91,4)	107 (82,3)
p	p=0,048			p = 0,026	
ОШ	–			2,29 95% ДИ 1,11-4,82	
Примечание – ДТЗ – диффузный токсический зоб; ТТ – тиреотоксикоз; p – достоверность различий; ОШ – отношение шансов; 95% ДИ – доверительный интервал.					

4.3 Однонуклеотидный полиморфизм С/Т гена *микроРНК-125А* (rs12976445 полиморфизм)

4.3.1 Распределение СС, СТ, ТТ генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs12976445 гена *микроРНК-125А* у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

Распределение СС, СТ, ТТ генотипов и аллелей полиморфного варианта rs12976445 гена *MIR125A* у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения не различались (таблица 24).

Таблица 24 – Распределение СС, СТ, ТТ генотипов и аллелей полиморфного варианта rs12976445 гена *MIR125A* у больных диффузным токсическим зобом и в группе сравнения

Генетический вариант	Больные ДТЗ, % n=270	Группа сравнения, % n=200	p
ТТ	51,5 (139)	52 (106)	p>0,05
СТ	41,1 (111)	41 (80)	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 – ДТЗ – диффузный токсический зоб, p – достоверность различий.

Проведенный анализ распределения частот аллелей и генотипов ТТ, СТ и ТТ полиморфизма гена *MIR125A* показал, что большинство пациентов с ДТЗ были носителями аллеля Т: большую часть составили лица с генотипом ТТ – 51,5 % (n=139), в то время как 41,1% (n=111) были гетерозиготы СТ. Среди данной выборки 7,4% (n=20) больных были носителями генотипа СС. В группе сравнения

распределение генотипов было следующим: ТТ – 52% (n=106), СТ 41% (n=80), СС 7% (n=14). Распределение генотипов и встречаемость аллелей С и Т находились в равновесии с законом Харди-Вайнберга.

Был проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов rs12976445 полиморфного варианта гена *MIR125A* с учетом пола больных ДТЗ. Значимых различий по распределению аллелей и генотипов исследуемого полиморфизма гена *MIR125A* между группами мужчин и женщин выявлено не было (таблица 25).

Таблица 25 – Распределение СС, СТ, ТТ генотипов и встречаемость аллелей гена *MIR125A* (rs12976445 полиморфизм) у мужчин и женщин больных диффузным токсическим зобом

Группа обследованных		Генотипы			Встречаемость аллеля	
		СС	СТ	ТТ	аллель С	аллель Т
Всего	n	20	111	139	0,28	0,72
	%	7,4	41,1	51,5		
Женщины	n	13	91	106	0,28	0,72
	%	6,1	43,3	50,6		
Мужчины	n	7	20	33	0,29	0,71
	%	11,7	33,3	55,0		
p		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Примечание – p – достоверность различий.						

В результате анализа распределения генотипов СС, СТ, ТТ гена *MIR125A* в группе сравнения было выявлено, что женщины чаще были носителями СТ генотипа, чем мужчины (p=0,006). Данные представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Распределение СС, СТ, ТТ генотипов и встречаемость аллелей гена *MIR125A* (rs12976445 полиморфизм) у мужчин и женщин в группе сравнения

Группа обследованных		Генотипы			Встречаемость аллеля	
		СС	СТ	ТТ	аллель С	аллель Т
Всего	n	5	61	134	0,18	0,82
	%	2,5	30,5	67,0		
Женщины	n	3	56	97	0,11	0,89
	%	1,9	35,9	62,2		
Мужчины	n	2	5	37	0,1	0,9
	%	4,6	11,3	84,1		
p		p>0,05	p=0,006	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Примечание – p – достоверность различий.						

4.3.2 Показатели тиреоидного статуса и морфометрические параметры щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами гена микроРНК-125А (rs12976445 полиморфизм)

У всех больных ДТЗ – носителей различных генотипов полиморфного варианта rs12976445 гена *MIR125A* была проведена оценка тиреоидного статуса (ТТГ, свТ₄ и свТ₃) как на момент выявления заболевания, так и через 12-18 месяцев терапии антитиреоидными препаратами.

При оценке функционального состояния щитовидной железы было выявлено статистически значимое различие в уровнях ТТГ среди носителей различных генотипов однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) гена *MIR125A*. Так, у носителей генотипа СС на момент выявления заболевания (до начала консервативной терапии) уровень ТТГ был ниже, чем у носителей аллеля Т данного полиморфного варианта гена *MIR125A*. Однако при сравнении уровней свТ₄, свТ₃ и соотношения свТ₃/Т₄ у носителей разных генотипов изучаемого

полиморфизма гена *MIR125A* в группах пациентов с ДТЗ достоверного различия установить не удалось (таблица 27).

Таблица 27 – Показатели тиреоидного статуса у больных диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами rs12976445 гена *MIR125A* на момент выявления заболевания

Параметры	Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
	СС n=20 (1)	СТ n=111 (2)	ТТ n=139 (3)	
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
свТ ₄ , пмоль/л	41,2±6,2	37,4±2,5	38,1±1,9	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,8
свТ ₃ , пмоль/л	16,6±2,6	16,1±0,9	18,6±1,1	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,5 p_{2,3}=0,06
Соотношение свТ ₃ /Т ₄	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-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
АТ-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
Примечание – ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; p – достоверность различий				

Помимо этого, не было установлено и статистического значимого различия в уровне АТ-рТТГ и АТ-ТПО среди больных ДТЗ, которые являлись носителями разных аллельных вариантов изучаемого гена (таблица 27). Сравнительный анализ показателей тиреоидного статуса через 12-18 месяцев лечения у больных с различными генотипами полиморфного варианта гена *MIR125A* показал, что у носителей генотипа ТТ уровень свТ₄ был выше, чем у носителей аллеля С. Помимо этого, соотношение свТ₃/Т₄ у носителей генотипа ТТ было выше, чем у гомозиготных носителей аллеля С. Статистически значимых различий уровней АТ-рТТГ и АТ-ТПО через 12-18 месяцев лечения среди носителей разных генотипов данного ОНП гена выявлено не было (таблица 28).

Таблица 28 – Динамика показателей тиреоидного статуса у больных диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами rs12976445 гена *MIR125A* через 12-18 месяцев консервативной терапии

Параметры		Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
		СС n=20 (1)	СТ n=111 (2)	ТТ n=139 (3)	
ТТГ, мМЕ/л	До терапии	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	1,2±0,5	1,4±0,2	1,2±0,1	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,7 p _{2,3} =0,4
ΔТТГ		-1,2±0,6	-1,2±0,2	-1,4±0,2	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,7 p _{2,3} =0,4
свТ ₄ , пмоль/л	До терапии	41,2±6,2	37,4±2,5	38,1±1,9	p _{1,2} = 0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,8

Продолжение таблицы 28

Параметры		Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
		СС n=20 (1)	СТ n=111 (2)	ТТ n=139 (3)	
свТ ₄ , пмоль/л	Через 12-18 месяцев лечения	16,5±2,3	14,7±1,8	20,4±2,6	p _{1,2} =0,09 p _{1,3} =0,3 p_{2,3}=0,01
ΔсвТ ₄		34,9±12,2	22,5±3,2	22,6±3,4	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,3 p _{2,3} =0,1
свТ ₃ , пмоль/л	До терапии	16,6±2,6	16,1±0,9	18,6±1,1	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,5 p_{2,3}=0,06
	Через 12-18 месяцев лечения	10,5±2,1	6,9±0,9	8,7±1,1	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,2
Δ свТ ₃		14,9±2,9	14,8±1,1	17,6±1,1	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,1
Соотн. свТ ₃ /Т ₄	До терапии	0,5±0,05	0,5±0,02	0,5±0,02	p _{1,2} =0,8 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,4
	Через 12-18 месяцев лечения	0,4±0,07	0,5±0,05	0,6 ±0,06	p _{1,2} =0,2 p_{1,3}=0,03 p _{2,3} =0,2
Δ Соотн. свТ ₃ /Т ₄		0,02±0,01	-0,08±0,05	-0,03±0,07	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,6
АТ-рТТГ, МЕ/л	До терапии	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

Продолжение таблицы 28

Параметры		Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
		СС n=20 (1)	СТ n=111 (2)	ТТ n=139 (3)	
АТ-рТТГ, МЕ/л	Через 12-18 месяцев лечения	11,5±2,6	10,8±1,7	8,2±1,7	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,2
Δ АТ-рТТГ		2,5±3,2	5,1±2,1	9,8±2,9	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,1 p _{2,3} =0,2
АТ-ТПО, МЕ/мл	До терапии	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
	Через 12-18 месяцев лечения	43,4±17,3	40,6±8,7	43,1±10,6	p _{1,2} =0,9 p _{1,3} =0,9 p _{2,3} =0,8
Δ АТ-ТПО		18,9±17,9	3,9±9,1	14,2±7,5	p _{1,2} =0,4 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,3
Примечание – ТТГ – тиреотропный гормон; свТ ₄ – свободный Т ₄ ; свТ ₃ – свободный Т ₃ ; соотн. свТ ₃ /Т ₄ – соотношение свободного Т ₃ к Т ₄ ; АТ-рТТГ – антитела к рецепторам ТТГ; АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе; Δ – дельта-показатель (динамика изменения уровня изучаемого показателя через 12-18 месяцев лечения); p – достоверность различий.					

Известно, что микроРНК-125а участвует в регуляции иммунного ответа за счет влияния на синтез и секрецию ИЛ-6. Был проведен анализ содержания уровня ИЛ-6 у носителей различных генотипов полиморфного варианта гена *MIR125A*. Связь ИЛ-6 и ОНП гена *MIR125A* наблюдалась только в отдельных подгруппах пациентов с ДТЗ. Так, установлено различие уровня ИЛ-6 у женщин, больных ДТЗ. Выявлено, что у женщин больных ДТЗ, носителей аллеля Т

rs12976445 *MIR125A*, концентрация ИЛ-6 была выше, чем у носителей генотипа СС ($15,3 \pm 7,2$ пг/мл и $2,9 \pm 0,8$ пг/мл, соответственно, $p=0,03$; рисунок 8).

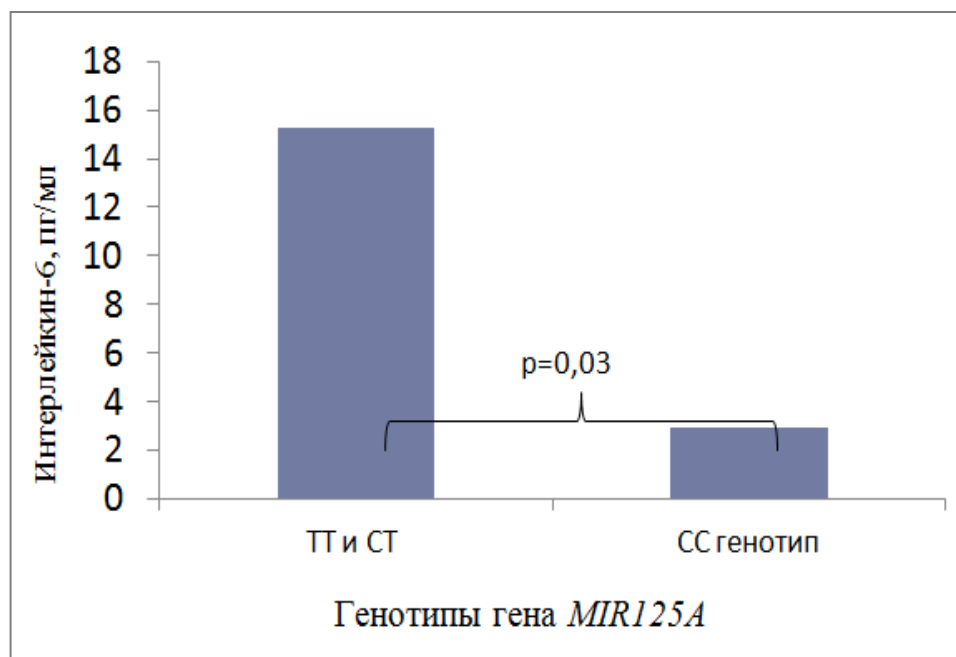


Рисунок 8 – Уровень интерлейкина-6 у больных диффузным токсическим зобом, носителей генотипа СС и аллеля Т rs12976445 гена *MIR125A*

При сравнении результатов инструментального обследования больных ДТЗ, носителей разных генотипов полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A*, статистически значимых различий в объеме ЩЖ до начала консервативной терапии установлено не было. Также был проведен анализ объема ЩЖ среди мужчин и женщин через 12-18 месяцев приема антитиреоидных препаратов. Было установлено, что у женщин больных ДТЗ, которые были носителями ТТ и СТ генотипов гена *MIR125A*, объем ЩЖ увеличился на фоне проводимого лечения, в то время как у пациентов с ДТЗ с СС генотипом не изменился после проведенного лечения. У мужчин, носителей ТТ генотипа гена *MIR125A*, также объем ЩЖ достоверно увеличился через 12-18 месяцев лечения, а у пациентов с СС не изменился (таблица 29).

Таблица 29 – Объем щитовидной железы (см³) у больных диффузным токсическим зобом носителей СС, СТ, ТТ генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* на момент выявления заболевания и через 12-18 месяцев лечения

Параметры		Генотипы гена <i>MIR125A</i>			p
		СС n=20 (1)	СТ n=111 (2)	ТТ n=139 (3)	
Объем ЩЖ у женщин, см ³	До терапии	29,7±3,8	32,5±1,9	32,2±2,5	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,9
	Через 12-18 месяцев терапии	33,9±5,1	40,6±4,3	38,4±3,2	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,4 p _{2,3} =0,7
Достоверность различий		p=0,2	p=0,006	p=0,001	–
Объем ЩЖ у мужчин, см ³	До терапии	44,1±7,4	35,2±3,9	40,3±3,7	p _{1,2} =0,3 p _{1,3} =0,6 p _{2,3} =0,3
	Через 12-18 месяцев терапии	57,8±12,3	43,6±7,3	51,8±7,4	p _{1,2} =0,5 p _{1,3} =0,8 p _{2,3} =0,4
Достоверность различий		p=0,2	p=0,08	p=0,02	–
Примечание – ЩЖ – щитовидная железа; p – достоверность различий.					

Таким образом, в результате статистической обработки имеющихся данных выявлено, что на момент выявления заболевания у носителей аллеля С (генотипы СС и ТС) уровень ТТГ был ниже, чем у гомозигот ТТ. Также отмечалась тенденция к статистической значимости по уровню свТ₃. Помимо этого, показано,

что через 12-18 месяцев проводимой терапии тиреостатиками у носителей аллеля Т полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* уровни свТ₄ и соотношение свТ₃/Т₄ выше, чем у носителей генотипа СС. Выявлено, что у больных носителей ТТ генотипа объем ЩЖ достоверно увеличился через 12-18 месяцев консервативного лечения в отличие от исследуемых параметров у носителей СС генотипа. Однако в представленной работе не удалось установить статистически значимого различия в уровнях АТ-рТТГ, АТ-ТПО среди больных ДТЗ, носителей различных генотипов ОНП rs12976445 гена *MIR125A*.

4.3.3 Особенности клинического течения диффузного токсического зоба у носителей СС, СТ, ТТ генотипов и аллельных вариантов однонуклеотидного полиморфизма С/Т гена микроРНК-125А (rs12976445 полиморфизм)

Как было указано ранее, инфильтративная офтальмопатия была выявлена у 100 пациентов с ДТЗ. В результате проведенного анализа установлено, что 90% больных с ИО были носителями аллеля Т полиморфного варианта rs12976445 гена *MIR125A*: 48,5% были гомозиготными носителями аллеля Т (генотип ТТ) и 41,5% – генотипа СТ. Различий в частоте выявления ИО среди носителей различных генотипов гена *MIR125A* не получено ($p=0,4$). Таким образом, в результате данного исследования не установлено взаимосвязи между полиморфным вариантом гена *MIR125A* и развитием ИО (таблица 30).

В результате оценки частоты ремиссии, рецидива ДТЗ и отсутствия ремиссии заболевания среди носителей различных генотипов полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* было выявлено, что у больных ДТЗ, носителей ТТ генотипа, риск рецидива тиреотоксикоза был выше в 2,6 раз, чем у пациентов с ДТЗ, носителей аллеля С (СС и СТ генотипы) гена *MIR125A* (rs12976445 полиморфизм) ($p=0,011$, ОШ=2,6, 95% ДИ 1,22-5,57) (таблица 31).

Таблица 30 – Частота выявления инфильтративной офтальмопатии у больных диффузным токсическим зобом носителей СС, СТ, ТТ генотипов однонуклеотидного полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A*

Параметры	Генотипы гена <i>MIR125A</i>				
	СС n=20	СТ n=111	ТТ n=139	СС + СТ n=131	ТТ n=139
ИО (+), n (%)	10 (9,9)	42 (41,6)	49 (48,5)	52 (51,5)	49 (48,5)
ИО (-), n (%)	10 (5,9)	69 (40,8)	90 (53,3)	79 (46,7)	90 (53,3)
p	p=0,4			p=0,2	
Примечание – ИО (+) – наличие инфильтративной офтальмопатии; ИО (-) – отсутствие инфильтративной офтальмопатии; p – достоверность различий.					

Таблица 31 – Частота достижения и отсутствия ремиссии заболевания у больных диффузным токсическим зобом с СС, СТ, ТТ генотипами однонуклеотидного полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A*

Параметры	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)
Рецидив ТТ и отсутствие ремиссии, n (%)	17 (85,0)	90 (81,2)	128 (92,0)	107 (81,6)	128 (92,0)
p	p=0,048			p = 0,011	
ОШ	–			2,6 95% ДИ 1,22-5,57	
Примечание – ДТЗ – диффузный токсический зоб; ТТ – тиреотоксикоз; p – достоверность различий; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.					

4.4 Факторы, влияющие на особенности клинического течения диффузного токсического зоба (логистический регрессионный анализ)

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 как клинические, так и генетические показатели – возраст начала заболевания, уровни ТТГ, свТ₄, свТ₃, АТ-рТТГ, АТ-ТПО, объем щитовидной железы, наличие инфильтративной офтальмопатии и различные генотипы изучаемых полиморфных вариантов генов *IL6*, *IL13*, *MIR125A*.

При проведении регрессионного анализа была выявлена статистическая значимость модели, в которую были включены такие показатели, как наличие ИО, уровни свТ₃ на момент выявления заболевания и после проведенного лечения, объем ЩЖ (таблица 32).

Таблица 32 – Факторы, влияющие на клиническое течение диффузного токсического зоба (результаты логистического регрессионного анализа)

Фактор	В	Стандартная ошибка	χ^2 Вальда	ОШ	ДИ	р
СвТ ₃ , пмоль/л (1)	-2,936	1,436	4,179	0,530	0,970-1,173	0,041
СвТ ₃ , пмоль/л (2)	0,679	0,251	7,324	1,972	1,206-3,226	0,007
Объем ЩЖ, см ³	0,551	0,231	5,696	1,735	1,104-2,728	0,017
ИО (+)	-1,615	0,487	10,990	0,365	0,205-0,649	0,037

Примечание – СвТ₃ (1) – уровень Т₃ свободного до терапии; СвТ₃ (2) – уровень Т₃ свободного после терапии; объем ЩЖ – объем щитовидной железы через 12-18 месяцев лечения; ИО (+) – наличие инфильтративной офтальмопатии; χ^2 Вальда – хи-квадрат Вальда; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; р– достоверность различий.

С целью установления порогового значения («точка отсечения», cut-off value) объема ЩЖ, при котором вероятность рецидива заболевания выше, был проведен ROC-анализ (ROC – Receiver Operator Characteristic). В связи с тем, что объем ЩЖ различается у мужчин и женщин, ROC-анализ был проведен отдельно у мужчин и женщин, больных ДТЗ. Установлено, что у женщин, больных ДТЗ, при объеме ЩЖ более 24,1 см³ после проведенного лечения вероятность рецидива ДТЗ выше. Чувствительность данной модели составляет 70%, специфичность 100%, AUC (area under curve) – 0,904 (p=0,001, 95% ДИ 0,837-0,949) (рисунок 9).

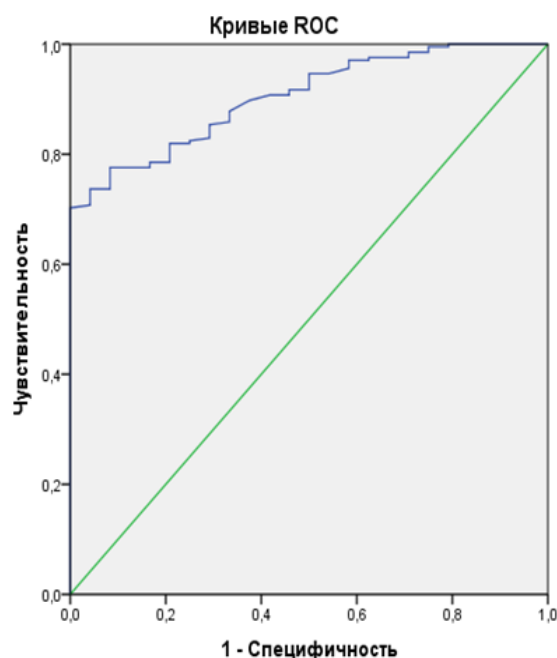


Рисунок 9 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива синдрома тиреотоксикоза для женщин, больных диффузным токсическим зобом для объема щитовидной железы, см³

Выявлено, что у мужчин с ДТЗ вероятность рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания выше при объеме ЩЖ на момент окончания терапии более 30,1 см³ (AUC-0,926; p=0,002, чувствительность 74%, специфичность 100%, 95% ДИ 0,828-0,996). Результат ROC-анализа представлен на рисунке 10.

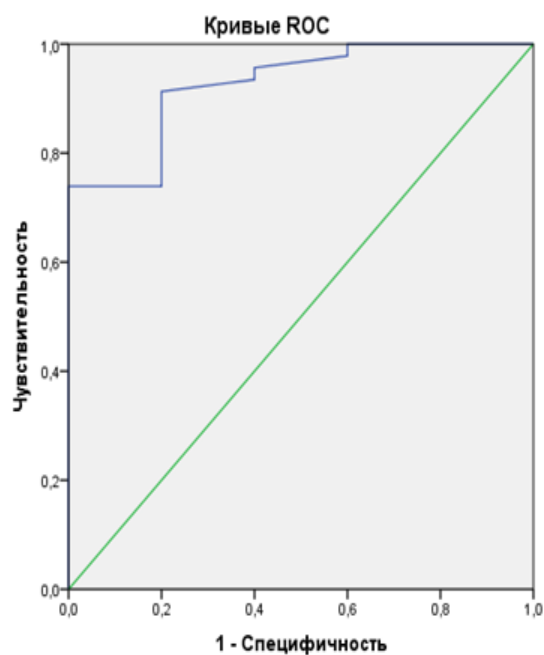


Рисунок 10 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива синдрома тиреотоксикоза у мужчин, больных диффузным токсическим зобом для объема щитовидной железы, см³

В представленном исследовании также был проведен анализ с целью выявления порогового значения уровней антител к рецепторам ТТГ, свТ₄ и свТ₃, ТТГ, при котором вероятность рецидива синдрома тиреотоксикоза на фоне консервативного лечения выше.

По данным ROC-анализа выявлено, что при уровне свТ₃ на момент выявления заболевания более 10,5 пмоль/л выше вероятность рецидива тиреотоксикоза (AUC=0,739, чувствительность 80%, специфичность 68%) (рисунок 11).

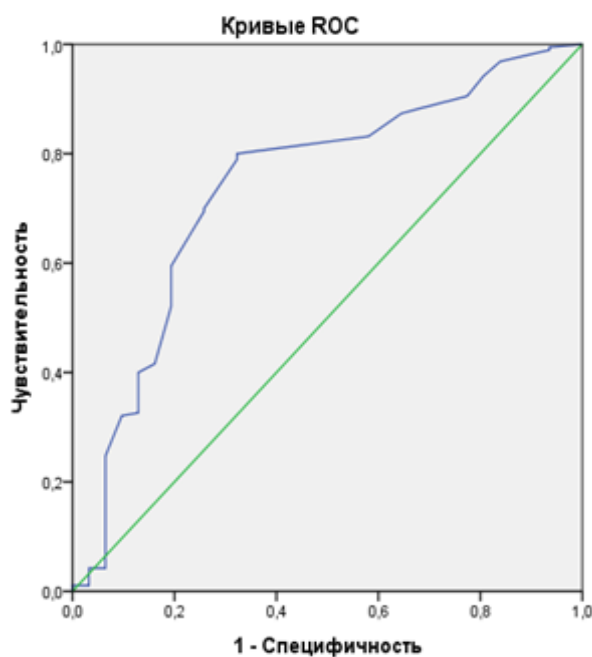


Рисунок 11 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива синдрома тиреотоксикоза у больных диффузным токсическим зобом для уровня свободного T_3 на момент выявления заболевания

Установлено, что через 12-18 месяцев лечения при уровне св T_3 более 4,5 пмоль/л (AUC=0,865, чувствительность 90%, специфичность 80%) вероятность рецидива заболевания также выше (рисунок 12). При попытке определения пороговых значений ТТГ, св T_4 при помощи ROC-анализа чувствительность и специфичность подобных моделей были низкими.

Уровень АТ-рТТГ является не только важным диагностическим критерием ДТЗ, но также применяется в клинической практике для прогнозирования эффективности консервативной терапии. Для установления порогового уровня, при котором вероятность отсутствия ремиссии заболевания выше, был выполнен ROC-анализ. Установлено, что «точкой отсечения» для уровня АТ-рТТГ на момент выявления заболевания, при котором выше риск рецидива заболевания и отсутствия ремиссии ДТЗ, является значение 6,5 МЕ/л (AUC – 0,648, чувствительность 83%, специфичность 53%; $p=0,008$, ДИ 1,086-1,758). Результат ROC-анализа представлен на рисунке 13.

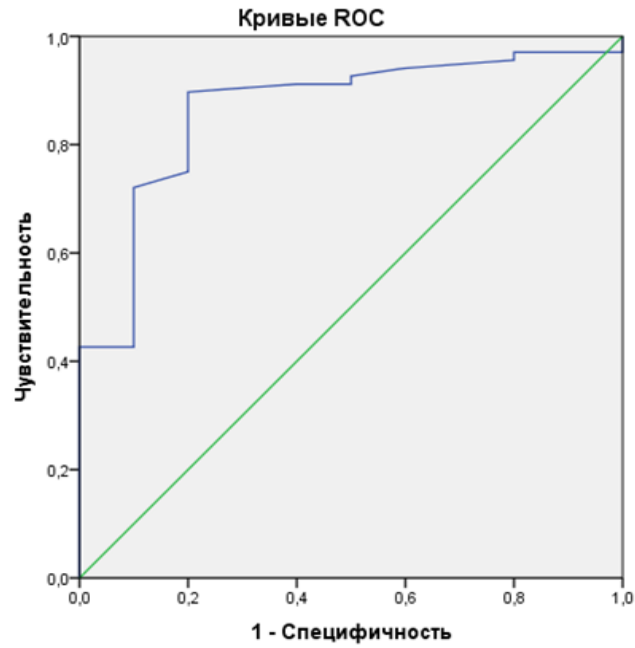


Рисунок 12 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива синдрома тиреотоксикоза у больных диффузным токсическим зобом для уровня свободного T_3 через 12-18 месяцев лечения

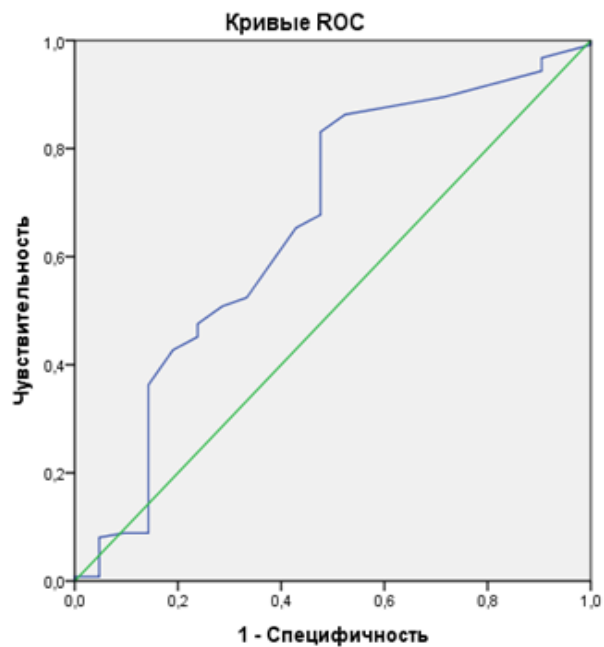


Рисунок 13 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива синдрома тиреотоксикоза у больных диффузным токсическим зобом для уровня антител к рецепторам ТТГ на момент выявления заболевания

Далее был выполнен поиск порогового значения АТ-рТТГ после проведенного лечения. Выявлено, что после терапии антитиреоидными препаратами при уровне АТ-рТТГ более 0,59 МЕ/л риск рецидива ДТЗ выше. Чувствительность составила 95%, специфичность – 75%; AUC – 0,896 (рисунок 14).

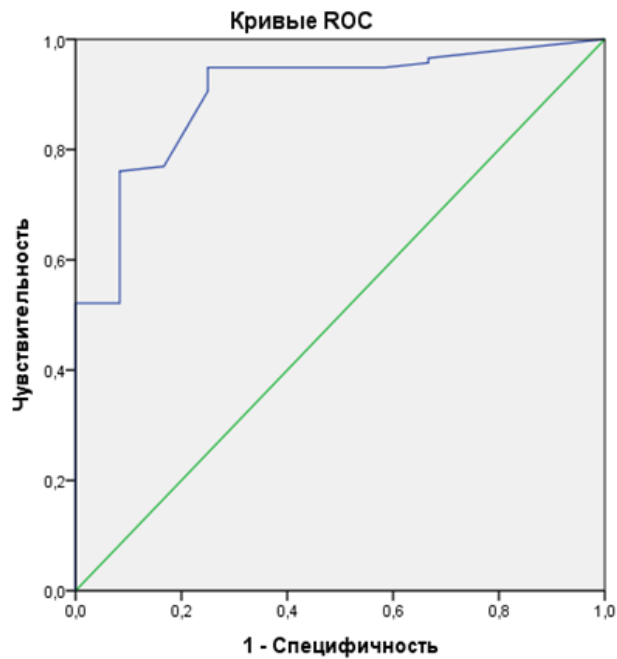


Рисунок 14 – ROC-кривая модели прогнозирования рецидива синдрома тиреотоксикоза у больных диффузным токсическим зобом для уровня антител к рецепторам ТТГ через 12-18 месяцев лечения

С целью оценки совокупной роли генетических маркеров в клиническом течении ДТЗ, был проведен многофакторный анализ с включением в уравнение следующих переменных – генотипа С-572С и аллеля -572G полиморфизма гена *IL6*, генотипа С-1112 и аллеля -1112Т полиморфизма гена *IL13* и генотипа СС и аллеля Т полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A*.

Таким образом, в результате логистического регрессионного анализа было установлено, что к основным факторам, определяющим неблагоприятное течение заболевания (рецидив ДТЗ и отсутствие ремиссии на фоне медикаментозного

лечения), относятся объем щитовидной железы и наличие инфильтративной офтальмопатии (таблица 33).

Таблица 33 – Генетические факторы, влияющие на клиническое течение диффузного токсического зоба

Фактор	B	Стандартная ошибка	χ^2 Вальда	p
C-572C и алель - 572G <i>IL6</i>	-1,237	0,730	2,874	0,06
C-1112C и алель - 1112T <i>IL13</i>	0,586	0,414	2,007	0,15
CC и аллель T rs12976445 <i>MIR125A</i>	0,274	0,791	0,120	0,72
Примечание – χ^2 Вальда – хи-квадрат Вальда; p – достоверность различий.				

Также были установлены пороговые значения уровней АТ-рТТГ, свТ₃, при которых выше вероятность рецидива ДТЗ. При оценке роли генетических факторов в течении заболевания отмечалась лишь тенденция к статистической достоверности такого параметра, как носительство аллеля -572G гена *IL6*, что обусловлено, вероятно, небольшой выборкой пациентов с ДТЗ.

Глава 5

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) – многофакторное заболевание, в основе патогенеза которого лежат генетические изменения иммунного ответа, которые реализуются под действием факторов внешней среды. ДТЗ является ведущей причиной синдрома тиреотоксикоза во всем мире [88, 173]. Частота выявления ДТЗ составляет 20-50 случаев на 100 тысяч человек в год [59]. Поражение сердечно-сосудистой системы является важным клиническим проявлением синдрома тиреотоксикоза, влияющим на прогноз и трудоспособность больного [156]. Сердечно-сосудистые заболевания, которые могут наблюдаться на фоне тяжелой степени тиреотоксикоза или при отсутствии его лечения длительное время, включают в себя развитие тиреотоксической кардиомиопатии, фибрилляций предсердий, хронической сердечной недостаточности [21, 190]. Высокая распространенность ДТЗ среди населения трудоспособного возраста определяет необходимость выявления новых факторов риска рецидива заболевания (неблагоприятного течения заболевания) с целью выбора наиболее оптимального метода лечения ДТЗ.

Как известно, существует 3 основных метода лечения ДТЗ: назначение анти tireоидных препаратов, тиреоидэктомия и терапия радиоактивным йодом.

В качестве первой линии терапии в России, Азии и в некоторых странах Европы предпочтение отдается консервативной терапии и/или хирургическому лечению, в то время как в США лечение анти tireоидными препаратами обычно назначают только в качестве вспомогательной перед проведением терапии радиоактивным йодом или перед оперативным вмешательством (тиреоидэктомии). Данный подход в лечении обусловлен высоким риском рецидива синдрома тиреотоксикоза на фоне консервативной терапии [179]. Как было указано ранее, чаще всего рецидив заболевания наблюдается в первые 3-6 месяцев после отмены тиреостатиков, и частота рецидива тиреотоксикоза

может наблюдаться в 50-60% случаев [51]. По данным исследования E. Masiello et al. рецидив синдрома тиреотоксикоза в первый год отмены терапии тиреостатиками наблюдался у 86% больных [32]. По результатам исследования S.Y. Park et al., опубликованного в 2021 году, частота рецидива ДТЗ в первый год отмены тиреостатиков составила 59,8% [184]. Помимо этого, в литературе обсуждается, что режим (длительность лечения, назначаемые дозы) проводимой терапии антитиреоидными препаратами может влиять на частоту достижения ремиссии и частоту рецидива заболевания. В результате этих работ было установлено, что более длительный прием антитиреоидных препаратов (не менее 18 месяцев) ассоциирован с низким процентом рецидива заболевания. Так на основании мета-анализа, проведенного F. Azizi et al. в 2019 году, и по данным исследования S.Y. Park et al. 2021 года установлено, что процент рецидива синдрома тиреотоксикоза на фоне длительной терапии антитиреоидными препаратами (более 24-36 месяцев) был ниже, чем у больных, которые получали лечение до 18 месяцев [49, 50, 184].

По результатам настоящего исследования был проведен ретроспективный анализ течения заболевания у 270 больных ДТЗ на фоне медикаментозной терапии. У 31% пациентов с ДТЗ (n=85) был выявлен рецидив синдрома тиреотоксикоза в течение 1 года после отмены терапии антитиреоидными препаратами, длительность лечения которыми составляла не менее 12 месяцев. Полученные результаты по частоте рецидива ДТЗ согласуются с данными, представленными в литературе [153, 184].

Всем пациентам с ДТЗ, включенным в настоящее исследование, в качестве начальной терапии сроком 12-18 месяцев были назначены тиреостатики как в монотерапии (производные тиамазола), так и в комбинации с левотироксином натрия по схеме «блокируй-замещай» в случае развития медикаментозного гипотиреоза. Была проведена оценка характера течения заболевания в зависимости от выбранного режима терапии, однако статистически значимых различий выявлено не было: рецидив синдрома тиреотоксикоза с равной степенью

наблюдался и в группе больных, которые получали только тиреостатики, и в группе, где больным был дополнительно назначен прием левотироксина натрия.

В представленном исследовании был проведен анализ факторов, которые могут влиять на клиническое течение ДТЗ. В проведенной работе было установлено, что у больных с отсутствием ремиссии ДТЗ чаще была выявлена инфильтративная офтальмопатия, были выше уровни АТ-рТТГ, свТ₃ и соотношение свТ₃/Т₄ на момент выявления заболевания (до начала терапии анти tireоидными препаратами), чем в группе пациентов, в которой был достигнут стойкий эутиреоз на фоне консервативной терапии. Методом логистического регрессионного анализа и ROC-анализа были установлены пороговые значения для уровней АТ-рТТГ, свТ₃ и объема ЩЖ, при которых риск рецидива синдрома тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания был выше. Так, выявлено, что при уровнях свободного Т₃ на момент выявления заболевания выше 10,5 пмоль/л и более 4,5 пмоль/л через 12-18 месяцев лечения, АТ-рТТГ на момент начала заболевания выше 6,5 МЕ/л и более 0,6 МЕ/л через 18 месяцев консервативной терапии и объеме щитовидной железы у женщин, больных ДТЗ, более 24,1 см³, у мужчин – более 30,1 см³ вероятность ремиссии ДТЗ ниже. Полученные результаты согласуются с данными литературы, в том числе с клиническими рекомендациями многих стран [7, 73]. В связи с этим совокупность данных факторов в настоящее время применяется как критерий оценки клинического течения заболевания на фоне консервативного лечения [81, 179]. Однако всеми авторами признается, что прогностическая значимость каждого фактора в отдельности невелика [22, 57, 129].

Накопленные к настоящему времени результаты исследований свидетельствуют о том, что генетическая предрасположенность, факторы окружающей среды и дисбаланс в иммунной системы лежат в основе развития ДТЗ [92, 93]. И механизмы, которые лежат в основе этиопатогенеза и влияют на особенности клинического течения заболевания, до конца не установлены. С целью идентификации генетических факторов риска развития ДТЗ неоднократно проводились GWAS – полногеномные ассоциативные поиски,

исследования по выявлению генов-кандидатов предрасположенности к ДТЗ [85, 97]. На основании этих исследований были выявлены локусы генов, полиморфизм которых может приводить к развитию ДТЗ. Среди них изучены гены *HLA II класса*, *CTLA-4*, *PTPN22*, ген рецептора ТТГ [45, 178].

Известно, что фолликулярные клетки ЩЖ секретируют множество различных цитокинов, которые могут играть значимую роль как в развитии ДТЗ, так и в его клиническом течении [162, 186].

ИЛ-6 относится к цитокинам, который обладает плеiotропным механизмом воздействий, то есть оказывает различное влияние на многочисленные клетки организма. ИЛ-6 является ключевым фактором в иммунном ответе при воспалительном и аутоиммунном процессах [76, 176]. Как известно, уровень экспрессии ИЛ-6 может регулироваться различными вариантами гена *IL6*. Однонуклеотидные замены в различных областях гена *IL6* могут влиять как на содержание кодируемого им белка, так и на степень его транскрипционной активности, в связи с этим интерес вызывает однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) в промоторной области гена – С-572G [34, 36]. В выполненном исследовании у 87 больных ДТЗ до начала приема тиреостатиков была проведена оценка концентрации ИЛ-6 в крови. У носителей генотипа С-572С полиморфизма уровень ИЛ-6 был ниже, чем у носителей аллеля -572G (генотипы G-572G и С-572G) изучаемого полиморфного варианта гена ($p=0,01$). Наибольший интерес вызывает взаимосвязь полиморфизма гена *IL6* и клинического течения ДТЗ. Так, установлено, что у носителей аллеля -572G (G-572G и G-572С генотипы) гена *IL6* риск рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания был выше в 3,6 раза, чем у носителей генотипа С-572С ($p=0,03$, ОШ=3,6, 95% ДИ 1,25-9,6). Помимо этого, для больных ДТЗ, носителей аллеля -572G (G-572G и G-572С генотипы) гена *IL6*, был характерен более высокий уровень свТ₃ и соотношение свТ₃/Т₄ через 12-18 месяцев, чем у пациентов-носителей С-572 генотипа, а также больший объем ЩЖ как на момент выявления заболевания, так и после проведенного лечения.

В представленной работе было установлено, что как среди женщин, так и среди мужчин, включенных в исследование, наиболее часто встречался генотип G-572G, наиболее редким было носительство генотипа С-572С. Статистически достоверного различия в частоте выявления различных аллельных вариантов изучаемого полиморфизма гена *IL6* между группой больных ДТЗ и группой сравнения не установлено. Таким образом, в выполненном исследовании не было выявлено взаимосвязи различных вариантов полиморфизма С-572G гена *IL6* с риском развития ДТЗ (с предрасположенностью к ДТЗ).

В литературе представлены данные о частоте встречаемости генотипов и аллельных вариантов изучаемого полиморфизма среди пациентов с ДТЗ в китайской и японской популяциях [38, 39, 82, 121, 149]. Процентное соотношение генотипов в обследованных выборках отличается от результатов в представленной работе, что объясняется, вероятнее всего, этническими различиями обследованных групп больных ДТЗ. На настоящий момент работы, посвященные изучению распределения аллельного варианта полиморфизма С-572G гена *IL6* среди больных ДТЗ в различных регионах России, не проводились. В связи с этим не представляется возможным сравнить результаты распределения генотипов и аллельных вариантов изучаемого ОНП гена *IL6* среди больных ДТЗ, которые были получены в данной работы. Таким образом, является актуальным изучение распределение аллельных вариантов данного полиморфного варианта гена *IL6* среди пациентов с ДТЗ других регионов России.

Однако, учитывая тот факт, что ОНП С-572G гена *IL6* связан с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [35, 42, 181], системных заболеваний соединительной ткани и ряда других аутоиммунных заболеваний [41, 123], имеются данные о распределении генотипов среди здоровой популяции жителей разных стран, в том числе и в России. Так, к примеру, в работе Л.В. Топчиевой и соавторов в качестве группы контроля было обследовано 139 человек, жителей Карелии: встречаемость аллельного варианта -572G наблюдалась чаще, чем аллеля -572С [11]. Результаты распределения аллелей и частот генотипов ОНП С-572G гена *IL6*, наблюдаемые в представленном исследовании в группе

сравнения, согласуются с данными литературы, полученными среди российской популяции.

В результате проведенных полногеномных ассоциативных поисков с целью идентификации генов предрасположенности к ДТЗ был выявлен локус на 5 хромосоме – 5q31-33. В этой области кодируются такие цитокины, как ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9 и ИЛ-13 [112]. Данный цитокиновый профиль регулирует секрецию иммуноглобулина Е (IgE), который, как было указано ранее, повышен у пациентов с ДТЗ и ИО. Таким образом, еще одним из изучаемых цитокинов является ИЛ-13, который продуцируется Т-хелперами 2 типа. Были выполнены исследования по изучению различных ОНП гена *IL13*. Наибольший интерес среди ученых вызывает полиморфизм в промоторной области гена *IL13* – С-1112Т, в связи с тем, что происходит изменение транскрипционной активности гена [112]. В нескольких работах была проведена оценка возможной взаимосвязи изучаемого полиморфного варианта гена *IL13* и риском развития ДТЗ [37, 38, 113, 114]. Однако результаты этих работ носят спорный характер, что может быть связано как с небольшими по численности группами обследования, так и с этническими особенностями обследованных групп больных ДТЗ. Помимо этого, в большинстве этих работ не проводилось оценки клинического течения ДТЗ у носителей различных генотипов изучаемого полиморфизма гена *IL13*. Данные обследования среди европейской популяции больных ДТЗ представлены в работах Т. Bednarczuk et al. (2003) и М. J. Simmonds et al. (2005) [98]. В статье М. J. Simmonds et al., сообщается об отсутствии ассоциации между риском развития ДТЗ и полиморфизмом С-1112Т гена *IL13* на основании обследования 1 056 пациентов с диффузным токсическим зобом и 864 человек в качестве группы контроля. Подобные результаты получены и при изучении этого полиморфизма среди польской группы больных ДТЗ. В то же время в других исследованиях, проведенных в Азии, также не удалось выявить взаимосвязи между полиморфным вариантом гена и предрасположенностью к заболеванию [37, 39, 47]. Лишь в одной работе авторов Y. Hiromatsu et al., 2005 года была выявлена ассоциация двух ОНП гена *IL13* (С-1112Т и G2044А)

и предрасположенности к ДТЗ среди японской популяции больных. Исследование авторов N. Inoue et al. является одним из немногих, в котором помимо изучения взаимосвязи полиморфизма гена *IL13* и риска развития ДТЗ, была проведена оценка клинического течения заболевания у носителей различных генотипов изучаемого ОНП гена. Так, было установлено, что больные со стойкой ремиссией заболевания чаще были носителями аллеля -1112Т гена *IL13* [39].

В представленном исследовании больные ДТЗ чаще были носителями аллеля -1112С гена *IL13*. При этом достоверного различия в частоте выявления генотипов и аллельных вариантов исследуемого полиморфизма гена *IL13* в группе больных и группе сравнения установить не удалось. Таким образом, можно сделать вывод об отсутствии взаимосвязи ОНП С-1112Т с предрасположенностью к развитию ДТЗ, что согласуется с данными в литературе среди других этнических групп. Однако, стоит отметить, что наиболее важным является тот факт, что в представленном исследовании была проведена оценка особенностей клинического течения заболевания, тиреоидного статуса и объема щитовидной железы у больных ДТЗ, которые являлись носителями разных генотипов изучаемого ОНП гена *IL13*. В результате выполненного анализа было установлено, что для носителей генотипа С-1112С на момент выявления заболевания (до начала терапии анти тиреоидными препаратами) были характерны более высокие уровни свТ₄, более низкий уровень ИЛ-13, чем у носителей аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и С-1112Т) ОНП С-1112Т гена *IL13*. При оценке динамики изменения объема ЩЖ на фоне проведенного лечения было установлено, что у больных ДТЗ, носителей С-1112С генотипа, отмечалось увеличение объема железы в сравнении с изучаемым параметром у носителей С-1112Т и Т-1112Т генотипов. Более того, у гомозигот по аллелю -1112С манифестация заболевания наблюдалась в более молодом возрасте, чем у носителей аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и С-1112Т) – 40,2±1,1 и 43,3±1,2 лет, соответственно (p=0,04), а также у пациентов ДТЗ, которые являлись носителями генотипа С-1112С, риск рецидива тиреотоксикоза был выше в 2,3 раза, чем у носителей Т-1112Т и С-1112Т генотипов (p=0,026, ОШ=2,29, 95% ДИ 1,11-4,82).

В то же время вследствие дальнейшей статистической обработки данных было выявлено, что у пациентов с ДТЗ носительство аллеля -1112Т (генотипы Т-1112Т и С-1112Т) ассоциировано с повышенной продукцией ИЛ-13. Полученные результаты согласуются с данными, полученными в работе Hiromatsu et al. Таким образом, можно сделать вывод, что генетически обусловленная повышенная продукция ИЛ-13 (носительство аллеля -1112Т) может способствовать наступлению ремиссии заболевания через опосредованные влияния на другие провоспалительные ИЛ. В связи с этим можно судить о протективной роли ИЛ-13 при ДТЗ. Однако не вызывает сомнения необходимость проведения дальнейших работ на больших группах пациентов с ДТЗ в России.

Помимо этого, как было указано ранее, многие работы были посвящены изучению ассоциации ОНП гена *IL13* с предрасположенностью к ИО. В представленной работе было обследовано 100 больных с ИО. Большинство пациентов с ИО были носителями аллеля -1112С (генотипы С-1112 и С-1112Т), но достоверного различия в распределении генотипов и аллельных вариантов изучаемого полиморфизма гена *IL13* в группе больных ДТЗ с отсутствием и наличием ИО установить не удалось. Таким образом, в представленном исследовании не выявлено ассоциации между ОНП С-1112Т гена *IL13* и риском развития ИО. Полученные результаты согласуются с большинством работ, проведенных как среди европейской, так и среди азиатской популяции больных ДТЗ.

Хорошо известно, что ДТЗ является полигенным заболеванием. Последние несколько лет исследователи многих стран уделяют внимание эпигенетическим механизмам регуляции иммунного ответа при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы. Эпигенетическая регуляция гена не затрагивает первичную структуру ДНК, а проявляется в виде метилирования ДНК, деацетилировании гистонов. Ещё один механизм эпигенетической регуляции экспрессии гена на посттранскрипционном этапе опосредуются при помощи малых некодирующих молекул – микроРНК (miR) [86, 198]. За последнее десятилетие была изучена роль нескольких микро-РНК в патогенезе и клиническом течении ДТЗ.

В ряде исследований, выполненных среди азиатской популяции больных ДТЗ, показано, что некоторые полиморфные варианты гена *MIR125A* могут ассоциироваться с риском развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, а также влиять на клиническое течение заболевания. Однако результаты этих работ немногочисленны и носят противоречивый характер.

По результатам проведенного анализа полученных данных было установлено, что частота встречаемости аллеля С полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* в группе больных ДТЗ составила 0,7, аллеля Т изучаемого полиморфного варианта гена – 0,2. Подобные данные были получены и в группе сравнения ($p > 0,5$). Таким образом, в настоящем исследовании не выявлено ассоциации между полиморфизмом rs12976445 гена *MIR125A* и риском развития ДТЗ, что согласуется с данными, представленными в литературе. При этом распределение частот генотипов в представленной работе отличалось от таковой в китайской и японской группе больных ДТЗ, что связано, вероятно, с этническими различиями обследованных групп больных [48, 148].

В проведенном исследовании не было выявлено ассоциаций между различными вариантами rs1276445 гена *MIR125A* и уровнем АТ-рТТГ, АТ-ТПО. Также не было установлено взаимосвязи изучаемого ОНП с уровнями ТТГ, свТ₄, свТ₃, что согласуется с данными, представленным в работе Y. Inoue et al. (2014) [48]. Помимо этого, в исследовании Y. Inoue et al., 2014 года у больных ДТЗ был оценен уровень микроРНК-125А в сыворотке крови, но при этом корреляции между концентрацией микроРНК и показателями тиреоидного статуса выявлено не было.

Как было описано ранее, miR125a влияет на активность провоспалительных цитокинов [138]. Согласно работе H. Li et al., выявлено, что miR125a влияет экспрессию таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-6, TNF- α [125]. Помимо этого, предполагается, что в случае полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* происходит изменение первичной структуры miR125A. В работе T.P. Lehmann et al., 2013 года впервые было установлено, что у носителей аллеля С (генотипы СС и ТС) наблюдается снижение продукции miR125A и, следовательно,

ожидается, что уровни провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-2, TNF- α) должны быть выше среди носителей аллеля С, чем у гомозигот ТТ [168]. Однако оценка уровня ИЛ-6 у носителей разных генотипов полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* в перечисленных работах не была выполнена. В ходе проведенного исследования при оценке концентрации ИЛ-6 в крови больных ДТЗ, носителей разных генотипов полиморфизма гена *MIR125A*, было выявлено, что у женщин носительство аллеля Т ассоциировано с более повышенной продукцией данного цитокина, чем у гомозиготных носителей аллеля С. Помимо этого, установлено, что через 12-18 месяцев проводимой терапии тиреостатиками у носителей аллеля Т полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* уровни свТ₄ и соотношение свТ₃/Т₄ сохраняются выше, чем у носителей генотипа СС, а также отмечается увеличение объема ЩЖ (как у мужчин, так и у женщин больных ДТЗ). На основании математического расчета было установлено, что у больных ДТЗ, носителей генотипа ТТ полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* риск рецидива синдрома тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания был в 2,6 раз выше, чем у носителей аллеля С изучаемого однонуклеотидного полиморфизма гена *MIR125A* ($p=0,011$, ОШ=2,6, 95% ДИ 1,22-5,57).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диффузный токсический зоб является ведущей причиной синдрома тиреотоксикоза во всем мире. И чаще всего ДТЗ страдают лица трудоспособного возраста [143]. В настоящее время существует 3 основных метода лечения ДТЗ – консервативная терапия, хирургическое лечение и проведение терапии радиоактивным йодом. Однако выбор оптимального метода лечения остается предметом дискуссии в связи с тем, что отсутствуют достоверные критерии ремиссии ДТЗ и, следовательно, требуется индивидуальный (персонализированный) подход для каждого пациента. По данным большинства работ в первые 2 года после отмены терапии тиреостатиками рецидив заболевания может наблюдаться у 50-60% больных [152]. В случае низкой вероятности достижения ремиссии ДТЗ на фоне консервативной терапии, предпочтение отдается хирургическому лечению или проводится терапия радиоактивным йодом. При этом оперативное лечение ДТЗ может быть ассоциировано с развитием рядом послеоперационных осложнений и, помимо этого, требуется назначение пожизненной заместительной терапии левотироксином натрия. Значимость таких клинических проявлений, как степень тяжести тиреотоксикоза, высокий уровень антител к рецепторам ТТГ, инфильтративная офтальмопатия, большой объем щитовидной железы (более 30-40 см³), молодой возраст пациента, невелика и различается у каждого пациента в отдельности, что продемонстрировано в нашем исследовании и в результатах работ авторов других стран.

В связи с вышеперечисленным объясняется необходимость поиска новых маркеров неблагоприятного течения заболевания. Учитывая неоспоримую роль генетической предрасположенности в патогенезе ДТЗ, последнее десятилетие проводятся исследования по выявлению не только генов-кандидатов развития ДТЗ, но и генов, влияющих на клиническое течение заболевания и исход терапии. Отечественные исследования по изучению ассоциации полиморфных вариантов генов иммунного ответа (в том числе, различных интерлейкинов) и особенностей характера течения ДТЗ малочисленны.

На основании проведенного исследования и результатов, полученных в ходе анализа данных лабораторного, инструментального и молекулярно-генетического методов исследования больных ДТЗ, были выявлены предикторы рецидива заболевания и уточнены пороговые уровни («cut-off value») для данных факторов – уровень свободного Т₃ на момент выявления заболевания выше 10,5 пмоль/л и более 4,5 пмоль/л через 12-18 месяцев лечения, уровень антител к рецепторам тиреотропного гормона на момент начала заболевания более 6,5 МЕ/л и выше 0,6 МЕ/л через 12-18 месяцев консервативной терапии, наличие инфильтративной офтальмопатии, объем щитовидной железы у женщин более 24,1 см³, у мужчин – более 30,1 см³ и носительство аллеля -572G (генотипы G-572G и G-572C) rs1800796 гена *IL6*, генотипа С-1112С полиморфизма rs1800925 гена *IL13* и генотипа ТТ полиморфного варианта rs12976445 гена *MIR125A*. Выполненное исследование выявило ассоциацию полиморфизма С-572G гена *IL6* не только со степенью тяжести тиреотоксикоза, но и частотой рецидива синдрома тиреотоксикоза после отмены терапии тиреостатиками. Подобные результаты были получены и в ходе оценки клинического течения ДТЗ у носителей различных генотипов полиморфизма rs1800925 гена *IL13* и rs12976445 гена *MIR125A*. Так установлено, что у носителей генотипа С-1112С полиморфизма rs1800925 гена *IL13* риск рецидива тиреотоксикоза в 2,3 раза выше, чем у носителей аллеля -1112Т, а носительство генотипа ТТ полиморфизма rs12976445 гена *MIR125A* ассоциируется с риском рецидива заболевания в 2,6 раз. Полученные в настоящей работе данные позволили расширить представления о патогенезе ДТЗ.

Таким образом, идентификация новых молекулярно-генетических предикторов неблагоприятного течения заболевания в совокупности с клиническими маркерами позволит выявить группы пациентов высокого риска рецидива синдрома тиреотоксикоза и поможет при выборе оптимального метода лечения на момент манифестации заболевания среди российской популяции больных ДТЗ.

ВЫВОДЫ

1. У больных диффузным токсическим зобом – жителей Санкт-Петербурга, ремиссия заболевания наблюдалась в 13% случаев, частота рецидива тиреотоксикоза после прекращения консервативной терапии составила 31,5%, исходно отсутствие ремиссии заболевания наблюдалось у 55,5% больных.
2. У больных диффузным токсическим зобом с рецидивом синдрома тиреотоксикоза и отсутствием ремиссии заболевания уровень интерлейкина-6 выше, чем у больных с ремиссией заболевания. Уровень интерлейкина-13 не различается у больных диффузным токсическим зобом с различным течением заболевания.
3. Распределение генотипов и встречаемость аллелей однонуклеотидных полиморфизмов rs1800796 гена интерлейкина-6, rs1800925 гена интерлейкина-13 и rs12976445 гена микроРНК-125А у жителей Санкт-Петербурга с диффузным токсическим зобом и у лиц без диффузного токсического зоба не отличаются.
4. Риск рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания на фоне консервативной терапии у носителей аллеля -572G полиморфизма rs1800796 гена интерлейкина-6 в 3,6 раз выше, чем у гомозиготных носителей аллеля -572С гена интерлейкина-6. У больных диффузным токсическим зобом с генотипом С-1112С полиморфизма rs1800925 гена интерлейкина-13 риск рецидива тиреотоксикоза в 2,3 раза выше, чем у носителей генотипов Т-1112Т и С-1112Т. Носительство генотипа ТТ полиморфизма rs12976445 гена микроРНК-125А ассоциируется с повышением риска развития рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии диффузного токсического зоба в 2,6 раз.
5. У больных диффузным токсическим зобом – носителей аллеля -572G полиморфизма rs1800796 гена интерлейкина-6 начальные уровни свободных Т₄ и Т₃, интерлейкина-6 и исходный объем щитовидной железы больше, чем

у носителей генотипа С-572С гена интерлейкина-6. У больных диффузным токсическим зобом с генотипом С-1112С полиморфизма rs1800925 гена интерлейкина-13 начало заболевания происходит в более молодом возрасте, исходные уровни свободных Т₄ и Т₃ выше, чем у носителей аллеля -1112Т гена интерлейкина-13.

6. К факторам неблагоприятного течения диффузного токсического зоба у жителей Санкт-Петербурга относятся: высокий уровень интерлейкина-6 на момент манифестации заболевания, уровень свободного Т₃ на момент выявления заболевания выше 10,5 пмоль/л и через 12-18 месяцев лечения выше 4,5 пмоль/л, уровень антител к рецепторам тиреотропного гормона на момент начала заболевания выше 6,5 МЕ/л и более 0,6 МЕ/л через 18 месяцев консервативной терапии, объем щитовидной железы у женщин более 24,1 см³, у мужчин – более 30,1 см³, наличие инфильтративной офтальмопатии и носительство генотипов G-572G, G-572С однонуклеотидного полиморфизма rs1800796 гена интерлейкина-6, генотипа С-1112С однонуклеотидного полиморфизма rs1800925 гена интерлейкина-13 и генотипа ТТ однонуклеотидного полиморфизма rs12976445 гена микроРНК-125А.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В результате проведенного исследования установлена роль изученных полиморфизмов rs1800796 гена интерлейкина-6, rs1800925 гена интерлейкина-13 и rs12976445 гена микроРНК-125А как молекулярно-генетических предикторов неблагоприятного течения диффузного токсического зоба. Таким образом, больным диффузным токсическим зобом целесообразно выполнение молекулярно-генетического обследования с целью выявления лиц с высоким риском рецидива тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии заболевания на фоне консервативного лечения.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенного диссертационного исследования установлено, что частота рецидива синдрома тиреотоксикоза и отсутствия ремиссии диффузного токсического зоба на фоне консервативного лечения различалась у больных, носителей разных генотипов однонуклеотидных полиморфизмов гена интерлейкина-6, гена интерлейкина-13 и гена микроРНК-125А. В связи с клинической значимостью изученных полиморфных вариантов гена интерлейкина-6, гена интерлейкина-13 и гена микроРНК-125А в течении диффузного токсического зоба представляется целесообразным дальнейшее изучение этих факторов на большей выборке пациентов. Помимо этого, представляет интерес исследование уровней интерлейкина-6, интерлейкина-13 и микроРНК-125А у больных диффузным токсическим зобом на момент выявления заболевания, а также на фоне проводимой консервативной терапии и перед отменой лечения. Полученные данные позволят расширить представление о патогенезе диффузного токсического зоба и в перспективе разработать алгоритм для выбора оптимального метода лечения больных диффузным токсическим зобом.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТ-рТТГ	– антитела к рецепторам тиреотропного гормона
АТ-ТПО	– антитела к тиреопероксидазе
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДТЗ	– диффузный токсический зоб
ИЛ	– интерлейкин
ИО	– инфильтративная офтальмопатия
ОНП	– однонуклеотидный полиморфизм
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
СвТ ₄	– тетраiodтиронин свободный
СвТ ₃	– трийодтиронин свободный
Соотн. свТ ₃ /Т ₄	– соотношение свободного Т ₃ к Т ₄
ТАБ	– тонкоигольная аспирационная биопсия
ТТ	– тиреотоксикоз
ТТГ	– тиреотропный гормон
ЩЖ	– щитовидная железа
УЗИ	– ультразвуковое исследование
СС генотип	– последовательность нуклеиновых оснований цитозин-цитозин
GG генотип	– последовательность нуклеиновых оснований гуанин-гуанин
GWAS	– полногеномный ассоциативный поиск
<i>IL6</i>	– ген интерлейкина -6
<i>IL13</i>	– ген интерлейкина-13
<i>MIR125A</i>	– ген микроРНК-125А
ТТ генотип	– последовательность нуклеиновых оснований тимин-тимин

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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. – doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-013.
2. 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. – doi: 10.26442/terarkh201890104-39.
3. 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.
4. Изменение некоторых цитокинов в крови у больных диффузным токсическим зобом при лечении радиоактивным йодом / Н.А. Захарова, О.В. Серебрякова, В.И. Просяник, М.К. Балаян // Забайкальский медицинский вестник. – 2013. – № 1. – С. 26-30.
5. 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.
6. 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.
7. Клинические рекомендации по диагностике и лечению тиреотоксикоза с диффузным зобом (болезнь Грейвса), узловым/многоузловым зобом /

- Е.А. Трошина, Н.Ю. Свириденко, И.М. Беловалова [и др.]. – Общественная организация «Российская ассоциация эндокринологов», 2021. – 30 с.
8. 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. – doi: 10.34673/ismu.2020.40.59.005.
 9. Нуралиева, Н.Ф. Основы иммунопатогенеза аутоиммунных тиреопатий и сахарного диабета 1 типа / Н.Ф. Нуралиева, М.Ю. Юкина, Е.А. Трошина // Доктор.Ру. – 2019. – Т. 159, № 4. – С. 49-53. – doi: 10.31550/1727-2378-2019-159-4-49-53.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. Харинцева С.В., Таскина Е.С. Значение интерлейкинов 17, 23 и антител к рецептору тиреотропного гормона в патогенезе эндокринной офтальмопатии

- / Харинцева С.В., Таскина Е.С. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2018. – Т. 14, № 2. – С. 72-80.
16. 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. – doi: 10.31550/1727-2378-2019-159-4-46-48.
 17. A critical review and meta-analysis of the association between overt hyperthyroidism and mortality / F. Brandt, A. Green, L. Hegedüs, T.H. Brix // Eur. J. Endocrinol. – 2011. – Vol. 165. – P. 491-497.
 18. 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.
 19. 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. – doi: 10.1016/j.surg.2013.10.017.
 20. 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.
 21. 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.
 22. 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.
 23. 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.

24. Al Qubaisi, 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.
25. Al Rushood, 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.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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.] // *Endocrinol. Invest.* – 2018. – Vol. 41, № 12. – P. 1425-1432.

33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. Association of CTLA-4 and IL-13 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.
38. 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.
39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. 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.
47. 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.
48. Associations of single nucleotide polymorphisms in precursor-microRNA (miR)-125a and the expression of mature miR-125a 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.
49. Azizi, F. Long-Term Antithyroid Drug Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis / F. Azizi, R. Malboosbaf // *Thyroid*. – 2017. – Vol. 27. – P. 1223-1231.

50. 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.
51. 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.
52. Benvenga, S. Molecular mimicry and autoimmune thyroid disease / S. Benvenga, F. Guarneri // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2016. – Vol. 17. – P. 485-498.
53. Blin, N. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes / N. Blin, D.W. Stafford // *Nucleic. Acids Res.* – 1976. – Vol. 3, № 9. – P. 2303-2308.
54. 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.
55. 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.
56. 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.
57. 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.
58. 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.
59. 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.
60. Chemokines in hyperthyroidism / S.M. Ferrari, I. Ruffilli, G. Elia [et al.] // *J. Clin. Transl. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 16. – P. 100196.
61. Circulating microRNAs in autoimmune thyroid diseases / H. Yamada, M. Itoh, I. Hiratsuka, S. Hashimoto // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2014. – Vol. 81. – P. 276-281.
62. 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.
63. 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.
64. De Leo, S. Hyperthyroidism / S. De Leo, S.Y. Lee, L.E. Braverman // *Lancet.* – 2016. – Vol. 388. – P. 906-918.
65. 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.
66. 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.
67. Dralle, H. Surgical assessment of complications after thyroid gland operations / H. Dralle // *Chirurg.* – 2015. – Vol. 86, № 1. – P. 70-77.
68. 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.
69. 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.

70. 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.
71. 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.
72. Epigenetics mechanisms mediate the miR-125a/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.
73. 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.
74. 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.
75. Expression level and clinical significance of IL-2, IL-6 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.
76. 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.
77. 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.
78. 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.

79. 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.
80. 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.
81. 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.
82. 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.
83. 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.
84. 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.
85. 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.
86. 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.
87. 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.
88. 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.

89. Graves' disease and gene polymorphism of TNF- α , IL-2, IL-6, IL-12, and IFN- γ / M. Anvari, O. Khalilzadeh, A. Esteghamati [et al.] // *Endocrine*. – 2010. – Vol. 37. – P. 344-348.
90. 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.
91. 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.
92. 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.
93. 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.
94. 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.
95. 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.
96. 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.
97. 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.

98. IL-13 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.
99. 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.
100. 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.
101. 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>.
102. 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.
103. 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.
104. 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.
105. 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.
106. 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.

107. 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.
108. 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.
109. 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.
110. 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.
111. 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.
112. 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).
113. 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.
114. 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.
115. 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.

116. 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.
117. 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.
118. Junttila, I.S. Tuning the Cytokine Responses: An Update on Interleukin (IL)-4 and IL-13 Receptor Complexes / I.S. Junttila // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 888. – doi: 10.3389/fimmu.2018.00888.
119. 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. – doi: 10.1210/clinem/dgaa646.
120. Kobayashi, H. RISC assembly: coordination between small RNAs and Argonaute proteins / H. Kobayashi, Y. Tomari // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – Vol. 1859. – P. 71-81.
121. Lack of association between pro-inflammatory cytokine (IL-6, 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.
122. Lack of Association between the IL-13 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.
123. 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.
124. 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.

125. Li, H. Elevated Serum Inflammatory Cytokines in Lupus Nephritis Patients, in Association with Promoted hsa-miR-125a / H. Li, G. Ding // *Clin. Lab.* – 2016. – Vol. 62, № 4. – P. 631-638. – doi: 10.7754/clin.lab.2015.150812.
126. 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.
127. 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.
128. 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.
129. 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.
130. Marcocci, C. Oxidative stress in Graves' disease / C. Marcocci, M. Leo, M.A. Altea // *Eur. Thyroid J.* – 2012. – Vol. 1. – P. 80-87.
131. 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.
132. Mehta, D. Baltimore, MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic / D. Mehta // *Nat. Rev. Immunol.* – 2016. – Vol. 16. – P. 279-294.
133. 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.
134. 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.

135. 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.
136. MicroRNAs MIR-125a 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.
137. MiR-125a 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.
138. 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>.
139. MiR-125a-5p decreases the sensitivity of treg cells toward IL-6-mediated conversion by inhibiting IL-6r and STAT3 expression / D. Li, C. Kong, A. Tsun [et al.] // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5. – P. 14615.
140. 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.
141. 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.
142. 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.
143. 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.
144. 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.
145. 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.
146. 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.
147. 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
148. 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.
149. 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.
150. 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.
151. 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.
152. 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.

153. 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.
154. 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.
155. 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.
156. 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.
157. 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.
158. 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.
159. Regulation of miR-125a 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.
160. 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.

161. 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.
162. 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.
163. 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.
164. 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.
165. 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.
166. 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.
167. 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.
168. rs12976445 variant in the pri-MIR-125a correlates with a lower level of hsa-MIR-125a and ERBB2 overexpression in breast cancer patients / T.P. Lehmann, K. Korski, M. Ibbs [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2013. – Vol. 5. – P. 569-573.
169. 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.
170. Saeki, Y. Infection-immunity liaison: Pathogen-driven autoimmunemimicry / Y. Saeki, K. Ishihara // *Autoimmunity Rev.* – 2014. – Vol. 13. – P. 1064-1069.

171. 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.
172. 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. – 1-10 p. – doi: 10.1210/jendso/bvaa170.
173. 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.
174. Smoke and autoimmunity: the fire behind the disease / C. Perricone, M. Versini, D. Ben-Ami [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2016. – Vol. 15. – P. 354e74.
175. 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.
176. 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.
177. 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.
178. 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.
179. Subekti, I. Current Diagnosis and Management of Graves' Disease / I. Subekti, L.A. Pramono // *Acta Med. Indones.* – 2018. – Vol. 50, № 2. – P. 177-182.
180. Surgical management of hyperthyroidism. Eur / 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.
181. 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.
182. 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.
183. 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.
184. 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. – doi: 10.1007/s12020-021-02725-x (Online ahead of print).
185. 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.
186. 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.
187. 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.
188. 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.
189. 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.
190. 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.
191. 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.
192. 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.
193. 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.
194. 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.
195. 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.
196. 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.
197. 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.
198. 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.

199. 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.
200. 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.
201. 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.
202. Wei, Q. Association of Single Nucleotide Polymorphisms of the *IL-6*, *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.
203. Wiersinga, W.M. Graves' Disease: Can It Be Cured? / W.M. Wiersinga // *Endocrinol. Metab. (Seoul)*. – 2019. – Vol. 34. – P. 29-38.
204. 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.
205. Yoshizawa, K. Predictive effect of persistent negative TRAb for relapse of Graves' disease / K. Yoshizawa, K. Aso, M. Satoh // *Pediatr Int.* – 2021. – doi: 10.1111/ped.14749 (Online ahead of print).