

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН**
МИНИСТЕРСТВО СРЕДНЕГО И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

КОДИРОВ АВАЗ ЭШМАМАТОВИЧ
ЗИЯДУЛЛАЕВ ШУХРАТ ХУДАЙБЕРДИЕВИЧ

**«ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ В ВЫБОРЕ ТАКТИКИ
ЛЕЧЕНИЯ ДИФФУЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА»**

МОНОГРАФИЯ

ЗДРАВООХРАНЕНИЕ - 510000

САМАРКАНД – 2024

Значение полиморфизма генов в выборе тактики лечения диффузного токсического зоба.

Кодиров Аваз Эшмаматович

Зиядуллаев Шухрат Худайбердиевич,

- Самарканд: 2024-107 с.

В монографии обобщены данные литературы и многолетние исследования коллектива Самаркандского государственного медицинского университета посвященные вопросам диагностики диффузного токсического зоба, значению полиморфизма генов в выборе тактики лечения диффузного токсического зоба. Монография предназначена для эндокринологов, иммунологов, аллергологов, врачей общей практики, магистров, клинических ординаторов и студентов медицинских институтов.

Рецензенты:

Заведующая лабораторией Института Иммунологии и геномики человека АН РУз, д.м.н., профессор: Исмаилова А.А.

Заведующая лабораторией Института Иммунологии и геномики человека д.м.н.: Набиева У.П.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
Глава I. БОЛЕЗНЬ ГРЕЙВСА: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПАТОГЕНЕЗ И ВОПРОСЫ ЛЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	8
§ 1.1 Клинические проявления, иммунопатогенез диффузного токсического зоба.....	8
§ 1.2 Реализация генетической предрасположенности к диффузному токсическому зобу и потенциальные факторы риска.....	17
§ 1.3 Лечение диффузного токсического зоба в эпоху прецизионной медицины.....	28
Глава II. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ И ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	33
§ 2.1 Клиническая характеристика обследованных пациентов.....	33
§ 2.2 Методы исследования.....	36
§ 2.2.1 Оценка массы тела больных.....	36
§ 2.2.2 Исследование функциональной активности ЩЖ и иммунологических маркеров.....	37
§ 2.2.3 Инструментальные методы исследования.....	38
§ 2.2.4 Молекулярно-генетические методы исследования.....	38
§ 2.2.5 Статистическая обработка данных.....	44
§ 2.2.6 Методы статистической обработки.....	47
Глава III. КЛИНИЧЕСКИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИФFUЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА	48
§ 3.1 Клинико-инструментальная и лабораторная характеристика обследованных пациентов с ДТЗ.....	48
§ 3.2 Показатели цитокинового статуса практически здоровых и	

пациентов с диффузным токсическим зобом.....	53
§ 3.3 Сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-17А до лечения.....	57
§ 3.4 Сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-17А до оперативного вмешательства.....	62
Глава IV. ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ИЛ-17А И СҮРЗА5 С ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ.....	66
§ 4.1 Анализ взаимосвязи полиморфного маркера G-197А гена ИЛ- 17А с ДТЗ.....	66
§ 4.2 Анализ взаимосвязи полиморфного маркера А6986G (rs776746) гена СҮРЗА5 с ДТЗ.....	70
Глава V. АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА ИЛ-17А В ФОРМИРОВАНИИ АДЕКВАТНОСТИ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЛЕВОТИРОКСИНОМ У ПАЦИЕНТОВ С ДТЗ.....	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	80
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	87
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	88

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДТЗ - Диффузный токсический зоб
DIO – Дейодиназа
HLA – humanleucocyteantigens
CYP – cytochromeP450
SNP – singlenucleotidepolymorphism
ТГ – тиреоглобулин
АИТ – аутоиммунный тиреоидит
MHC – majorhistocompatibilitycomplex
анти-рТТГ – аутоантитела к рецепторам тиреотропного гормона
АТА – антитиреоидныхантител
ТПО – тиреопероксидаза
TSAb – тиреостимулирующиеантитела
TBAb – тиреоблокирующиеантитела
цАМФ – аденозинмонофосфата
Т4– тироксин
Т3 – трийодтиронин
ТТГ – тиреотропный гормон
Tregs – Т-регуляторные клетки
мРНК– матричнаяРНК
TNF – tumor necrosis factor
ФНО-а – фактор некроза опухоли – альфа
ОНП – одиночный нуклеотидный полиморфизм
IFN-g – интерферон гамма
CTLA – cytotoxic T –lymphocyte associated protein
TSHR- thyroid stimulating hormone receptor
АД – артериальноедавление
ЩЖ – щитовидной железа
ИМТ – индексмассы тела
ПТГ – паратиреоидный гормон
LIF – лейкемия-ингибирующий фактор
CNTF – цилиарный нейротрофический фактор

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы диссертации. Диффузный токсический зоб (также известный как «базедова болезнь» или «болезнь Грейвса») является одним из наиболее распространенных заболеваний щитовидной железы в мире и остается серьезной проблемой в системе здравоохранения в связи с развитием осложнений и снижением качества жизни пациентов. По данным некоторых авторов, «...диффузный токсический зоб наблюдается у 0,5—1,5% населения. По распространенности заболевания оно наблюдается в 2,7% случаев у женщин и 0,23% у мужчин.» Многообразие фенотипов заболевания, сложность патогенеза и развитие множества осложнений на фоне диффузного токсического зоба, социально-экономические последствия этого заболевания требуют ранней диагностики этого заболевания, прогнозирования последствий, разработки лечебных мероприятий и их применения к практической медицине.

Во всем мире особое внимание уделяется научным исследованиям, направленным на совершенствование мер диагностики, профилактики и лечения заболеваний щитовидной железы на ранней стадии. В связи с этим приоритетными направлениями остаются исследования, посвященные выявлению факторов риска возникновения диффузного токсического зоба, проведение молекулярно-генетических исследований, определение состояния биохимических и иммунологических показателей при диффузном токсическом зобе, проведение фармакогенетических тестов для профилактики и целенаправленного лечения. научное исследование. Кроме того, улучшение качества жизни больных диффузным токсическим зобом, исключение развития осложнений, осуществление дифференцированной тактики лечения являются одними из актуальных задач, стоящих перед специалистами в данной области.

В нашей стране последовательно реализуются меры по совершенствованию системы социальной защиты и здравоохранения, в том числе по снижению эндокринологических заболеваний. Исходя из этого,

важно укреплять здоровье населения, особенно выявлять новые аспекты факторов, влияющих на распространенность и развитие заболеваний щитовидной железы, и разрабатывать высокоэффективные современные методы лечения.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ БОЛЕЗНЬ ГРЕЙВСА: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПАТОГЕНЕЗ И ВОПРОСЫ ЛЕЧЕНИЯ

§ 1.1. Клинические проявления, иммунопатогенез диффузного токсического зоба

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) является аутоиммунным заболеванием щитовидной железы, которое характеризуется наличием аутоантител к рецепторам тиреотропного гормона (анти-рТТГ) в крови. Эти аутоантитела стимулируют щитовидную железу, вызывая гипертиреоз - избыточное выделение щитовидных гормонов. ДТЗ обусловлен нарушением иммунной толерантности к тиреоидным антигенам, в частности к рецептору ТТГ [147, 119], и характеризуется тиреотоксикозом, наличием сывороточных антитиреоидных антител (АТА), а также аутореактивных лимфоцитов в железе [69]. Анти-рТТГ, тиреопероксидаза (ТПО) и тиреоглобулин (ТГ) обладают необычными свойствами («иммуногенностью»), способствуя нарушению толерантности [119]. Риск ДТЗ составляет 3% для женщин и 0,5% для мужчин в возрасте от 30 до 60 лет, и это наиболее частая причина гипертиреоза в западных странах.

Клинические проявления ДТЗ связаны с избытком гормонов щитовидной железы, влияющих одновременно на несколько различных систем организма, и по этой причине признаки и симптомы, связанные с ДТЗ, могут сильно различаться и существенно влиять на общее самочувствие. Общие симптомы: тремор, чувствительность к теплу, потеря веса даже при нормальном питании, тревожность и раздражительность, увеличение щитовидной железы (зоб), нарушение менструального цикла, эректильная дисфункция или снижение либидо, утомляемость, частые испражнения, учащенное сердцебиение и др. [177]. У пожилых пациентов возникает меньше симптомов; в исследовании более 3000 пациентов с тиреотоксикозом сообщалось, что более 50% пациентов в возрасте старше 61 года имели менее трех классических симптомов тиреотоксикоза [34], при

этом мерцательная аритмия являлась часто ассоциированным признаком. У 500 000 взрослых, наблюдаемых в течение более 8 лет, была показана 13% кумулятивная частота фибрилляции предсердий среди лиц с тиреотоксикозом в возрасте старше 65 лет [156].

Тиреотоксикоз редко может вызывать тиреотоксические периодические параличи (острый мышечный паралич и тяжелая гипокалиемия), с большей частотой у азиатских мужчин с тиреотоксикозом и часто является следствием инфекции, алкоголя, высокой углеводной нагрузки или тяжелой физической нагрузки [46]. У пациентов с тиреотоксикозом редко проявляется угрожающее жизни состояние, называемое тиреоидным штормом, которое связано с нарушением функции печени, изменением психического состояния, лихорадкой, возбуждением, признаками сердечной недостаточности и тахикардией [18]. Различные события, такие как операция, роды, инфекция, травма или несоблюдение режима лечения, могут усугубить состояние [177]. Офтальмопатия ДТЗ присутствует примерно у 30-50% пациентов. Пациенты могут не иметь никаких глазных симптомов, но могут быть обеспокоены внешним видом своих глаз или могут иметь симптомы. Общие глазные симптомы, которые могут возникать по отдельности или в сочетании друг с другом, включают: ощущение песка или инородного предмета в глазах, чрезмерное слезотечение (часто усиливается от воздействия ветра, холодного воздуха, яркого света), диплопия, ретрокулярные боли или дискомфорт, нечеткость зрения, десатурация цветового зрения, иногда потеря зрения. Характерными признаками офтальмопатии ДТЗ являются экзофтальм (экзофтальм), слезотечение и периорбитальный отек. Глубина орбиты, степень увеличения ретрокулярных мышц и ретрокулярной фиброзной и жировой ткани влияют на степень экзофтальма. Экзофтальм обычно асимметричный, но может быть и симметричным, также может возникать ощущение давления за глазами. Периорбитальный отек обычно сопровождает экзофтальм, маскируя его. При более тяжелом заболевании

может наблюдаться серьезное воспаление конъюнктивы и изъязвление из-за чрезмерного воздействия [62, 54].

Претибиальная микседема, также известная как дермопатия щитовидной железы, является редким осложнением инфильтративной дермопатии ДТЗ [122], частота встречаемости которого составляет около 1-5%. Это осложнение обычно следует за глазными симптомами, обнаруженными при ДТЗ [36]. Она проявляется в виде восковидного обесцвеченного уплотнения кожи в виде «апельсиновой корочки» на передней поверхности голеней, которое распространяется на тыльную поверхность стоп, или в виде нелокализованного, безямчатого отека кожи на тех же участках [43]. В запущенных случаях она может достигать верхней части туловища, а также верхних конечностей (лицо, шея, спина, грудь и уши). Акропатия напоминает утолщение пальцев рук или ног и присутствует только у пациентов с дермопатией [161]. Ассоциация с другим аутоиммунным заболеванием присутствует примерно у 20% пациентов с ДТЗ. Результаты исследований показали, что у 16,7% больных ДТЗ было другое ассоциированное аутоиммунное заболевание: болезнь Шегрена (0,8%), системная красная волчанка и саркоидоз (<0,1%), диабет 1 типа (0,9%), глютенная болезнь (1,1%), рассеянный склероз (0,3%), ревматическая полимиалгия (1,3%), ревматоидный артрит (1,9%), хронический аутоиммунный гастрит (2,4%), витилиго (2,6%). Три ассоциированных аутоиммунных заболевания присутствовали в 1,5% случаев ДТЗ. Эти результаты свидетельствуют о том, что пациентов с ДТЗ, у которых развиваются новые неспецифические симптомы, следует обследовать на наличие других аутоиммунных заболеваний [68]. Больные ДТЗ, особенно при наличии узлов щитовидной железы, имеют повышенный риск развития рака. Высококлеточный вариант папиллярного рака щитовидной железы (более агрессивная форма рака) значительно чаще встречалась у пациентов с ДТЗ [112, 25, 24, 163]. ДТЗ представляет собой стадийное заболевание, характеризующееся в активной фазе гипертиреозом, которое может переходить в ремиссии или после

медикаментозной терапии, а в некоторых случаях и спонтанно. Повторение гипертиреоза может наблюдаться после нескольких недель или десятилетий эутиреоза. Наиболее частыми факторами, связанными с рецидивом, являются физические или психологические стрессовые события [161]. Также для офтальмопатии ДТЗ характерно наличие умеренно-тяжелых воспалительных признаков в активной фазе, которые могут стихать после терапии или спонтанно. Описано, что рецидив активной офтальмопатии часто ассоциируется с рецидивом гипертиреоза у пациентов с ДТЗ. Наиболее частыми факторами, связанными с рецидивом офтальмопатии, являются стрессовые жизненные события [161] и курение [134]. Кроме того, было накоплено большое количество данных о неблагоприятном влиянии радиоiodтерапии при гипертиреозе ДТЗ на появление офтальмопатии и ее ухудшение предшествующего настоящего офтальмопатии у пациентов с ДТЗ [161].

Как указывалось выше, начало ДТЗ связано с нарушением иммунной толерантности к щитовидной железе посредством аутоиммунного многофакторного процесса, включающего экологические и эндогенные факторы у генетически предрасположенных субъектов [183]. Большое количество исследований показало, что активная фаза ДТЗ связана с преобладанием Th1 иммунного ответа, в то время как неактивная или более поздние фазы ДТЗ связаны с переключением на Th2 иммунный ответ [67, 22]. Интересно, что, учитывая гены, коррелирующие с риском ДТЗ, около 70% с известным эффектом вовлечены в функцию Т-клеток, что указывает на важность Т-лимфоцитов в патогенезе аутоиммунного заболевания щитовидной железы [144, 143]. При ДТЗ аутоиммунная реакция вызывает выработку аутоантител к рТТГ клонами В-клеток, которые инфильтрируют железу. По своему действию антитела к ТТГ-Р можно классифицировать как: тиреостимулирующие антитела (TSAб), тиреоблокирующие антитела (TBAб) и нейтральные антитела [102, 61]. Антитела к рТТГ вовлечены в патогенез ДТЗ и ее экстратиреотидные проявлений. Гипертиреоз связан с TSAб, что

приводит к таким же последующим эффектам, как связывание ТТГ с ТТГ-Р, таким как активация аденилатциклазы и последующая продукция циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Это вызывает пролиферацию тироцитов, рост щитовидной железы и секрецию тиреоидных гормонов (Т4 и Т3). Т4 (и особенно Т3) ингибирует секрецию ТТГ из передней доли гипофиза по отрицательной обратной связи, и ТТГ подавляется при гипертиреозе ДТЗ. Роль ТВАб и нейтральных антител менее понятна при заболеваниях щитовидной железы [102]. ТВАб могут связываться с А субъединицей ТТГ-Р, блокируя действие ТТГ и его эффекты на фолликулярные клетки, в то время как нейтральные антитела связываются с рецептором без влияния на образование цАМФ или связывания ТТГ [60, 94].

Первичным требованием для специфического аутоиммунного (либо гуморального, либо клеточно-опосредованного) ответа являются антиген-специфические Т-клетки [162]. Активация Т-клеток требует представления антигенных пептидов в контексте молекул HLA. Эта задача выполняется специализированным подмножеством иммунных клеток, называемых профессиональными антигенпрезентирующими клетками. После активации хелперные (CD4+) Т-клетки можно подразделить на два функциональных подтипа в соответствии с характером их продукции цитокинов: подтип Th1, в основном участвующий в реакциях гиперчувствительности замедленного типа, и подтип Th2, активно участвующий в гуморальных иммунных реакциях [149]. Th1 клетки продуцируют фактор некроза опухоли- α , IFN- γ и IL-2, клетки Th2 секретируют в основном ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6 и ИЛ-13. Клетки Th1 вовлечены в органоспецифические аутоиммунные заболевания, и это действие, по-видимому, особенно выражено так называемым подтипом Th17, который среди клеток Th1 продуцирует уникальный IL-17 [147]. Подмножество Т-лимфоцитов, в первую очередь активируемых специфическими антигенами, и цитокиновая среда, продуцируемая антигенпрезентирующими клетками, определяют направление иммунного ответа в сторону опосредованной клетками Th1 реакции повреждения тканей,

более выраженной гуморальной реакции (Th2-опосредованно), или баланс обоих.

Исследования пациентов с болезнью Грейвса показали активированные Т-клетки как в периферическом кровообращении, так и в щитовидной железе [125, 131]. Т-клетки, инфильтрирующие щитовидную железу, изучались с помощью фенотипирования поверхностных моноклональных антител. Было обнаружено, что процент CD8⁺ супрессорных/цитотоксических Т-клеток при болезни Грейвса значительно ниже, чем при аутоиммунный тиреоидит [115]. Фенотип популяции CD4⁺ (хелпер/индуктор) Т-клеток преимущественно состоял из клеток памяти. Дальнейшие исследования включали клонирование инфильтрирующих Т-клеток. Большинство полученных линий Т-клеток принадлежали к подтипу памяти (CD4⁺, CD29⁺) и реагировали значительным ростом и/или продукцией цитокинов на введение аутологичных фолликулярных клеток щитовидной железы или тиреоидных антигенов [103, 113].

CD4⁺ Т-клетки являются наиболее распространенными клетками, инфильтрирующими щитовидную железу при аутоиммунных заболеваниях, и включают функционально гетерогенную популяцию эффекторных Т-клеток (Teff) и меньшую популяцию (10%) Т-регуляторных клеток (Tregs) [103]. Последние экспрессируют CD25 (рецептор IL-2б) и имеют решающее значение для поддержания периферической иммунологической толерантности. Treg обычно идентифицируют по экспрессии Foxp3, фактора транскрипции, необходимого и достаточного для развития Treg. Эти клетки обычно секретируют IL-10 и трансформирующий фактор роста-в (TGF-в) для индукции толерантности. Неонатальная тимэктомия и облучение приводят к полиорганному аутоиммунному заболеванию, что свидетельствует о естественных Treg. Таким образом, роль этих клеток заключается в предотвращении развития органоспецифического аутоиммунитета. Tregs поддерживаются в исходном состоянии активации за счет низких уровней циркулирующих аутоантигенов, а гомеостатический

уровень достаточен для предотвращения развития аутоиммунитета. Однако клональный баланс между Treg и аутореактивными Т-клетками может быть преодолен иммуногенными стимулами, как это наблюдается при экспериментальном аутоиммунном тиреоидите. Теоретически подобное явление может иметь место при болезни Грейвса. В соответствии с этим недавно было показано, что у пациентов с нелеченым гипертиреозом Грейвса снижено количество циркулирующих Treg-клеток, что отрицательно коррелирует с концентрацией анти-rТТГ [113]. Согласно их цитокиновому профилю было обнаружено, что внутрищитовидные Т-клетки преимущественно относятся к подтипу Th1 [125, 182] и эта закономерность была также верной для ТТГ-Р-чувствительных клонов [70]. Это открытие несколько неожиданно для такого заболевания, как болезнь Грейвса, которое в основном характеризуется действием TSAб. Однако стоит отметить, что клетки Th1 могут также индуцировать выработку антител за счет секреции ИЛ-10, который, в свою очередь, активировывает В-клетки. индуцируется клетками Th1. Значительная доля Th0 (некоммитированных) клеток была также обнаружена среди аутореактивных Т-клеток анти-rТТГ [125, 131].

В основе органоспецифического аутоиммунного процесса лежит взаимодействие антигенспецифических Т-клеток с самой тканью-мишенью, что приводит к отбору и клональной экспансии аутореактивных клеток. Специфичность этого взаимодействия обеспечивается огромной вариабельностью антигенных рецепторов зрелых Т-клеток, вызванной соматической перестройкой их вариабельной (V) цепи с константной (C) и соединительной (J) областями [70, 90]. Когда инициируется иммунный ответ, Т-клетки, несущие индивидуальный рецептор, специфичный для вовлеченного антигена, стимулируются и клонально размножаются. В соответствии с этой концепцией было ограничено использование генов Т-клеточных рецепторов V_{α} и V_{β} наблюдалось в Т-лимфоцитах, полученных с помощью тонкоигольной аспирации щитовидной железы с болезнью Грейвса. был подтвержден в некоторых [57,168], но не во всех

исследованиях [128, 118]. Эти наблюдения показывают, что в начальной фазе заболевания в щитовидной железе пациентов с болезнью Грейвса возникает высокоизбирательный ответ на аутоантигены щитовидной железы. После этого происходит распространение аутоиммунного ответа, что приводит к менее ограниченному использованию гена Т-клеточного рецептора.

Проведенные исследования по оценке экспрессии мРНК IL-17, IL-6, IL-37 и TNF- β в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с ДТЗ и их циркулирующему уровню, показали, что они были значительно выше по сравнению с контролем. IL-37 в сыворотке тесно коррелировал с ТТГ, IL-17, IL-6, TNF- α и TRAb. У пациентов с ДТЗ в активной фазе заболевания уровни мРНК IL-37 и сывороточного белка значительно выше, чем в неактивных фазах или у здоровых контрольных субъектов. При ДТЗ ИЛ-37 ингибировал продукцию ФНО- α , ИЛ-17 и ИЛ-6 в мононуклеарных клетках периферической крови. Эти результаты показали, что IL-37 выполняет защитную противовоспалительную роль при ДТЗ, подавляя продукцию провоспалительных цитокинов, и его можно считать новой мишенью для патогенеза и лечения ДТЗ [111].

Проведенный мета-анализ на предрасположенность к ДТЗ оценивающий rs1800629 и rs361525 в гене TNF- α показал, что полиморфизм rs1800629 был достоверно связан с ДТЗ в гомозиготной модели (AA по сравнению с GG: ОШ=1,97, 95% ДИ: 1,27-3,06, P=0,002) и рецессивной модели (AA по сравнению с GA+GG: ОШ=1,62, 95% ДИ: 1,04–2,50, P=0,03). После стратификации по этническому признаку в европейской популяции к предрасположенности ДТЗ достоверно сообщалось во всех генетических моделях, в то время как в азиатской популяции значимой связи выявлено не было. А значимой ассоциации ОНП rs361525 с ДТЗ не продемонстрировано. Данные показали, что повышенный риск ДТЗ связан с промотором SNP rs1800629 в гене TNF- α , особенно в европейской популяции [175].

Метаанализ связи между полиморфизмом IL-6-174 G/C и ДТЗ, включающий 4 исследования показал, что полиморфизм IL-6-174 G/C был

значимо связан с риском ДТЗ в доминантной модели (ОШ=1,39, 95% ДИ: 1,07–1,80), рецессивной модели (ОШ=2,75, 95% ДИ: 1,01–7,55) и гомозиготной модели (ОШ=3,25, 95% ДИ: 1,1–9,58) [91]. В исследованиях роли метилирования гена IL-6, уровни метилирования 666, 664, 610, 491 и 426 сайтов CpG показано, что у пациентов с трудноизлечимой ДТЗ наблюдались более низкие уровни метилирования CpG-сайтов 664 и 666, чем у пациентов с ДТЗ в стадии ремиссии. Это указывает на связь между метилированием гена IL-6 и неизлечимостью ДТЗ [85].

CCL21 важен при некоторых аутоиммунных заболеваниях, но его роль при ДТЗ не ясна. В исследовании были обнаружены уровни CCL21 при ДТЗ и изучена роль остеопонтина (OPN, который стимулирует секрецию хемокинов и провоспалительных цитокинов через NF-κB и MAPK) в регуляции продукции CCL21. В проведенных исследованиях уровень CCL21 в плазме был выше у больных ДТЗ и в пределах нормы у больных с отрицательным TRAb и OPN плазмы коррелировали с CCL21. Рекомбинантный OPN повышал экспрессию CCL21 в зависимости от времени и дозы. Эти результаты указывают на клиническую корреляцию между ДТЗ и CCL21 в плазме и на то, что CCL21 можно рассматривать как новый маркер ДТЗ и возможная мишень для лечения пациентов ДТЗ с положительным TRAb [137].

Таким образом, ДТЗ клинически характеризуется тиреотоксикозом, наличием АТА в сыворотке и инфильтрацией щитовидной железы аутореактивными лимфоцитами. При ДТЗ аутоиммунная реакция индуцирует продукцию TSAb клонами В-клеток, проникающими в щитовидную железу. Эти антитела являются определяющими в патогенезе ДТЗ и ее экстра tireоидных проявлений. Факторы риска ДТЗ включают генетическую предрасположенность и взаимодействие между эндогенными факторами и факторами окружающей среды. В иммунопатогенезе ДТЗ преобладает Th1-иммунный ответ, в котором ключевую роль играют Th1-хемокины. При ДТЗ рекрутированные Th1-лимфоциты приводят к увеличению продукции IFN-γ и

TNF-а, что стимулирует секрецию хемокинов Th1 из клеток щитовидной железы, поддерживая аутоиммунный процесс. Существующие в настоящее время методы лечения ДТЗ не являются идеальными для лечения гипертиреоза: антитиреоидные препараты приводят к длительной ремиссии только у 50% пациентов, а радиоактивный йод и хирургическое вмешательство вызывают гипотиреоз.

§ 1.2. Реализация генетической предрасположенности к диффузному токсическому зобу и потенциальные факторы риска

На развитие и течение ДТЗ большое влияние оказывает наследственность. О роли наследственных факторов свидетельствует увеличение частоты других аутоиммунных заболеваний в семьях этих больных, таких как болезнь Хашимото, инсулинозависимый диабет и пернициозная анемия. Кроме того, аутоантитела к эндокринным тканям, париетальным клеткам желудка и внутреннему фактору в некоторых семьях указывают на наследственное влияние. У братьев и сестер высокий риск заболевания, о чем свидетельствует V-гены Т-клеток, которые вызывают различия в иммунном репертуаре однояйцевых близнецов. Тем не менее, склонность к развитию аутоантител к щитовидной железе, по-видимому, является аутосомно-доминантным признаком, связанным с геном цитотоксического Т-лимфоцитарного антигена-4 (CTLA4), который кодирует модулятор второго сигнала к Т-клеткам. Поскольку ряд генетических локусов может способствовать на предрасположенность к болезни Грейвса, это заболевание называют полигенным. На сегодняшний день эти гены и участки генов составляют лишь небольшую часть расчетной генетической предрасположенности, так что многое еще предстоит понять. Существует хорошо изученная связь с областью гена HLA (например, повышенная частота гаплотипов HLA DR3 и DQA10501 у европеоидов), но эта область обеспечивает менее 5% генетической предрасположенности и дает

соотношение риска только в два-четыре раза [37, 172, 55]. Дополнительная неспецифическая генетическая чувствительность после вклада HLA и CTLA4 включает гены лимфоидной тирозинфосфатазы (PTPN22), сигнальной молекулы CD40, рецептора IL-2-биорфанного Fc-рецептора L3, которые все могут быть вовлечены в обеспечение аутоиммунной восприимчивости [28].

Молекулы HLA (антигены лейкоцитов человека) играют ключевую роль в правильном функционировании иммунной системы. Эти молекулы необходимы для способности иммунной системы распознавать и реагировать на чужеродные вещества, известные как антигены, в организме. Молекулы HLA действуют как посредники, связываясь с антигенами и представляя их Т-лимфоцитам, которые являются одним из видов белых кровяных клеток, ответственных за организацию иммунного ответа. Этот процесс презентации антигенов имеет решающее значение для активации и регулирования Т-лимфоцитов, позволяя им идентифицировать и запускать целенаправленный иммунный ответ против конкретных патогенов или аномальных клеток [101].

Молекулы HLA делятся на два основных класса: класс I и класс II. Молекулы HLA класса I, состоящие из HLA-A, HLA-B и HLA-C, присутствуют на поверхности почти всех ядродержащих клеток организма. Их основная роль заключается в презентации внутриклеточных антигенов цитотоксическим Т-лимфоцитам (CD8⁺ Т-клетки). Такая презентация антигенов позволяет цитотоксическим Т-клеткам распознавать и уничтожать инфицированные или аномальные клетки, например, зараженные вирусами или раковые клетки. Молекулы HLA класса I также способствуют самораспознаванию, взаимодействуя с ингибирующими рецепторами на естественных клетках-киллерах (NK), тем самым предотвращая их атаку на здоровые клетки. С другой стороны, молекулы HLA класса II, включая HLA-DR, HLA-DP и HLA-DQ, в основном экспрессируются на антигенпрезентирующих клетках, таких как макрофаги, дендритные клетки и В-клетки. Молекулы HLA класса II представляют внеклеточные антигены хелперным Т-лимфоцитам (CD4⁺ Т-клетки). Это взаимодействие запускает

каскад иммунных реакций, включая активацию других иммунных клеток, выработку антител и выброс цитокинов. Т-клетки-помощники играют решающую роль в координации и регуляции иммунного ответа, что делает молекулы HLA класса II необходимыми для создания эффективной иммунной защиты против патогенов [101]. Большинство аутоиммунных заболеваний, включая БГ, тесно связаны с вариантами HLA [77]. У больных ДТЗ европеоидной расы обычно наблюдается повышенная распространенность гаплотипа *DRB1*03 DQA1*05DQB1*02*, что свидетельствует о том, что некоторые кодируемые им гены увеличивают риск развития заболевания в 2-3 раза [158].

В исследовании Xiang et al. (2020) авторы изучили частоты аллелей HLA в большой когорте пациентов с ДТЗ. Полученные ими результаты подтвердили исключение DQB102 как значительного фактора, влияющего на восприимчивость к ДТЗ. Они отметили, что DQB102 часто встречается в гаплотипах отвечающих за кодирование DRB107, который, что интересно, проявляет защитный эффект против ДТЗ [104]. Это позволяет предположить, что наличие DRB107 может модулировать риск, связанный с DQB102, что дает потенциальную возможность для дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе защитной роли DRB107. Что касается относительной важности DQA105 и DRB103, в различных исследованиях были получены противоречивые результаты. В одном из исследований, проведенном Van et al. (2018), наблюдалась более сильная ассоциация между DQA105 и ДТЗ, что указывает на его потенциальную значимость в предрасположенности к заболеванию. Однако в других исследованиях подчеркивалось отсутствие установленной связи, что ставит под сомнение представление о DQA105 как об основном движущем факторе развития ДТЗ. Эти противоположные результаты подчеркивают необходимость дальнейших исследований. Очевидно, необходимы исследования HLA с высоким разрешением в различных этнических группах. Исследования в этой области имеют особую важность, так как имеющиеся данные свидетельствуют о том, что гены,

связанные с главным комплексом гистосовместимости (HLA), могут играть наиболее существенную роль среди всех генетических факторов, предрасполагающих к развитию диффузного токсического зоба (ДТЗ), подобно другим аутоиммунным заболеваниям.

Наиболее задокументированной связью вариантов *PTPN22* с аутоиммунными заболеваниями, включая ДТЗ, является rs2476601 (C1858T). Ассоциированный с заболеванием SNP C1858T, кодирующий замену Arg на Trp в остатке 620 (R620W), расположен в богатом пролином P1 мотиве *PTPN22*, который с высокой аффинностью связывается с доменом гомологии белка Src (SH3) тирозинкиназы.

Было показано, что вариант W620 гена *PTPN22* (Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor Type 22) нарушает связь между *PTPN22* и Csk (C-terminal Src kinase), белковой тирозинкиназой, которая играет важную роль в регуляции Т-клеточной сигнализации. *PTPN22* и Csk взаимодействие имеет решающее значение для правильной регуляции сигнализации Т-клеточного рецептора (TCR) [30; 179]. Нарушение взаимодействия *PTPN22*-Csk имеет несколько последствий. Во-первых, это приводит к дефосфорилированию ключевых сигнальных молекул, участвующих в сигнализации TCR, что приводит к ослаблению общего ответа Т-клеток. Во вторых, нарушение связи между *PTPN22* и Csk может влиять на пороговые значения для сигнализации Т-клеточного рецептора, влияя на активацию Т-клеток, выработку цитокинов и последующие функции иммунных клеток. Эти изменения в Т-клеточной сигнализации могут способствовать развитию аутоиммунных заболеваний [82, 108].

Вариант 620W был связан с гиперреактивностью Т-клеток, что может способствовать усилению воспаления и повреждению тканей в щитовидной железе. Гиперреактивные Т-клетки могут проявлять преувеличенный ответ на аутоантигены, что приводит к хроническому воспалению и дисфункции щитовидной железы, наблюдаемой при ДТЗ [82].

CD40 - рецептор клеточной поверхности, экспрессируемый преимущественно на В-клетках, был связан с развитием диффузного токсического зоба (ДТЗ) на основании генетических исследований. В одном из таких исследований был использован анализ цельногеномной связи у лиц с ДТЗ, и была определена конкретная хромосомная область 20q11, как восприимчивая ДТЗ область гена. Исследования влияния полиморфизма rs1883832 на функцию CD40 и в патогенезе ДТГ показывают, что он может влиять на экспрессию или активность CD40, тем самым влияя на иммунные реакции и функцию щитовидной железы.

Было обнаружено, что аллель С rs1883832 обеспечивает ОШ=1,6 для ДТЗ среди европеоидов, тогда как результаты системы транскрипции/трансляции *in vitro* показали, что этот аллель предрасполагает к заболеванию за счет повышения эффективности трансляции мРНК CD40 [93]. Связь между ДТЗ и rs1883832 не была воспроизведена в двух крупных исследованиях случай-контроль в Соединенном Королевстве [89].

На основании анализа включенных исследований ученые обнаружили значительную ассоциацию между полиморфизмом rs1883832 и риском ДТЗ. Результаты метанализа 17 исследований с участием 4707 больных и 4215 здоровых лиц азиатского этноса показали, что лица несущие аллель С полиморфизма rs1883832, имеют более высокий риск развития ДТЗ по сравнению с лицами, несущими аллель Т. (СТ + ТТ vs СС, ОШ=0,67, 95% CI: 0,56-0,81, P<0,001), рецессивный аллель (ТТ vs СТ + СС, ОШ=0,58, 95% CI: 0,47-0,72, P<0,001) и гомозиготный аллель (ТТ vs СС, ОШ=0,49, 95% CI: 0,37-0,64, P<0,001) [26; 105].

CTLA-4 (цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4) играет важную роль в развитии ДТЗ и других аутоиммунных нарушений. Дисрегуляция функции CTLA-4 приводит к дисбалансу иммунных ответов, активации самореактивных Т-клеток и выработке аутоантител против щитовидной железы [78]. Данный ген действует путем передачи ингибирующих сигналов Т-клеткам, что помогает поддерживать иммунный

гомеостаз и предотвращать чрезмерную иммунную активацию. Он конкурирует с другим ко-стимулирующим рецептором за связывание с теми же лигандами на антигенпрезентирующих клетках. Преодолевая конкуренцию с CD28, CTLA-4 подавляет ко-стимулирующие сигналы, необходимые для полной активации Т-клеток, тем самым подавляя иммунный ответ [154].

В дополнение к этому внутреннему действию клетки была предложена другая модель, подчеркивающая роль растворимого CTLA-4 (sCTLA-4) [41]. Механизм внешнего клеточного действия может включать стимуляцию регуляторных Т-клеток, но точный механизм неясен, поскольку у пациентов с аутоиммунитетом обнаруживаются повышенные уровни sCTLA-4. Недавно продемонстрировали еще один клеточный внешний способ действия CTLA-4, происходящий посредством удаления костимулирующих лигандов (CD86) [140]. Ясно, что требуется дополнительная работа, чтобы расшифровать все физиологически значимые эффекты CTLA4.

У ассоциаций между диффузным токсическим зобом (ДТЗ) и геном CTLA4 выявлены три наиболее устойчивые связи. Первая связь связана с микросателлитным полиморфизмом ATn в одной из нетранслируемых областей гена. Исследования предполагают, что аллель AT уменьшает стабильность мРНК CTLA4, что может снижать контроль пролиферации Т-клеток [167].

Вторая связь связана с полиморфизмом rs231775, также известным как SNP (A49G), в сигнальном пептиде гена CTLA4. Это полиморфизм вызывает замену аминокислоты Thr на Ala и может влиять на посттрансляционный процессинг, в результате чего вариант гена может быть менее эффективно гликозилирован, что предрасполагает к аутоиммунным реакциям [47, 21, 187].

Полиморфизм rs3087243 – (также известен как CT60) один из генетических вариантов CTLA4 влияет на экспрессию и функцию CTLA4 [53]. Недавние геномные исследования GWAS выявили значительную взаимосвязь между полиморфизмом rs3087243 и риском развития ДТЗ. Эти

исследования проводились в различных этнических популяциях, включая лиц европейского, азиатского и африканского происхождения [176, 166].

В исследовании Dechaïro и соавторов (2005) была изучена ассоциация между геном TSHR и ДТЗ. Был обнаружен вариант rs179247, который также был связан с риском развития ДТЗ что позволило предположить об уникальности данного локуса при ДТЗ. Полученные результаты позволяют предположить, что TSHR может быть специфическим генетическим локусом для ДТЗ [58].

Один из аналогичных исследований было проведено английскими учеными в Бирмингеме. В данном исследовании были включены 768 пациентов с ДТЗ Согласно результатам исследования самые сильные SNP-ассоциации были обнаружены у вариантов rs179247 (AA) (ОШ = 1,53) и rs12101255 (TT) (ОШ = 1,55) [35]

В ряде исследований была обнаружена ассоциация полиморфизмов ТГ с ДТЗ, а также с рецидивом гипертиреоза Грейвса после антитиреоидной терапии [50, 169]. Возможно, наблюдаемые несоответствия объясняются различиями в аутоиммунном ответе на ТГ. На основе генетических исследований, до настоящего времени имеется подтверждение того, что геном тиреоидной железы (ТГ) может служить предрасполагающим фактором для развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (АИТ) в целом, а не только специфическим маркером для диффузного токсического зоба (ДТЗ) или аутоиммунного гипотиреоза (АГ).

Существует несколько возможных механизмов, с помощью которых SNP Tg могут влиять на восприимчивость к АИТ. Tg представляет собой большой димер гликопротеина, каждая субъединица которого составляет ~ 330 кДа.

В развитии ДТЗ значительную роль могут играть несколько факторов, связанных с тиреоглобулином (ТГ). Эти факторы включают степень йодирования, изменения в аминокислотной последовательности и посттрансляционные модификации ТГ.

Йод является необходимым компонентом для синтеза тиреоидных гормонов. При болезни Грейвса наблюдается повышенная выработка тиреоидных гормонов из-за стимуляции тиреоид-стимулирующих иммуноглобулинов (ТСИ). При этом повышенное йодирование ТГ может привести к избыточному производству тиреоидных гормонов [92]. Изменения в аминокислотной последовательности тиреоглобулина могут влиять на его антигенность и иммунное распознавание. Исследования показали, что определенные участки ТГ, являются мишенью аутоантител при ДТЗ. Изменения в аминокислотной последовательности ТГ могут влиять на конформационную структуру белка, обнажая эти иммуногенные области и вызывая аутоиммунный ответ [92; 87].

Недавние исследования обнаружили несколько SNP промотора Tg, связанный с развитием ДТЗ. Была установлена что G связывает IRF-1, ключевой фактор транскрипции, индуцируемый интерфероном, и повышает активность промотора. Эти данные позволяют предположить, что терапия интерфероном- β при хронической инфекции гепатита С может способствовать развитию ДТЗ и обеспечить уникальное взаимодействие генов и окружающей среды [164].

Наконец, следует отметить, что другие предрасполагающие гены *IL3*, *IL4*, *IL5*, *IL9*, *IL13* и а также ген *ADRB2*, кодирующий бета-2-адренергический рецептор, расположены на хромосоме 5q. Примечательно, что все варианты *IL3*, *IL5* [191] и *ADRB2* [48] были связаны с ДТЗ.

Сообщается, что интерлейкин (IL)-17 и Т-хелперы 17 (Th17) участвуют в патогенезе многих аутоиммунных заболеваниях. Повышенный уровень IL-17 и родственных цитокинов в сыворотке крови у пациентов офтальмопатией болезни Грейвса и корреляция концентрации ИЛ-17 с показателями клинической активности позволяют предположить, что IL-17 может играть важную патофизиологическую роль при болезни Грейвса [99].

Интерлейкин-17А (ИЛ-17А) является важным цитокином, участвующим в врожденных и адаптивных иммунных реакциях. IL-17А может

индуцировать провоспалительные цитокины, такие как IL-6, IL-1b, IL-12p70, G-CSF и GM-CSF, он также может усиливать местную продукцию хемокинов и способствовать привлечению моноцитов и нейтрофилов. Кроме того, благодаря широкому распространению рецепторов IL-17A делает почти любую клетку потенциальной мишенью и участвует в патогенезе множества аутоиммунных заболеваний. Исследование случай-контроль, направлено на изучение генетической связи между геном IL-17A и болезнью Грейвса показало, что полиморфизмы IL-17A rs3819025, rs8193037 тесно связан с предрасположенностью в популяции китайских ханьцев [138].

Начало ДТЗ может быть вызвано стрессом, инфекцией, родами и другими аутоиммунными заболеваниями. Курение увеличивает риск и может усугубить проблемы со зрением. Триггеры могут включать вирусные или бактериальные инфекции, которые вызывают перекрестную реакцию антител с человеческим рецептором ТТГ. Это известно как антигенная мимикрия. Например, бактерия *Yersinia enterocolitica* имеет структурное сходство с человеческим рецептором тиреотропина и может влиять на аутоиммунитет щитовидной железы генетически предрасположенных людей. Вирус Эпштейна-Барра может быть еще одним возможным триггером. Пищевые добавки с йодом могут спровоцировать начало болезни Грейвса. Пациенты, получающие лечение йодидом калия или йодсодержащими препаратами, такими как амиодарон, имеют повышенный риск развития болезни Грейвса. Химиотерапия также может вызывать болезнь Грейвса. К таким химиотерапевтическим препаратам относятся атезолизумаб, ипилимумаб, пембролизумаб и тремелиумаб. Важно отличить причину от гипертиреоза или от аутоиммунного тиреоидита, который может быть вызван этими ингибиторами. У пациентов с болезнью Грейвса повышен риск других системных аутоиммунных заболеваний, включая глютеновую болезнь, синдром Шегрена, болезнь Аддисона, пернициозную анемию, очаговую алопецию, сахарный диабет 1 типа, витилиго, гипопаратиреоз, кардиомиопатию и тяжелую миастению.

Болезнь Грейвса преобладает у женщин, что указывает на роль эстрогенов в ее патофизиологии. Изменение уровня эстрогена может объяснить колебания заболевания в течение менструального цикла, беременности и менопаузы [100]. Из двух типов эстрогеновых рецепторов ESR2 ближе к локусу чувствительности [173]. Полиморфизмы ESR2 часто встречаются при болезни Грейвса. Сообщалось об экспрессии рецептора эстрогена на орбитальных фибробластах, и на него могут влиять глюкокортикоиды [51].

Эстрогены и X-инактивация у женщин нарушают иммунную систему и могут объяснять преобладание женщин при болезни Грейвса. Женские ткани представляют собой мозаику из отцовских и материнских клеточных линий с активированной X-хромосомой [40]. Асимметричная X-инактивация, условно определяемая инактивацией одной и той же X-хромосомы в 80% клеток [39], способствует преобладанию женского пола при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы. Недавний метаанализ подтвердил важность инактивации X-хромосомы в развитии болезни Грейвса у женщин (ОШ-2,54; 95% ДИ: 1,58–4,10) [159, 49].

Известно, что во время беременности между 4 и 6 неделями беременности происходит ранний обмен клетками между плодом и матерью. Переход от плода к матери — это фетальный клеточный микрохимеризм, а переход от матери к плоду — материнский микрохимеризм [49]. Сообщалось о стойком микрохимеризме плода в начале аутоиммунного заболевания щитовидной железы, но с противоречивыми результатами [20, 110].

У некоторых избыток йода увеличивает внутрищитовидную инфильтрацию Т-клеток Th17 и подавляет развитие Treg. Он способствует гиперэкспрессии TNF-альфа, вызывая апоптоз и разрушение паренхимы. Потребление йода, похоже, не влияет на риск болезни Грейвса; связь между потреблением йода и дисфункцией щитовидной железы образует U-кривую, причем как дефицит йода, так и его избыток нарушают функцию щитовидной железы [106, 192].

Селенопротеины участвуют в антиоксидантных, окислительно-восстановительных и противовоспалительных процессах [63, 155]. Селен способствует балансу иммунной системы. Он активирует Т-клеточные рецепторы и индуцирует дифференцировку Т-клеток CD4⁺ в регуляторные клетки CD25⁺FoxP3⁺ и Treg. Дефицит индуцирует иммунный ответ типа Th1 с повышением уровня цитокинов (IL-2, TNF-, IFN-γ) и более низкими уровнями регуляторных клеток [114, 127]. Замена селеном снижает уровень антитиреоидных антител, не влияя на функцию щитовидной железы как таковую, и улучшает орбитопатию Грейвса.

Низкие концентрации 25(ОН)-витамина D наблюдаются при болезни Грейвса, и дефицит необходимо устранить до начала терапии антитиреоидными препаратами [188]. До сих пор нет данных, позволяющих определить, является ли дефицит витамина D причиной или следствием болезни Грейвса. Рецидивы болезни Грейвса чаще встречаются весной и летом, что соответствует эпизодам аллергического ринита [84].

Курение уже давно считается фактором риска болезни Грейвса с ОШ 3,30 (95% ДИ, 2,09–5,22) у активных курильщиков по сравнению с некурящими; при офтальмопатии Грейвса ОШ выше - 4,40 (95% ДИ, 2,88–6,73). Риск исчезает в течение нескольких лет после прекращения [145, 180]. Однако воздействие курения комплексное, поскольку отказ от курения также связан с увеличением частоты аутоиммунных заболеваний щитовидной железы [88].

Эпидемиологические исследования показали защитный эффект алкоголя против болезни Грейвса (6,7 против 23,7%) [64]. С другой стороны, чрезмерное потребление снижает активность естественных клеток-киллеров и выработку антител и вызывает гипергаммаглобулинемию с нарушением выработки цитокинов, нарушая иммунный баланс Th1/Th2 [45].

В исследованиях сообщалось о роли стресса в 62–85% случаев развития заболевания [142, 186]. Недавнее исследование показало корреляцию между степенью стресса интенсивностью симптомов, биологического статуса (Т4, Т3,

сывороточные антитела) 263 пациентов с первым эпизодом болезни Грейвса [66]. Стресс модулирует иммунный ответ, подавляя клеточный ответ и активируя гуморальный ответ [174].

Низкодозное внешнее облучение щитовидной железы приводит к образованию узлов и карциномы щитовидной железы. Более высокие дозы связаны с гипотиреозом. Внешнее облучение вызывает гиперплазию щитовидной железы, связанную с повышенной частотой аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, таких как болезнь Грейвса (0,1–2% случаев), хотя патофизиология неизвестна [59, 83].

В развитии болезни Грейвса участвуют несколько инфекционных агентов: *Yersinia enterocolitica*, *Coxsackie B*, *Retrovirus*, *Helicobacter pylori* и вирус гепатита С. В исследовании перенесенной недавней инфекции, подтвержденной серологически, была обнаружена в 36% впервые диагностированных случаев болезни Грейвса по сравнению с 10% в здоровой контрольной группе [178]. Некоторые бактерии, такие как *Yersinia*, проявляют перекрестную иммуногенность с эпитопами рецептора ТТГ; это гипотеза антигенной мимикрии. Генетическая предрасположенность и определенные группы HLA формируют связь между этими ретро вирусными инфекциями и болезнью Грейвса, особенно в семейных формах [157, 171].

Таким образом, многие эндогенные включая конкретные генетические, экологические и другие факторы риска могут быть причиной или способствовать развитию болезни Грейвса.

§ 1.3. Лечение диффузного токсического зоба в эпоху прецизионной медицины

Лечение болезни Грейвса включает антитиреоидные препараты, радиоактивный йод I131 и тиреоидэктомию. Антитиреоидные препараты снижают выработку гормонов щитовидной железы. Поскольку оперировать больного со значительным гипертиреозом опасно, перед операцией

назначают антитиреоидные препараты, чтобы больной стал эутиреоидным; тогда может произойти хирургическая процедура. Не существует единого подхода к лечению, который был бы оптимален для всех пациентов. Антитиреоидные препараты назначают на срок от 6 месяцев до 2 лет. Иногда, когда лекарства прекращаются, гипертиреоз рецидивирует. Риск рецидива составляет около 50%. Пожизненное лечение антитиреоидными препаратами имеет побочные эффекты такие как агранулоцитоз и заболевание печени, наряду с возможным фатальным снижением количества лейкоцитов. Наиболее распространенным методом лечения болезни Грейвса в Соединенных Штатах является радиоiodтерапия. В остальном мире в основном используются антитиреоидные препараты, тиреоидэктомия или и то, и другое. Бета-блокаторы, такие как пропранолол, могут использоваться для подавления симптомов тахикардии и тошноты со стороны симпатической нервной системы до тех пор, пока антитиреоидные препараты не подействуют. Бета-адреноблокаторы не ингибируют ретракцию век, опосредованную альфа-адренорецепторами. Основные антитиреоидные препараты включают метимазол, пропилтиоурацил и карбимазол, который блокирует связывание йода и связывание йодтирозинов [109].

Тиреоидэктомия наиболее эффективна у молодых и беременных пациентов. Показания могут быть абсолютными или относительными. Абсолютные показания включают большой зоб, особенно при компрессии трахеи, подозрительные узелки или подозрение на рак, офтальмопатию, а также, если пациент предпочитает это лечение или не желает лечения радиоактивным йодом. Хирургические методы включают двустороннюю субтотальную тиреоидэктомию и операцию Hartley_Dunhill, которая представляет собой гемитиреоидэктомию с одной стороны и частичную лобэктомию с другой стороны. Преимуществами являются немедленное излечение и возможное удаление любой присутствующей карциномы.

Риски включают повреждение возвратного гортанного нерва, гипопаратиреоз в результате удаления паращитовидных желез, гематому,

которая может быть опасной для жизни, если она сдавливает трахею, рецидив, инфекции и рубцевание. Повышенный риск повреждения нерва может быть из-за повышенной васкуляризации паренхимы щитовидной железы и связей, которые развиваются между капсулой щитовидной железы и окружающими тканями. После полной тиреоидэктомии существует 1% вероятность постоянного паралича возвратного гортанного нерва [116, 96]. Если железа удалена, может быть выполнена полная биопсия, чтобы найти признаки рака в любой части щитовидной железы. Игольчатая биопсия не так точна в прогнозировании доброкачественной щитовидной железы. Дальнейшее лечение щитовидной железы не потребуется, если не будет обнаружен рак. После операции может быть проведено исследование поглощения радиоактивного йода, чтобы убедиться, что все клетки щитовидной железы удалены и без рака. Единственным лечением после операции будет левотироксин или заместительная терапия щитовидной железы, принимаемая на протяжении всей жизни. По состоянию на 2013 год тотальная тиреоидэктомия стала предпочтительным хирургическим вариантом лечения болезни Грейвса.

Целью хирургического лечения болезни Грейвса является снижение избыточной секреции тиреоидных гормонов и предотвращение рецидива тиреотоксикоза путем удаления достаточного количества ткани щитовидной железы. Субтотальная тиреоидэктомия долгое время была операцией выбора. Классическая процедура состоит в удалении большей части железы с оставлением нескольких граммов ткани в обеих долях. При субтотальной тиреоидэктомии многие пациенты остаются в эутиреоидном состоянии, но подвергаются риску рецидива тиреотоксикоза в будущем [185]. У значительного числа пациентов, перенесших субтотальную тиреоидэктомию, также развивается гипотиреоз. Поэтому после субтотальной тиреоидэктомии необходимо пожизненное наблюдение.

Тотальная тиреоидэктомия заключается в удалении большей части ткани щитовидной железы, при этом в чувствительных областях, например, вокруг

возвратного нерва гортани, остаются лишь субсантиметровые фрагменты паращитовидной железы. Недавние исследования по выполнению тотальной тиреоидэктомии у пациентов с болезнью Грейвса показали, что тотальная тиреоидэктомия приводит к более высокой частоте гипотиреоза, но гораздо меньшей частоте рецидивирующего гипертиреоза. Поэтому, из-за очень низкого риска рецидива тиреотоксикоза тотальная тиреоидэктомия становится предпочтительной операцией в специализированных центрах [124]. Тотальная тиреоидэктомия (удаление всей видимой ткани щитовидной железы) может иметь дополнительное преимущество, заключающееся в удалении практически всех аутоантигенов щитовидной железы, и, таким образом, она может иметь положительное влияние на течение офтальмопатии, если она присутствует [123]. Подготовка пациента к операции на щитовидной железе имеет первостепенное значение. Курс лечения пропилтиоурацилом рекомендуется для восстановления и поддержания эутиреоза и истощения внутритиреоидных запасов гормонов, которые могут высвободиться во время операции. Предоперационное введение (10 дней) неорганического йода вызывает инволюцию железы и уменьшение васкуляризации. Существует и другой подход, а именно подготовка только пропранололом и йодом, что позволяет проводить операцию раньше. Однако при отсутствии реальной необходимости в быстром хирургическом вмешательстве этот подход не следует поощрять, поскольку он подвергает пациентов ненужному риску. Помимо общих неспецифических осложнений операции и анестезии, хирургия щитовидной железы подвергает пациентов специфическим осложнениям, включая тиреоидный шторм, который в настоящее время встречается крайне редко, кровотечение, повреждение возвратного гортанного нерва и гипопаратиреоз. Особенно важно учитывать возможность повреждения гортанного нерва и развития гипопаратиреоза. Частота возникновения этих осложнений зависит от опыта и навыков хирурга и может варьироваться от 2% в до 15% в некоторых исследованиях [116, 96, 132, 42]. Это подчеркивает значимость

тщательного объяснения этих двух потенциальных осложнений пациенту при обсуждении возможных методов лечения.

В частности, нельзя игнорировать риск повреждения гортанного нерва и гипопаратиреоза. Частота этих осложнений зависит от навыков и опыта хирурга и может колебаться от 2% в специализированных центрах с большим опытом хирургии щитовидной железы до 10-15% в некоторых сериях [116, 96, 132, 42]. Как указано выше, эти два потенциальных осложнения необходимо тщательно объяснить пациенту, когда начинается обсуждение вариантов лечения.

Таким образом, несмотря на проведенное огромное количество исследований, рекомендации о способах хирургического лечения болезни Грейвса противоречивы и носят дискуссионный характер. На данный момент отсутствуют единые патогенетически обоснованные критерии для определения необходимого объема операции при хирургическом лечении диффузного токсического зоба (ДТЗ). Это означает, что нет четких и универсально принятых стандартов для определения, какая часть щитовидной железы должна быть удалена при операции. Другой проблемой является отсутствие предикторов послеоперационных осложнений. То есть, нет четкой информации или факторов, которые можно использовать для предсказания вероятности возникновения осложнений после операции. Это затрудняет прогнозирование и предупреждение возможных проблем, которые могут возникнуть у пациента после хирургического вмешательства.

ГЛАВА II ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ И ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

§ 2.1. Клиническая характеристика обследованных пациентов

Настоящее исследование основывается на результатах наблюдения за пациентами с ДТЗ, проведенного в отделении тиреоидной патологии Самаркандского филиала Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эндокринологии в период прохождения стационарного лечения с 2019-2022 гг. Контроль и непосредственную консультативную, научную и методическую помощь оказывал заведующий кафедрой внутренних болезней №1 СамГМУ, д.м.н., доцент Зиядуллаев Ш.Х. В исследование включались пациенты, подписавшие добровольное информированное согласие на участие в соответствии с Хельсинской декларацией. В данном конкретном исследовании в общей сложности было 97 пациентов с ДТЗ, 89 из которых были женщинами (91,8%), в то время как только 8 мужчин (8,2%). Возраст пациентов на момент хирургического вмешательства варьировался от 15 до 67 лет, при этом среднее значение составило $41,1 \pm 2,64$ года.

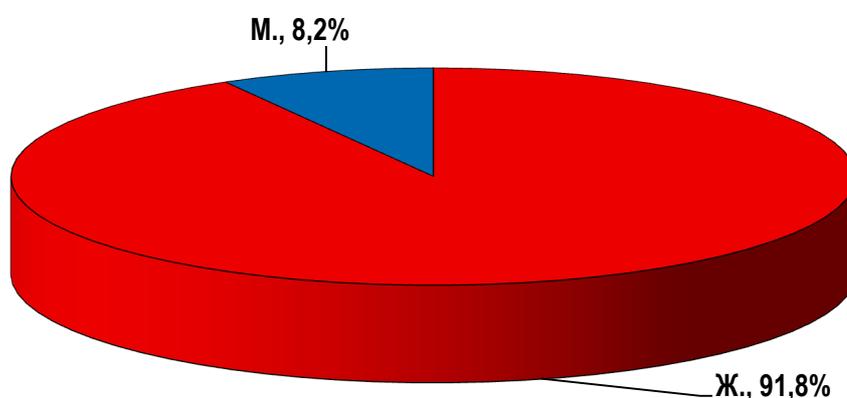


Рис. 2.1. Распределение пациентов с ДТЗ по полу

Диагноз устанавливали на основании данных жалоб и анамнеза, физикального и лабораторного и иных методов обследования согласно критериям Клинических рекомендаций Общественной организации «Российская ассоциация эндокринологов» 2021 года утверждения.

Во время клинического обследования пациентов с ДТЗ были тщательно собраны и оценены различные жалобы и факторы. потеря веса, повышенный аппетит, потливость, тахикардия, сердцебиение, внутреннее беспокойство, нервозность, дрожание рук и общая мышечная слабость, быстрая утомляемость.

Также был собран тщательный анамнез пациента: аутоиммунные заболевания в семье, любые предшествующие вирусные инфекции, эмоциональный стресс, проживание в йододефицитном регионе а также оценку повышенного потребления йода.

Физикальное обследование охватывало визуально-пальпаторную оценку размеров щитовидной железы по классификации ВОЗ от 2012 года. Согласно данной классификации 0-степень: зоб не пальпируется, объем долей не превышает объема дистальной фаланги обследуемого. При 1-степень зоб пальпируется, но не виден при нормальном положении шеи, отсутствует видимое увеличение щитовидной железы. Сюдаже относятся узловые образования, которые не приводят к увеличению самой щитовидной железы. При 2-степени зоб четко виден при нормальном положении шеи [14; 22; 74; 108].

Также был произведен осмотр кожных покровов (покровы горячие и влажные, выраженный белый стойкий дермографизм), глазного яблока, оценку пульса и АД (тахикардия, высокий и частый пульс. повышение АД), оценка нервной системы (мелкий тремор пальцев рук, языка и век) а также измерение антропометрических параметров каждого пациента (роста, массы тела, индекса массы тела).

Оценивались лабораторные показатели функциональной активности ЩЖ. Был произведен анализ уровней содержания тиреоидных гормонов в

крови: свТ4 и свТ3, базального уровня ТТГ и иммунологических маркеров (антитела к рТТГ, антитела к ТГ и ТПО) [17]. Из инструментальных методов проводилось УЗИ ЩЖ, определялся объем и эхоструктура органа, оценивались особенности кровотока, выявлялись узловые образования ЩЖ. У всех больных выполнялись стандартные анализы крови и мочи, биохимическое исследование крови. Все данные вносились в разработанную индивидуальную регистрационную карту больного.

Всем пациентам, включенным в исследование выполнена экстрафасциальная тиреоидэктомия по поводу ДТЗ и проводилось исследование на предмет установления частоты развития послеоперационного гипотериоза и влияние носительства определенного полиморфизма генов на неэффективность заместительной терапии левотироксином.

После тиреоидэктомии пациентам назначали левотироксин в суточной дозе, соответствующей 1,7 мкг на килограмм массы тела. ПовторТТГ осуществлялось через 4 недели со дня начала заместительной терапии и при необходимости проводили коррекцию дозы, назначали также препараты кальция и витамина D. Перед оперативным лечением достигали стойкого эутиреоза при помощи терапии тирозолом или мерказолилом в течение 1-2 месяца.

Пациентам было рекомендовано хирургическое лечение при наличии следующих факторов:

1. Неэффективность лекарственной терапии: Если пациент не достиг стойкой ремиссии при применении лекарственного лечения, то хирургическое вмешательство может быть рекомендовано в качестве альтернативного метода лечения.
2. Серьезные побочные эффекты тирозола или мерказолила: Если пациент испытывает серьезные побочные эффекты от применения препаратов, таких как тирозол или мерказолил, то операция может быть рекомендована для устранения проблемы.

3. Большой зоб с весом щитовидной железы более 80 грамм: Если размер зоба значительно превышает норму и вес щитовидной железы составляет более 80 грамм, то хирургическое удаление может быть рекомендовано для устранения увеличенной щитовидной железы.
4. Тяжелая эндокринная офтальмопатия: Если пациент страдает от серьезной формы эндокринной офтальмопатии, связанной с ДТЗ, и консервативное лечение не принесло должного облегчения, то операция может быть рекомендована для улучшения состояния глаз и снижения симптомов.
5. Отказ от радиойодтерапии при неэффективности лекарственной терапии: Если лекарственное лечение не оказало достаточного эффекта и пациент отказывается от радиойодтерапии, то хирургическое лечение может быть рекомендовано как альтернативный вариант.

§ 2.2. Методы исследования

§ 2.2.1. Оценка массы тела больных.

Индекс массы тела (ИМТ) был определен у 97 пациентов с диагнозом ДТЗ. Рост и вес пациента измерялись за день до операции и после удаления щитовидной железы.

Высчитывался индекс массы тела по формуле:

$$\text{ИМТ} = \text{M}/\text{P}^2,$$

где М – масса тела человека (в килограммах), Р – рост человека (в метрах).

Для классификации массы тела была использована следующая классификация индекса массы тела:

Идекс массы тела (ИМТ)	Значение
ИМТ <18.5:	Ниже нормального веса

ИМТ > = 18.5 и < 25:	Нормальный вес
ИМТ > = 25 и < 30:	Избыточный вес
ИМТ > = 30 и < 35:	Ожирение I степени
ИМТ > = 35 и < 40:	Ожирение II степени
ИМТ > = 40:	Ожирение III степени

§ 2.2.2. Исследование функциональной активности ЩЖ и иммунологических маркеров.

В данном исследовании мы изучили уровни тиреостимулирующего гормона (TSH), свободного трийодтиронина (Т3), свободного тироксина (Т4), антител к рецептору TSH (TTG), а также антител к тиреопероксидазе (ТРО) у 97 пациентов до и после хирургического лечения. Также всем пациентам выполнялся забор крови для определения уровня общего кальция, оценки функции паращитовидных желез - паратиреоидного гормона. Анализы проводились как в стационарных, так и в амбулаторных условиях в Самаркандском отделении Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эндокринологии. Для измерения уровня гормонов и антител использовался иммунохемилюминесцентный анализатор Snibe MAGLUMI 800. В анализаторе использовались российские реагенты для TSH, FT3, FT4, Anti-Tg и Anti-TPO, что обеспечивало точность результатов. Анализатор программировался автоматически после введения реагентов, калибраторов и контрольных образцов.

Референтными значениями приняты показатели:

Вид анализ	Единица измерения	Нормальные показатели
ТТГ –	мМЕ/мл	0,3-4,5
Свободный Т4	пг/мл	8,9-17,2
Свободный Т3	пмоль/л	2,63-5,7
Антитела к рТТГ	Ед/л	0,25-1,5
Антитела к ТПО	Ед/л	0-30

Общий кальций	ммоль/л	2,15-2,55
ПТГ	пг/мл	12-88

§ 2.2.3. Инструментальные методы исследования.

Была выполнена оценка размеров щитовидной железы и ее эхографических свойств с использованием аппарата Saote MyLabSix, который оснащен линейным датчиком с частотой 8-10 мегагерц (МГц). Этот аппарат обеспечивает высококачественное ультразвуковое изображение и позволяет получить детальные данные о щитовидной железе. Линейный датчик с частотой 8-10 МГц обеспечивает достаточную проникающую способность и высокое разрешение, что позволяет более точно оценить размеры и структуру железы. На основании данных, полученных при ультразвуковом исследовании, был определен объем щитовидной железы, а также кровотоков и наличие узловых образований. В соответствии с рекомендациями, разработанными ВОЗ в 1994 году, метод определения общего объема щитовидной железы заключался в умножении длины, толщины и ширины каждой доли на коэффициент 0,479. Для женщин нормальным считается объем щитовидной железы до 18 см³, а для мужчин - до 25 см³.

После процедуры операционная ткань подвергалась стандартному гистологическому исследованию, которое проводится в плановом порядке в лаборатории патологоанатомического отделения многопрофильной клиники Самарского государственного медицинского университета (СамГМУ).

§ 2.2.4. Молекулярно-генетические методы исследования.

Получение биообразцов

После подготовки участка взятие крови осуществляли из срединной лобковой вены с помощью стерильной иглы, соединенная с трубкой для забора крови в горизонтальном положении больного в утренние часы, натощак. Каждый биоматериал был маркирован с указанием идентификационных данных пациента. Пробирки (BD Vacutainer, Plymouth, UK) с биоматериалами были осторожно перевернуты, чтобы обеспечить

надлежащее смешивание крови с антикоагулянтом (трехзамещенный цитрат натрия). Далее образец центрифугировали в течение 15 минут с минутным оборотом вращения 3000-4000 при температуре 4°C и полученную плазму замораживали при температуре -20°C для хранения.

Определение полиморфизма исследуемых генов

Выделение ДНК

Для выделения ДНК использовали от трех до пяти миллилитров крови из локтевой вены (образцы крови собирали с помощью вакутайнеров Бектона-Дикинсона) с 15% трикалия ЭДТА (этилендианин-тетрауксусная кислота), антикоагулянта и консерванта. Для крови, которая должна была подвергнуться дополнительной обработке, допускалось хранение до 24 часов при температуре +4°C.

Клетки крови лизировали в два этапа с целью извлечения геномной ДНК. В течение пятнадцати-двадцати минут при скорости тысяча пятьсот оборотов в минуту цельную кровь дважды центрифугировали в буфере RCLB (Redcellsisbuffer) для лизиса эритроцитов. При использовании RCLB вызывается осмотический стресс в эритроцитах, что приводит к их увеличению и последующему разрушению.

После того как весь супернатант был удален из пробирки, поврежденные эритроциты осторожно сливали из супернатанта вместе с остальным содержимым пробирки. Объем лейкоцитарной смеси диктовал количество WCLB (Whitecellsisbuffer), также известный как буфер для лизиса лейкоцитов), необходимое для лизиса лейкоцитарного сгустка на дне. WCLB может действовать как консервант для лизатов лейкоцитов, даже если они хранятся при комнатной температуре. Возможно, что лизаты можно хранить неограниченное время, если сделать их инертными.

Согласно S. Miller et al. (1988), метод дальнейшей очистки лизатов лейкоцитов основан на методе спирто-солевой обработки. Вариация этого процесса была представлена лабораторией Стэнфордского университета.

После добавления 400 л лизата лейкоцитов и 150 л 5М NaCl смесь перемешивали на шейкере и охлаждали в морозильной камере в течение 10-20 минут, после чего центрифугировали при 1200 оборотах в минуту в течение 15 минут. После переноса супернатанта в новую пробирку марки Eppendorf в нее наливают стопроцентный ледяной этанол.

Далее производится центрифугирование смеси при скорости 1200 оборотов в минуту в течение 15 минут. В результате этого процесса надосадочная жидкость удаляется, а на дне пробирки остается белое пятно. Затем это пятно промывается в 80% этаноле при скорости центрифугирования 1200 оборотов в минуту в течение 10 минут. Этот процесс повторяется до тех пор, пока в смеси не образуется четвертичная структура молекул ДНК. После удаления надосадочной жидкости, остатки спирта аккуратно удаляются, а пробирка оставляется открытой, чтобы весь спирт испарился. Для этого пробирку можно оставить на комнатной температуре в течение 12 часов или поместить в духовку при температуре 40-45 °C на 2 часа. После того, как спирт полностью испарится, в пробирку с высушенной ДНК добавляется раствор ТЭ (трис-этилендиаминтетрауксусная кислота), предварительно разбавленный водой в соотношении 1:3 (ТЭ к воде). Эта смесь хранится при температуре -20 °C.

Таким образом, описанный процесс позволяет получить и сохранить ДНК для дальнейшего использования в лабораторных исследованиях.

Методы идентификации аллельных вариаций полиморфных локусов генов пациентов

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась с использованием термоциклера, известного как Rotor-Gene-2000, производства компании Corbett Research. Для реакции ПЦР были выбраны специфические праймеры и объединены с ПЦР-смесью, поставляемой НПО "Литех". Эта ПЦР-смесь содержала такие необходимые компоненты, как 2 мМ MgCl₂, ДНК-полимераза Taq и краситель Cresol Red, который помогает визуализировать реакцию. Для анализа продуктов ПЦР был проведен электрофорез с

использованием 2% агарозного геля, содержащего бромистый этидий. Гель подвергался воздействию электрического поля при 150 В и 290 мА для разделения фрагментов ДНК по размеру. Для точного определения размера фрагментов ДНК в качестве эталонного маркера использовали стандарт длины фрагментов ДНК компании Life Technologies.

Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) включает несколько этапов для амплификации определенных участков генов и выявления полиморфизмов. Для выявления исследуемых полиморфизмов проводилась амплификация определенных участков соответствующих генов. Это начинается с разработки специфических праймеров, которые нацелены на интересующие регионы в генах цитокинов. Эти праймеры предназначены для связывания с комплементарными последовательностями, фланкирующими полиморфные регионы. Затем из интересующих биологических образцов выделили геномную ДНК, содержащую гены-мишени. На этапе ПЦР-амплификации была изготовлена реакционная смесь, включающая выделенный шаблон ДНК, прямой и обратный праймеры, дезоксинуклеотидтрифосфаты (dNTPs), ДНК-полимеразу и буферные компоненты. Затем реакционную смесь был подвергнут серии температурных циклов в термоциклере. Температурные циклы включают денатурацию, при которой реакционная смесь нагревается до высокой температуры для денатурации двухцепочечной ДНК, разделяя ее на отдельные нити. Затем следует отжиг, при котором температура снижается, чтобы праймеры связались (отжгли) с комплементарными последовательностями в ДНК-шаблоне. Затем следует этап удлинения, при котором температура повышается до оптимальной для ДНК-полимеразы, чтобы синтезировать новые нити ДНК, удлиняясь от праймеров, что приводит к амплификации целевых последовательностей ДНК. Эти этапы денатурации, отжига и удлинения повторяются в течение нескольких циклов для экспоненциальной амплификации целевых последовательностей ДНК. После ПЦР-амплификации

полученные продукты были анализированы с помощью гель-электрофореза. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли по размеру, пропуская их через агарозный гель под воздействием электрического поля. Меньшие фрагменты мигрируют быстрее, чем большие. Для определения полиморфных аллелей проводился RFLP-анализ. Этот метод включает переваривание продуктов ПЦР специфическими ферментами рестрикции, которые распознают и расщепляют определенные последовательности ДНК, связанные с полиморфизмом. Разделенные фрагменты ДНК визуализируются с помощью окрашивания бромистым этидием или флуоресцентными красителями. Рисунок полос ДНК на геле анализируется для определения наличия или отсутствия конкретных полиморфных аллелей на основе размеров их фрагментов.

Определение полиморфизма G-197A гена IL-17A

Для определения наличия полиморфизма G-197A в гене IL-17A был применен анализ ПЦР-ПДРФ. Процедура началась с горячего старта, при котором первая денатурация проводилась при температуре 94 °C в течение двух минут. Затем была проведена амплификация, состоящая из 32 циклов, каждый из которых включал следующие этапы: денатурацию при 94 °C в течение 30 секунд, отжиг праймера при 55 °C в течение одной минуты и элонгацию при 74 °C в течение одной минуты. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась в смеси объемом 25 миллилитров, которая содержала 10 пмоль каждого праймера, 200 М каждого dNTP, 1 миллилитр (приблизительно 50 нг) геномной ДНК и смесь для ПЦР "Интерлабсервис". Объем каждого праймера составлял 10 пмоль, а концентрация каждого dNTP - 200 М. Смесь также включала смесь для ПЦР "Интерлабсервис". Затем 8,5 микролитров продукта ПЦР, содержащего 306 пар оснований, смешивали с 0,5 микролитрами рестриктазы Ava-I, содержащей три единицы, и 1 микролитром 10-кратного буфера для рестрикции при температуре 37°C. Смесь тщательно перемешивали. Для визуализации продуктов рестрикции проводили электрофорез на агарозном геле, содержащем 1 г/мл бромистого

этидия. Гель помещали в микроцентрифугу. Содержание агарозы в геле составляло 2% от его общего объема. G-аллель гена IL-17A включал сайт рестрикции, который можно было распознать по наличию двух фрагментов разного размера (190 и 116 пар оснований), а A-аллель не имел сайта рестрикции и имел фрагмент длиной 306 пар оснований. Оба этих фрагмента можно было идентифицировать по наличию сайта рестрикции.

Таким образом, анализ ПЦР-ПДФ позволил определить наличие полиморфизма G-197A в гене IL-17A путем идентификации соответствующих фрагментов ДНК после рестрикции.

Определение полиморфизма A6986G (rs776746) гена CYP3A5

Для обнаружения полиморфизма A6986G (rs776746) в гене CYP3A5 была проведена анализ методом ПЦР-РФЛП (полимеразная цепная реакция с последующим ограничением фрагментов длиной полимеразной цепи). В ходе этого исследования было выполнено 35 циклов амплификации, включающих денатурацию (при 94°C в течение 10 секунд), отжиг праймера (при 55°C в течение 35 секунд) и элонгацию (при 72°C в течение 60 секунд). Процесс начался с горячего старта и первой денатурации (при 94°C в течение 10 минут). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 8 пмоль каждого праймера, 200 М каждого дезоксирибонуклеотида (dNTP), 1 мкл (приблизительно 50 нг) геномной ДНК и смесь "Интерлабсервис" для ПЦР. Объем каждого праймера составлял 8 пмоль, а концентрация каждого dNTP составляла 200 М. Смесь нагревали до 95°C для активации полимеразы. Затем 8,5 микролитров продукта ПЦР, содержащего 198 пар оснований, инкубировали при 37°C в течение одного часа с 0,5 микролитрами рестриктазы SfaNI (3 единицы) и 1 микролитром 10-кратного буфера для рестрикции. Эта процедура проводилась в 10-кратной концентрации. Для визуализации результатов рестрикционного переваривания, продукты реакции подвергали электрофорезу на геле из 2% агарозы, содержащей 1 г/мл бромистого этидия. Гель помещали в микроцентрифугу. При наличии аллеля A образовывались

два фрагмента: один размером 58 пар оснований, а другой - 140 пар оснований. Общий размер фрагмента составлял 198 пар оснований. В случае присутствия аллеля G сайт рестрикции не обнаруживался.

§ 2.2.5 Статистическая обработка данных

Углубленные иммунологические исследования проводились в контингенте больных ДТЗ и здоровых лиц, у которых в ходе исследований изучены IL-6 и IL-17A. Для молекулярно-генетического исследования в работе использованы образцы ДНК больных ДТЗ узбекской национальности. Для формирования контрольной группы были выбраны практически здоровые люди, не имеющие клинических проявлений аллергических, аутоиммунных и инфекционно-воспалительных заболеваний. Эти люди были подобраны по полу и возрасту таким образом, чтобы быть сопоставимыми с пациентами и не иметь отягощенной наследственности по иммуновоспалительным заболеваниям.

Для статистической обработки результатов использовались программные пакеты R studio (версия 3.6.2), Excel 2019, SISA, а также ряд соответствующих формул.

В медицинской статистике общепринятыми показателями являются:

1. Частота генов рассчитывалась с помощью следующей формулы:

$$GF = \frac{a}{2 \cdot n} \quad (2.1)$$

где: a – число аллелей в исследовании,

n – число лиц, в фенотипе которых присутствует вариант гена.

2. Неравновесие сцепления (LD), также известное как неслучайная ассоциация, служит фундаментальной мерой для гаплотипов. LD относится к статистической корреляции между аллелями в различных локусах в популяции. Когда между двумя локусами отсутствует LD, это говорит о том, что частоты аллелей в этих локусах не зависят друг от друга. Другими словами, появление конкретного аллеля в одном локусе не влияет на появление конкретного аллеля в другом локусе. Однако когда между локусами существует LD, частоты аллелей становятся взаимозависимыми, потенциально влияя на наличие или отсутствие определенных аллелей в

других локусах. LD можно количественно оценить с помощью статистического параметра D, который отражает силу и направление ассоциации между аллелями. Значение D, близкое к нулю или равное нулю, указывает на отсутствие LD, подразумевая, что аллели сегрегируют независимо. И наоборот, положительное значение D указывает на присутствие LD, предполагая, что определенные комбинации аллелей наблюдаются вместе чаще, чем ожидается случайно. Положительный LD подразумевает неслучайную ассоциацию между аллелями в разных локусах. Интересно, что D может принимать и отрицательные значения, указывая на тенденцию к полному отсутствию определенных комбинаций аллелей между различными локусами. В таких случаях появление одного аллеля в одном локусе ассоциируется с отсутствием другого аллеля в другом локусе. Такая отрицательная LD подчеркивает явление, когда определенные комбинации аллелей недостаточно представлены или избегаются.

Понимание LD и ее величины, как положительной, так и отрицательной, имеет решающее значение для генетических исследований. Оно позволяет понять генетическую архитектуру популяций, закономерности распределения аллелей и потенциальные функциональные связи между локусами. Анализ LD помогает в выявлении генетических вариантов, связанных с заболеваниями, изучении истории популяций и эволюционных процессов.

Для проведения статистического анализа для гаплотипов таблица 2x2 содержит несколько иные данные, однако, также базирующиеся на данных типирования.

		Аллель i		Сумма в рядах
		Наличие i	Отсутствие j	
Аллель j	Наличие j	a (+/+)	b (+/-)	a + b
	Отсутствие i	c (-/+)	d (-/-)	c + d
Сумма в		a + c	b + d	N =

где, a – лица, у которых имеется гаплотип с аллелями i и j,

b – лица, у которых в гаплотипах отсутствует аллель j,

c – лица, у которых в гаплотипах присутствует только аллель j,

d – лица, у которых отсутствует гаплотип, состоящий из аллелей i и j,

N – Общее количество обследованных в обеих группах.

Значение D_{ij} рассчитывается по формуле, предложенной J.G.Vodmer и W.F.Vodmer (1970) а частота гаплотипа исчисляется по формуле Матиуса [33]:

$$D_{ij} = (d/N)^{1/2} - [((b+d)/N) \cdot ((c+d)/N)]^{1/2}$$

$$HP_{ij} = GF_i \cdot GF_j + D_{ij}$$

Где: GF для каждого аллеля рассчитывается по выше представленной формуле.

3. Для двуаллельной системы частота встречаемости гена определяется по формуле:

$$P=1-\sqrt{1-A}$$

Где: P- частота гена, A- частота соответствующего антигена (фенотип) [14].

Достоверность (p) сравниваемых величин. Определяется по таблице факториалов с использованием критерия χ^2 , вычисляемого по формуле Holdene [14]:

$$W=\frac{y}{v}, V=\frac{1}{a}+\frac{1}{b}+\frac{1}{c}+\frac{1}{d} \text{ и } y=\ln RR$$

Если хотя бы одна из величин a, b, c, d равна 1, то достоверность различий в частоте встречаемости генов и гаплотипов рассчитывается с помощью χ^2 с поправкой на Йейтса на непрерывность выборки:

$$\chi^2 = \frac{(axb + bxc)^2 \cdot xN}{(a+b)x(c+d)x(a+c)x(b+d)}$$

Значение хи-квадрат (χ^2), превышающее 3,841 (что соответствует уровню значимости $p < 0,05$), считается показателем статистически значимой разницы между частотными характеристиками в сравниваемых группах.

Отношение шансов (ОШ) представляет собой меру, которая определяет соотношение вероятности наступления события к вероятности его ненаступления. В данном исследовании ОШ было рассчитано для каждой группы пациентов, сравнивая вероятность наличия исследуемого признака с вероятностью его отсутствия. Для получения точечных оценок ОШ и построения доверительных интервалов (ДИ) с 95% уровнем достоверности использовалась модель бинарной логистической регрессии. Для оценки достоверности моделей применялся метод максимального правдоподобия. Если 95% доверительный интервал для ОШ не включает значение единицы, то статистическая значимость отношения шансов, вычисленного для отдельных групп с патологией, считается подтвержденной. Таким образом, для определения статистически значимых различий достаточно рассматривать ОШ и его 95% доверительный интервал. Статистический анализ данных проводился с использованием Microsoft Excel 2019 для частичных вычислений и статистического программного обеспечения R studio 3.6.2.

§ 2.2.6 Методы статистической обработки

Данные были подвергнуты статистическому анализу с использованием современных вычислительных инструментов и пакетов программного обеспечения. Статистический анализ проводился с использованием широко распространенного статистического программного обеспечения R 3.6.2. Программные пакеты: Epidisplay, dplyr, ggplot2 предоставляли множество встроенных статистических функций и библиотек, обеспечивая эффективную и точную обработку данных.

Для изучения вариаций данных применялись параметрические и непараметрические статистические методы. Описательная статистика, включая расчет среднего арифметического (M), стандартного отклонения (σ) и стандартной ошибки среднего (m), использовалась для обобщения центральной тенденции и изменчивости изучаемого параметра. Относительные величины, такие как частоты и проценты, также были рассчитаны для оценки закономерностей распределения данных.

Для определения статистической значимости результатов использовались современные статистические тесты. Параметрические тесты, такие как t-тест Стьюдента, использовались для сравнения средних значений и оценки значимости наблюдаемых различий между группами или условиями. р-значение, представляющее вероятность ошибки, вычислялось для количественной оценки статистической значимости наблюдаемых изменений. Тесты на нормальность распределения, такие как тесты Шапиро-Уилка или Колмогорова-Смирнова, проводились для оценки соответствия данных предположениям параметрических тестов. Равенство вариаций оценивалось с помощью таких тестов, как тест Левена или тест Бартлетта.

Для непараметрических данных или при нарушении допущений параметрических тестов использовались современные непараметрические тесты. U-тест Манна-Уитни (тест ранговой суммы Вилкоксона) использовался для сравнения медианы групп, а тест Крускала-Уоллиса оценивал различия между несколькими группами. Эти тесты обеспечивали надежные альтернативы для анализа данных, которые не соответствовали предположениям параметрических тестов.

Статистическая значимость определялась с помощью заранее определенного уровня значимости (α), обычно равного 0,05. Результаты с р-значениями ниже этого порога считались статистически значимыми, что указывало на то, что наблюдаемые различия вряд ли возникли случайно.

В целом, статистический анализ включал в себя современные вычислительные инструменты и передовые статистические методы для

обеспечения точного и тщательного анализа данных. Используя комбинацию параметрических и непараметрических тестов, исследование стремилось предоставить надежные статистические доказательства в поддержку наблюдаемых результатов.

ГЛАВА III. КЛИНИЧЕСКИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИФФУЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА

§ 3.1. Клинико-инструментальная и лабораторная характеристика обследованных пациентов с ДТЗ

В данной главе мы исследовали клинические и лабораторные показатели, исходный объемные показатели щитовидной железы полученные при инструментальных исследованиях, распространенность наследственного характера заболевания на основе анамнестических данных пациентов, а также при клинических обследованиях наличие: офтальмопатии, узловых образований у 97 пациентов на момент диагностики диффузного токсического зоба и хирургического лечения. Данное исследование было проведено на пациентах, которые имели диффузный токсический зоб и перенесли хирургическое лечение.

Поэтому в группу исследования были включены пациенты, которым ранее была проведена тиреоидэктомия. При принятии решения предпочтение отдавалось тиреоидэктомии, поскольку она исключает возможность возврата заболевания. Клинические и лабораторные показатели пациентов включены в таблицу 3.1.1.

Таблица 3.1.1.

Клинические, инструментальные и биохимические показатели пациентов с ДТЗ до начала тиреостатической терапии

Показатель	Пациенты с ДТЗ до начала тиреостатической терапии
Визуально-пальпаторная оценка размеров щитовидной железы	
степень 0, %	0
степень 1, %	1,03
степень 2, %	98,97
ИМТ	
дефицит веса	37
нормальный вес	23
избыточный вес	26

ожирение	11
ТТГ мМЕ/мл	0,06±0,02
Свободный Т4 пг/мл	38,9±1,44
Свободный Т3 пмоль/л	9,5±0,07
Антитела к рТТГ мЕд/мл	48,2±1,07
Антитела к ТПОЕд/л	361,3±4,87
Общий кальций ммоль/л	2,15±0,34
ПТГ пг/мл	55,3±2,54
Исходный средний объем щитовидной железы, кг/см ³	73,4±1,32
Офтальмопатия, %	25,77
Сердечно-сосудистые нарушения, %	100
Неврологические симптомы, % (мелкий тремор пальцев рук, языка и век)	100

Так, на момент постановки диагноза диффузного токсического зоба размеры щитовидной железы по классификации ВОЗ от 2012 года степень 0 отмечена у 0. больных (0%), степень 1 – у 1 пациента (1.03 %), а у 96 больных (98,97 %) выявлена степень 2.

При исследовании ИМТ у пациентов ДТЗ до назначения тиреостатиков выявлено: у 37 – дефицит веса, у 23 – нормальный вес, у 26 – избыточный вес и у 11 различные степени ожирения. Средняя масса тела среди мужчин – 68 кг, а у женщин – 60.2 кг.

До оперативного вмешательства нами изучены все клинически важные факторы такие как наличие офтальмопатии при объективном обследовании, антитела к рТТГ и уровень тиреоидных гормонов при лабораторных исследованиях. Так, уровень свободного Т3 составил в среднем 9,5±0,07 пмоль/л, уровень свободного Т4 38,9±1,44 пг/мл, что говорит о выраженном нарушении энергетического (главным образом поглощения кислорода тканями) и пластического обмена в организме.

До назначения тиреостатических препаратов уровень антител к рТТГ составил в среднем $48,2 \pm 1,07$ мЕд/мл.

Среднее значение уровня ТТГ на момент до начала тиреостатической терапии составило $0.069 \pm 0,02$ мМЕ/мл.

Диффузный токсический зоб сопровождается многообразными клиническими проявлениями: офтальмологические, кардиологические и неврологические. Так, офтальмопатия зарегистрирована у 25 больных (25,77%), тахикардия, высокий и частый пульс, повышение АД у 57 пациентов (58,7%), мелкий тремор пальцев рук, языка и век у 97 пациентов (100%) с ДТЗ.

До начала терапии средний объем щитовидной железы составил $73.4 \pm 1,32$ кг/см³.

Мы повторили все клинические и лабораторные исследования показатели после приема тиреостатических препаратов и перед хирургическим вмешательством (таблица 3.1.2).

Таблица 3.1.2.

Клинические, инструментальные и биохимические показатели пациентов с ДТЗ до оперативного вмешательства

Показатель	Пациенты с ДТЗ до оперативного вмешательства
Визуально-пальпаторная оценка размеров щитовидной железы	
степень 0 %	1,03
степень 1 %	3,09
степень 2 %	95,8
ИМТ	
дефицит веса	4
нормальный вес	42
избыточный вес	32
ожирение	19
ТТГ мМЕ/мл	$7,1 \pm 0,21$
Свободный Т4 пг/мл	$13,3 \pm 0,78$
Свободный Т3 пмоль/л	$2,5 \pm 0,24$

Антитела к рТТГ мЕд/мл	9,8±0,14
Антитела к ТПО Ед/л	35,2±1,67
Общий кальций ммоль/л	2,20±0,08
ПТГ пг/мл	56,2±1,36
Исходный средний объем щитовидной железы, кг/см ³	63,95±2,54
Офтальмопатия, %	25,77
Сердечно-сосудистые нарушения, %	7.2
Неврологические симптомы % (мелкий тремор пальцев рук, языка и век)	3,09

Так на момент постановки диагноза диффузного токсического зоба зарегистрирована чрезмерная продукция тиреоидных гормонов на фоне увеличенной щитовидной железы.

Оценивая размеры щитовидной железы по классификации ВОЗ от 2012 года до операции, установили, что степень 0 отмечена у 1 больных (1,03%), степень 1 – у 3 пациентов (3,09%), а у 93 больных (95,8%) выявлена степень 2.

За сутки до операции у пациентов измеряли рост и вес. При исследовании ИМТ у пациентов ДТЗ после проведения тиреостатической терапии выявлено: у 4 – дефицит веса, у 42 – нормальный вес, у 32 – избыточный вес и у 19 различные степени ожирения. До получения хирургического лечения средняя масса тела мужчин составляла 72,1±2,41 кг, а средняя масса тела женщин - 66,2±4,45 кг. Динамика после проведения тиреостатической терапии статистически значима.

Перед началом хирургического вмешательства мы провели исследование потенциально опасных для жизни аспектов прогрессирования заболевания, включая наличие офтальмопатии, антител к рТТГ и уровень гормонов щитовидной железы, а именно свободного Т₃. Так, уровень свободного Т₃ составил в среднем 2,5±0,24пмоль/л, уровень свободного Т₄

13,3±0,78пг/мл, что говорит о вызванном состоянии гипотиреоза и эутиреоза соответственно.

В предоперационном периоде уровень антител к рТТГ составил в среднем 9,8±0,14мЕд/мл.

Среднее значение уровня ТТГ после тиреостатической терапии составило 7,1±0,21мМЕ/мл.

Офтальмопатия зарегистрирована у 19 больных (19,5%), тахикардия, высокий и частый пульс, повышение АД у 7 пациентов (7,2%), мелкий тремор пальцев рук, языка и век у 3 пациентов (3,09 %) с ДТЗ.

Средний объем щитовидной железы за сутки до операции составил 63,95±2,54 кг/см³.

Таким образом, диффузный токсический зоб в обследованной когорте характеризовался клиническими симптомами и типичными лабораторными изменениями: увеличением размеров щитовидной железы (100%), дефицитом веса (38,1%), офтальмопатией (25,7%), сердечно-сосудистыми нарушениями (100%), неврологическими симптомами (100%), снижением ТТГ в сочетании с повышенным уровнем тироксина и трийодтиронина.

§ 3.2. Показатели цитокинового статуса практически здоровых и пациентов с диффузным токсическим зобом

Диффузный токсический зоб (Болезнь Грейвса), является распространенной формой аутоиммунной патологии щитовидной железы [10, 73, 6] ДТЗ можно определить по наличию признаков тиреотоксикоза, а также показателей в крови, указывающих на существование аутоиммунного процесса. Нарушения в контроле иммунного ответа и дисбаланс в активации различных субпопуляций Т-хелперов которые как полагают, играют важную роль в патогенезе аутоиммунного тиреотоксикоза [4, 65]. Интерлейкины, хемокины и факторы роста являются одними из медиаторов иммунного ответа, которые были связаны с прогрессированием заболевания [23, 80].

Цитокины представляют собой небольшие молекулы, синтезируемые многими различными типами клеток и играющие важную роль в поддержании гомеостаза [98, 75]. Некоторые из них экспрессируются в виде связанных с мембраной белков, в то время как другие высвобождаются в виде растворимых молекул, нацеленных на высокоаффинные рецепторы на поверхности соседних клеток. Они функционируют как сложные сети, и поэтому совокупный вклад многих различных молекулярных медиаторов представляет собой основу для модели тканевой реактивности, обнаруживаемой при различной патологии. Профиль цитокинов, по-видимому, определяет характер органоспецифических иммунных ответов. Их центральная роль в воспалении предполагает, что они, их рецепторы и сигнальные пути, которые они используют, являются потенциально привлекательными терапевтическими мишенями для аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Цитокины могут модулировать рост и функцию эпителиальных клеток щитовидной железы [153, 189].

Не смотря на множество проведенных работ и исследований по изучению цитокинового статуса при ДТЗ, вопрос механизма влияния и продукции цитокинов при данном заболевании остается не раскрытым. Исходя из вышеизложенного, нами был изучен синтез ИЛ-6 и ИЛ-17А у 97 пациентов с диффузно токсическим зобом (89 женщин и 8 мужчины) и у 66 практически здоровых лиц. Следует учесть, что в исследовании участвовали женщины и мужчины в возрасте от 15 до 67 лет ($41,1 \pm 2,64$).

Как известно, внутрищитовидные лимфоциты секретируют такие цитокины, каждый из которых имеет тенденцию поддерживать опосредованный антителами иммунный ответ. Эта цитокиновая среда может быть результатом вклада как резидентных клеток, таких как тироциты, эндотелий и фибробласты, так и клеток, рекрутированных в железу, включая Т-клетки.

Интерлейкин 6 (ИЛ-6) является мультифункциональным цитокином, регулирующим иммунный ответ, реакции острой фазы и гемопоз. Данный цитокин может играть центральную роль в защитных механизмах организма.

ИЛ-6 был вовлечен в патогенез ДТЗ. Исследования показали, что повышенные уровни ИЛ-6 присутствуют в сыворотке крови и ткани щитовидной железы у людей с болезнью Грейвса. Считается, что ИЛ-6 способствует аутоиммунному процессу, способствуя дифференцировке и активации В-клеток и выработке аутоантител, в частности, направленных на рецептор тиреостимулирующего гормона (TSHR). Кроме того, ИЛ-6 участвует в активации Т-клеток и регуляции иммунного ответа. Он стимулирует дифференцировку клеток Th17, которые вырабатывают ИЛ-17, другой цитокин, связанный с аутоиммунными заболеваниями. Дисрегуляция сигнала ИЛ-6 и дисбаланс клеток Th17 были вовлечены в патогенез болезни Грейвса, способствуя чрезмерной выработке гормонов щитовидной железы и характерным симптомам гипертиреоза.

Важно отметить, что в настоящее время считается, что ИЛ-6 вовлечен в патогенез различных заболеваний. Таким образом, определение уровней ИЛ-6 в сыворотке и других биологических жидкостях организма дает полезную информацию в различных патологических ситуациях.

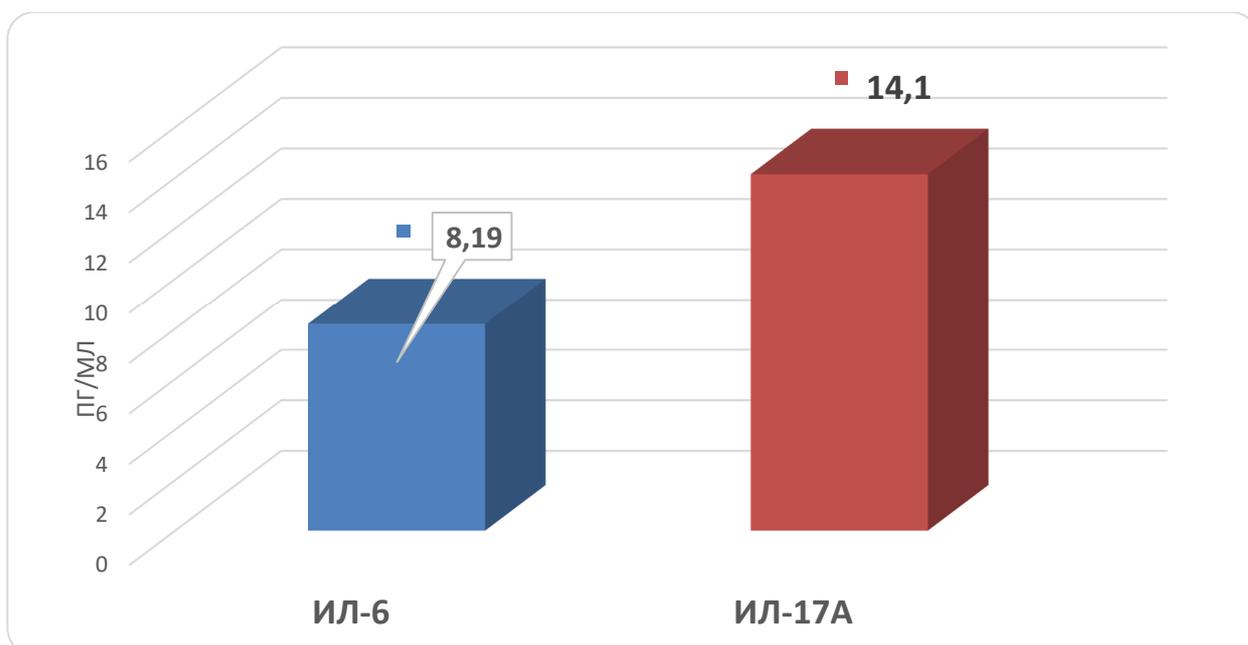


Рис. 3.2.1. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-17А в группе контроля.

Анализ полученных данных установил, что содержание ИЛ-6 в группе практически здоровых женщин и мужчин составил $8,19 \pm 1,5$ пг/мл с индивидуальным размахом от 2 до 21 пг/мл (Рис.3.2.1.). Как видно из полученных результатов, ИЛ-6 обычно не продуцируется нормальными клетками, однако его экспрессия легко индуцируется различными цитокинами. Также важно отметить, что временная продукция ИЛ-6 способствует защите организма от стрессорных факторов окружающей среды, таких как инфекции и травмы тканей. Когда источник стресса перестает действовать, продукция ИЛ-6 прекращается специализированными регуляторными системами, что приводит к нормализации сывороточных уровней белков острой фазы.

Интерлейкин-17, часто известный как ИЛ-17, является цитокином, который способствует развитию воспаления и играет важную роль во многих различных элементах иммунного ответа. Он способствует образованию хемокинов, которые, в свою очередь, стимулируют миграцию нейтрофилов в зону воспаления. Вот как это работает. Основным источником этого цитокина являются клетки Т-хелперы 17-го типа (Th17). Хотя другие типы клеток способны вырабатывать ИЛ-17, клетки Th17 являются основным источником.

Когда речь идет о защите организма от бактериальных и грибковых заболеваний, физиологическая роль ИЛ-17 абсолютно необходима. Для этого он увеличивает синтез ряда различных цитокинов и хемокинов, таких как ИЛ-8, ИЛ-6, TNF- β , ИЛ-1 и простагландин Е2 (PGE-2). Это приводит к проявлению плеiotропных эффектов. Эти медиаторы играют ключевую роль в воспалительной реакции и способствуют распространенной тканевой реакции, которую вызывает интерлейкин-17.

Синтез ИЛ-17А Т-лимфоцитами контролируется активацией Т-клеточного рецептора, для чего не требуется присутствие ИЛ-23. Предыдущие знания о биологии Т-хелперных клеток были основаны на классификации этих клеток как Th1 или Th2 клеток. С другой стороны, идентификация линии Th17 привела к изменению точки зрения. Клетки Th17 отвечают за выработку ИЛ-17, цитокина, обладающего высокой провоспалительной активностью, и его присутствие связывают с развитием тяжелых аутоиммунных заболеваний. С другой стороны, функция ИЛ-23 заключается в том, чтобы служить усилителем ответа Th17-клеток, которые уже дифференцировались. ИЛ-6 и трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) - это два фактора, которые отвечают за индуцирование дифференцировки наивных предшественников в зрелые клетки Th17. Новые данные свидетельствуют о том, что члены семейства ИЛ-17 активно участвуют в развитии воспалительных заболеваний, аутоиммунных расстройств и раковых опухолей.

Таким образом изучение значения ИЛ-17 в патогенезе ДТЗ представляется перспективным из-за провоспалительной природы ИЛ-17 как *in vitro*, так и *in vivo*, его способности индуцировать экспрессию ключевых медиаторов воспаления, таких как TNF- β , ИЛ-1 и ИЛ-6, и его вклада в аутоиммунные патологические реакции. Установление новых критериев для ранней и успешной идентификации заболевания на основе функции, которую играет ИЛ-17, может дать полезные сведения об этиологии заболевания и, возможно, привести к улучшению диагностических процедур.

§ 3.3. Сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-17А до лечения

Согласно последним исследованиям, наиболее часто ДТЗ обычно поражает людей в возрасте от 30 до 50 лет, но может возникнуть в любой возрастной группе. Распространенность ДТЗ в общей популяции достигает от 1 до 3 %, при том, что у женщин встречается в 7-10 раз чаще, чем у мужчин

(1:5 - 1:7), а заболеваемость составляет 5-6 случаев на 100 000 населения в год [5, 12].

Гендерный анализ в нашем исследовании установил, что количество женщин составило 91,8% (89), а количество мужчин – 8,2% (8). Наблюдается также заметный рост наследственной обусловленности заболевания, то есть ДТЗ - аутоиммунное заболевание, развивающееся у генетически предрасположенных лиц [22].

Доказано, что ДТЗ неразрывно связан с нарушением иммунной системы [15,170].

Согласно литературным данным, ДТЗ обычно характеризуется типом продукции цитокинов Th2. Они продуцируются в щитовидной железе внутрищитовидными воспалительными клетками, в частности лимфоцитами, а также самими фолликулярными клетками щитовидной железы (ТФС) и, таким образом, могут действовать каскадно, усиливая аутоиммунный процесс. Их участие в аутоиммунных реакциях нельзя отрицать в связи с тем, что презентация антигена и активность Т- и В-лимфоцитов неразрывно связаны с синтезом широкого спектра цитокинов, которые определенным образом влияют на окружающую среду и клетки, являющиеся фокусом иммунного ответа [6].

Аберрантная экспрессия цитокинов, по-видимому, играет важную роль в патогенезе многих заболеваний человека, включая аутоиммунитет щитовидной железы. Нарушение экспрессии цитокинов в щитовидной железе, в том числе смещение Т-хелперов, может обуславливать реакцию на апоптотические сигналы и определять характеристики аутоиммунной реакции.

Исходя из поставленной задачи, нами был изучен уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-17А в периферической крови у пациентов с ДТЗ до лечебных мероприятий. Полученные результаты приведены ниже в табл. 3.3.1.

Таблица 3.3.1.

Сывороточная концентрация изученных интерлейкинов в основной группе до начала тиреостатической терапии

Показатель	Контроль (n=66)	Основная гр., общ. (n=97)	Женщины осн. гр, (n=89)	Мужчины осн. гр., (n=8)
ИЛ-6, пг/мл	8,1±1,5	41,1±3,3*	41,8±2,2*	39,7±2,1*
ИЛ-17А, пг/мл	14,1±2,1	48,8±3,6*	50,5±2,3*	46,5±3,2*

Примечание: * – отличие от величины соответствующего показателя контрольной группы статистически значимо от $p < 0,001$ до $p < 0,05$.

Поскольку интерлейкин-6 (ИЛ-6) может оказывать свое воздействие столь разнообразными способами, он заслуживает особого внимания. Этот медиатор не только играет роль в процессе воспаления, но и участвует в регуляции эндокринной системы и метаболического процесса. В здоровом организме ИЛ-6 обычно подавляет выделение гормона щитовидной железы и одновременно увеличивает количество вырабатываемого соматотропного гормона.

Анализ содержания ИЛ-6 установил, что содержание данного цитокина в группе пациентов с ДТЗ был достоверно повышен в 5 раз, по сравнению с показателями контрольной группы. Так, сывороточная концентрация в общей группе больных до лечения составила в среднем 41,1±3,3 пг/мл, тогда как среднее значение группы практически здоровых женщин и мужчин составил 8,1±1,5 пг/мл ($p < 0,001$), в диапазоне от 11 до 78 пг/мл. Таблица 3.3.1.

Поскольку ИЛ-17А играет столь важную роль в цепи событий, приводящих к воспалению, организм придает большое значение возможности эффективно контролировать его работу. Общеизвестно, что вредные последствия воспаления могут быть ослаблены с помощью широкого спектра сигнальных путей и регуляторных механизмов. Это научно установленный факт.

Оценка содержания ИЛ-17А в группе больных с ДТЗ выявила достоверно повышенный синтез данного медиатора иммунного ответа почти

в 3,5 раза, по сравнению со значениями контрольной группы. Так, концентрация изученного цитокина в основной группе ДТЗ в среднем составила $48,8 \pm 3,6$ пг/мл против контроля $14,1 \pm 2,1$ пг/мл ($p < 0,001$), с индивидуальным размахом от 14 до 90 пг/мл. Таблица 3.3.1.

Важно отметить, что полученные нами результаты согласуются с литературными данными, которые свидетельствуют о положительной корреляции между сывороточными уровнями изученных провоспалительных цитокинов со степенью активности щитовидной железы при ДТЗ.

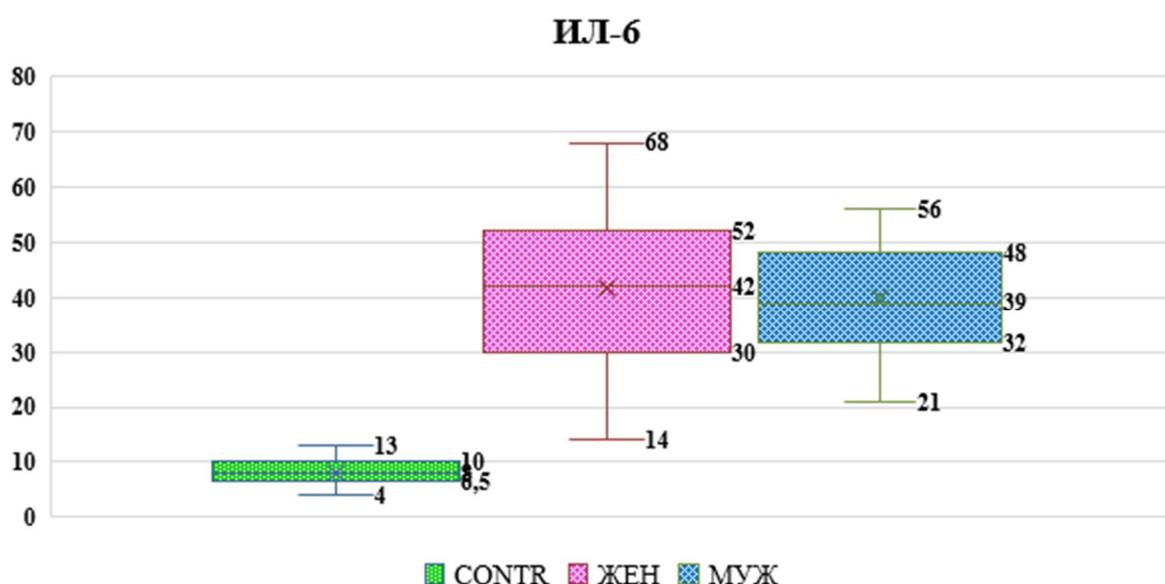


Рис.3.3.1. Содержание ИЛ-6 в подгруппах женщин и мужчин до начала тиреостатической терапии.

Также, чтобы выявить гендерную предрасположенность ДТЗ женщинами, в нашем исследовании основная группа по половому признаку была подразделена на подгруппы. Проведено изучение содержания вышеуказанных медиаторов иммунного ответа в подгруппе женщин и подгруппе мужчин основной группы.

Было установлено, что в подгруппе женщин уровень ИЛ-6 составил $41,8 \pm 2,2$ пг/мл, что в 5,1 раза выше нормативных значений контрольной

группы ($p < 0,001$), тогда как, в подгруппе мужчин концентрация в среднем составила $39,7 \pm 2,1$ пг/мл, что в 4,9 раза выше контрольных показателей ($p < 0,05$) (Рис.3.3.1.).

Изучение содержания ИЛ-17А определило, что в подгруппе женщин уровень данного цитокина составил в среднем $50,5 \pm 2,3$ пг/мл, что в 3,6 раза больше значений контрольной группы ($p > 0,001$), а в подгруппе мужчин концентрация составила в среднем $46,5 \pm 3,2$ пг/мл, что в 3,3 раза выше показателей здорового контроля ($p < 0,001$). Рис.3.3.2.

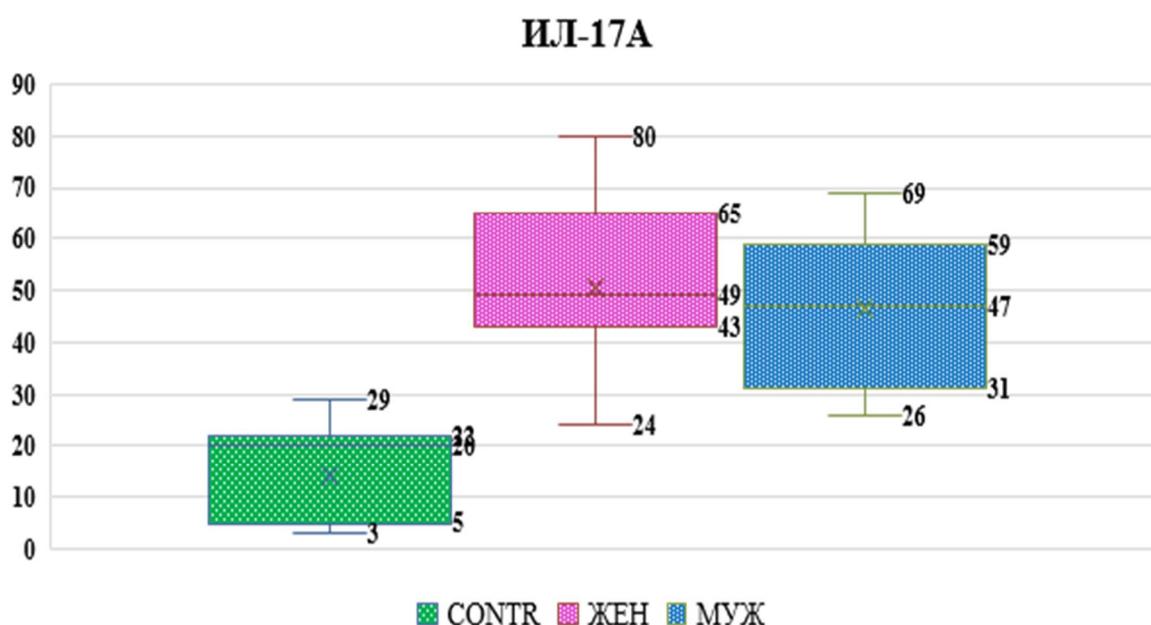


Рис.3.3.2. Содержание ИЛ-17А в подгруппах женщин и мужчин до начала тиреостатической терапии.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что повышение содержания сывороточных ИЛ-6 и ИЛ-17А подтверждает цитокиновый дисбаланс Th2, Th17, смещенных преимущественном преобладании аутоиммунной активации на системном уровне. Также было установлено, что концентрации изученных нами медиаторов иммунного ответа в подгруппах женщин и мужчин не отличаются, вероятно, что половая принадлежность определяет предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям тем, что

эстрогены стимулируют, а андрогены обеспечивают защиту от аутоиммунитета. Как известно, X-хромосома содержит более 1000 генов, тогда как Y-хромосома насчитывает около сотни, а многие из X-сцепленных генов относятся к иммунной системе. Женщины имеют двойную дозу, т.е. двойную экспрессию определенных генов, сцепленных с X-хромосомой, что имеет отношение к развитию аутоиммунитета. Влияние женских половых гормонов проявляется в том, что многие аутоиммунные заболевания у женщин начинаются вскоре после полового созревания [152].

§ 3.4. Сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-17А до оперативного вмешательства

Как известно, в настоящее время существует три основных метода лечения диффузного токсического зоба: консервативная терапия, хирургическое лечение и лечение радиоактивным йодом [2]. Консервативная терапия включает использование анти тиреоидных препаратов, таких как тионамиды (например, метимазол или пропилтиоурацил), для подавления выработки гормонов щитовидной железы. Этот метод направлен на достижение эутиреоза и контроль симптомов гипертиреоза. Однако он не считается патогенетическим, поскольку не устраняет основную причину заболевания.

Хирургическое лечение, с другой стороны, предполагает частичное или полное удаление щитовидной железы с помощью таких процедур, как тиреоидэктомия. Этот метод предлагает окончательное решение, устраняя источник чрезмерной выработки гормонов. Однако он сопряжен с риском хирургических осложнений и требует пожизненной заместительной гормональной терапии для поддержания функции щитовидной железы.

Лечение радиоактивным йодом, также известное как радиойодтерапия, включает в себя введение радиоактивной формы йода, обычно йода-131. Радиоактивный йод избирательно накапливается в щитовидной железе и разрушает гиперактивные клетки щитовидной железы, что приводит к

снижению выработки гормонов. Этот метод эффективен для достижения долгосрочного контроля над гипертиреозом, но для достижения эутиреоза может потребоваться несколько недель или месяцев. Он также несет риск преходящего ухудшения симптомов гипертиреоза и в некоторых случаях может привести к гипотиреозу, требующему пожизненной замены гормонов. Выбор метода лечения зависит от различных факторов. Внешние факторы, такие как страна проживания и уровень обеспечения йодом, могут влиять на доступность и предпочтение определенных вариантов лечения. Кроме того, предпочтения и опыт эндокринологов и хирургов играют определенную роль в выборе метода лечения. При определении наиболее подходящего подхода также учитываются специфические для пациента факторы, включая возраст, течение заболевания, объем щитовидной железы и тяжесть тиреотоксикоза [1,2].

Важно отметить, что хотя каждый метод имеет свои преимущества и ограничения, ни один из них не обладает в полной мере идеальными свойствами, позволяющими достичь быстрого эутиреоза без риска осложнений [1,2]. Поэтому решение о выборе метода лечения должно приниматься в сотрудничестве между медицинским работником и пациентом, с учетом индивидуальных обстоятельств и предпочтений, с целью достижения наилучшего возможного результата при минимизации рисков. Дальнейшие исследования и совершенствование подходов к лечению могут привести к улучшению вариантов лечения пациентов с диффузным токсическим зобом.

В нашем исследовании мы решили применить тиреостатическую терапию, которая основана на применении тиреостатических препаратов – тирозола и мерказолила.

Уровни оппозиционных цитокинов в динамике определяли через 30 дней после начала тиреостатической терапии. Полученные результаты приведенной ниже.

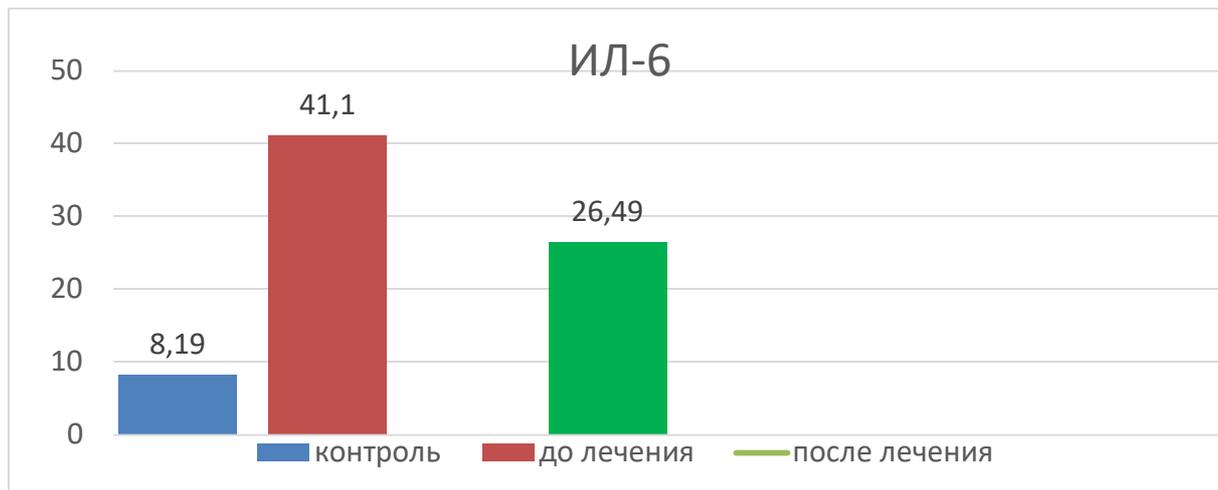


Рис.3.4.1. Концентрация ИЛ-6 через 30 дней после тиреостатической терапии при ДТЗ

Как видно, полученные результаты после тиреостатической терапии свидетельствуют об активации иммунного ответа в очаге воспаления с гиперэкспрессией цитокинов.

Анализ полученных данных содержания ИЛ-6 в сыворотке крови через 30 дней после начала лечения с тиреостатическими препаратами синтез многофункционального ИЛ-6 снизился на 51,9%, который составил $26,4 \pm 1,3$ пг/мл ($p < 0.05$). Рис.3.4.1.

На основании механизма действия ИЛ-6 он участвует до определенной степени как провоспалительный цитокин, но после тиреостатической терапии он начал проявлять противовоспалительный эффект, тем самым оказывая иммуносупрессию в очаге образованного воспаления.

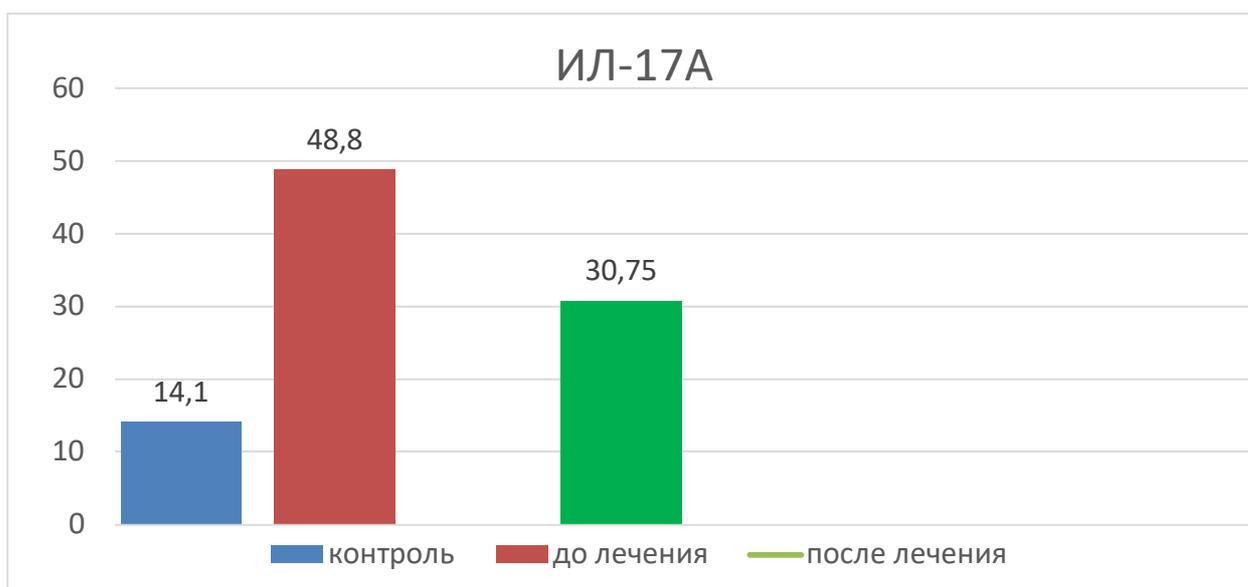


Рис.3.4.2. Концентрация ИЛ-17А через 30 дней после тиреостатической терапии при ДТЗ

Оценка результатов содержания ИЛ-17А в сыворотке крови через 30 дней после начала лечения тиреостатическими препаратами, синтез ИЛ-17А снизился на 49%, который составил $30,7 \pm 1,9$ пг/мл ($p < 0,05$). Рис.3.4.2.

ИЛ-17А повышает экспрессию многочисленных генов, связанных с воспалением, что приводит к увеличению продукции хемокинов, цитокинов и других медиаторов, которые способствуют клиническим проявлениям заболевания. Важно отметить, что ИЛ-17А следует рассматривать в контексте местной микросреды, поскольку он действует синергически или аддитивно с другими провоспалительными цитокинами, в частности такими как ИЛ-6. Снижение уровня ИЛ-17А после 30 дней с применением тиреостатического препарата вероятно прогнозирует решающее влияние на иммунную модуляцию и восстановление тканей, тем самым играя ключевую роль в индукции врожденной иммунной защиты.

Таким образом, у больных диффузным токсическим зобом выявлена несбалансированная гиперцитокинемия с увеличением таких провоспалительных цитокинов как ИЛ-6, ИЛ-17А, которые непосредственно участвуют в аутоиммунных процессах. В исследуемой когорте пациентов

частота встречаемости заболевания и выраженные нарушения регистрировались у лиц женского пола, но в содержании изученных медиаторов иммунного ответа различия не наблюдались. Выявлена прямая зависимость тяжести состояния больного ДТЗ от дисбаланса в цитокиновом статусе.

На фоне применения тиреостатической терапии, изменения в содержании сывороточных Th2 и Th17 маркерных цитокинов при ДТЗ носит динамический характер. Включение определения уровня указанных цитокинов в обследование пациентов перед оперативным лечением ДТЗ, возможно будет способствовать прогнозированию отдаленных результатов хирургического лечения пациентов с ДТЗ.

ГЛАВА IV ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ИЛ-17А И СУРЗА5 С ДИФФУЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ.

§ 4.1. Анализ взаимосвязи полиморфного маркера G-197А гена ИЛ-17А с ДТЗ

В 1993 году в ДНК Т-клеток мыши был обнаружен ген ИЛ-17. Сначала белок был назван цитотоксическим Т-лимфоцит-ассоциированным антигеном 8 (CTLA-8), поскольку его аминокислотная последовательность существенно отличалась от других цитокинов того времени, но имела высокое сходство (57%) с открытой рамкой считывания Т-лимфотропного вируса герпеса *saimiri* [151]. Благодаря идентификации белкового рецептора, в 1995 году он был классифицирован как интерлейкин [190]. Годом позже ИЛ-17 увеличивает продукцию ИЛ-6 и ИЛ-8 в синовиоцитах при ревматоидном артрите [71]. Эти исследования положили начало изучению функции ИЛ-17 при иммуновоспалительных заболеваниях. ИЛ-17 защищает от внеклеточных бактериальных и грибковых инфекций [52]. Этот белок избыточно вырабатывается при иммуновоспалительных и аутоиммунных заболеваниях, таких как псориаз, псориатический артрит, ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева-Струмелла-Мари и системная красная волчанка [32]. В настоящее время хронические воспалительные заболевания человека являются мишенью для ИЛ-17. Велся интенсивный поиск взаимодействующих с этим белком агентов, в том числе антител. В 2015 году было зарегистрировано первое антитело против ИЛ-17 для лечения псориаза. ИЛ-17А, ИЛ-17В, ИЛ-17С, ИЛ-17D, ИЛ-17Е (или ИЛ-25) и ИЛ-17F - это 20-30-кДа цитокиновые белки с различными функциями. Все белки семейства на 20-55% гомологичны ИЛ-17А (ИЛ-17F наиболее близок) и вырабатываются одними и теми же типами клеток. Четыре остатка цистеина создают внутримолекулярные дисульфидные связи в С-концевой области всех молекул. ИЛ-17А и ИЛ-17F могут образовывать гомодимеры или гетеродимеры [130,146]. ИЛ-17А более активен, чем ИЛ-17F, а гетеродимер является промежуточным. Цитокины ИЛ-

IL-17B, IL-17C и IL-17D неясны. IL-17E отвечает на аллергию и паразитарные заболевания в Th2-клетках (Т-хелперных лимфоцитах) [146].

Полиморфизмы генов IL-17A/IL-17F находятся в стадии исследования. Современная адаптированная медицина нуждается в таких исследованиях. Ведется поиск мутаций (генетических маркеров), связанных со склонностью к заболеваниям и неэффективностью антицитокиновой терапии. Гены IL-17A и IL-17F имеют около пятидесяти вариантов однонуклеотидных полиморфизмов, однако изучены только некоторые из них. Рассмотрим полиморфизмы гена IL-17A (IL-17F). Некодирующие области генов цитокинов включают большинство изменений. Минорные аллели rs2275913 (G/A) и rs3819024 (A/G) имеют варианты в 5'-транслированной области гена IL-17A и могут снижать риск развития ревматоидного артрита [107]. Нуклеотид G в положении -197 в промоторной области гена IL-17A находится рядом с мотивами, которые связываются с двумя ядерными факторами активированных Т-клеток в аллеле rs22759133. Для экспрессии гена IL-17A требуется это место, а замена G на A увеличивает выработку цитокина. При ювенильном ревматоидном артрите эта мутация гена IL-17A предсказывает потерю костной массы. Ген IL-17F rs763780, который заменяет остаток гистидина в позиции 161 на остаток аргинина, является фактором риска развития ювенильного ревматоидного артрита [3]. Это изменение предотвращает выработку IL-8 путем ингибирования MAPK-сигнализации. Гомозиготность по этому аллелю снижает риск развития астмы [97]. Данные о полиморфизме генов цитокинов противоречивы. Существуют доказательства того, что одни и те же мутации могут иметь разные последствия у разных народов. В Мексике нуклеотидная вариация в аллеле rs2275913 может повышать заболеваемость ревматоидным артритом [74], но не в Польше [133]. Нуклеотидный полиморфизм в этом месте может снижать заболеваемость ревматоидным артритом, согласно 15 исследованиям [107]. Неясно, почему существует такая противоречивая информация и какое влияние играют демографические различия или размер

выборки. В данном исследовании изучались частоты аллелей и генотипов полиморфного участка G-197A (rs2275913) гена IL-17A у пациентов с болезнью Грейвса для определения его роли в развитии заболевания.

Основную группу составили 97 больных с болезнью Грейвса. Группа обследованных состояла из лиц, наблюдавшихся на кафедре эндокринологии Самаркандского государственного медицинского университета. В исследуемую группу контроля вошли 66 донора без патологии щитовидной железы.

В данном исследовании нами изучен характер распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта G-197A (rs2275913) гена ИЛ-17A у больных с ДТЗ. Как видно из полученных нами результатов, рисковым маркером для развития ДТЗ является аллель A и гомозиготный генотип AA (12,37% и 3,03% соответственно; OR = 4,518; 95% CI: 0.977 >4.518> 20.899; $\chi^2=4.365$ (p=0.03669)).

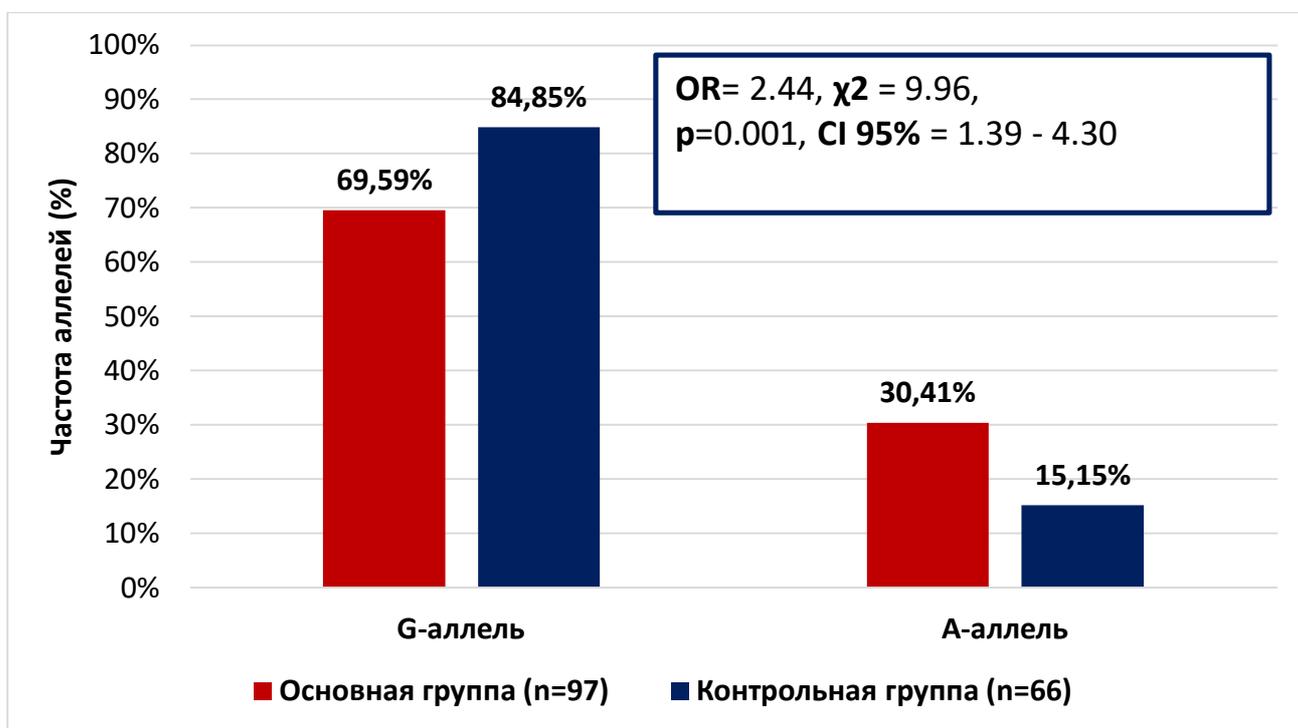


Рис. 4.1.1. Распределение частот аллелей гена ИЛ-17A G-197A у больных ДТЗ

Далее при сравнительном анализе генотипов GG, были выявлены достоверные различия между больными с ДТЗ и контрольной группой (51,55% и 72,7% соответственно; OR = 0,399; 95% CI: 0.204 >0.399> 0.781; $\chi^2=7.349$ (p=0.006709)). Анализ генотипа GA также показал различия в частоте встречаемости у пациентов с ДТЗ и контрольной группы (36,08% и 24,24%, соответственно; ОШ = 1,764; 95% ДИ: 0,87 - 3,54; $\chi^2 = 2,56$), но эти различия не соответствовали уровню значимости, необходимому для того, чтобы считаться статистически значимыми

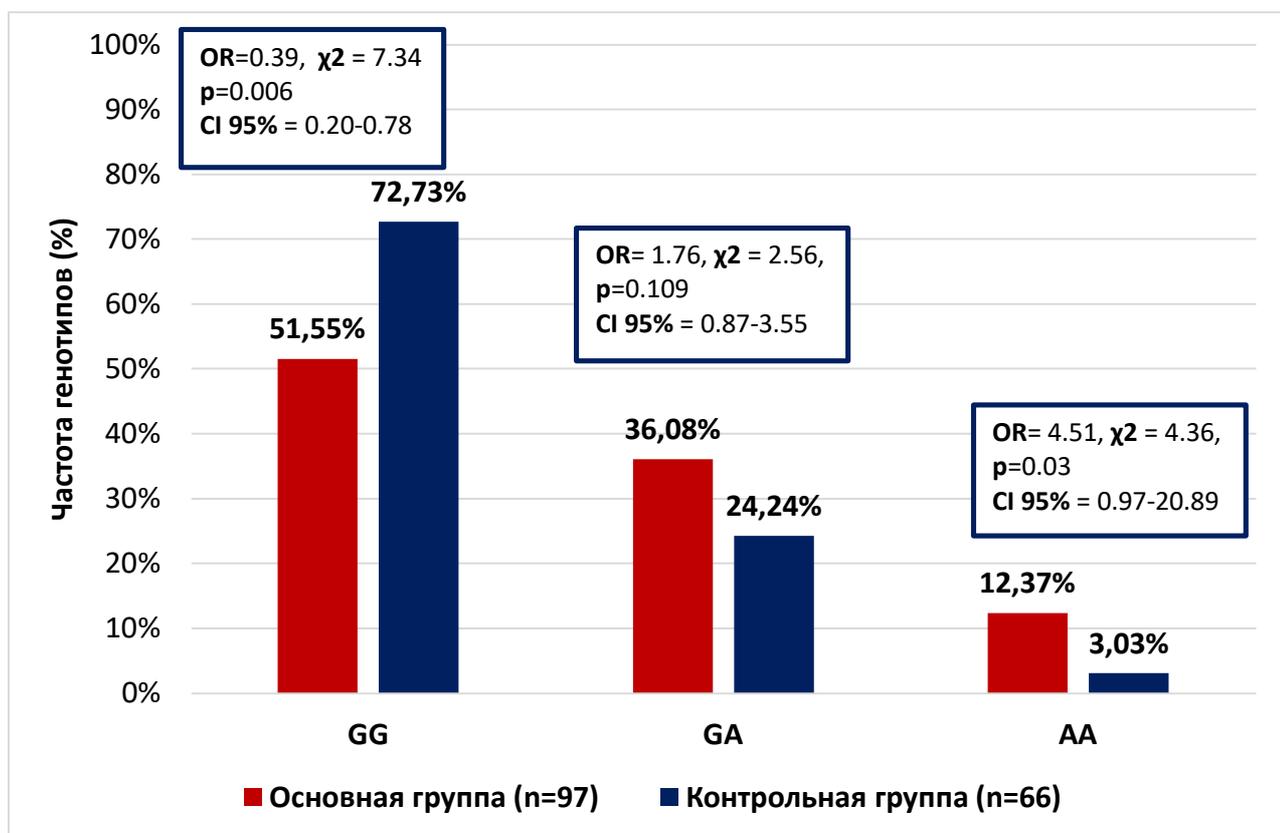


Рис.4.1.2. Распределение частот генотипов гена ИЛ-17А G-197А у больных ДТЗ

В последние годы интерлейкин-17 (IL-17) стал ключевой терапевтической мишенью для лечения широкого спектра хронических воспалительных заболеваний человека. Это связано с тем, что IL-17 способен регулировать широкий спектр иммунных реакций. Исследователи

сосредоточили свое внимание на двух членах этого семейства: IL-17A и IL-17F. Оба этих белка могут существовать либо в виде гомодимеров, либо в виде гетеродимеров IL-17A/F [130,146]. В настоящее время полиморфизмы генов IL-17A и IL-17F пользуются наибольшим вниманием со стороны научного сообщества. Эти формы исследования необходимы в свете того, что индивидуализированная терапия в наше время требует соблюдения специфических методов. Идет поиск мутаций (генетических маркеров), связанных с предрасположенностью человека к тому или иному заболеванию, исследуются и находятся вероятные причины неэффективности антицитокиновой терапии в ряде случаев. На сегодняшний день в генах IL-17A и IL-17F зарегистрировано около пятидесяти различных вариантов однонуклеотидных полиморфизмов. Несмотря на это, последствия таких изменений были изучены лишь в некоторых случаях [72].

Полученные данные в настоящем исследовании по изучению распределения частот аллельных вариантов, генотипов и ассоциации SNPs гена цитокина IL-17A (G197A, rs2275913) с диффузным токсическим зобом могут быть использованы в качестве маркерных признаков генетической характеристики данного патологического состояния.

Таким образом, достоверное повышение A197 аллели подтверждает вовлеченность системных воспалительных реакций в патогенез такого заболевания как диффузный токсический зоб.

§ 4.2. Анализ взаимосвязи полиморфного маркера A6986G (rs776746) гена CYP3A5 с ДТЗ

Как известно, исследуемый полиморфизм CYP3A5 (A6986G, rs776746) исследуется не только в области фармакогенетического тестирования, но и может отражать предрасположенность к различным заболеваниям. В связи с вышесказанным, далее нами были обследованы 97 пациентов с диагнозом ДТЗ. Генотип AA полиморфизм CYP3A5 в данной группе больных

обнаружен был в 2,06% (n = 2), GA генотип встречался у 13,4 % (n = 13), GG у 84,54% (n = 82) А аллеля - 8,76% (n = 17), G аллеля – 91,24% (n =177). Рис. 4.2.1., Рис. 4.2.2.

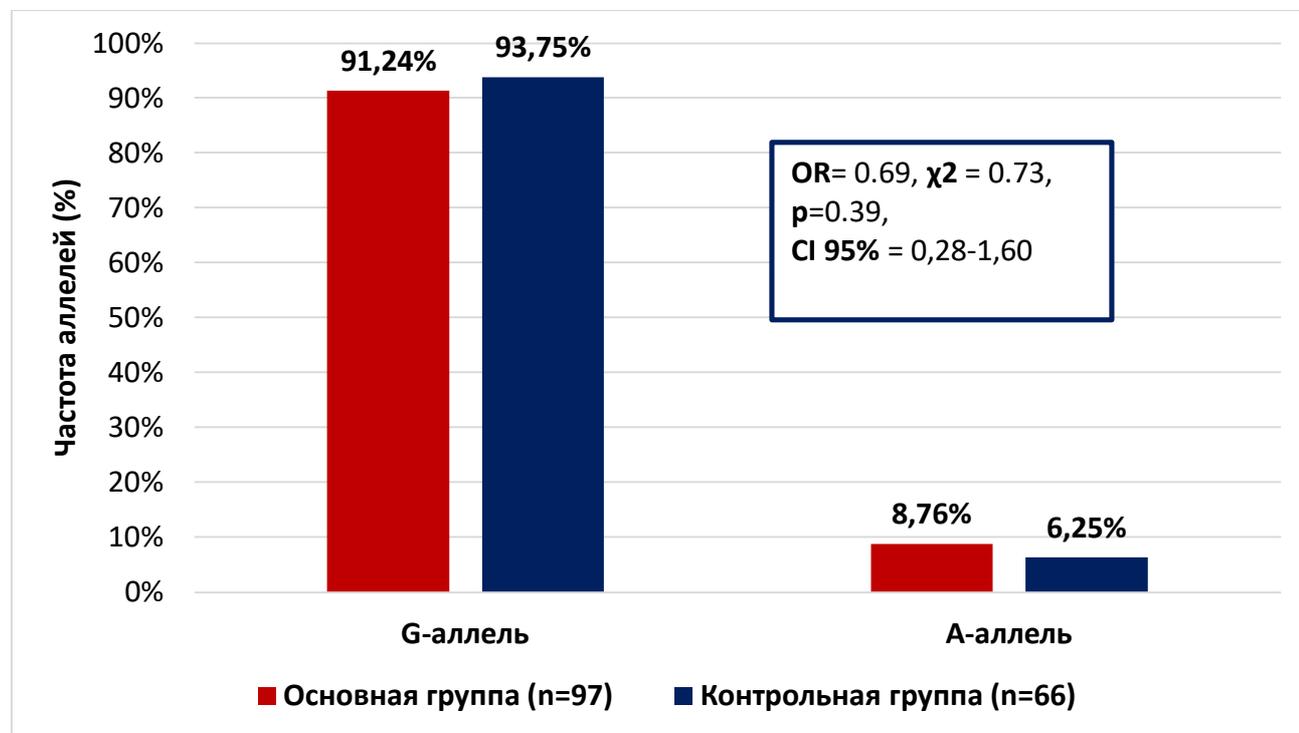


Рис. 4.2.1. Распределение частоты аллелей встречаемости однонуклеотидного варианта СYP3A5 (A6986G, rs776746) в исследуемых группах узбекской популяции

При анализе полученных результатов, было выявлено, что в данной выборке больных не было выявлено достоверных различий в частоте встречаемости аллелей и генотипов, в сравнении с практически здоровыми лицами. Так аллель А встречается с показателем $OR=1,44$, $\chi^2 =0,735$, Wald 95% CI: $0.623 >1.441 > 3.332$. В свою очередь маркер G встречался реже в группе больных, по сравнению с практически здоровыми лицами ($OR=0,694$, $\chi^2=0,735$, Wald 95% CI: $0.3 >0.694 > 1.605$), однако различия не достигали истинной значимости.

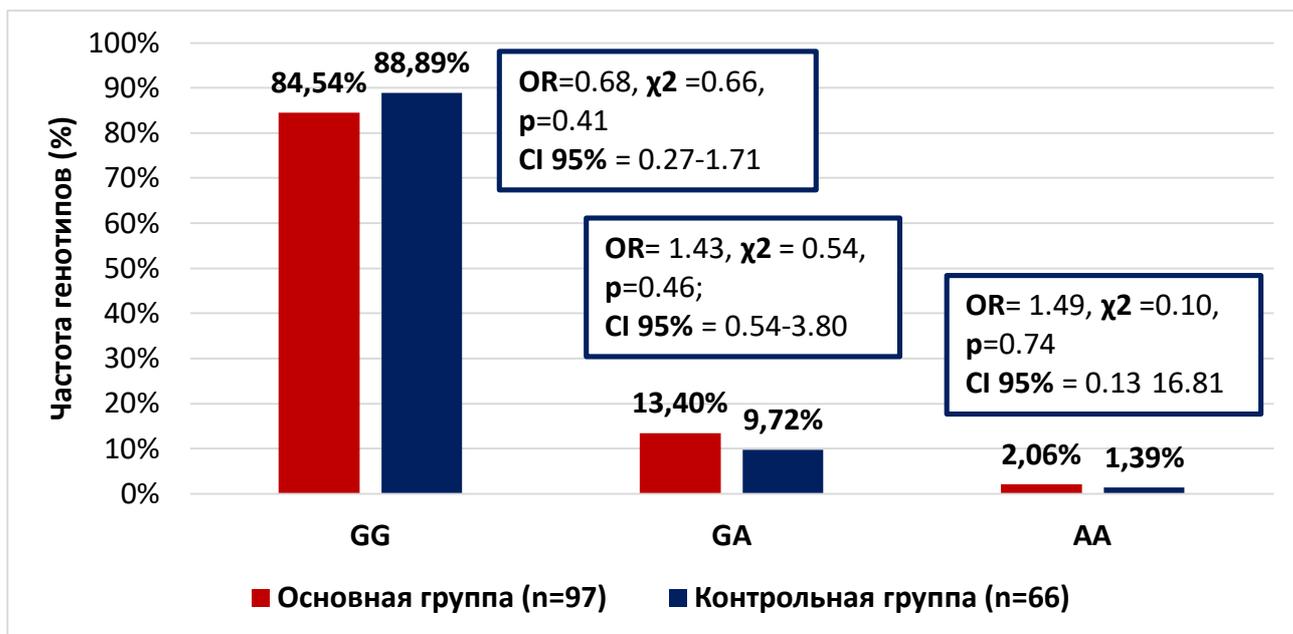


Рис. 4.2.2. Распределение частоты генотипов встречаемости CYP3A5 (A6986G, rs776746) в в исследуемых группах узбекской популяции

В этой конкретной группе исследуемых было обнаружено, что генотип GG имел распределение, очень похожее на аллельное распределение. Сравнивая с группой пациентов с ДТЗ, частота генотипа GG была выше на 1,05 раза в группе здоровых. В то же время, частота генотипа GA была ниже в группе здоровых по сравнению с группой пациентов с ДТЗ, но различие не достигло статистической значимости. Несмотря на то, что частота генотипа AA была 1,48 раза выше в группе пациентов с ДТЗ, результаты также не достигли статистической значимости, необходимой для признания их значимыми.

Целью данного этапа исследования было определить распространенность однонуклеотидного варианта CYP3A5 (A6986G, rs776746) в группе практически здоровых лиц и у пациентов с ДТЗ в узбекской популяции.

На основе полученных данных можно сделать вывод, что аллельные варианты и генотипы полиморфного маркера CYP3A5 (A6986G, rs776746) не

являются статистически значимыми индикаторами предрасположенности к развитию ДТЗ в данной группе испытуемых.

ГЛАВА V АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА ИЛ-17А В ФОРМИРОВАНИИ АДЕКВАТНОСТИ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЛЕВОТИРОКСИНОМ У ПАЦИЕНТОВ С ДТЗ

Использование фармакогенетического тестирования в клинической практике в настоящее время является одним из наиболее перспективных применений персонализированной медицины, а также одним из прикладных инструментов в этой области. Фармакогенетическое тестирование позволяет определить эффективность и безопасность терапии, подобрать наиболее эффективный препарат в качестве основного терапевтического средства, что приводит к уменьшению количества препаратов, необходимых для правильного лечения [16]. Фармакогенетическое тестирование также позволяет выбрать наиболее успешный препарат в качестве основного терапевтического средства. Тестирование, известное как фармакогенетика, выявляет вариации фармакологического ответа, которые связаны с генетическими характеристиками человека. Генетические характеристики возникают в результате нуклеотидных изменений в молекуле ДНК. Эти нуклеотидные изменения по-разному вовлечены в фармакокинетику или фармакодинамику различных лекарств. Выявление этих замен позволяет прогнозировать фармакологическую реакцию и, как следствие, адаптировать выбор препарата и его дозировку. Если частота полиморфизмов исследуемого гена превышает 20%, [7, 8] фармакогенетическое тестирование считается законным вариантом исследования.

Становится все более очевидным, что фармацевтический ответ у людей с одинаковым заболеванием не будет одинаковым, а будет зависеть от генотипа каждого отдельного пациента. Идея о том, что лекарства, которые раньше считались универсальными, теперь могут быть персонализированы, набирает обороты в современном медицинском сообществе. Исследование фармакогенетических особенностей является жизненно важным для повышения эффективности и безопасности лечения [136]. Учитывая целостный подход к лечению пациентов с ДТД и постоянную

индивидуализацию терапии, исследование фармакогенетических аспектов является необходимым.

Из представленных в предыдущих главах данных можно отметить, что частота встречаемости значимых аллелей GA в гетерозиготном виде составляет 36,08% для гена ИЛ-17А.

В данной главе диссертационной работы мы изучили влияние носительства полиморфного маркера G-197А гена ИЛ-17А на развитие послеоперационного гипотериоза пациентов с ДТЗ.

Известно, что после оперативного лечения у большинства пациентов развивается гипотиреоз [31]. Как показали лабораторные и клинические данные, гипотиреоз несмотря на проводимую заместительную терапию развился у 11 пациентов (10 женщин, 1 мужчина).

Таблица 5.1.

Пациенты с биохимическими и клиническими признаками послеоперационного гипотиреоза на фоне заместительной терапии (через 6 недель)

Пациент (пол, диагноз)	Возраст (лет)	Послеоперационный уровень ТТГ	Симптомы гипотиреоза
Женский, послеоперационный гипотиреоз	15	61,94	Сухость кожи, ухудшение памяти, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	61	13,6	Сухость кожи, выпадают волосы, ухудшение памяти, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	40	52,5	Сухость кожи, выпадение волос, ухудшение памяти, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	47	12,9	Сухость кожи, выпадение волос, ухудшение памяти, головная боль, сонливость

Мужской, послеоперационный гипотиреоз	18	33,81	Сухость кожи, выпадают волосы, ухудшение памяти, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	52	58,28	Выпадение волос, ухудшение памяти, головная боль, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	40	52,5	Сухость кожи, выпадение волос, ухудшение памяти, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	22	28,6	Выпадение волос, головная боль, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	34	58,28	Выпадение волос, ухудшение памяти, головная боль, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	42	17,9	Выпадение волос, головная боль, сонливость
Женский, послеоперационный гипотиреоз	31	13	Ухудшение памяти, головная боль, сонливость

В результате 17% пациентов, перенесших тиреоидэктомию, столкнулись с явным послеоперационным гипотиреозом в раннем послеоперационном периоде после процедуры. У пациентов женского пола частота гипотиреоза была значительно выше.

Далее, нами проанализированы 64 пациента, давшие согласие на участие в исследовании через 6 недель после начала заместительной терапии левотироксином (Рис. 5.1). Динамическое наблюдение пациентов, получавших медикаментозную терапию левотироксином после тиреоидэктомии, позволило выявить определенную зависимость эффективности лечения от генотипа G-197A гена ИЛ-17A. Пациентов с

положительным ответом на заместительную терапию левотироксином было 53 (83%), с отрицательным ответом 11 (17%).

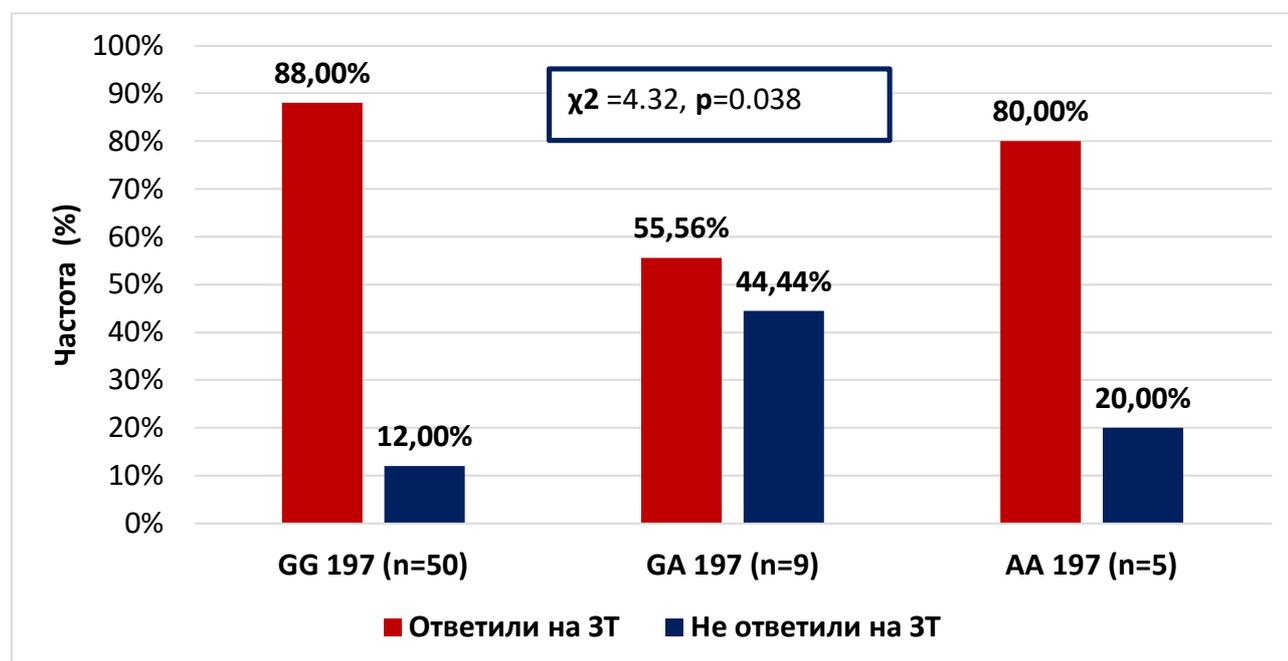


Рис. 5.1. Сравнение распределения пациентов с положительным и отрицательным ответом на заместительную терапию в зависимости от генотипа G-197A гена ИЛ-17А

Так, лиц с GG197 генотипом гена ИЛ-17А ответивших и не ответивших на заместительную терапию было 44 и 6 соответственно, лиц с GA197 генотипом гена ИЛ-17А ответивших и не ответивших на заместительную терапию было 5 и 4 соответственно, а лиц с AA197 генотипом гена ИЛ-17А ответивших и не ответивших на заместительную терапию было 4 и 1 соответственно. Необходимо отметить, что из всех пациентов, которым выполняли тиреоидэктомию, заместительная терапия после операции хорошо переносилась пациентами с генотипом GG197 ($\chi^2=4,321$, $p=0,038$).

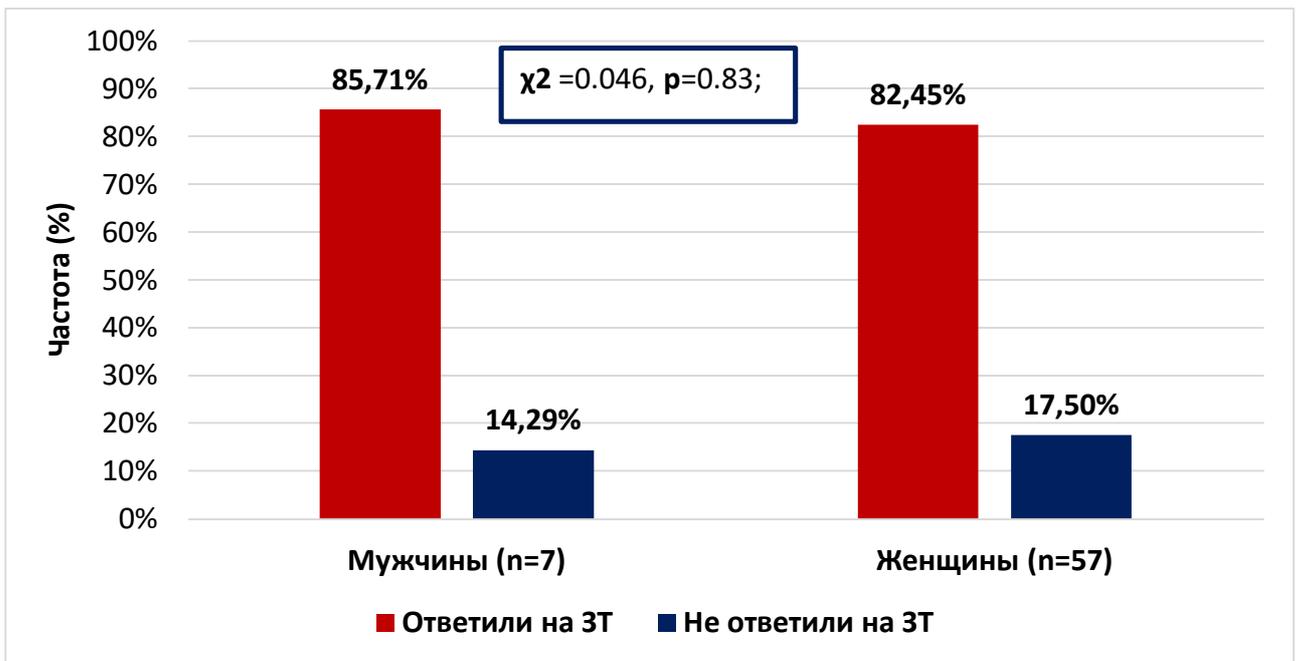


Рис. 5.2 Сравнение распределения пациентов с положительным и отрицательным ответом на заместительную терапию в зависимости от генотипа G-197A гена ИЛ-17A по полу

Как видно из рисунков 5.1 и 5.2 у 50 из 64 пациентов при генетическом исследовании полиморфного маркера G-197A гена ИЛ-17A выявлен гомозиготный генотип G/G, у 9 – гетерозиготный генотип G/A, а у 5 гомозиготный A/A генотип в исследуемой выборке. Нами также изучены показатели свободного кальция, ТТГ и ПТГ в зависимости от ответа на заместительную терапию левотироксином (табл. 5.2). У пациентов, ответивших на заместительную терапию уровень ТТГ, общего кальция и ПТГ составил в среднем $3,78 \pm \text{мМЕ/мл}$, $2,12 \pm \text{ммоль/л}$ и $5,6 \pm \text{пг/мл}$ соответственно. А у пациентов, не ответивших на заместительную терапию уровень ТТГ, общего кальция и ПТГ составил в среднем $33,06 \pm \text{мМЕ/мл}$, $2,11 \pm \text{ммоль/л}$ и $4,2 \pm \text{пг/мл}$ соответственно. Следует отметить, что в группе пациентов, не ответивших на терапию (n=11) повышенный уровень ТТГ и наличие симптомов заболевания свидетельствовали о развитии послеоперационного гипотиреоза.

Таблица 5.2.

Изменение показателей свободного кальция, ТТГ и ПТГ при заместительной терапии левотироксином у пациентов с ДТЗ (через 6 недель)

Показатели	Ответили на терапию (n=53)		Не ответили на терапию(n=11)	
	До лечения	Через 6 недель	До лечения	Через 6 недель
ТТГ мМЕ/мл	7,1±0,21	3,78±0,44	7,1±0,21	33,06±1,33
Общий кальций ммоль/л	2,20±0,08	2,12±0,02	2,20±0,08	2,11±0,31
ПТГ пг/мл	56,2±1,36	5,6±0,34	56,2±1,36	4,2±0,22

Согласно результатам ряда исследований, степень активности аутоиммунных процессов в щитовидной железе положительно связана с содержанием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови пациента, а также с уровнем антител к рецептору тиреотропного гормона. Было обнаружено, что эта связь существует, несмотря на то, что общий уровень антител к рецептору тиреоидных гормонов у пациента не учитывался. [19] Кроме того, было доказано, что уровень аутоиммунной активности в щитовидной железе положительно коррелирует с количеством антител, связывающихся с рецептором тиреоидных гормонов.

Таблица 5.3.

Изменение показателей цитокинов при заместительной терапии левотироксином у пациентов с ДТЗ (через 6 недель)

Показатели	Ответили на терапию (n=53)		Не ответили на терапию(n=11)	
	До лечения	Через 6 недель	До лечения	Через 6 недель
ИЛ-17А пг/мл	30,7±1,9	14,9±0,38	30,7±1,9	27,6±1,57
ИЛ-6 пг/мл	26,4±1,3	9,2±0,21	26,4±1,3	22,9±2,77

Нами также изучены показатели цитокинов при заместительной терапии левотироксином у пациентов с ДТЗ (табл. 5.3). В группе пациентов, у которых наблюдался положительный ответ на лечение, высокие уровни ИЛ-

6 и IL-17A в крови предсказуемо снизились после 6 недель лечения левотироксином после полной тиреоидэктомии. Об отсутствии иммунологической ремиссии заболевания свидетельствует сохранение высоких уровней ИЛ-6 и ИЛ-17A после хирургического лечения в группе пациентов, не отреагировавших на терапию.

Таким образом, наследственные факторы могут существенно влиять на результаты лечения левотироксином. Исследования показывают, что носители генотипов GG и GA полиморфного маркера G-197A гена IL-17A чаще достигают приемлемых результатов от лечения, в то время как носители генотипа AA имеют менее удовлетворительные результаты лечения.

Для достижения поставленной цели и задач и на основании результатов, полученных нами в рамках настоящего диссертационного исследования, впервые разработан алгоритм повышения результативности лечения ДТЗ, включающий персонифицированную диагностику на этапе предоперационной подготовки, эффективное восполнение тиреоидных гормонов у пациентов после операции, а также мониторинг и коррекцию состояния гипотиреоза после проведенной тиреоидэктомии по поводу ДТЗ. Использованное фармакогенетическое тестирование, позволяет осуществлять персонифицированное сопровождение пациентов групп высокого риска развития послеоперационного гипотиреоза на этапе предоперационной подготовки. Следовательно, нами впервые произведено обоснование эффективности применения фармакогенетического тестирования заместительной терапии левотироксином с целью профилактики послеоперационного гипотиреоза в программе комплексной тактики лечения ДТЗ.

При принятии решения об объеме хирургического вмешательства при диффузном токсическом зобе, согласно результатам нашего исследования, необходимо обратить внимание на то, является ли пациент носителем определенной аллельной вариации гена IL-17 (рис.5.3).



Рис. 5.3. Алгоритм персонализации лечения пациентов с ДТЗ.

Если пациент носитель генотипов GA и GG гена ИЛ-17A следует провести тотальную тиреоидэктомию а затем заместительную терапию левотироксином в суточной дозе 1,7 мкг/кг, если пациент носитель генотипов A/A гена ИЛ-17A рекомендуется переключиться к проведению субтотальной тиреоидэктомии и заместительной терапии с последующей коррекцией дозы препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДТЗ - хроническое органоспецифическое аутоиммунное заболевание щитовидной железы и одно из наиболее частых аутоиммунных заболеваний со средней заболеваемостью 14 на 100 000 в год и продолжает расти [120]. По данным различных исследователей распространенность ДТЗ составляет приблизительно от 1% до 1,5% в популяции в целом: заболеваемость составляет от 20 до 30 новых случаев на 100 000 человек в год [95]. Повышенная заболеваемость наблюдается среди афроамериканцев [121]. Как генетические факторы, так и факторы окружающей среды, например, семейная группировка, негативный жизненный опыт, высокое потребление йода и курение, предрасполагают к ДТЗ [38, 165]. ДТЗ представляет собой системное аутоиммунное заболевание, непосредственно вызываемое циркулирующими аутоантителами, которые связываются рецептором тиреотропина, в последствии индуцируя выработку и высвобождение тиреоидных гормонов, пролиферацию тироцитов и увеличение щитовидной железы [150, 56].

Измерение исходного уровня ТТГ в сыворотке крови является общепризнанным параметром скрининга при начальной оценке подозрения на дисфункцию щитовидной железы. Дополнительная оценка свободных гормонов щитовидной железы позволяет дифференцировать явный и субклинический гипертиреоз. Ультразвуковое исследование щитовидной железы включает в себя обычный анализ по шкале серого (с использованием высокочастотного линейного датчика) и доплеровское исследование с цветовым потоком (характеризующее сосудистый рисунок и количественную оценку васкуляризации щитовидной железы). Ультразвук поддерживает диагностику ДТЗ как неинвазивную, быструю и точную процедуру визуализации. Если имеется зоб с крупными узлами и/или если показана терапия радиоактивным йодом, предлагается радионуклидная сцинтиграфия с поглощением радиоактивного йода. В подавляющем большинстве случаев своевременная и положительная серология ТSH-R-Ab с типичными результатами УЗИ обеспечивает надежный, быстрый и более чем

достаточный окончательный диагноз ДТЗ [86]. В настоящем исследовании диффузный токсический зоб в обследованной когорте характеризовался клиническими симптомами и типичными лабораторными изменениями: увеличением размеров щитовидной железы (100%), дефицитом веса (38,1%), офтальмопатией (25,7%), сердечно-сосудистыми нарушениями (100%), неврологическими симптомами (100%), снижением ТТГ в сочетании с повышенным уровнем тироксина и трийодтиронина.

ДТЗ является одним из наиболее распространенных и сложных аутоиммунных заболеваний, при котором щитовидная железа гиперактивна, вырабатывая повышенный уровень тиреоидных гормонов с последующим драматическим сочетанием иммунологических особенностей [129, 184]. Наблюдается значительное увеличение способности клеток периферической крови спонтанно продуцировать провоспалительные цитокины (TNF, IL-1 β и IL-6), что указывает на уже существующую активацию клеток. Напротив, их способность отвечать на индукцию *in vitro* снижается, что может свидетельствовать о реакции, возникающей в организме в ответ на стимуляцию антигеном. Эти данные свидетельствуют о наличии предсуществующей клеточной активации. В случаях с ДТЗ наблюдается значительное увеличение способности клеток периферической крови спонтанно создавать провоспалительные цитокины, согласно результатам исследований [9]. Интерлейкин-6, чаще всего называемый IL-6, является важным видом цитокинов. Этот цитокин имеет большое значение из-за необычайного разнообразия действий, которые он может выполнять. Он не только участвует в процессе воспаления, но и помогает регулировать деятельность эндокринной системы и процесс обмена веществ. Другими словами, воспаление - это не единственный симптом, который может быть обусловлен его присутствием [81].

В последние годы был описан новый тип лимфоцитов – Th17 лимфоцит. Он связан с секрецией интерлейкина-17 (ИЛ-17) и играет значительную роль в развитии аутоиммунных заболеваний [148]. Интерлейкин-23 (IL-23)

действует на Th17, индуцированный рецептором IL-23 (IL-23R), что приводит к амплификации и стабилизации лимфоцитов [117]. IL-23, секретируемый дендритными клетками и макрофагами, отвечает за активацию и регуляцию процесса хронического воспаления, индуцированного клетками Th17. Эти клетки оказывают сильное провоспалительное действие - они стимулируют последующие Т-клетки к продукции цитокинов и хемокинов, в том числе ИЛ-6, ИЛ-8, гранулоцитарно-макрофагального колоние стимулирующего фактора (ГМ-КСФ) или гранулоцитарного колоние стимулирующего фактора (Г - КСФ), а также активируют и регулируют приток нейтрофилов к очагу воспаления [181]. IL-17 также секретируется CD8+ Т-клетками и NK-клетками.

Учитывая приведенные выше данные, одной из задач диссертационного исследования было оценить возможность использования сывороточных концентраций ИЛ-17 и ИЛ-6 в качестве маркеров активности ДТЗ. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что повышение содержания сывороточных ИЛ-6 и ИЛ-17А подтверждает цитокиновый дисбаланс, смещенных преимущественном преобладании аутоиммунной активации на системном уровне. Также было установлено, что концентрации изученных нами медиаторов иммунного ответа в подгруппах женщин и мужчин не отличаются, вероятно, что половая принадлежность определяет предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям тем, что эстрогены стимулируют, а андрогены обеспечивают защиту от аутоиммунитета. На фоне применения тиреостатической терапии, изменения в содержании сывороточных Th2 и Th17 маркерных цитокинов при ДТЗ носило динамический характер. Включение определения уровня указанных цитокинов в обследование пациентов перед оперативным лечением ДТЗ, возможно будет способствовать прогнозированию отдаленных результатов хирургического лечения пациентов с ДТЗ.

Таким образом, у пациентов диффузным токсическим зобом выявлена несбалансированная гиперцитокинемия с увеличением концентрации как

провоспалительного цитокина IL-6 регулирующего межклеточное и межсистемное взаимодействие в организме, так и IL-17A относящегося к цитокинам Th17-клеточного происхождения.

ДТЗ - является распространенным и сложным заболеванием с сильным наследственным компонентом. IL-17A является сильнодействующим цитокином и потенциальным фактором, влияющим на этиологию различных аутоиммунных заболеваний человека. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что ДТЗ имеет мощный наследственный компонент, и в настоящее время идентифицировано значительное количество генов-кандидатов восприимчивости, таких как рецептор интерлейкина-23, цитотоксический T-лимфоцитарный антиген 4, толл-подобный рецептор, протеинтирозинфосфатаза, лиганд запрограммированной смерти 1, интерлейкин-1 β , йодтиронин-дейодиназы II типа [27]. В настоящем исследовании мы сосредоточились на взаимосвязи между полиморфизмом в гене IL-17A и предрасположенностью к ДТЗ.

Как видно в главах собственных исследований, рисковым маркером для развития ДТЗ является аллель A и гомозиготный генотип AA (12,37% и 3,03% соответственно; OR = 4,518; 95% CI: 0.977 >4.518> 20.899; $\chi^2=4.365$ (p=0.03669)). При сравнительном анализе генотипов GG, были выявлены достоверные различия между больными с ДТЗ и контрольной группой (51,55% и 72,7% соответственно; OR = 0,399; 95% CI: 0.204 >0.399> 0.781; $\chi^2=7.349$ (p=0.006709)). При анализе гетерозиготного генотипа GA также были выявлены различия между частотой встречаемости у больных с ДТЗ и контрольной группой, которые не достигали истинной значимости. Полученные данные в настоящем исследовании по изучению распределения частот аллельных вариантов, генотипов и ассоциации SNPs гена цитокина IL-17A (G197A, rs2275913) с диффузным токсическим зобом могут быть использованы в качестве маркерных признаков генетической характеристики данного патологического состояния.

При анализе однонуклеотидного варианта гена CYP3A5 (A6986G, rs776746), было выявлено отсутствие достоверных различий в частоте встречаемости аллелей и генотипов, в сравнении с практически здоровыми лицами. Исходя из предоставленных данных, можно сделать вывод, что полиморфный маркер CYP3A5 (A6986G, rs776746) не является статистически значимым маркером предрасположенности к развитию ДТЗ в данной выборке. Для аллеля А было вычислено отношение шансов (ОШ) равное 1,44 с доверительным интервалом (95% CI) от 0,623 до 3,332. Это означает, что носители генотипов с аллелем А имеют незначительно повышенный риск развития ДТЗ по сравнению с носителями других генотипов. Однако, такие различия не достигают статистической значимости. Аналогично, генотип GG был чаще встречается в группе здоровых, но эта разница также не является статистически значимой. В целом, полученные результаты не подтверждают связь между полиморфным маркером CYP3A5 (A6986G, rs776746) и предрасположенностью к развитию ДТЗ в данной выборке.

Таким образом, достоверное повышение A197 аллели подтверждает вовлеченность системных воспалительных реакций в патогенез такого заболевания как диффузный токсический зоб.

Лечение ДТЗ остается сложным. Соображения, включающие предпочтения пациента, возраст, сопутствующие заболевания, беременность, курение табака и социальные детерминанты здоровья, и в обязательном порядке генетических особенностей индивидуума должны быть объединены в согласованный план лечения. Требуется междисциплинарная команда для лечения всех аспектов ДТЗ, особенно гипотиреоза, связанного с удалением щитовидной железой.

На основании результатов, полученных нами в рамках настоящего диссертационного исследования, впервые нами разработан алгоритм повышения результативности лечения ДТЗ, включающий персонафицированную диагностику на этапе предоперационной подготовки, эффективное восполнение тиреоидных гормонов у пациентов после

операции, а также мониторинг и коррекцию состояния гипотиреоза после проведенной тиреоидэктомии по поводу ДТЗ. Использованное фармакогенетическое тестирование, позволяет осуществлять персонифицированное сопровождение пациентов групп высокого риска развития послеоперационного гипотиреоза на этапе предоперационной подготовки. Следовательно, нами впервые произведено обоснование эффективности применения фармакогенетического тестирования заместительной терапии левотироксином с целью профилактики послеоперационного гипотиреоза в программе комплексной тактики лечения ДТЗ.

Как показывают результаты наших исследований у пациентов с ДТЗ в первую очередь следует обращать внимание на носительство определенного аллельного варианта гена ИЛ-17А при выборе объема оперативного вмешательства по поводу диффузного токсического зоба. Если пациент носитель генотипов GA и GG гена ИЛ-17А следует провести тотальную тиреоидэктомию а затем заместительную терапию левотироксином в суточной дозе 1,7 мкг/кг, если пациент носитель генотипов A/A гена ИЛ-17А рекомендуется переключиться к проведению субтотальной тиреоидэктомии и заместительной терапии с последующей коррекцией дозы препарата.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Включение определения уровня цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-17А в обследование пациентов перед проведением тиреостатической терапии и оперативного лечения ДТЗ, будет способствовать прогнозированию отдаленных результатов терапевтического и хирургического лечения пациентов с ДТЗ.
2. Используемый в работе инструмент персонализированной медицины позволяет выбирать наиболее эффективный способ оперативного вмешательства и терапевтического средства, что приводит к уменьшению количества лекарственных препаратов, необходимых для адекватного лечения. Дифференцированный режим тактики ведения пациентов с диффузным токсическим зобом, основанный на идентификации G-197А (rs2275913) полиморфизма гена ИЛ-17А позволит правильно выбрать объем операции и осуществить эффективный контроль тиреоидного гомеостата у больных с ДТЗ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боярова К. М. Диффузный токсический зоб //Столица Науки. – 2019. – №. 12.– С. 96-101.
2. Браверман Л.И. Болезни щитовидной железы. М.: Медицина, 2000
3. Вдович О. В. (2011) Ювенильный ревматоидный артрит: молекулярно-генетические факторы риска, особенности течения в зависимости от полиморфизма гена IL-17. Россия молодая: передовые технологии – в промышленность, No 2, 168–170.
4. Здор В.В., Маркелова Е.В. Уровень сывороточных цитокинов, трансформирующего фактора роста-В, IL-17, IL-10, IL-1б и IL1-1в в дебюте аутоиммунного тиреотоксикоза при болезни Грейвса—Базедова. // Медицинская Иммунология. — 2011. —Т. 13. — №4-5. — С. 366.
5. Ильичева Е. А. и др. Эпидемиология и результаты хирургического лечения эутиреоидного и токсического зоба в зависимости от особенностей клинического течения, степени компрессии трахеи и коморбидности. //Проблемы Эндокринологии. – 2020. – Т. 66. – №. 1. – С. 87-92.
6. Кандрор В.И. Механизмы развития болезни Грейвса и действия тиреоидных гормонов. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2008. — Т. 4. — №1. — С. 26-34
7. Кантемирова, Б. И. (2012). Состояние фармакогенетических исследований в Российской Федерации и за рубежом. Астраханский медицинский журнал, 7(4).,
8. Кукес, В. Г., Сычев, Д. Л., & Игнатъев, И. В. (2006). Клиническая фармакогенетика и практическое здравоохранение: перспективы интеграции. Биомедицина, (5).

9. Л.Н. Бубнова, Т.В. Глазанова, О.Е. Розанова и др. // Проблемы эндокринологии. – 2004. – № 3. – С. 29–32
10. Лазанович В.В., Маркелова Е.В. Показатели цитокинового статуса, тиреоидных аутоантител и их динамические изменения на фоне лечения болезни Грейвса. // Клиническая экспериментальная тиреоидология. — 2008. — Т. 4. — №3. — С. 28-35.
11. Минушкина, Л. О. Генетические факторы при гипертонической болезни: связь с особенностями течения, развитием осложнений, эффективностью терапии: автореф. дис. ... д-ра мед.наук: 14.00.06 / Л. О. Минушкина; Каф. кардиологии и общ. терапии ФГУ «Учеб. -науч. мед. центр» Упр. делами Президента РФ, - М., 2008. - 48 с.,
12. Пашенцева А. В., Вербовой А. Ф. Диффузный токсический зоб //Клиническая медицина. – 2017. – Т. 95. – №. 9.
13. Пономаренко Т.М., Сычев Д.А., Чикало А.О., Бердникова Н.Г., Кукес В.Г. Система цитохрома P450 в легких: роль в патогенезе заболеваний и фармакокинетике лекарственных средств. Фармакокинетика и фармакодинамика 2012; 1(4): 25–28.
14. Рябухина, Е. А., & Фирсова, С. А. (2015). Применение критерия χ^2 для анализа данных медицинской статистики. Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, (1-2), 149-153.
15. Саприна Т.В., Прохоренко Т.С., Резцова В.М. Особенности продукции и рецепции цитокинов Th1/Th2-профиля при болезни Грейвса // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. 2012.Т. 8. № 2. С. 43–49.
16. Сычев, Д. А., & Кукес, В. Г. (2007). Клиническая фармакогенетика. Фармакогенетика системы биотрансформации и транспортеров лекарственных средств: от теории к практике. Биомедицина, (1).
17. Трошина, Е. А., Свириденко, Н. Ю., Ванушко, В. Э., Румянцев, П. О., Фадеев, В. В., & Петунина, Н. А. (2021). Федеральные клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и

- лечению токсического зоба. Клиническая и экспериментальная тиреоидология, 10(3), 8-19.
18. Akamizu T, Satoh T, Isozaki O, et al. Diagnostic criteria, clinical features, and incidence of thyroid storm based on nationwide surveys. *Thyroid* 2012;22:661e79.
19. Alnaqdy, A., & Al-Maskari, M. (2007). Levels of cytokines and thyroid autoantibodies in Omani patients with Graves' disease. *British journal of biomedical science*, 64(4), 164-167.
20. Ando T, et al. Intrathyroidal fetal microchimerism in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3315–20.;
21. Anjos S, Nguyen A, Ounissi-Benkalha H, Tessier MC, Polychronakos C. A common autoimmunity predisposing signal peptide variant of the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 results in inefficient glycosylation of the susceptibility allele. *J. Biol. Chem.* 2002;277:46478–46486.
22. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, et al. Autoimmune thyroid disorders. *Autoimmun Rev* 2015;14:174e80.
23. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, et al. Increase of interferon gamma inducible CXCL9 and CXCL11 serum levels in patients with active graves' disease and modulation by methimazole therapy. *Thyroid*. 2013;23(11):1461-1469.;
24. Antonelli A, Ferrari SM, Frascerra S, et al. Circulating chemokine (CXC motif) ligand (CXCL) 9 is increased in aggressive chronic autoimmune thyroiditis, in association with CXCL10. *Cytokine* 2011;55:288e93.;
25. Antonelli A, Saracino A, Alberti B, et al. High-dose intravenous immunoglobulin treatment in Graves' ophthalmopathy. *Acta Endocrinol* 1992;126:13e23.;
26. Ban Y, Tozaki T, Taniyama M, Tomita M, Ban Y. Association of a C/T single-nucleotide polymorphism in the 5' untranslated region of the CD40 gene with graves' disease in Japanese. *Thyroid*. 2006;16:443–446.
27. Ban, Y., Tozaki, T., Taniyama, M., Nakano, Y., Ban, Y., Ban, Y., & Hirano, T. (2010). Association of the protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22 haplotypes

- with autoimmune thyroid disease in the Japanese population. *Thyroid*, 20(8), 893-899.
28. Barbesino G, Tomer Y, Concepcion ES, et al. Linkage analysis of candidate genes in autoimmune thyroid disease: 1. Selected immunoregulatory genes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:1580-1584.
29. Barlow AB, Wheatcroft N, Watson P, Weetman AP. Association of HLA-DQA1*0501 with Graves' disease in English Caucasian men and women. *Clin. Endocrinol (Oxf)* 1996;44:73-77.
30. Begovich AB, Carlton VEH, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC, Ardlie KG, Huang Q, Smith AM, Spoerke JM, Conn MT, Chang M, Chang SY, Saiki RK, Catanese JJ, Leong DU, Garcia VE, McAllister LB, Jeffery DA, Lee AT, Batliwalla F, Remmers E, Criswell LA, Seldin MF, Kastner DL, Amos CI, Sninsky JJ, Gregersen PK. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;75:330-337.
31. Berglund, J., Bondeson, L., Christensen, S. B., & Tibblin, S. (1991). The influence of different degrees of chronic lymphocytic thyroiditis on thyroid function after surgery for benign, non-toxic goitre. *The European journal of surgery= Acta chirurgica*, 157(4), 257-260.
32. Beringer, A., Noack, M., and Miossec, P. (2016) IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting *Trends Mol. Med.*, 22, 230-241.
33. Bodmer, J. G., & Bodmer, W. F. (1970). Studies on African Pygmies. IV. A comparative study of the HL-A polymorphism in the Babinga Pygmies and other African and Caucasian populations. *American Journal of Human Genetics*, 22(4), 396.
34. Boelaert K, Torlinska B, Holder RL, et al. Older subjects with hyperthyroidism present with a paucity of symptoms and signs: a large cross-sectional study. *J Clin Endocrinol Metabol* 2010;95:2715e26.
35. Brand OJ, Barrett JC, Simmonds MJ, Newby PR, McCabe CJ, Bruce CK, Kysela B, Carr-Smith JD, Brix T, Hunt PJ, Wiersinga WM, Hegedus L, Connell J,

- Wass JAH, Franklyn JA, Weetman AP, Heward JM, Gough SCL. Association of the thyroid stimulating hormone receptor gene (TSHR) with Graves' disease. *Hum. Mol. Genet.* 2009;18:1704–1713.
36. Brent GA. Clinical practice. Graves' disease. *N Engl J Med* 2008;358:2594e605.
37. Brix TH, Christensen K, Holm NV, et al. A population-based study of Graves' disease in Danish twins. *Clin Endocrinol.* 1998;48:397-400.;
38. Brix, T. H., Kyvik, K. O., Christensen, K., & Hegedüs, L. (2001). Evidence for a major role of heredity in Graves' disease: a population-based study of two Danish twin cohorts. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(2), 930-934.,
39. Brix TH, et al. High frequency of skewed X-chromosome inactivation in females with autoimmune thyroid disease: a possible explanation for the female predisposition to thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5949–53.
40. Brooks WH. X chromosome inactivation and autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 2010;39:20–9.
41. Buemann B, Astrup A. How does the body deal with energy from alcohol? *Nutrition.* 2001;17:638–641.
42. Burch HB, Burman KD, Cooper DS. A 2011 survey of clinical practice patterns in the management of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:4549–4558
43. Burch HB, Cooper DS. Management of graves disease: a review. *JAMA, J Am Med Assoc* 2015;314:2544e54.
44. CA B. Exophthalmos durch hypertrophie des Zellgewebes in des Augenhhle. *Wochenschr Ges Heilk* 1840;6:197–220.
45. Carle A, et al. Graves' hyperthyroidism and moderate alcohol consumption: evidence for disease prevention. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;79:111–9.103
46. Chang CC, Cheng CJ, Sung CC, et al. A 10-year analysis of thyrotoxic periodic paralysis in 135 patients: focus on symptomatology and precipitants. *Eur J Endocrinol* 2013;169:529e36.

47. Chistiakov DA, Savost'anov KV, Turakulov RI, Efremov IA, Demurov LM. Genetic analysis and functional evaluation of the C/T (-318) and A/G (-1661) polymorphisms of the CTLA-4 gene in patients affected with Graves' disease. *Clin. Immunol.* 2006;118:233–242.
48. Chu X, Dong Y, Shen M, Sun LL, Dong CZ, Wang Y, Wang BL, Zhang KY, Hua Q, Xu SJ, Huang W. Polymorphisms in the ADRB2 gene and Graves disease: a case-control study and a meta-analysis of available evidence. *BMC Medical Genetics.* 2009;10
49. Cirello V, et al. Fetal cell microchimerism: a protective role in autoimmune thyroid diseases. *Eur J Endocrinol* 2015;173:111–8
50. Collins JE, Heward JM, Howson JM, Foxall H, Carr-Smith J, Franklyn JA, Gough SC. Common allelic variants of exons 10, 12, and 33 of the thyroglobulin gene are not associated with autoimmune thyroid disease in the United Kingdom. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89:6336–6339.
51. Cury SS, et al. Gene expression of estrogen receptor-alpha in orbital fibroblasts in Graves' ophthalmopathy. *Arch Endocrinol Metab* 2015;59:273–6.84
52. Cypowyj, S., Picard, C., Marydi, L., Casanova, J.-L., and Puel, A. (2012) Immunity to infection in IL-17-deficient mice and humans. *Eur. J. Immunol.*, 42, 2246–2254.
53. Daroszewski J, Pawlak E, Karabon L, Frydecka I, Jonkisz A, Slowik M, Bolanowski M. Soluble CTLA-4 receptor an immunological marker of Graves' disease and severity of ophthalmopathy is associated with CTLA-4 Jo31 and CT60 gene polymorphisms. *Eur. J. Endocrinol.* 2009;161:787–793.
54. Davies TF, Burch HB. Clinical features and diagnosis of Graves' orbitopathy (ophthalmopathy). 2019. <https://www.uptodate.com/home/editorial-policy>.
55. Davies TF, Latif R, Yin X. Inheriting autoimmune thyroid disease. *Endocr Pract.* 2009;15:63-66.
56. Davies, T. F., Andersen, S., Latif, R., Nagayama, Y., Barbesino, G., Brito, M., & Kahaly, G. J. (2020). Graves' disease. *Nature reviews Disease primers*, 6(1), 52.

57. Davies TF, Martin A, Concepcion ES, et al. Evidence of limited variability of antigen receptors on intrathyroidal T cells in autoimmune thyroid disease. *N Engl J Med.* 1991;325:238–244.;
58. Dechairo BM, Zabaneh D, Collins J, Brand O, Dawson GJ, Green AP, Mackay I, Franklyn JA, Connell JM, Wass JA, Wiersinga WM, Hegedus L, Brix T, Robinson BG, Hunt PJ, Weetman AP, Carey AH, Gough SC. Association of the TSHR gene with Graves' disease: the first disease specific locus. *Eur. J. Hum. Genet.* 2005;13:1223–1230.
59. De Groot LJ. Effects of irradiation on the thyroid gland. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1993;22:607–15.;
60. Diana T, Krause J, Olivo PD, et al. Prevalence and clinical relevance of thyroid stimulating hormone receptor-blocking antibodies in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 2017;189:304-9.;
61. Diana T, Olivo PD, Kahaly GJ. Thyrotropin receptor blocking antibodies. *Horm Metab Res* 2018;50:853e62.
62. Dickinson AJ, Perros P. Controversies in the clinical evaluation of thyroid-associated orbitopathy: use of a detailed protocol with comparative photographs for objective assessment. *Clin Endocrinol* 2001;55:283e303.;
63. Duntas LH. Selenium and the thyroid: a close-knit connection. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5180–8.;
64. Effraimidis G, Tijssen J.G, Wiersinga W.M. Alcohol consumption as a risk factor for autoimmune thyroid disease: a prospective study. *Eur Thyroid J* 2012;1:99–104.
65. Eshaghkhani Y, Sanati MH, Nakhjavani M, et al. Disturbed Th1 and Th2 balance in patients with graves' disease. *Minerva Endocrinol.* 2016;41(1):28-36
66. Falgarone G, et al. Mechanisms in endocrinology. Role of emotional stress in the pathophysiology of Graves' disease. *Eur J Endocrinol* 2013;168:R13–8.
67. Fallahi P, Ferrari SM, Ragusa F, et al. Th1 chemokines in autoimmune endocrine disorders. *J Clin Endocrinol Metabol* 2019. pii: dgz289. [Epub ahead of print].;

68. Ferrari SM, Fallahi P, Ruffilli I, et al. The association of other autoimmune diseases in patients with Graves' disease (with or without ophthalmopathy): review of the literature and report of a large series. *Autoimmun Rev* 2019;18:287e92.
69. Ferrari SM, Ruffilli I, Elia G, et al. Chemokines in hyperthyroidism. *J Clin Transl Endocrinol* 2019;16:100196.
70. Fisfalen M E, Palmer E M, Van Seventer G A, et al. Thyrotropin receptor and thyroid peroxidase-specific T cell clones and their cytokine profile in autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:3655–3663
71. Fossiez, F., Djossou, O., Chomarat, P., Flores-Romo, L., Ait-Yahia, S., Maat, C., Pin, J.J., Garrone, P., Garcia, E., Saeland, S., Blanchard, D., Gaillard, C., Das Mahapatra, B., Rouvier, E., Golstein, P., Banchereau, J., and Lebecque, S. (1996) T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J. Exp. Med.*, 183, 2593–2603
72. Gaffen, S.L. (2009) Structure and signaling in the IL-17 receptor family. *Nat. Rev. Immunol.*, 9, 556–567.
73. Ganesh BB, Bhattacharya P, Gopisetty A, Prabhakar BS. Role of cytokines in the pathogenesis and suppression of thyroid autoimmunity. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31(10):721-731.;
74. García de la Peca, M., Mindez Cruz, R., Garrido Guerrero, E., Galicia Lypez, A., Pozo Molina, G., and Herrera Gonzblez, N.E. (2017) Polymorphism rs2275913 of Interleukin-17A is related to more intensive therapy with disease-modifying anti rheumatic drugs in Mexican patients with Rheumatoid Arthritis. *Acta Reumatol. Port.*, 42, 155–161.
75. Gianoukakis AG, Smith TJ. The role of cytokines in the pathogenesis of endocrine disease. *Canadian Diabetes Journal.* 2004;28:20–29
76. Givens R. C., Lin Y. S., Dowling A. L. et al. CYP3A5 genotype predicts renal CYP3A activity and blood pressure in healthy adults [Text]// *J. Appl. Physiol.* - 2003. - Vol. 95, №" 3. - P. 1297-1300.
77. Gough SC, Simmonds MJ. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Curr. Genomics.* 2007;8:453–465.

78. Gough SC, Walker LS, Sansom DM. CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity. *Immunol. Rev.* 2005;204:102–115.
79. Graves RJ. Clinical lectures. *Lond Med Surg* 1835;16:516.; Le Braverman CD. Introduction to thyrotoxicosis. The thyroid. Tenth edition; 2013. p. 354–5.
80. Gu LQ, Jia HY, Zhao YJ, et al. Association studies of Interleukin-8 gene in graves' disease and graves' ophthalmopathy. *Endocrine.* 2009;36(3):452-456.
81. Guzmán C., Hallal-Calleros C., Lorena L-G., MoralesMontor J. Interleukin-6: A Cytokine with a Pleiotropic Role in the Neuroimmunoendocrine Network // The Open Neuroendocrinology Journal. – 2010. – № 3. – P. 152–160
82. Hasegawa K, Martin F, Huang G, Tumas D, Diehl L, Chan AC. Pest domain-enriched tyrosine phosphatase (PEP) regulation of effector/memory T cells. *Science.* 2004;303:685–689.
83. Hancock SL, Cox RS, McDougall IR. Thyroid diseases after treatment of Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 1991;325:599–605.
84. Hidaka Y, et al. Recurrence of thyrotoxicosis after attack of allergic rhinitis in patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1667–70.
85. Hirai N, Watanabe M, Inoue N, et al. Association of IL6 gene methylation in peripheral blood cells with the development and prognosis of autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity* 2019;52:251e5.
86. Hoang, T. D., Stocker, D. J., Chou, E. L., & Burch, H. B. (2022). 2022 Update on Clinical Management of Graves Disease and Thyroid Eye Disease. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 51(2), 287-304.
87. Hodge SE, Ban Y, Strug LJ, Greenberg DA, Davies TF, Concepcion ES, Villanueva R, Tomer Y. Possible interaction between HLA-DRbeta1 and thyroglobulin variants in Graves' disease. *Thyroid.* 2006;16:351–355.
88. Hofbauer LC, et al. Soluble interleukin-1 receptor antagonist serum levels in smokers and nonsmokers with Graves' ophthalmopathy undergoing orbital radiotherapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2244–7.
89. Houston FA, Wilson V, Jennings CE, Owen CJ, Donaldson P, Perros P, Pearce SHS. Role of the CD40 locus in graves' disease. *Thyroid.* 2004;14:506–509.

90. Huppa J B, Davis M M. The inter disciplinary science of T-cell recognition. *Adv Immunol.* 2013;119:1–50
91. Imani D, Rezaei R, Razi B, et al. Association between IL6-174 G/C polymorphism and graves' disease: a systematic review and meta-analysis. *Acta Med Iran* 2017;55:665e71.
92. Jacobson EM, Concepcion E, Ho K, Kopp P, Vono TJ, Tomer Y. cDNA immunization of mice with human thyroglobulin generates both humoral and T cell responses: a novel model of thyroid autoimmunity. *PLoS ONE.* 2011;6:e19200.
93. Jacobson EM, Concepcion E, Oashi T, Tomer Y. A graves' disease-associated kozak sequence single-nucleotide polymorphism enhances the efficiency of CD40 gene translation: A case for translational pathophysiology. *Endocrinology.* 2005;146:2684–2691.
94. Kahaly GJ, Diana T, Kanitz M, et al. Prospective trial of functional thyrotropin receptor antibodies in graves' disease. *J Clin Endocrinol Metabol* 2019.pii: dgz292.
95. Kahaly, G. J., Bartalena, L., Hegedüs, L., Leenhardt, L., Poppe, K., & Pearce, S. H. (2018). 2018 European Thyroid Association guideline for the management of Graves' hyperthyroidism. *European thyroid journal*, 7(4), 167-186.
96. Kasemsuwan L, Nubthuenetr S. Recurrent laryngeal nerve paralysis: A complication of thyroidectomy. *J Otolaryngol.* 1997;26:365–367.
97. Kawaguchi, M., Takahashi, D., Hizawa, N., Suzuki, S., Matsukura, S., Kokubu, F., Maeda, Y., Fukui, Y., Konno, S., Huang, S.-K., Nishimura, M., and Adachi, M. (2006) IL-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 117, 795–801
98. Kim CH. Chemokine-chemokine receptor network in immune cell trafficking. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord.* 2004;4:343–361.;

99. Kim, S. E., Yoon, J. S., Kim, K. H., & Lee, S. Y. (2012). Increased serum interleukin-17 in Graves' ophthalmopathy. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 250(10), 1521-1526.
100. Kisiel B, et al. Polymorphism of the oestrogen receptor beta gene (ESR2) is associated with susceptibility to Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*2008;68:429–34.
101. Kisielow P, von Boehmer H. Development and selection of T cells: facts and puzzles. *Adv. Immunol.* 1995;58:87–209.
102. Kotwal A, Stan M. Thyrotropin receptor antibodies-an overview. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 2018;34:S20e7.;
103. Kronenberg M, Rudensky A.Regulation of immunity by self reactive T cells. *Nature.* 2005;435:598–604. 158.
104. Kula D, Bednarczuk T, Jurecka-Lubieniecka B, Polanska J, Hasse-Lazar K, Jarzab M, Steinhof-Radwanska K, Hejduk B, Zebracka J, Kuryłowicz A, Bar-Andziak E, Stechly T, Pawlaczek A, Gubala E, Krawczyk A, Szpak-Ulczok S, Nauman J, Jarzab B. Interaction of HLA-DRB1 alleles with CTLA-4 in the predisposition to Graves' disease: the impact of DRB1*07. *Thyroid.* 2006;16:447–453.
105. Kuryłowicz A, Kula D, Ploski R, Skorka A, Jurecka-Lubieniecka B, Zebracka J, Steinhof-Radwanska K, Hasse-Lazar K, Hiromatsu Y, Jarzab B, Bednarczuk T. Association of CD40 gene polymorphism (C-1T) with susceptibility and phenotype of Graves' disease.*Thyroid.* 2005;15:1119–1124.
106. Laurberg P, et al.The Danish investigation on iodine intake and thyroid disease. *Dan Thyr: status and perspectives.* *Eur J Endocrinol* 2006;155:219–28.;
107. Lee, Y.H., and Bae, S.-C. (2017) Associations between circulating IL- 17 levels and rheumatoid arthritis and between IL-17 gene polymorphisms and disease susceptibility: a metaanalysis. *Postgrad. Med. J.*, 93, 465–471.
108. Lefvert AK, Zhao Y, Ramanujam R, Yu S, Pirskanen R, Hammarstrom L. PTPN22 R620W promotes production of anti-AChR autoantibodies and IL-2 in myasthenia gravis. *J. Neuroimmunol.* 2008;197:110–113.

109. Leo M, Marcocci C, Pinchera A, et al. Outcome of Graves' orbitopathy after total thyroid ablation and glucocorticoid treatment: follow-up of a randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:E44–E48.
110. Lepez T, et al. Fetal microchimeric cells in blood of women with an autoimmune thyroid disease. *PLoSOne* 2011;6:e29646.89,90
111. Li Y, Wang Z, Yu T, et al. Increased expression of IL-37 in patients with Graves' disease and its contribution to suppression of proinflammatory cytokines production in peripheral blood mononuclear cells. *PloSOne* 2014;9:e107183.
112. MacFarland SP, Bauer AJ, Adzick NS, et al. Disease burden and outcome in children and young adults with concurrent graves disease and differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metabol* 2018;103:2918e25.;
113. Mao C, Wang S, Xiao Y, et al. Impairment of regulatory capacity of CD4+CD25+ regulatory T cells mediated by dendritic cell polarization and hyperthyroidism in Graves' disease. *Jimmunol.* 2011;186:4734–4743.
114. Marcocci C, et al. Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *N Engl J Med* 2011;364:1920–31.;
115. Martin A, Davies TF. T cells and human autoimmune thyroid disease: Emerging data show lack of need to invoke suppressor T-cell problems. *Thyroid.* 1992;2:247–261.
116. Max MH, Scherm M, Bland KI. Early and late complications after thyroid operations. *South Med J.* 1983;76:977–980.;
117. McGeachy, M. J., Cua, D. J., & Gaffen, S. L. (2019). The IL-17 family of cytokines in health and disease. *Immunity*, 50(4), 892-906.
118. McIntosh RS, Watson PF, Pickerill AP, et al. No restriction of intrathyroidal T cell receptor V alpha families in the thyroid of Graves' disease. *Clin Exp Immunol.* 1993;91:147–152
119. McLachlan SM, Rapoport B. Breaking tolerance to thyroid antigens: changing concepts in thyroid autoimmunity. *Endocr Rev* 2014;35:59e105.
120. McLeod, D. S., & Cooper, D. S. (2012). The incidence and prevalence of thyroid autoimmunity. *Endocrine*, 42, 252-265.

121. McLeod, D. S., Caturegli, P., Cooper, D. S., Matos, P. G., & Hutfless, S. (2014). Variation in rates of autoimmune thyroid disease by race/ethnicity in US military personnel. *Jama*, 311(15), 1563-1565.
122. Menconi F, Marcocci C, Marino M. Diagnosis and classification of Graves' disease. *Autoimmun Rev* 2014;13:398e402.
123. Menconi F, Marino M, Pinchera A, et al. Effects of total thyroid ablation versus near-total thyroidectomy alone on mild to moderate Graves' orbitopathy treated with intravenous glucocorticoids. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1653–1658
124. Miccoli P, Vitti P, Rago T, et al. Surgical treatment of Graves' disease: Subtotal or total thyroidectomy? *Surgery*. 1996;120:1020–1025
125. Morshed S A, Latif R, Davies T F. Delineating the autoimmune mechanisms in Graves' disease. *Immunol Res*. 2012;54: 191–203.;
126. Murai T., Reilly C.A., Ward R.M., Yost G.S. The inhaled glucocorticoid fluticasone propionate efficiently inactivates cytochrome P450 3A5, a predominant lung P450 enzyme. *Chem Res Toxicol* 2010; 23: 1356–1364.;
127. Nacamulli D, et al. Influence of physiological dietary selenium supplementation on the natural course of autoimmune thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;73:535–9
128. Nakashima M, Kong YM, Davies TF. The role of T cells expressing TcR V beta 13 in autoimmune thyroiditis induced by transfer of mouse thyroglobulin-activated lymphocytes: Identification of two common CDR3 motifs. *Clin Immunol Immunopathol*. 1996; 80:204–210.;
129. Nikitin, Y., Rymar, O., Maksimov, V., Simonova, G., Zankina, M., Mustafina, S., ... & Voevoda, M. (2008). Association of the T-cell regulatory gene CTLA-4 with susceptibility to autoimmune thyroid disease in population of Novosibirsk. *Clinical and experimental thyroidology*, 4(4), 41-45.,
130. Onishi, R.M., and Gaffen, S.L. (2010) Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*, 129, 311–321.

131. Pan D, Shin Y H, Gopalakrishnan G, Hennessey J, De Groot LJ. Regulatory T cells in Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009; 71:587–593.
132. Pattou F, Combemale F, Fabre S, et al. Hypocalcemia following thyroid surgery: Incidence and prediction of outcome. *World J Surg*. 1998;22:718–724.;
133. Pawlik, A., Kotrych, D., Malinowski, D., Dziedziejko, V., Czerewaty, M., and Safranow, K. (2016) IL17A and IL17F gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.*, 17, 208.
134. Perricone C, Versini M, Ben-Ami D, et al. Smoke and autoimmunity: the fire behind the disease. *Autoimmun Rev* 2016;15: 354e74.
135. Picard N., Djebli N., Sauvage F. L. et al. Metabolism of sirolimus in the presence or absence of cyclosporine by genotyped human liver microsomes and recombinant cytochromes P450 3A4 and 3A5 // *Drug. Metab.Dispos.* - 2007. - Vol. 35, № 3. - P. 350-355.
136. Qamar, T., & Mukherjee, S. (2021). Genetic approaches for the diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis through personalized medicine. *Gene Reports*, 23, 101173.
137. Qi Y, Li X, Zhang Q, et al. Increased chemokine (C-C motif) ligand 21 expression and its correlation with osteopontin in Graves' disease. *Endocrine* 2015;50:123e9.
138. Qi, Y., Zheng, H., Liu, N., Guo, T., Zhu, W., Wang, S., & Ning, G. (2016). Genetic association between Interleukin-17A gene polymorphisms and the pathogenesis of Graves' disease in the Han Chinese population. *Clinical Endocrinology*, 84(2), 265-270.
139. Quaranta S., Chevalier D., Allorfe D., Lo-Guidice J.M., Migot Nabias F., Kenani A. et al. Ethnic differences in the distribution of CYP3A5 gene polymorphisms. *Xenobiotica* 2006; 36:1191–2000.
140. Qureshi OS, Zheng Y, Nakamura K, Attridge K, Manzotti C, Schmidt EM, Baker J, Jeffery LE, Kaur S, Briggs Z, Hou TZ, Futter CE, Anderson G, Walker LS, Sansom DM. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*. 2011;332:600–603.

141. Quteineh L., Verstuyft C., Furlan V. et al. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients // Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol. - 2008. - Vol. 103, №6.-P. 546-552.,
142. Radosavljevic VR, Jankovic SM, Marinkovic JM. Stressful life events in the pathogenesis of Graves' disease. Eur J Endocrinol 1996;134:699–701.;
143. Rapoport B, McLachlan SM. Reflections on thyroid autoimmunity: a personal overview from the past into the future. Horm Metab Res 2018;50:840-52.
144. Rapoport B, McLachlan SM. Graves' hyperthyroidism is antibody-mediated but is predominantly a Th1-type cytokine disease. J Clin Endocrinol Metabol 2014;99:4060-1.
145. Regensburg N.I, et al. Effect of smoking on orbital fat and muscle volume in Graves' orbitopathy. Thyroid 2011;21:177–81.
146. Reynolds, J.M., Angkasekwinai, P., and Dong, C. (2010) IL-17 family member cytokines: regulation and function in innate immunity. Cytokine Growth Factor Rev., 21, 413–423
147. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm and allergic disorders. Allergy 1998;53:12e5.; Dardalhon V, Korn T, Kuchroo V.K, Anderson A.C. Role of Th1 and Th17 cells in organ-specific autoimmunity. J. Autoimmun. 2008;31:252–256.
148. Romagnani, S., Maggi, E., Liotta, F., Cosmi, L., & Annunziato, F. (2009). Properties and origin of human Th17 cells. Molecular immunology, 47(1), 3-7.
149. Romagnani S. Regulation of the T cell response. Clin Exp Allergy. 2006;11:1357–1366.;
150. Ross Douglas, S., Burch Henry, B., Cooper David, S., Carol, G., Luiza, M., Rivkees Scott, A., & Walter Martin, A. (2016). 2016 American Thyroid Association guidelines for diagnosis and management of hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis. Thyroid.,
151. Rouvier, E., Luciani, M.F., Matti, M.G., Denizot, F., and Golstein, P. (1993) CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA in

- stability sequences, and homologous to a herpes virus aimirigene. *J. Immunol.*, 150, 5445–5456.
152. Rubtsova K, Marrack P, Rubtsov AV. Sexual dimorphism in autoimmunity. *J Clin Invest* 2015; 125: 2187 - 93.
153. Sato K. Satoh T. Shizume K. Ozawa M. Han D.C. Imamura H. Tsushima T. Demura H. Kanaji Y. Ito Y, et al. Inhibition of ¹²⁵I organification and thyroid hormone release by interleukin-1, tumor necrosis factor-alpha, and INF-gamma in human thyrocytes in suspension culture. *J Clin Endocrinol Metab.*1990;70:1735–1743.;
154. Schneider H, Smith X, Liu H, Bismuth G, Rudd CE. CTLA-4 disrupts ZAP70 microcluster formation with reduced T cell/APC dwell times and calcium mobilization. *Eur. J. Immunol.* 2008; 38:40–47.
155. Schomburg L. Selenium, selenoproteins and the thyroid gland: interactions in health and disease. *Nat.Rev.Endocrinol* 2011; 8:160–71.
156. Selmer C, Olesen J.B, Hansen M.L, et al. The spectrum of thyroid disease and risk of new onset atrial fibrillation: a large population cohort study. *BMJ :Br Med J /Br Med Assoc* 2012;345:e7895.6
157. Shukla S.K, et al. Infections, genetic and environmental factors in pathogenesis of autoimmune thyroid diseases. *Microb Pathog* 2018; 116:279–88.;
158. Simmonds M.J, Gough S.C. Unravelling the genetic complexity of autoimmune thyroid disease: HLA, CTLA-4 and beyond. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 136:1–10.
159. Simmonds M.J, et al. Skewed X chromosome inactivation and female preponderance in autoimmune thyroid disease: an association study and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E127–31.;
160. Singh R., Srivastava A., Kapoor R. et al. Impact of CYP3A5 and CYP3A4 gene polymorphisms on dose requirement of calcineurin inhibitors, cyclosporine and tacrolimus, in renal allograft recipients of North India / *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* - 2009. - Vol. 380, № 2. - P. 169-177.
161. Smith TJ, Hegedus L. Graves' disease. *N Engl J Med* 2016;375:1552e65.

162. Smith TJ. Is IGF-I receptor a target for autoantibody generation in Graves' disease? *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:515–518.
163. Spinelli C, Bertocchini A, Antonelli A, et al. Surgical therapy of the thyroid papillary carcinoma in children: experience with 56 patients < or j16 years old. *J Pediatr Surg* 2004;39:1500e5.
164. Stefan M, Jacobson E.M, Huber A.K, Greenberg D.A, Li C.W, Skrabanek L, Conception E, Fadlalla M, Ho K, Tomer Y. A novel variant of the thyroglobulin promoter triggers thyroid autoimmunity through an epigenetic interferon alpha-modulated mechanism. *J. Biol. Chem.* 2011
165. Strieder, T. G., Prummel, M. F., Tijssen, J. G., Endert, E., & Wiersinga, W. M. (2003). Risk factors for and prevalence of thyroid disorders in a cross-sectional study among healthy female relatives of patients with autoimmune thyroid disease. *Clinical endocrinology*, 59(3), 396-401.
166. Takahashi M, Kimura A. HLA and CTLA4 polymorphisms may confer a synergistic risk in the susceptibility to Graves' disease. *J. Hum. Genet.* 2010;55:323–326.
167. Takara M, Kouki T, De Groot L.J. CTLA-4 AT-repeat polymorphism reduces the inhibitory function of CTLA-4 in Graves' disease. *Thyroid.* 2003;13:1083–1089.
168. Tandon N, Freeman M.A, Weetman A.P. T cell response to synthetic TSH receptor peptides in Graves' disease. *Clin Exp Immunol.* 1992;89:468–473.
169. Tanrikulu S, Erbil Y, Ademoglu E, Issever H, Barbaros U, Kutluturk F, Ozarmagan S, Tezelman S. The predictive value of CTLA-4 and Tg polymorphisms in the recurrence of Graves' disease after antithyroid withdrawal. *Endocrine.* 2006;30:377–381.
170. Thyroid dysfunction: an autoimmune aspect / F.A.Khan, N. Al-Jameil, M.F. Khan, M. Al-Rashid, H. Tabassum // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015. 8(5). P. 6677-81
171. Tomer Y, Davies T.F. Infection, thyroid disease, and autoimmunity. *Endocr Rev* 1993;14:107–20

172. Tomer Y, Greenberg D.A, Barbesino G, et al. CTLA-4 and not CD28 is a susceptibility gene for thyroid autoantibody production. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1687-1693.;
173. TomerY, et al. Mapping of a major susceptibility locus for Graves' disease (GD-1) to chromosome 14q31. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1645–8.
174. Tsatsoulis A. The role of stress in the clinical expression of thyroid autoimmunity. *Ann NY Acad Sci* 2006;1088:382–95.
175. Tu Y, Fan G, Zeng T, et al. Association of TNF- α promoter polymorphism and Graves' disease: an updated systematic review and meta-analysis. *Biosci Rep* 2018;38
176. Ueda H, Howson J.M, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, Rainbow D.B, Hunter K.M, Smith A.N, Di Genova G, Herr M.H, Dahlman I, Payne F, Smyth D, Lowe C, Twells R.C, Howlett S, Healy B, Nutland S, Rance H.E, Everett V, Smink L.J, Lam A.C, Cordell H.J, Walker N.M, Bordin C, Hulme J, Motzo C, Cucca F, Hess J.F, Metzker M.L, Rogers J, Gregory S, Allahabadia A, Nithiyananthan R, Tuomilehto-Wolf E, Tuomilehto J, Bingley P, Gillespie K.M, Undlien D.E, Ronningen K.S, Guja C, Ionescu-Tirgoviste C, Savage D.A, Maxwell A.P, Carson D.J, Patterson C.C, Franklyn J.A, Clayton D.G, Peterson L.B, Wicker L.S, Todd J.A, Gough S.C. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature.*2003;423:506–511.
177. Vaidya B, Pearce S.H. Diagnosis and management of thyrotoxicosis. *BMJ :Br. Med. J/Br.Med Assoc* 2014;349:g5128.
178. Valtonen V.V, et al. Serological evidence for the role of bacterial infections in the pathogenesis of thyroid diseases. *Acta.Med.Scand.* 1986;219:105–11.
179. Vang T, Congia M, Macis M.D, Musumeci L, Orru V, Zavattari P, Nika K, Tautz L, Tasken K, Cucca F, Mustelin T, Bottini N. Autoimmune-associated lymphoid tyrosine phosphatase is a gain-of-function variant. *Nat. Genet.* 2005;37:1317–1319.
180. Vestergaard P. Smoking thyroid disorder - A meta-analysis. *Eur. J. Endocrinol* 2002;146:153–61

181. Wall, J. R., & Lahooti, H. (2011). Pathogenesis of thyroid eye disease—does autoimmunity against the TSH receptor explain all cases?. *Endokrynologia Polska*, 62(I), 1-7.
182. Watson P.F, Pickerill A.P, Davies R, Weetman A.P. Analysis of cytokine gene expression in Graves' disease and multinodular goiter. *J Clin Endocrinol Metab.*1994;79:355–360
183. Wemeau J.L, Klein M, Sadoul J.L, et al.Graves' disease: introduction, epidemiology, endogenous and environmental pathogenic factors. *Ann Endocrinol* 2018;79:599e607.
184. Weetman, A. P. (2000). Graves' disease. *New England Journal of Medicine*, 343(17), 1236-1248.
185. Wilhelm S.M, McHenry C.R. Total thyroidectomy is superior to subtotal thyroidectomy for management of Graves' disease in the United States. *World. J. Surg.* 2010;34:1261–1264.
186. Winsa B, et al. Stressful life events and Graves' disease. *Lancet* 1991;338:1475–9.
187. Xu Y, Graves P.N, Tomer Y, Davies T.F. CTLA-4 and autoimmune thyroid disease: lack of influence of the A49G signal peptide polymorphism on functional recombinant human CTLA-4. *Cell Immunol.* 2002;215:133–140.
188. Yamashita H, et al. High prevalence of vitamin D deficiency in Japanese female patients with Graves' disease. *EndocrJ* 2001; 48:63–9.
189. Yamazaki K. Kanaji Y. Shizume K. Yamakawa Y. Demura H. Kanaji Y. Obara T. Sato K. Reversible inhibition by interferons alpha and beta of 125I incorporation and thyroid hormone release by human thyroid follicles in vitro.*J Clin Endocrinol Metab.* 1993;77:1439–1441.
190. Yao, Z., Fanslow, W.C., Seldin, M.F.,Rousseau, A.-M., Painter, S.L., Comeau, M.R., Cohen, J.I., and Spriggs,M.K. (1995) Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity*, 3, 811–821

191. Zhu W, Liu N, Zhao Y, Jia H, Cui B, Ning G. Association analysis of polymorphisms in IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, and IL-13 with Graves' disease. *J. Endocrinol. Invest.* 2010;33:751–755.
192. Zimmermann M.B, Boelaert K. Iodine deficiency and thyroid disorders. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015;3:286–95.