

Некоммерческое акционерное общество «Медицинский университет Семей»

УДК: 616.441-008.5-33-006

На правах рукописи

**АХМЕТОВА ВЕНЕРА ТУРСЫНОВНА**

**Совершенствование изучения гетерогенности эпитопов  
антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными  
заболеваниями щитовидной железы**

6D110100 - Медицина

Диссертация на соискание степени  
доктора философии (PhD)

Научный руководитель  
докт. мед. наук, проф.  
Еспенбетова М.Ж.

Научные консультанты  
канд. биол. наук  
Кузьмина Н.С.  
канд. мед. наук  
Зубков А.В.

Республика Казахстан  
Семей, 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ</b> .....	4
<b>ОПРЕДЕЛЕНИЯ</b> .....	5
<b>ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ</b> .....	7
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	8
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	13
1.1 Изучение гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.....	13
1.2 Особенности клинического течения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (Overlap syndrome).....	20
1.3 Изучение роли интерлейкина 10 и фактора некроза опухоли альфа при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.....	23
1.4 Заключение по обзору литературы .....	28
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	31
2.1 Объект исследования.....	32
2.2 Характеристика методов исследования.....	34
2.2.1 Функциональное исследование функции ЩЖ.....	34
2.2.2 Методика исследования гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.....	35
2.2.3 Методика исследования ИЛ10 и Фактора некроза опухоли $\alpha$ в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.....	37
2.2.4 Статистическая обработка результатов исследования.....	39
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	41
3.1 Эпидемиологическая оценка аутоиммунных заболеваний щитовидной железы по Восточному Казахстану и Республике Казахстан.....	41
3.2 Синдром перекреста (overlap-syndrome) при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.....	46
3.3 Гетерогенность эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.....	51
3.4 Частота встречаемости ИЛ10 и Фактора некроза опухоли альфа в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.....	54
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	56
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b> .....	61
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b> .....	62
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А</b> - Анкета выявления состояния функции щитовидной железы .....	79
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Б</b> – Форма информированного согласия пациента.....	80
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В</b> - Акт внедрения № 1. КГП на ПХВ "Больница скорой медицинской помощи" г. Семей.....	81

<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Г</b> - Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы № 2. ТОО «Әділ-Ем» г. Семей .....	82
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Д</b> - Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы № 2. КГКП «Центр первичной медико-санитарной помощи №12 города Семей» управления здравоохранения области Абай.....	83
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Е</b> - Авторское право № 35248 от «27» апреля 2023 года «Совершенствование изучения гетерогенности эпителиальных антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы» .....	84
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Ж</b> - Авторское право № 35247 от «27» апреля 2023 года «Интерлейкин 10 и фактора некроза опухоли - $\alpha$ при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы».....	86
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ И</b> - Выражение признательности участникам исследования.....	88

## **НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:  
ГОСТ 2.105-95 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ 7.1-2003 Библиографическая запись. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления

ГОСТ 7.32-2001 Отчет о научно-исследовательской работе (Структура и правила оформления).

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В данной диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

**Антимикросомальные антитела (АМС) Antithyroid microsomal antibody**

- антитела к микросомам, расположенным внутри эпителиальных клеток, окружающих фолликулы щитовидной железы. Они образуют иммунные комплексы на поверхности клеток, активируют комплемент и цитотоксические лимфоциты, что приводит к повреждениям клеток и формированию воспалительного процесса. Со временем развивается фиброз щитовидной железы и снижается ее функция, что приводит к гипотиреозу.

**Выборка** – часть популяции, полученная путем случайного отбора.

**Костимулирующие молекулы** - совместная стимуляция - co-stimulation это вторичный сигнал, стимулирующий иммунные клетки для активации иммунного ответа в ответ на присутствие антиген-представляющей клетки. Костимуляция имеет решающее значение для развития эффективного иммунного ответа.

**Полиморфизм** – разнообразие генетических и морфологических признаков, формирующих различные группы (две или более) в одной и той же популяции

**Популяция** – совокупность особей одного вида, обладающая общим генофондом, и существующих на определённой территории.

**Паратоп** - часть антитела, взаимодействующая со специфическим эпитопом антигена.

**Сигнальный путь JAK-STAT** - представляет собой цепочку взаимодействий между белками в клетке и участвует в таких процессах, как иммунитет, деление клеток, гибель клеток и образование опухоли.

**Моноклональные антитела** - антитела, вырабатываемые иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону, то есть произошедшими из одной плазматической клетки-предшественницы.

**Миелопероксидаза** – лизосомальный фермент, присутствующий в гранулоцитарных и моноцитарных клетках. Миелопероксидаза экспрессируется в нейтрофильных и эозинофильных ростках на всех стадиях созревания, но в базофилах чаще выявляется в незрелых формах. Миелопероксидаза имеет гемовый (подобный крови) пигмент, который придает зеленый цвет выделениям, богатым нейтрофилами (иммунными клетками, способными уничтожать патогены), таким как гной и некоторые формы слизи.

**Фактор риска** – обстоятельство (внешнее или внутреннее), отрицательно влияющее на здоровье человека и создающее благоприятную среду для возникновения и развития заболеваний

**Фолдинг** - процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи.

**Эпитопы** - (англ. epitope), или антигенная детерминанта — часть макромолекулы антигена, которая распознаётся иммунной

системой (антителами, В-лимфоцитами, Т-лимфоцитами).

**Ядерный фактор κВ** «каппа-би» - англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB) - универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла.

**Overlap-syndrome** - (синдром перекреста) означает, что у одного больного наблюдаются признаки двух различных аутоиммунных заболеваний, имеющих общий патогенез.

**Fragment antigen-binding-** участок связывания антигена — участок молекулы иммуноглобулина, который связывает антиген.

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АИЗЩЖ - аутоиммунные заболевания щитовидной железы  
АИТ - аутоиммунный тиреоидит  
АТ к ТПО – антитела к тиреопероксидазе  
АТ кТГ – антитела к тиреоглобулину  
АТ к РТТГ - антитела к рецепторам тиреотропного гормона  
БГ - болезнь Грейвса  
ВКО – Восточно-Казахстанская область  
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения  
ГУ – Государственное учреждение  
ДИ – Доверительный интервал  
ДТЗ - диффузный токсический зоб  
ИФА – иммуноферментный анализ  
МкАТ - моноклональные антитела  
МЕ – международная единица  
ОШ – отношение шансов  
ПБ – пункционная биопсия  
РК – Республика Казахстан  
СИЯП – Семипалатинский испытательный ядерный полигон  
ТТГ - тиреотропный гормон  
ТХ - тиреоидит Хашимото  
ТПО - тиреопероксидаза  
Т4 - гормон щитовидной железы тироксин  
Т3 – гормон щитовидной железы трийодтиронин  
УЗИ – ультразвуковое исследование  
ЩЖ – щитовидная железа  
SPSS – Statistical Package for the Social Sciences

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы:** Аутоиммунные заболевания щитовидной железы являются наиболее распространенными органоспецифическими заболеваниями. В частности, существует вероятность что у ~1% населения в течение жизни может развиваться диффузный токсический зоб, а у ~15% взрослых женщин - диагностирован аутоиммунный тиреоидит (Caturegli P. et al., 2007, Hollowell J.G. et al., 2002). При данных патологиях происходят аутоиммунные перекресты, которые характеризуются комбинацией клинических, биохимических и серологических проявлений, свойственных нескольким заболеваниям этого органа, данный симптомокомплекс называют синдром перекреста или «overlap-syndrome» (Генделека Г.Ф., 2014, J.M. Anaya et al., 2016, Edit Biro et al., 2006)

Термин синдром перекреста означает, что у одного больного наблюдаются признаки двух различных аутоиммунных заболеваний, имеющих, вероятно, общий патогенез. Факторы, определяющие баланс между диффузным токсическим зобом и аутоиммунным тиреоидитом, неизвестны.

Основными антигенами, имеющими значение в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, являются тиреопероксидаза (ТПО), тиреоглобулин (ТГ), рецептор тиреотропного гормона (рТТГ).

В сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы выявляются антитела к ТГ, ТПО и к рТТГ. С помощью моноклональных антител показано, что антитела к ТПО взаимодействуют с различными участкам тиреопероксидазы (А.В. Зубков и др., 2011, S.M. McLachlan et al., 2017).

Предполагается, что исследование гетерогенности аутоантител к эпитопам ТПО у больных с различными нарушениями щитовидной железы позволит уточнить патофизиологические механизмы развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

В последние годы наблюдается прогресс в изучении механизма, лежащего в основе аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Было продемонстрировано в ряде исследований по идентификации Т- и В-клеточных эпитопов, *in silico*, *in vitro*, *in vivo* и в клинических экспериментах (H. Inaba et al., 2006, H.J. Lee et al., 2015).

В настоящее время исследование гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы не проводились в группах больных, находящихся в условиях неблагоприятной экологии и йодной недостаточности. На основании проведенных исследований и проведенного мета анализа, были предложены ключевые идеи патогенеза и лечения диффузного токсического зоба и аутоиммунного тиреоидита. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения и уточнения сдвигов в звеньях иммунологической системы, а также проведение дифференциальной диагностики между диффузным



токсическим зобом, аутоиммунным тиреоидитом и синдромом перекреста. Целесообразно разработать алгоритм диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

В развитии и прогрессировании аутоиммунных заболеваний щитовидной железы важную роль играют цитокины. Чтобы оценить роль цитокинов в инициации или подавлении аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, важно понять иммунологические события, которые запускают аутоиммунный ответ, что в конечном итоге приводит к ассоциированной патологии. Цитокины модулируют реакции воспаления и иммунитета, регулируя рост, подвижность и дифференцировку лимфоидных и нелимфоидных клеток. Особый интерес для изучения этиологии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы представляют интерлейкин-10 (ИЛ10) и фактор некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ) (Balaji V. Ganesh et al., 2011, Moore et al., 2001).

Разработанный диагностический алгоритм на основе оценки прогностической значимости гетерогенности аутоантител к эпитопам тиреопероксидазы при различных аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы позволил оптимизировать диагностические и лечебные вмешательства у пациентов с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.

#### **Цель исследования**

Разработать эффективные критерии диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы путем изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с АИЗЩЖ с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе.

#### **Задачи исследования**

1. Провести эпидемиологическую оценку аутоиммунных заболеваний щитовидной железы по ВК, СКО, ЮКО, ЗКО.
2. Оценить гетерогенность эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием панели моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе.
3. Исследовать роль цитокинов – ИЛ-10, ФНО- $\alpha$  в формировании аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.
4. Разработать алгоритм диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

#### **Научная новизна**

1. Впервые изучена гетерогенность эпитопов, распознаваемых антителами к ТПО, в сыворотке крови пациентов с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы в Казахстане, при синдроме перекреста (overlap-syndrome). Данное исследование можно рассматривать как первую попытку получить представление о специфичности эпитопов при синдроме перекреста (overlap-syndrome).

2. Выраженное ингибирование связывания МКАТ 82 при синдроме перекреста (overlap-syndrome) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения диффузного токсического зоба.

3. Повышенный уровень ФНО- $\alpha$  может рассматриваться в качестве предиктора тяжести клинического течения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

4. Не обнаружено статически значимых различий в уровне ИЛ-10 в образцах сыворотки крови пациентов с гипо- и гиперфункцией щитовидной железы.

5. Разработать алгоритм диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител.

### **Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту**

1. Выявлена тенденция увеличения заболеваемости аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы в различных регионах Казахстана: Восточном Казахстане, Северо-Казахстанской области, Южно-Казахстанской области, Западно-Казахстанской области.

2. Выраженное ингибирование связывания МКАТ 82 при синдроме перекреста можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения диффузно токсического зоба. Ингибирование связывания МкАТ 63 в сыворотке крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом более значительно, чем в сыворотке крови пациентов с диффузно токсическим зобом.

3. Повышенный уровень ФНО- $\alpha$  может рассматриваться в качестве предиктора тяжести клинического течения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

4. Не обнаружено статически значимых различий в уровне ИЛ-10 в образцах сыворотки крови пациентов с гипо- и гиперфункцией щитовидной железы.

5. Разработан алгоритм диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител.

### **Практическая значимость**

1. Диагностика синдрома перекреста (overlap-syndrome) с применением диагностического биомаркера МкАТ 82.

2. Рекомендован алгоритм диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител.

### **Сведения о публикациях**

10 публикаций, из них – 1 статья в базе Scopus (Journal of Clinical & Translational Endocrinology, Volume 27, March 2022, 100293), издательство Elsevier Inc., 3 – в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК (2 статьи в журнале «Астана

медициналық журналы» и 1 статья в журнале «Вестник КазНМУ»), 5 – в материалах международных конференции с участием и публикацией тезисов; 2 тезисов докладов на международных конференциях.

Результаты исследования доложены на международных конференциях с публикацией тезисов в материалах международных конференции в дальнем зарубежье «Proceedings of the 6th International Scientific and Practical Conference international forum: problems and scientific solutions» Мельбурн, Австралия 2020 г.; «Proceedings of the 2-nd International Scientific and Practical Conference global and regional aspects of sustainable development» Копенгаген, Денмарк 26-28.02.2021г.; 12-th International Congress on Autoimmunity, Athens, Greece, 28 May -1 June, 2021 «A study on the immune system traits in the pathogenesis of Graves disease and autoimmune thyroiditis, №1842; 13-th International Congress on Autoimmunity, Athens, Greece, 10-13 June, 2022 , «Heterogeneity of antibody-reactive epitopes to thyroid peroxidase in patients with autoimmune diseases and overlap syndrome», 372 Topic: AS45 372 Topic: AS45, Thyroid autoimmunity.

Результаты работы доложены с публикацией тезисов в сборнике VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием "VolgaMedScience", ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, 17-18 марта 2022 года, Нижний Новгород.

Международная конференция в Токио, Япония. Scientific advances and innovative approaches Proceedings of the I International Scientific and Practical Conference 01-02 Декабрь 2022.

Участие с публикацией тезиса XIII Международной научно-практической конференция «Наука и образование в современном мире: Вызовы XXI века» Республика Казахстан, г. Астана. 27-31 Май 2023 год.

Участие с публикацией тезисов на 3 конференциях республиканского уровня: Республиканская научно-практическая конференция г. Семей с международным участием «Обязательное социальное медицинское страхование – повышение эффективности системы здравоохранения» 25 сентября 2020 года; республиканская научно-практической конференции с международным участием «Эндокринологические заболевания: современные подходы в диагностике и лечении» г. Семей, Республика Казахстан 14 ноября 2019 г.; 2 тезиса на конференции молодых ученых «Наука и здоровье», посвященной 70-летию члена-корреспондента НАЕН Республики Казахстан, профессора Дюсупова А.З. и ассоциированного профессора Дюсуповой Б.Б..

#### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно проанализирована научная литература по теме диссертации, а также данные статистики региональных поликлиник.

Диссертантом изучена специфичность аутоантител к ТПО методом конкурентного ИФА, обобщены результаты, проведена статистическая обработка полученных данных. Все разделы диссертации цели, задачи и программы исследования, сбор и обработка материала, разработка основных положений диссертации, заключения, выводы и практические рекомендации

сформулированы и написаны автором самостоятельно.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 88 страницах, состоит из введения, 3 разделов собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, библиографического списка, включающего 219 наименований отечественной, русскоязычной и зарубежной литературы, содержит 7 таблиц, 13 рисунков.

## 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Изучение гетерогенности антитиреопероксидазных аутоантител при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы

Наиболее частыми органоспецифическими аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы (АИЗЩЖ) являются диффузный токсический зоб (ДТЗ) и аутоиммунный тиреоидит (АИТ). Они наблюдаются чаще, чем сахарный диабет 1 типа и рассеянный склероз: распространенность диффузного токсического зоба в общей популяции составляет около 1 %, в то время как аутоиммунный тиреоидит встречается примерно у 15 % взрослых женщин, преимущественно в субклинической форме [1-2]. Как диффузный токсический зоб, так и аутоиммунный тиреоидит сопровождаются циркуляцией антитиреоидных аутоантител и инфильтрацией щитовидной железы аутореактивными лимфоцитами. К группе риска относятся преимущественно женщины в возрасте старше 40 лет [3].

АИЗЩЖ – группа заболеваний, опосредованных как В-клетками, так и Т-клетками, характеризующиеся потерей иммунной толерантности и аутоиммунной атакой на ткани щитовидной железы. Наряду с высокой распространенностью в последние годы отмечается рост АИЗЩЖ [4].

Клиническими маркерами АИЗЩЖ являются антитела к рецептору тиреотропного гормона (АТ к рТТГ), антитела к тиреоглобулину (АТ к ТГ) и антитела к тиреоидной пероксидазе (АТ к ТПО). В настоящее время АТ к ТПО обнаруживаются в сыворотке крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом почти в 100 % случаев и несколько менее распространены у пациентов с диффузно токсическим зобом – в 50 - 90 % случаев. Однако АТ к ТПО часто обнаруживаются в сыворотке крови здоровых лиц, в 5 раз чаще встречаются у женщин по сравнению с мужчинами. Клиническое значение наличия АТ в образцах сыворотки крови для людей с неповрежденной функцией щитовидной железы остается неясным. Концентрация АТ к ТПО у пациентов с диффузным токсическим зобом коррелируют с интенсивностью повреждения ткани щитовидной железы [5-6]. АТ к ТПО могут активировать каскад комплемента и опосредовать антителозависимую клеточную цитотоксичность на тироцитах *in vitro* [7]. Имеются интересные данные, показывающие, что ТПО-специфические В-клетки способны действовать как антигенпрезентирующие клетки. Важно отметить, что АТ к ТПО у больных с АИЗЩЖ распознают ограниченное количество эпитопов в иммунодоминантных областях А и В [8,9]. Обычно АТ к ТПО распознают

конформационные эпитопы, расположенные на поверхности молекулы, но они также способны распознавать линейные эпитопы тиреопероксидазы.

Ответственные за клинические проявления ДТЗ, антитела к рецептору тиреотропного гормона (АТ к рТТГ), выявляются как у пациентов с ДТЗ так и с АИТ [10-12] и таким образом, являются специфическим биомаркером АИЗЩЖ. И ДТЗ, и АИТ характеризуются лимфоцитарной инфильтрацией в тканях щитовидной железы. Считается, что продукция аутоантител В-клетками является первичной иммунной реакцией при АИЗЩЖ. Аберрантные функции субпопуляций Т-клеток также играют важную роль в нарушении иммунного гомеостаза и возникновении аутоиммунитета против тканей щитовидной железы. Главной особенностью АТ к рТТГ, обладающих тиреотропной или тиреоблокирующей активностью, являются высокая аффинность связывания с рТТГ и способность ингибировать связывание ТТГ с рецептором [13].

Тиреоглобулин — основной белок коллоида щитовидной железы, гликопротеин с м.м. более 660 кДа. Синтез антител к ТГ может быть и при обширном разрушении ткани щитовидной железы, но высокие уровни ТГ в крови сами по себе не вызывают выработку антител [14]. Антитела к тиреоглобулину (АТ к ТГ) не фиксируют комплемент. Кроме того, АТ к ТГ при ДТЗ принадлежат в основном к классу IgG4, который не связывается с комплементом. Антитела к другим тиреоидным аутоантигенам рутинно не определяются, поскольку их частота встречаемости намного ниже, а их физиологическая роль до конца не изучена [15].

В последние два десятилетия проводятся генетические исследования по выявлению генов-кандидатов, имеющих значение в развитии АИЗЩЖ. Показано, что решающая роль в установлении периферической толерантности принадлежит: FOXP3 (скурфин) из семейства белков FOX (forkhead box proteins), основному регулятору транскрипционных процессов, связанных с реализацией иммуносупрессивных свойств Т-регуляторных клеток; CD25 -белку из группы дифференцировочных антигенов лейкоцитов; CD40 - мембранному гликопротеину на поверхности активированных Т-клеток; HLA (Human Leukocyte Antigens) — группе антигенов гистосовместимости, главный комплекс гистосовместимости у людей и др. Данные гены и белки являются ключевыми для активации Т-лимфоцитов и презентации антигена [16]. Такие иммуномодулирующие факторы, как FOXP3 и CD25, а также CD40, CTLA4 и HLA могут вызывать дисфункцию иммунных клеток и потерю иммунного гомеостаза, что в дальнейшем может привести к развитию АИЗЩЖ. Однако эти генетические факторы не могут полностью объяснить предрасположенность больных к АИЗЩЖ, тем более, что факторы окружающей среды также играют важную роль в развитии АИЗЩЖ [17,18]. Отсутствие полной конкордантности у монозиготных близнецов доказывает важность факторов окружающей среды в развитии АИЗЩЖ. Доказано, что такие факторы окружающей среды, как высокое потребление йода, дефицит витамина D, неблагоприятный радиационный

фон являются риском возникновения АИЗЖЦ. Генетические и экологические факторы могут взаимодействовать друг с другом, вызывать дисфункцию иммунных клеток и приводить к развитию АИЗЦЖ, но механизмы, приводящие к заболеванию, до сих пор до конца не изучены [19-24]. Адаптивный иммунитет опосредован Т- и В-клетками, которые являются иммунными клетками, способными развивать патоген-специфическую память, обеспечивающую иммунологическую защиту. Память и эффекторные функции В- и Т-клеток основаны на распознавании через специализированные рецепторы специфических мишеней (антигенов) в патогенах. Более конкретно, В- и Т-клетки распознают части своих родственных антигенов, известные как эпитопы. Существует большой интерес к идентификации эпитопов в антигенах по ряду практических причин, включая понимание этиологии заболевания, иммунный мониторинг, разработку диагностических тестов и разработку новых способов лечения на основе диагностически значимых эпитопов [25-26].

Иммунные клетки распознают эпитопы (антигенные детерминанты), а не целые антигены. Эпитопы представляют собой области антигена, которые связаны с антиген-специфическими мембранными рецепторами на лимфоцитах или с секретируемыми антителами [27-28]. Т-клетки распознают Т-клеточные эпитопы, представляющие собой линейные пептиды, полученные из белковых антигенов и представленные молекулами главного комплекса гистосовместимости. В-клетки и антитела распознают В-клеточные эпитопы, которые могут быть небольшими химическими соединениями или компонентами более крупных макромолекул, таких как нуклеотиды, липиды, гликаны и белки [29-30]. В качестве молекулярной основы иммунного распознавания и иммунного ответа оба типа эпитопов представляют ценную информацию, полезную для профилактики заболеваний, диагностики и лечения [31-32]. С помощью сравнительного анализа гетерогенности моноклональных антител, можно определить тонкую специфическую эпитопную направленность аутоантител при АИЗЦЖ.

## Эпитоп и паратоп

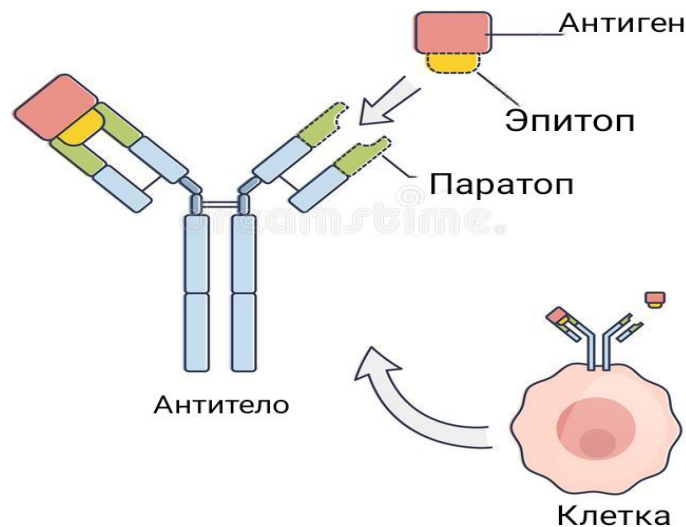


Рисунок 1 - Эпитоп и паратоп

Эпитоп (англ. Epitope), (рисунок 1) или антигенная детерминанта — представляет собой области белков, которые могут запускать клеточный иммунный ответ, опосредованный Т- или В-клетками. Т-клеточные эпитопы обычно представляют собой белковые пептиды, происходящие от антигена, представленные молекулами ГКГС на антигенпрезентирующих клетках и распознаваемые Т-клеточными рецепторами. Антигенные детерминанты В-клеток представляют собой либо пептиды, либо остатки белка на поверхности, которые связываются с антителом. Часть антитела, распознающая эпитоп, называется паратоп.

Эпитопы из макромолекул, особенно белков, дополнительно классифицируются еще на две категории. Первые, называемые линейными эпитопами, представляют собой сегменты, состоящие из непрерывной цепочки остатков вдоль полимерной цепи. Вторые, называемые конформационными эпитопами, состоят из нескольких последовательно прерывистых сегментов, которые объединяются в результате сворачивания антигена в его нативную структуру (рисунок 2) Линейные эпитопы представляют собой короткую непрерывную последовательность аминокислот, расположенных на поверхности антигена. Хотя изолированный линейный эпитоп не имеет конформационной информации, он обычно гибок и может адаптировать свою конформацию для образования слабых взаимодействий с комплементарным антителом. Второй тип эпитопа, конформационный эпитоп, состоит из остатков, которые не являются непрерывными по последовательности, и примыкают на структурной поверхности белка после фолдинга [33-35].



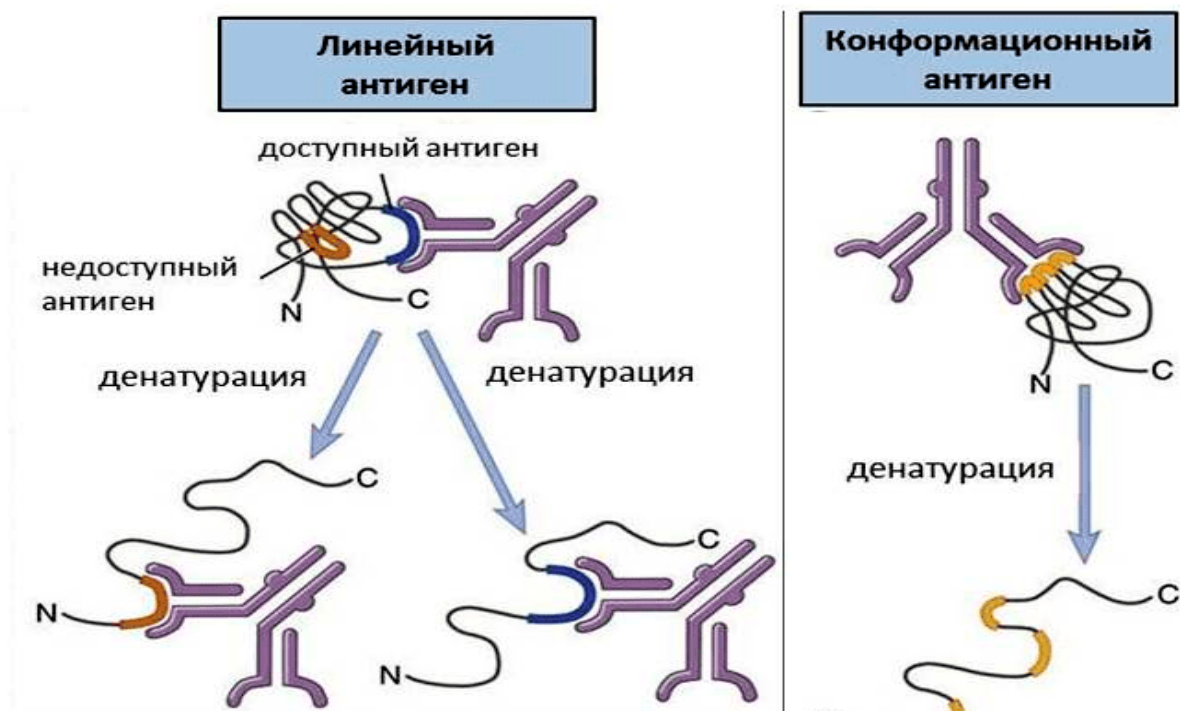


Рисунок 2 - Линейные и конформационные эпитопы

Эпитопы могут определяться такими методами, как ELISPOT и ELISA, а также с использованием биочипов. Антитела являются ключевыми агентами гуморального иммунитета, продуцируемыми В-клетками, которые нацелены на эпитопы В-клеток и участвуют в инфекционных, раковых и аутоиммунных заболеваниях. Как было описано выше В-клеточные эпитопы это участки антигенных белков, распознаваемые антителами. Антигенные детерминанты В-клеток являются линейными или конформационными [36-37]. Т-клетки распознают и изучают эпитопы, представленные молекулами главного комплекса гистосовместимости на поверхности ядерных клеток. Чтобы иметь возможность выполнять эту задачу, Т-клетки должны быть способны различать нативные «собственные» пептиды от пептидов, происходящих от патогенов, инфекций или геномных мутаций. Чтобы эффективно установить и инициировать иммунный ответ, Т-клетки должны пройти активацию. Основным требованием для активации Т-клеток является молекулярное распознавание между Т-клеточным рецептором, экспрессируемым на поверхности Т-клетки, и главным комплексом гистосовместимости, присутствующими на поверхности других клеток. Этот точный процесс распознавания имеет первостепенное значение для хорошо функционирующей иммунной системы и определяется механизмом, называемым центральной толерантностью [38-39].

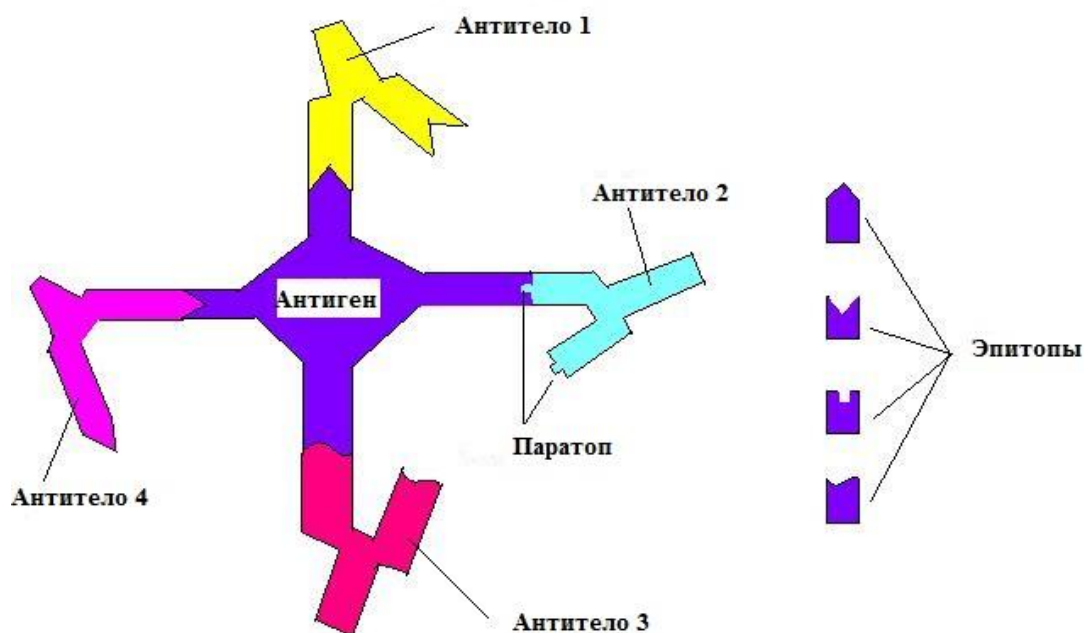


Рисунок 3 - Распознавание эпитопов (антигенных детерминант), иммунными клетками

Идентификация эпитопов в антигенах представляет большой интерес по ряду практических причин, включая понимание этиологии заболевания, иммунный мониторинг, разработку диагностических тестов и разработку вакцин на основе эпитопов. Эпитопы В-клеток могут быть идентифицированы различными методами, включая изучение трехмерной структуры комплексов антиген-антитело, скрининг библиотеки пептидов на связывание антител или выполнение функциональных анализов, в которых антиген мутирует и оценивается взаимодействие антитело-антиген (рисунок 3) [40-42].

Взаимодействие эпитопа и паратопа.

Верхняя часть иммуноглобулина состоит из двух антиген-связывающих участков, в которых антигены распознаются и связываются. Вместо такого длинного термина часто используют английскую аббревиатуру  $F_{ab}$  (fragment antigen binding). Вся верхняя антиген-связывающая часть иммуноглобулина, состоящая из обоих  $F_{ab}$ , обозначается термином «паратоп» (пара антиген-связывающих участков): легкая цепь, а также верхняя часть тяжелой цепи, входящие в состав каждого  $F_{ab}$ , состоят из константного (неизменного) и переменного (изменяемого) доменов – на рисунке 4 переменные домены схематично изображены в виде лапок щипцов.

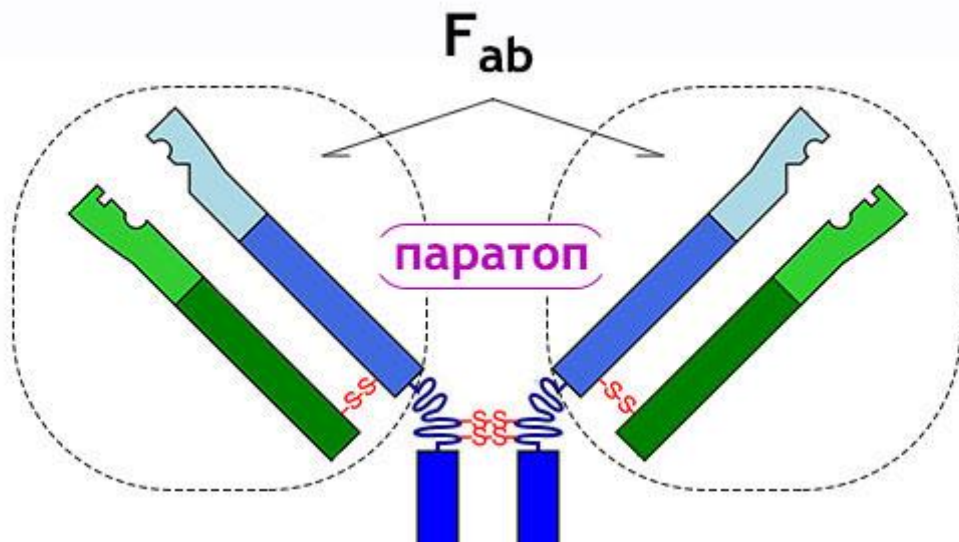


Рисунок 4 - Эпитопа и паратоп. Взаимодействие

Часть макромолекулы антигена, распознаваемая иммунными клетками и есть эпитоп. Специфичность антитела определяет антигенсвязывающий центр, которая образует поверхность, комплементарную эпитопу антигена. Связывание антигена антителом не ковалентно. Интересно, что распознавание паратопом эпитопа происходит в основном благодаря тому, что эпитоп обладает определенной трехмерной молекулярной структурой и определенным распределением электрических зарядов, которые точно соответствуют (в смысле комплементарности) структуре и распределению зарядов паратопа. В результате этого точного соответствия и становится возможным плотный контакт между ними, а затем и захват эпитопа паратопом. Таким образом, поверхность паратопа пространственно и электрически комплементарна поверхности эпитопа антигена в том же самом смысле, в котором комплементарны пары азотистых оснований в структуре двойной спирали молекул ДНК [43]. Чтобы паратоп мог связаться со своим эпитопом, взаимодействующие участки должны быть комплементарными по конформации.

Доказательство первоначального антигенного состояния при спонтанном аутоиммунном заболевании щитовидной железы проявляется взаимодействиями аутоантител с иммунодоминантными участками аутоантигенов щитовидной железы, тиреоглобулина, тиреопероксидазы и рецептора тиреотропного гормона [40, с. 4].

Доказано, что антитела, индуцированные экспериментально к тиреоглобулину, взаимодействуют с множественными, широко разнообразными эпитопами на большой (660 кДа) димерной молекуле тиреоглобулина, тогда как аутоантитела к тиреоглобулину в сыворотке крови человека взаимодействуют с ограниченным числом эпитопов. Распознавание ограниченных эпитопов на больших гликозилированных аутоантигенах щитовидной железы (А-субъединица рТТГ 60 кДа, ТРО 100

кДа и Tg 660 кДа) облегчает изучение положений аминокислот в иммунодоминантных областях.

Характеристика эпитопов, распознаваемых аутоантителами ТПО и ТГ, также была проведена с помощью конкурентного анализа с использованием моноклональных антител [44-45].

Большой интерес в исследовании патогенеза АИЗЦЖ представляют работы Inaba H., [46] где изучена функция и конформация рецептора тиреотропного гормона. Было исследовано его взаимодействие с молекулами главного комплекса гистосовместимости -класса II и представление Т-клеткам. Соотношение рецептора тиреотропного гормона и главного комплекса гистосовместимости с точки зрения презентации эпитопа рецептора тиреотропного гормона имеет решающее значение в развитии АИЗЦЖ. Многочисленные исследования по идентификации Т- и В-клеточных эпитопов также продемонстрировали, что нарушение центральной и периферической толерантности может способствовать развитию АИЗЦЖ [47].

В исследованиях некоторых ученых на экспериментальной модели у мышей продемонстрировано, что у животных, иммунизированных рекомбинантной мышиной тиреоидной пероксидазой, развивался лимфоцитарный тиреоидит и увеличивался уровень антител к ТПО. Для определения иммунодоминантных эпитопов ТПО проводили анализы пролиферации Т-клеток, в которых клетки лимфатических узлов, примированные рекомбинантной мышиной тиреоидной пероксидазой, реагировали с рекомбинантными фрагментами ТПО или короткими перекрывающимися синтетическими пептидами ТПО. Показано, что ТПО является важным антигеном щитовидной железы в иницировании дисфункции щитовидной железы. Тот факт, что активация одного иммунодоминантного Т-клеточного эпитопа способна индуцировать тиреоидит и гипотиреоз, подчеркивает критическую роль патогенных Т-клеток, специфичных к ТПО, в развитии АИЗЦЖ. Распознавание и дифференцировка Т-клеточных антигенных детерминант тиреопероксидазой, позволит разработать иммунотерапию для профилактики и лечения хронического гипотиреоза у данных категории больных [48-57].

Имеются сообщения, что линейные или конформационные эпитопы, а также молекулярная структура эпитоп-связывающей бороздки в рецепторе клеточной поверхности главного комплекса гистосовместимости класса II связаны с патогенезом АИЗЦЖ. Дисфункция центральной толерантности в тимусе или периферической толерантности, такой как регуляторные Т-клетки, может также привести к развитию АИЗЦЖ. Сообщается, что новые методы лечения с использованием антагонистов рецептора тиреотропного гормона или мутированных пептидов рецептора тиреотропного гормона были эффективными [58-62].

Несмотря на успехи в понимании патогенеза АИЗЦЖ и их лечении, необходимы дальнейшие исследования для выяснения точных

иммунологических систем при АИЗЩЖ.

Таким образом, пытаясь выяснить причины такой гетерогенности уровней эпитопов у пациентов с различными АИЗЩЖ, становится возможным прояснить патофизиологию ДТЗ и АИТ.

## **1.2 Особенности клинического течения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (Overlap syndrome)**

Аутоиммунные заболевания щитовидной железы это класс сложных полигенных нозологии, возникновение которых осуществляется многими экзогенными и эндогенными факторами, способствующих аутоиммунному повреждению щитовидной железы. Гипотиреоз и гипертиреоз являются распространенными состояниями с потенциально разрушительными последствиями для здоровья населения во всем мире [63-70].

Клиническая картина при АИТ и ДТЗ, гистопатологические особенности сильно различаются [71-76]. Последовательный переход от диффузно токсического зоба к синдрому перекреста (overlap-syndrome) и далее аутоиммунному тиреоидиту нередко встречается во всем мире [77-78].

Различные патогенетические факторы, провоцирующие запуск аутоиммунных реакций при синдроме перекреста (overlap-syndrome) до конца не выяснены. К факторам риска развития overlap-syndrome относят высокий титр антител к рецептору ТТГ, тяжелый гипертиреоз, большой размер щитовидной железы (> 50 мл) и неоднократные курсы лечения радиоактивным йодом [78-82]. Пусковым фактором может быть бактериальная или вирусная инфекция, (yersenia enterocolitica, ретровирусы), нарастающие химическое и радиационное загрязнение окружающей среды, и стрессы у генетически предрасположенных лиц (рисунок 5) [83-85].

Термин «overlap- syndrome» означает, что у одного и того же пациента наблюдаются и клинические и лабораторные признаки двух разных аутоиммунных заболеваний имеющих, по всей вероятности, общий патогенез [86-88].

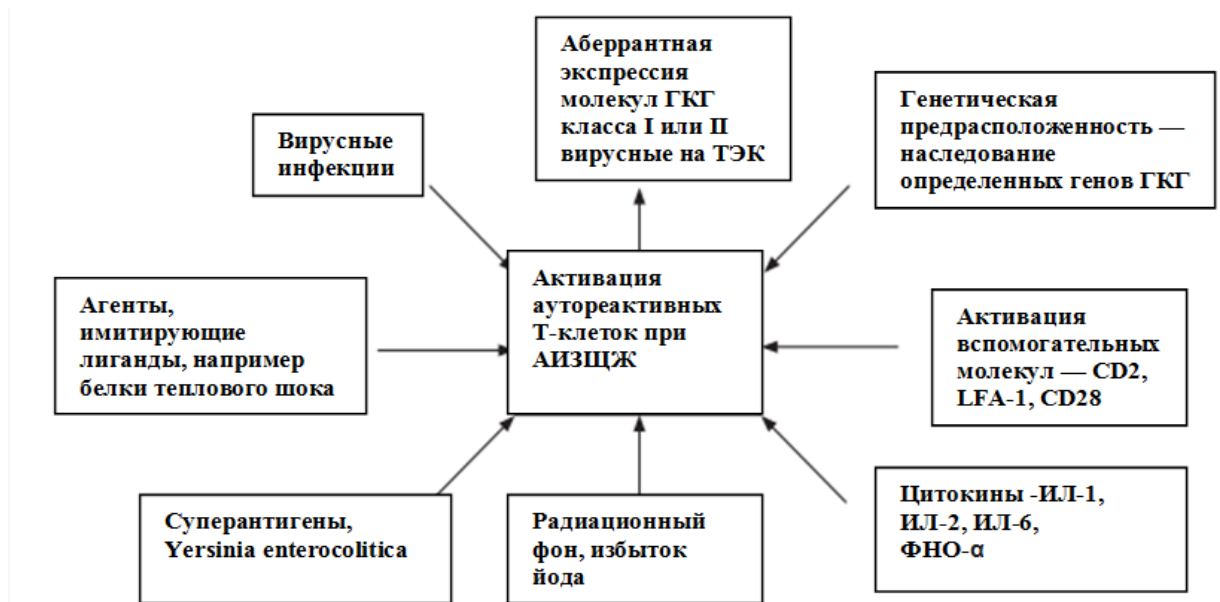


Рисунок 5 – Средовые, генетические факторы и иммунорегуляторные механизмы аутореактивных Т-клеток при АИЗЦЖ

Изучение синдрома перекреста (overlap-syndrome), необходимо для создания эффективных методов диагностики и лечения больных с синдромом перекреста.

Аутоиммунные заболевания щитовидной железы, а именно ДТЗ и АИТ, проявляются в основном в результате опосредованного Т-клетками аутоиммунного воспаления железы, приводящей к лимфоцитарной инфильтрации паренхимы щитовидной железы [89-93]. Аутоиммунный тиреоидит – хроническое воспалительное заболевание щитовидной железы [94-98].

Диффузный токсический зоб – аутоиммунный процесс, который приводит к гипертиреозу, характеризуется наличием антител к рецептору тиреотропина и клинически – экзофтальмом и претибиальной микседемой [99-102]. Патофизиология, лежащая в основе перехода от диффузно токсического зоба к синдрому перекреста (overlap-syndrome), остается в значительной степени неизвестной. Есть три гипотезы: первая предполагает, что синтез различных аутоантител может вызывать сложное взаимодействие между несколькими типами антител и щитовидной железой, приводящее к конверсии; вторая – что дисфункция щитовидной железы и многократное лечение радиоактивным йодом представлена как гипертиреоз из-за тяжелого повреждения ткани, но затем щитовидная железа постепенно восстанавливается после травмы и становится способной реагировать на тиреостимулирующие антитела, что приводит к постепенному переходу в синдром перекреста (overlap-syndrome) [103-110]; третья – что возрастные изменения в иммуномодулирующем состоянии могут управлять трансформацией между этими аутоиммунными нарушениями [111-115].

Ранее полагали, что в сыворотке крови пациентов с ДТЗ выявляются только антитела к рецептору тиреотропного гормона. Однако было признано, что тиреостимулирующие антитела и блокирующие антитела могут присутствовать у одного и того же пациента [116]. Отмечено, что тиреостимулирующие антитела, проявляющие активность в более низких концентрациях, вначале могут вызывать гипертиреоз. Однако замечено, что прогрессирование заболевания за счет непрерывной экспрессии антител к рецептору тиреоглобулина и антител к тироидной пероксидазе может вызывать лимфоцитарную инфильтрацию щитовидной железы, вызывая, таким образом, разрушение фолликулов. Это приводит к возможному гипотиреозу в клинической картине и развитию синдром перекреста (overlap-syndrome) [117].

Стандартизация диагностических критериев синдрома перекреста (overlap-syndrome) до сих пор не достигнута, поскольку эти расстройства встречаются не так часто и до настоящего времени до конца не изученными. Постоянный мониторинг функции щитовидной железы у пациентов с чередующимся гипертиреозом и гипотиреозом сложен и представляет собой клиническую дилемму. Должно быть длительное клиническое наблюдение за синдромом перекреста (overlap-syndrome), который может проявляться спустя годы после начала этапа контролируемого заболевания. Эта пациенты должны находиться под пристальным вниманием, учитывая непредсказуемый характер альтернирующего заболевания щитовидной железы, а также для тщательной корректировки антитиреоидных препаратов путем «блокируй-замещай». Осведомленность клинициста об этом заболевании имеет большое значение для диагностики и лечения синдрома перекреста (overlap-syndrome).

Переход от диффузного токсического зоба к синдрому перекреста (overlap-syndrome) требует эффективного, органосохраняющего лечения пациентов. Согласно клиническим рекомендациям клинически выраженную форму диффузного токсического зоба следует лечить радиоактивным йодом, хирургическим вмешательством и/или метимазолом [118-125]. Поиск диагностических маркеров, полезных для выбора терапии, имеет решающее значение.

Таким образом, изучая случаи перехода диффузного токсического зоба в синдром перекреста (overlap-syndrome) мы надеемся повысить осведомленность клиницистов об этом редком явлении и проиллюстрировать потенциальные механизмы, лежащие в основе таких изменений. Улучшение распознавания и идентификации синдрома перекреста (overlap-syndrome) позволит клиницистам оперативно проводить соответствующее лечение, тем самым повышая качество жизни пациентов.

### **1.3 Изучение роли интерлейкина 10 и фактора некроза опухоли- $\alpha$ при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы**

Аутоиммунные заболевания характеризуются самореактивными иммунными процессами, опосредованными В- и Т-клетками. Эти расстройства проявляют спектр клинических особенностей, варьирующих от местных или органоспецифичных до системных заболеваний. Иммунная система организована сложной сетью компонентов, связанных между собой клетками с их различными рецепторами, секретируемыми медиаторами, экспрессируемыми молекулами, активированными биохимическими путями и другими компонентами, которые вместе и в разных анатомических местах позволяют организму реагировать на различные антигенные стимулы [126-128].

Хотя идентифицированы предполагаемые механизмы, вызывающие потерю толерантности и, следовательно, генез аутоиммунитета, по большей части точные механизмы остаются неизвестными. Тем не менее, общепризнано, что определение аутоантител полезно при диагностике аутоиммунных заболеваний, для уточнения молекулярно-биологических инструментов для изучения клеточных процессов, в которых участвуют целевые антигены.

Аутоиммунное заболевание щитовидной железы включает в себя большой спектр клинических и иммунологических признаков, варьирующих от преимущественно гуморально-стимулирующих до деструктивных клеточных реакций. Цитокины, продуцируемые интратиреоидными лимфоцитами, участвуют в индукции и поддержании аутоиммунного процесса при заболеваниях щитовидной железы. Различные факторы могут приводить к секреции цитокинов в сыворотке крови при АИЗЩЖ. Количество секреции цитокинов может варьироваться в зависимости от тяжести воспалительной реакции [129-131].

Большинство цитокинов многофункциональны. Также очевидно, что определенные биологические функции разделяются цитокинами с различными структурными свойствами, и что многие биологические действия *in vivo* являются результатом синергических или антагонистических действий с участием двух или более цитокинов. Эти молекулы, продуцируемые фолликулярными клетками щитовидной железы, необходимы для роста и дифференцировки Т- и В-клеток [132,133].

Цитокины представляют собой небольшие молекулы, секретируемые клетками иммунной системы, которые служат для регуляции различных компонентов иммунной системы, и играют решающую роль в развитии аутоиммунного процесса [134,135].

Каждый цитокин передает сигналы, связываясь либо с уникальным, либо с общим рецептором, вызывая внутриклеточный сигнальный каскад, который может вызывать повышающую регуляцию или понижающую регуляцию факторов транскрипции, регулирующих экспрессию различных других генов. Это может привести к выработке других биологически активных молекул, включая другие цитокины, изменению числа



поверхностных рецепторов или ингибированию обратной связи, которая приводит к саморегуляции.

Провоспалительный цитокин ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10 проявляют иммунологические и метаболические активности, участвующие в индукции и поддержании иммунных ответов. В щитовидной железе цитокины могут выполнять свои функции во взаимодействии с инфильтрирующими иммунокомпетентными клетками.

Цитокины могут влиять на рост и дифференцировку фолликулярных клеток щитовидной железы, приводя к аномальному синтезу и секреции гормонов щитовидной железы и нарушению функции щитовидной железы [136,137].

В патогенезе АИЗЩЖ основную роль играют тиреоидстимулирующие антитела. Избыточная продукция тиреоидных гормонов щитовидной железы с формированием дисбаланса в системе цитокиновой регуляции выражается в повышении их продукции и нарушении соотношения про- и противовоспалительных цитокинов в организме.

Интерлейкин – 10 (ИЛ-10) является димерным белком, каждая субъединица состоит из 178 аминокислот. Относится ко 2-му классу цитокинов. Он представляет собой плеiotропный иммунорегуляторный цитокин, который играет важную роль в защите хозяина от инфекционно-ассоциированной иммунопатологии, аутоиммунитета и аллергии. ИЛ-10 первоначально был охарактеризован как Т-хелперный, специфический цитокин, однако дальнейшие исследования показали, что продукция интерлейкина -10 также связана с ответами Т-регуляторных клеток [138-141]. В настоящее время известно, что почти все клетки, как врожденного, так и адаптивного звеньев иммунной системы, могут экспрессировать ИЛ-10, включая дендритные клетки, макрофаги, тучные клетки, естественные киллеры, эозинофилы, нейтрофилы, В-клетки, CD8 + Т-клетки и TH1, TH2 и TH17 CD4 + Т-клетки [142].

ИЛ-10 продуцируется главным образом моноцитами и, в меньшей степени, лимфоцитами, включая Т-хелперы 2-го типа, тучные клетки, CD4+CD25+Foxp3+ регуляторные Т-клетки и некоторыми субпопуляциями активированных Т- и В-лимфоцитов. ИЛ-10 представляет собой противовоспалительный цитокин, также известный как фактор ингибирования синтеза цитокинов человека, оказывающий плеiotропное действие при воспалении и иммунорегуляции. ИЛ-10 подавляет уровни экспрессии цитокинов Th1, антигенов класса II комплекса гистосовместимости и костимулирующих молекул на макрофагах.

Кроме того, ИЛ -10 способствует выживанию и пролиферации антител В-клеток и влиянию на функциональность определенных клеточных путей. Например, он ингибирует активность ядерного фактора-кВ и изменяет сигнальный путь JAK-STAT [143].

В исследовании В. Kristensen, 2015 г. [144] показано, что дифференцировка В-клеток в клетки, продуцирующие ИЛ-10, не нарушена

при диффузном токсическом зобе и аутоиммунном тиреоидите после стимуляции тиреоглобулином, а также ФМА/иономицином. Как было отмечено, ИЛ-10 и В-клетки не разделялись на четко определенные фенотипические подмножества, независимо от исследуемой группы доноров. В ряде исследований аутоиммунных заболеваний, установлено изменение уровня ИЛ-10 в сыворотке, что указывает на прямую связь между уровнями ИЛ-10 и заболеванием. Данные, полученные на мышинных моделях, позволяют предположить, что продукция ИЛ-10 может играть защитную роль при органоспецифических аутоиммунных заболеваниях и изменять баланс между патогенными клетками Th1 и защитными противовоспалительными клетками Th2 [145,146].

Повышенный уровень ИЛ-10 был обнаружен в синовиальных Т-лимфоцитах больных ревматоидным артритом, в сыворотке больных системным склерозом, болезнью Кавасаки, аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом, культивируемых клетках больных полимиозитом и дерматомиозитом; в пузырьчатой жидкости пациентов с вульгарной пузырьчаткой и буллезным пемфигоидом, а также в Т-клетках слизистой оболочки при язвенном колите [147-148]. Повышенная экспрессия мРНК ИЛ-10 другими тканями была связана с синдромом Шегрена, диффузным токсическим зобом, миастенией, псориазом и аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом. В совокупности эти исследования показывают, что нарушение регуляции экспрессии ИЛ-10 играет важную роль в развитии аутоиммунных заболеваний. Кроме того, прогрессирование аутоиммунного заболевания может играть роль в изменении уровня ИЛ-10 и других цитокинов, данные семейных исследований показывают, что в значительной степени наследуемые генетические различия определяют продукцию ИЛ-10 и, таким образом, способствуют фенотипу аутоиммунного заболевания. Связь высоких уровней мРНК и белка ИЛ -10 с ранними стадиями диффузного токсического зоба и аутоиммунного тиреоидита также указывает на роль ИЛ -10 на ранних стадиях некоторых заболеваний [149-153].

ИЛ-10, является мощным стимулятором В-клеток и негативным регулятором макрофагов и Т-клеток, оказывает влияние на продукцию аутоантител при АИЗЩЖ; вызывает множественные модулирующие эффекты на иммунную систему и уровень экспрессии ИЛ-10 изменяется при многих аутоиммунных заболеваниях [154-155].

ИЛ-10 - цитокин, который подавляет клеточный иммунитет и стимулирует гуморальный иммунный ответ. В некоторых моделях аутоиммунитета на животных ИЛ-10 оказывает защитное действие против самоуничтожения [156-158].

Keiko Takeoka и Mikio Watanabe (2004) [159] определяли концентрацию ИЛ-10 с помощью иммуноферментного анализа у 166 исследуемых с АИЗЩЖ и у 53 здоровых людей из контрольной группы. Концентрация ИЛ-10 в сыворотке крови была значительно выше у больных с ДТЗ, у которых

результаты выявили повышенные антитела к рецептору ТТГ, несмотря на более чем 5-летний курс лечения анти тиреоидными препаратами, чем у больных с ДТЗ в стадии ремиссии. Однако концентрация ИЛ-10 в сыворотке не была связана с тяжестью диффузно токсического зоба. Эти результаты показывают, что ИЛ-10, связан с неизлечимостью диффузно токсического зоба [160-170].

По мнению ряда исследователей, уровень выработки ФНО- $\alpha$  при АИЗЩЖ определяется выраженностью аутоиммунного процесса.

Среди различных цитокинов ФНО- $\alpha$  является многофункциональным и провоспалительным цитокином [171-172]. ФНО- $\alpha$  продуцируется активированными макрофагами и моноцитами в очагах воспаления, играет ряд важную роль в механизме защиты от бактерий и вирусов. Он представляет собой плеiotропный воспалительный цитокин, продуцируемый и секретируемый в основном моноцитарными клетками, лимфоцитами и другими типами клеток, такими как эпителиальные клетки щитовидной железы и фибробласты в щитовидной железе [173-176]. ФНО - $\alpha$  представляет собой воспалительный цитокин, который продуцируется внутрищитовидными воспалительными клетками и фолликулярными клетками щитовидной железы и играет ключевую роль в регуляции иммунологических реакций и развитии аутоиммунных заболеваний [177].

Цитокин фактор некроза опухоли - $\alpha$  проявляет биологическую активность в щитовидной железе, взаимодействуя с двумя типами своих специфических рецепторов, которые были идентифицированы в фолликулярных клетках щитовидной железы человека и животных: ФНО -R1 и ФНО-R2. Биологическая активность фактор некроза опухоли - $\alpha$  опосредуется главным образом ФНО-R1, в то время как ФНО-R2 используется для передачи сигнала. Фактор некроза опухоли - $\alpha$  является мощным медиатором иммунологических и воспалительных реакций. Он может действовать самостоятельно или в сочетании с широким спектром других цитокинов, воздействуя практически на все клетки организма [178-181]. Влияние фактор некроза опухоли - $\alpha$  на иммунную систему делает его ключевым фактором патогенеза многих заболеваний, в том числе аутоиммунных. Данный факт послужил основанием для поиска новых терапевтических возможностей для больных, страдающих такими заболеваниями, как болезнь Бехтерева, псориатический артрит, ревматоидный артрит, псориаз или различные воспалительные заболевания кишечника. ФНО- $\alpha$  участвует в патогенезе дисфункции щитовидной железы, в том числе АИЗЩЖ. Как отмечают многие авторы, концентрация мРНК ФНО- $\alpha$  и ФНО- $\alpha$  в ткани щитовидной железы у лиц с аутоиммунным тиреоидитом и другими заболеваниями щитовидной железы достоверно выше по сравнению с здоровыми. Лимфоциты, инфильтрирующие щитовидную железу, являются надежным источником ФНО- $\alpha$ ; кроме того, сообщалось о продукции ФНО- $\alpha$  только клетками щитовидной железы. Чжэн и др. [182] доказали, что клетки щитовидной железы способны

самостоятельно продуцировать ФНО- $\alpha$ ; Грубек-Лебенштейн и др. [183] не показали наличия мРНК ФНО- $\alpha$  в клетках щитовидной железы; и Диез и др. [184] показали повышенную концентрацию ФНО- $\alpha$  в ткани щитовидной железы у больных с АИЗЩЖ, но не указали его источник (тиреоциты или лимфоциты). Клетки щитовидной железы имеют на своей поверхности рецепторы к фактору некроза опухоли - $\alpha$ . Известно, что фактор некроза опухоли- $\alpha$  играет значительную роль в цитотоксических механизмах, которые приводят к разрушению самой ткани щитовидной железы при АИЗЩЖ. Этот цитокин также повышает экспрессию ГКГС класса I на клетках щитовидной железы при ДТЗ и вместе с интерферон- $\gamma$  за повышает экспрессию ГКГС класса II [185-186]. Доказано, что цитокин ФНО- $\alpha$  повышает продукцию интерлейкина 6 клетками щитовидной железы. ФНО- $\alpha$  влияет на толщину эпителия тиреоцитов, тем самым способствуя потере им барьерной функции и увеличению доступа иммунных клеток к внутрипузырным антигенам. фактор некроза опухоли - $\alpha$  подавляет синтез тиреоглобулина, снижает индуцированное ТТГ поглощение йода клетками щитовидной железы, снижает активность дейодиназы 2 типа, что приводит к снижению периферической продукции трийодтиронина из тироксина, а также снижает аутокринную выработку трийодтиронина только в щитовидной железе.

По данным ряда авторов повышение содержания в сыворотке крови ФНО- $\alpha$  и ИЛ 10 при АИЗЩЖ, возникает, по-видимому, в результате хронического воздействия тиреоидных гормонов снижение и повышение клинической активности заболевания вследствие дисфункции щитовидной железы, могли быть инициаторами развития воспалительного каскада, а активность заболевания, характеризующаяся развитием воспаления и нарушением функции, коррелировала с повышением сывороточных цитокинов [187].

В исследованиях Miyakoshi et al., (1992) был сделан вывод, что сывороточный ФНО- $\alpha$  был повышен у пациентов с гипотиреозом, и в соответствии с предыдущими исследованиями Reikeras и его коллег (2014); Tripathi и Pandey (2014) указывают на значительное увеличение среднего уровня продукции ФНО- $\alpha$ , в то время как небольшое повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10 может объясняться следствием операции тиреоидэктомии, и показали, что воспалительный профиль цитокинов, выраженный высоким уровнем ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10, был связан со стадией заболевания [188].

ФНО- $\alpha$  также влияет на функцию оси гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа и ингибирует тиреотропин-рилизинг-гормон, что снижает выработку тиреотропного гормона [186,с. 7].

Повышенные уровни ФНО- $\alpha$  в сыворотке больных диффузным токсическим зобом могут быть связаны с системным ответом на заболевание или реципрокностью внутритиреоидного антигена и антитела. Повышение уровня цитокинов в щитовидной железе может привести к выработке других

цитокинов аутореактивными клетками, таким образом закрепляя аутоиммунную реакцию [187,с. 5].

Большое количество исследований показывает, что этиология АИЗЩЖ основана на полигенетическом наследовании; различные стрессовые факторы вызывают возникновение аутоиммунного ответа.

Вырабатываются антитела для связывания с рецептором ТТГ, который является поверхностным рецептором клеток щитовидной железы, стимулирует клетки щитовидной железы к выработке высокого уровня гормона щитовидной железы, вызывает иммунное расстройство, что приводит к инфильтрации большим количеством Т-лимфоцитов, особенно CD4 + Т-клетки, вызывая дисбаланс в соотношении хелперных Т-клеток (Th-клетки) и регуляторных Т-клеток (Treg-клетки), а также дисбаланс Th1- и Th2-клеток, что приводит к аномальной экспрессии многих цитокинов [188,с. 9].

Профессор Y. Zhang обнаружил, что у исследуемых с АИЗЩЖ значительно уменьшилось количество важных регуляторных Т-клеток, которые играют ключевую роль в регулировании иммунной системы, сместилась поляризация дендритных клеток и значительно увеличилась доля плазмоподобных дендритных клеток его подтипа, что может вызвать увеличение секреции интерферону  $\alpha$ , что приводит к апоптозу регуляторных Т-клеток и иммунному дисбалансу. Будущее лечение аутоиммунных заболеваний щитовидной железы должно быть направлено на восстановление иммунной толерантности у этих пациентов с помощью антиген-специфической терапии. Выявление механизмов и ключевые регуляторные мишени иммунного дисбаланса при АИЗЩЖ, обеспечит важную основу для новых иммунных вмешательств и стратегий лечения [189].

#### **1.4 Заключение по обзору литературы**

Изучение роли эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител в патогенезе и лечении АИЗЩЖ является актуальным, так как в настоящее время в мировой литературе доказана их важная диагностическая и прогностическая роль и при других заболеваниях.

Обзор литературы показал, что проблема ранней неинвазивной диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы вызывает растущий интерес со стороны исследователей современной тиреологии. В решении данной проблемы большое значение имеет изучение аутоиммунного синдрома перекреста (overlap syndrome). Стандартизация диагностических критериев синдрома перекреста (overlap-syndrome) до сих пор не достигнута, поскольку эти расстройства встречаются не так часто и по настоящее время данный синдром является до конца не изученным.

В процессе обработки отечественной и мировой литературы сделано заключение, что проблема изучения overlap syndrome встречается

сравнительно редко по отношению к общей широкой распространенности аутоиммунных тиреопатии, в связи с этим, мы посчитали ценным описание каждого клинического случая overlap syndrome, что может позволить привлечь внимание к данному теме, что создаст необходимую теоретическую базу для проведения последующих исследований в этом направлении. Имеет смысл отметить целесообразность совершенствования изучения патогенеза синдрома перекреста (overlap syndrome) при различных заболеваниях щитовидной железы, и в дальнейшем, возможно, привести к необходимости пересмотреть классификацию АИЗЩЖ.

Аутоиммунные заболевания характеризуются нарушением регуляции экспрессии цитокинов, играющих роль в поддержании аутореактивных лимфоцитов. Несмотря на колоссальные знания, накопленные при изучении биологических функций цитокинов интерлейкина-10 и ФНО- $\alpha$  в норме и патологии, данная тема остается одной из наиболее сложных и не до конца изученной в тиреологии. Высокие уровни интерлейкина-10 у лиц с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы свидетельствует о том, что цитокин играет важную роль в патогенезе заболевания. Однако, в некоторых литературных источниках, ассоциативные исследования дали противоречивые результаты, в основном из-за малого охвата исследуемых групп.

Провоспалительный цитокин ФНО- $\alpha$  участвует в индукции и поддержании иммунного ответа. Считается, что он играет решающую роль при АИЗЩЖ. В щитовидной железе провоспалительный цитокин может выполнять свои функции в сотрудничестве с инфильтрирующими иммунокомпетентными клетками. В последние годы ученые уделяют больше внимания аномальной экспрессии цитокинов при АИЗЩЖ. Цитокины могут влиять на рост и дифференцировку фолликулярных клеток щитовидной железы, приводя к нарушению синтеза и секреции тиреоидных гормонов и нарушению функции щитовидной железы. ДТЗ и АИТ являются результатом aberrantных иммунных механизмов и потери толерантности к органоспецифическим аутоантигенам. В дополнение к гуморальным реакциям исследования зарубежных ученых, указывают, на сопутствующую значимость иммунных клеточных механизмов.

Таким образом, основанием для проведения данного исследования стало отсутствие в Казахстане работ, связанных с изучением интерлейкина-10 и ФНО- $\alpha$  при АИЗЩЖ и синдроме перекреста (overlap syndrome), в мировой литературе информация ограничивается малым охватом пациентов и скудной информацией, что послужило основанием для проведения данного исследования.

Понимание специфических иммунных механизмов, участвующих в патогенезе АИЗЩЖ, может помочь улучшить эффективность лечения пациентов. В связи с этим новые биологические маркеры, как изучение эпитопов антипероксидазных аутоантител и цитокинов: интерлейкин 10 и ФНО- $\alpha$ , могут способствовать улучшению диагностики, методов лечения и,

следовательно, качества жизни пациентов с АИЗЦЖ.

## **2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Данная исследовательская работа проведена на базе Государственного Медицинского Университета г.Семей. Набор материала производился в региональных и городских поликлиниках и медицинских учреждениях, в регионах, прилегающих к бывшему Семипалатинскому испытательному ядерному полигону. От главных врачей отдельных медицинских учреждений, участвовавших в исследовании, были получены разрешения (Акт внедрения).

Согласно целям и задачам диссертационного исследования была разработана комплексная программа изучения патогенетических механизмов аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Плана исследования включает 7 этапов:

1. Планирование исследования: разработка методов исследования и определение дизайна;
2. Получение разрешения локального этического комитета Государственного медицинского университета г.Семей;
3. Набор материала: анкетирование, получение информированного согласия, инструментальное обследование, забор крови;
4. Лабораторное исследование;
5. Создание базы данных;
6. Получение результатов;
7. Статистическая обработка полученных данных;
8. Научная обработка полученных результатов.

Учитывая задачи исследования, применены следующие подходы:

Для исследования статистических показателей АИЗЦЖ по областям использована:

- база данных территориального регистра, которая создана на основании первичных документов эндокринологического отделения и регионального областного эндокринологического отделения с 2016 по 2020 гг.

- показатели заболеваемости и смертности (среднегодовые значения): использованы данные учетно-отчетной документации формы №7 «Отчет о больных и заболеваниях АИЗЦЖ» (МЗ РК приказ от 30 октября 2020 года № ҚР ДСМ-175/2020. В Министерстве юстиции Республики Казахстан зарегистрирован 4 ноября 2020 года № 21579. «Об утверждении форм учетной документации в области здравоохранения, а также инструкций по их заполнению»)

- материалы по заболеваемости тиреоидной патологией в областях, в статистических сборниках показателей эндокринологической службы Казахстана, опубликованные в ККСОН МОН РК (Комитетом по контролю в

сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан) за 2016-2020 гг.

С целью объективной оценки и анализа клинико-лабораторных данных исследуемых была создана специальная анкета для оценки состояния функции щитовидной железы (Приложение А). У всех исследуемых проводилась пальпация щитовидной железы. С целью выявления органической патологии всем (100 %) было проведено ультразвуковое исследование щитовидной железы. Для оценки функционального состояния щитовидной железы определены гормоны ЩЖ (ТТГ, свТ4, АТ к ТПО, АТ к рТТГ).

Диагноз синдром перекреста (overlap-syndrome) ставился, когда у пациента были достаточные клинические и лабораторные данные для диагностики определенного заболевания (например, аутоиммунный тиреоидит), но также проявлялись признаки другого расстройства, такого как диффузный токсический зоб.

Overlap-syndrome был диагностирован, при наблюдении трансформации одного расстройства в другое в течение всего периода наблюдения (например, диффузный токсический зоб трансформировался в аутоиммунный тиреоидит).

В основной группе у 41 пациента с первоначальным диагнозом диффузный токсический зоб был диагностирован переход в состояние синдром перекреста (overlap-syndrome). Таким образом, в общей группе пациентов, была выявлена группа с развитием синдрома перекреста.

Для изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител было проведено исследование образцов сыворотки 398 больных с диагнозом: аутоиммунный тиреоидит, диффузный токсический зоб и синдром перекреста (overlap-syndrome).

В исследовании использовали 8 МкАТ к тиреопероксидазе, из которых пять реагировали с денатурированной ТПО и остальные реагировали с нативной ТПО. Предметом исследования являлось изучение специфичности эпитопов тиреопероксидазы с моноклональными антителами.

Дополнительно, для определения иммунологического статуса исследовали содержание уровня цитокинов интерлейкина-10 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови больных с АИЗЩЖ.

Для оценки уровней интерлейкина-10 и ФНО- $\alpha$  были сформированы 2 группы пациентов с гиперфункцией и гипофункцией щитовидной железы. Все переменные были проверены на нормальность распределения. Для сравнения двух групп был выбран критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводился с применением ранговой корреляции Кендалла. Для проверки существования связи между двумя качественными переменными использовался критерий согласия  $\chi^2$  Пирсона. В случае несоответствия предположению об ожидаемых значениях был применен точный критерий Фишера. За статистически значимый уровень было взято  $p < 0,05$ . Статистический анализ был проведен в программе SPSS 20.



## **2.1 Объект исследования**

Объект исследования – 398 пациентов с диффузным токсическим зобом, аутоиммунным тиреоидитом и синдромом перекреста. Средний возраст исследуемых составил  $47,18 \pm 14,99$  лет. Подавляющее большинство пациентов были женщинами: в подгруппе с аутоиммунным тиреоидитом (93,3 %), и в подгруппе с диффузным токсическим зобом (70,7 %).

Пациенты были включены в исследование в период с 1 января 2016 года по 31 декабря 2019 года. Форма информированного согласия была подписана каждым пациентом перед началом исследования, в том числе на взятие венозной крови в объеме 5 мл в вакуумные пробирки IMPROVACUTER с активатором свертывания и гелем (Приложение Б). Протокол исследования был рассмотрен Местным Институциональным этическим комитетом, и разрешение было выдано (Протокол 2 от 25 октября 2018 года). Для всех исследуемых проводили комплексное обследование до включения в исследование и при каждом последующем посещении (один раз в 6 месяцев) в течение периода исследования: пальпация щитовидной железы, УЗИ щитовидной железы, исследование гормонов щитовидной железы с помощью иммуноферментного анализа.

### **Формирование групп исследования**

Участники исследования были выбраны из списка пациентов, наблюдавшихся с диагнозами ДТЗ и АИТ эндокринологами в амбулаторных условиях.

Прежде чем было принято решение о включении в исследование, каждый пациент был проконсультирован двумя экспертами в области эндокринологии. Эта консультация включала верификацию диагноза, объективное клиническое обследование, анализы функции щитовидной железы и ультразвуковое исследование щитовидной железы.

Одни и те же исследователи осматривали каждого пациента каждые шесть месяцев, чтобы контролировать его/ее состояние.

Проведен отбор исследуемых пациентов, соответствующих критериям включения и исключения.

Критерии включения:

- Пациенты, находящиеся на диспансерном учете у эндокринолога с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы в поликлиниках;
- Повышенные концентрации антител к тиреопероксидазе от 200 МЕ/мл и выше при аутоиммунном тиреоидите;
- Наличие информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- Воспалительные заболевания верхних дыхательных путей и другие воспалительные заболевания.
- Злокачественные новообразования щитовидной железы.

- Отсутствие информированного согласия на участие в исследовании или отказ от участия на любом этапе до завершения анализа;

Группа для анализа содержания в образцах сыворотки цитокинов интерлейкина-10 и ФНО- $\alpha$  формировалась из основной группы исследуемых. Было отобрано 149 человек с гипер и гипопункцией щитовидной железы.

## **2.2 Характеристика методов исследования**

На каждого исследуемого заполнялась анкета, где указывались паспортные данные, с указанием места рождения и проживания, жалобы, семейный анамнез, генеалогические данные, национальность, данные клинического, инструментального и лабораторного исследования (Приложение А).

У всех исследуемых проводилась визуально-пальпаторная оценка состояния щитовидной железы, которая включала определение степени увеличения, размер и форма ее увеличения; ЩЖ оценивалась в соответствии с принятой классификацией, рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения ВОЗ (2001) (не более 18 мл у женщин и не более 25 мл у мужчин) согласно которой различают следующие степени зоба:

степень 0 — щитовидная железа визуально и пальпаторно не увеличена, зоба нет; каждая доля ЩЖ не достигает величины концевой фаланги большого пальца обследуемого;

степень I — при осмотре область щитовидной железы не изменена, пальпаторно определяется увеличение;

степень II — зоб виден при нормальном положении шеи, для его выявления не требуется пальпация.

Для выявления органической патологии всем пациентам было проведено ультразвуковое исследование щитовидной железы (тиреозография), являющееся, по данным литературы, наиболее информативным и безопасным (не дающим лучевой нагрузки) методом оценки топографо-анатомических особенностей щитовидной железы.

### **2.2.1 Функциональное исследование функции щитовидной железы**

Для исследования статуса щитовидной железы производилось количественное определение тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (св.Т4), антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО), антител к рецептору тиреотропного гормона (АТрТТГ).

Исследование проводили в In Vitro+, это консультативно-диагностическая поликлиника, имеющая сертификаты соответствия государственным санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам, и государственную лицензию на осуществление медицинской деятельности. Поликлиника с высокотехнологичным оборудованием ведущих мировых производителей, соответствует всем требованиям американской системы внешней оценки качества – EQAS BIO-RAD. Рекомендации для подготовки образцов к исследованиям такие же как при сдаче других лабораторных

анализов. Исследуемый материал: сыворотки крови пациентов. Метод определения: хемилюминесцентный иммуноанализ с использованием электрохемилюминесцентного анализатора Cobas e411 Hitachi (Япония).

Одним из современных методов лабораторной диагностики является хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA), состоящий из двух стадий: образование продукта в электронном возбужденном состоянии (хемилюминесцентная реакция) и испускание кванта света (люминесценция).

Пошаговая методика :

1. Для исследования набирали венозную кровь методом пункции с минимальным временем наложения жгута, утром натощак в специальные вакуумные пробирки объемом 5 мл с антикоагулянтом этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) в концентрации 2 мг/мл.

2. По правилам, содержимое пробирки сразу после забора переворачивая перемешивают 2-3 раза.

Центрифугировать пробирки при комнатной температуре (18-25С), 3000 об/мин в течении 20 минут.

3. С помощью пипетки из пробирки отбирали верхнюю фракцию крови (отделенную плазму) и переносили в отдельную пробирку 1,5мл.

4. В эту отобранную сыворотку добавляются антитела, которые образуют комплексы с исследуемым компонентом – гормонами щитовидной железы или белком. Эти комплексы конъюгируют с ферментом. Затем к смеси добавляли субстрат, который при взаимодействии с ферментом начинает испускать кванты нетеплового свечения. Уровень хемилюминесценции регистрируется с помощью специального оборудования, на основе полученных показателей рассчитывается концентрация исследуемого соединения. Концентрации рассчитываются по градуированным кривым, в наборы входят калибраторы и контроли.

2.2.2 Методика исследования гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.

Для исследования гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител в сыворотке крови исследуемых с АИЗЩЖ была использована периферическая кровь исследуемых в объеме 5 мл из которой готовили сыворотки.

Метод исследования гетерогенности аутоантител: конкурентный иммуноферментный анализ с использованием иммуносорбента (планшет, сенсibilизированный ТПО), конъюгатов 8 МкАТ, меченных пероксидазой из корня хрена. Использовали 8 моноклональных антител к тиреопероксидазе, из которых 4 реагировали с нативной ТПО, а 4 с денатурированной ТПО. Тиреопероксидазу получали методом аффинной хроматографии с использованием моноклональных антител (МкАТ). Все реагенты для исследования приготовлены в лаборатории иммунологической диагностики эндокринных заболеваний федеральное государственное

бюджетное научное учреждение «НИИ вакцин и сывороток им И. И. Мечникова».

Схема ИФА:

1 вариант методики.

1. В планшет с сенсibiliзированной тиреопероксидазой в концентрации 1 мг/мл, вводили аутоантитела из сыворотки крови исследуемых и МкАТ пероксидазы хрена в разведении, соответствующем 50 % связыванию с антигеном.

2. В качестве контроля использовались лунки планшета, содержащие конъюгаты МкАТ с пероксидазой из корня хрена, в которые не вносили аутоантитела, использовали только ФСБР 0,01 моль/см<sup>3</sup>.

3. Затем, планшет с исследуемым материалом инкубировали в термошейкере в течение 1 ч при 37 °С при 700 об/мин.

4. Планшет отмывали три раза в объёме 350 мкл на лунку раствором фосфатно-солевого буфера.

5. Время инкубации 30 минут, при 25 °С. Реакцию проявляли субстратно-хромогенной смесью.

6. Эпитопную направленность аутоантител позволяет выявлять ингибирование связывания конъюгатов МкАТ тиреопероксидазой в лунках с внесёнными аутоантителами, в сравнении с контрольными.

7. Подавление связывания  $\geq 15$  % считается значимым.

2 вариант методики

1. В лунки планшета, предварительно сенсibiliзированных тиреопероксидазой человека в концентрации 1 мг/мл, вносили аутоантитела из сыворотки крови больных с АИЗЦЖ и моноклональные антитела к ТПО человека в разведении, которая соответствовала 50 % связыванию антител с антигеном.

2. Лунки, содержащие моноклональные антитела к пероксидазе человека в разведении, соответствующем 50 % связыванию с антигеном, в которые вносили только фосфатно-солевой буферный раствор 0,01 моль/см<sup>3</sup>, без добавления аутоантител, использовались в исследовании в качестве контроля.

3. Затем, в термошейкере в течение 1 часа при 37°С, планшет с исследуемым материалом инкубировали при 700 об./мин.

4. После промывки фосфатно-солевым буферным раствором 0,01 моль/см<sup>3</sup> трижды в объёме 350 мкл в лунку, вводили конъюгированные с пероксидазой из корня хрена мышинные МкАТ к иммуноглобулину G человека в рабочем разведении.

5. Далее при температуре 37 °С планшет инкубировали в специальном термошейкере для интенсивного перемешивания образцов в течение 1 часа 700 об./мин.

6. Промывали лунки планшета фосфатно-солевым буфером 0,01 моль/см<sup>3</sup> трижды в объёме 350 мкл в лунку.

7. Реакция проявляется субстратно-хромогенной смесью, инкубация 30 мин. при 25 °С.

8. общую эпитопную направленность аутоантител позволяет выявлять ингибирование связывания аутоантител с тиреопероксидазой в лунках с одновременно внесёнными МкАТ, по сравнению с контрольными.

Измерение оптической плотности выполняли с использованием анализатора Varioscan фирмы ThermoFisher Scientific (USA).

Оптическую плотность образцов без антител принимали за 100 %. Ингибирование связывания на 60 % или более рассматривали как полное, ингибирование на 30 – 59 % рассматривали как частичное, а ингибирование менее чем на 30% оценивали как недостаточное. Степень связывания моноклональных антител к пероксидазе хрена позволила выявить специфичность используемой пары антител. Используемые моноклональные антитела были синтезированы в лаборатории иммунологической диагностики эндокринных заболеваний ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова и являются частью его коллекции.

Антитела к тиреоидной пероксидазе в сыворотке исследуемых тестировали методом иммуноферментного анализа крови. Сенсibilизированные человеческой ТПО пластины, использовались в качестве твердой фазы в разведении 5,0–7,5 мкг/мл. Антитела обнаруживались с помощью конъюгата МкАТ с человеческим иммуноглобулином G, меченой пероксидазой хрена, в рабочем разведении. Калибровочные образцы были подготовлены на основе сывороток крови человека и оценены в соответствии с международным стандартом (АТ МТФ № 66/387). Определенные концентрации варьировались от 25 до > 1000 МЕ/мл. Чувствительность метода составила 10 МЕ/мл.

Статистический анализ проводили с использованием программы статистического анализа SPSS Statistics («Statistical Package for the Social Sciences» — «статистический пакет для общественных наук»).

### 2.2.3 Методика исследования интерлейкина 10 и ФНО-альфа в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы

Забор крови из вены проводился утром с 8:00 до 11:00, натошак в специальные вакуумные пробирки C.D. Rich для взятия крови 5мл с активатором свертывания и гелем Improvacuter. Лабораторные анализы для оценки функции щитовидной железы были выполнены в клинко-диагностическом центре «In Vitro+» г. Семей. Были собраны сыворотки 149 пациентов с АИЗЦЖ, которые на момент исследования находились на учете у эндокринолога по месту жительства в поликлиниках. Группы пациентов: АИТ (n=97), ДТЗ (n=52).

Для анализа цитокинов были использованы образцы сыворотки от 79 женщин и 26 мужчин в возрасте от 16 до 75 лет с продолжительностью заболевания от 2 до 18 лет, в которых концентрация антител к пероксидазе

щитовидной железы (АТ к ТПО) составляла не менее 50 МЕ/мл.

Для исследования использовались наборы реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина -10 в сыворотке крови А-8774 производства АО «Вектор-Бест», и наборы реагентов для иммуноферментного определения концентрации ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови А-8756 (альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ), Россия, Новосибирская область.

Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови выдерживали при температуре от 18 до 25 °С в течение 30 мин.

1. Во все лунки внесли по 100 мкл раствора для разведения образцов сывороток больных.

2. Внесли в соответствующие лунки в дублях по 100 мкл каждого калибровочного образца и по 100 мкл контрольного образца.

3. В остальные лунки внесли в дублях по 100 мкл исследуемых образцов сывороток крови больных с АИЗЦЖ.

4. Планшет заклеивается специальной пленкой и в течение 120 минут инкубировали при встряхивании на специальном шейкере при 37 С градусах и 700 оборот в минуту.

5. По окончании инкубации сняли пленку и удалили сосуд с дез. раствором.

6. Лунки планшета промыли 5 раз фосфатно-солевым буферным раствором с твином с помощью промывочного устройства.

7. Во все лунки внесли по 100 мкл конъюгата №1.

8. Планшет заклеили пленкой и в течение 60 минут инкубировали при встряхивании на шейкере при температуре 37 градусов и 700 оборот в минуту.

9. После завершения повторной инкубации содержимое лунок удалили и 5 раз промыли планшет.

10. Далее во все лунки внесли по 100 мкл конъюгата №2.

11. Планшет заклеивается специальной пленкой и в течение 30 минут инкубировали при встряхивании на шейкере при температуре 37 градусов и 700 оборот в минуту.

12. Планшеты дополнительно промыли 5 раз промывочным раствором и содержимое лунок удалили по окончании инкубации.

13. Во все лунки внесли по 100 мкл субстрат хромогенной смеси и инкубировали в темном месте в течение 25 минут при температуре от 18 до 25 градусов.

14. Во все лунки внесли с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор тетраметилбензидина плюс, по 100 мкл стоп-реагента; при этом содержимое лунок окрашивался в желтый цвет.

15. Величину оптической плотности растворов в лунках планшета измерили на фотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: длине волны сравнения в диапазоне 620 нм и при основной длине

волны 450 нм. Между измерением оптической плотности и остановкой реакции время не превышает 10 мин.

16. Вычисляли для каждой пары лунок содержащих анализируемые образцы, среднее арифметическое значение оптической плотности.

Результаты анализа исследуемых образцов учитывались если вычисленное по калибровочному графику значение концентрации ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10 в контрольном образце соответствует указанному диапазону концентраций на этикетке флакона (рисунок 6, рисунок 7).

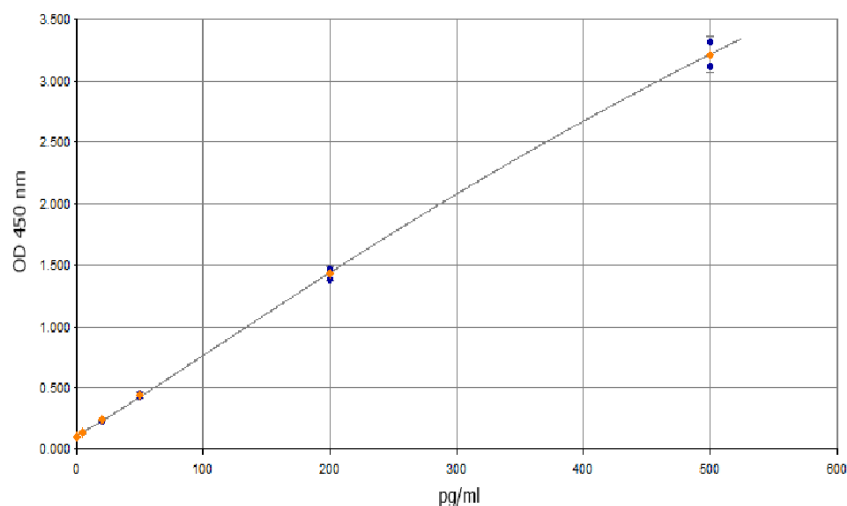


Рисунок 6 - Зависимость оптической плотности от концентрации ФНО- $\alpha$  в калибровочных образцах

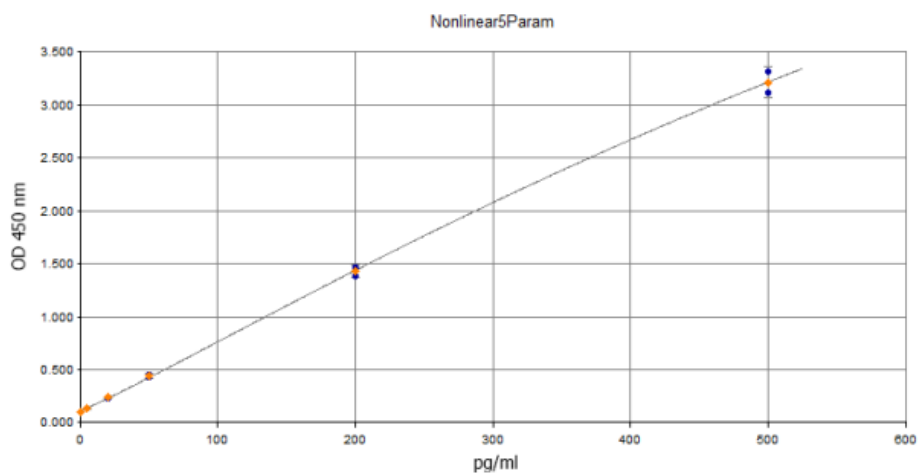


Рисунок 7 - Зависимость оптической плотности от концентрации ИЛ 10 в калибровочных образцах

#### 2.2.4 Статистическая обработка данных

При изучении гетерогенности эпитопов МкАТ, количественные переменные были представлены в виде медианы с 25-м – 75-м процентилем в случаях асимметричного распределения и как среднее  $\pm$  стандартное

отклонение, когда распределение данных было близко к нормальному. Качественные данные были представлены в виде абсолютных цифр и процентов. Для сравнения количественных переменных использовался U-критерий Манна-Уитни, в то время как для сравнения качественных переменных использовался критерий хи-квадрат Пирсона. Уровень достоверности наблюдаемых различий был представлен как  $p \leq 0,05$ . Все статистические тесты проводились с использованием программного обеспечения SPSS 20.

Описательная статистика при изучении цитокинов, интерлейкина 10 и ФНО- $\alpha$  представлена результатами, выраженными в процентах, медианой (Me) и межквартильным размахом (IQR). Все переменные были проверены на нормальность распределения. Для сравнения двух групп был выбран критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводился с применением ранговой корреляции Кендалла. Для проверки существования связи между двумя качественными переменными использовался критерий согласия  $\chi^2$  Пирсона. В случае несоответствия предположению об ожидаемых значениях был применен Точный критерий Фишера. За статистически значимый уровень было взято  $p < 0,05$ .



### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Эпидемиологическая оценка аутоиммунных заболеваний щитовидной железы по Восточному Казахстану и Республике Казахстан

Для реализации поставленной задачи диссертационного исследования по изучению эпидемиологических особенностей патологии АИЗЩЖ нами было организовано поперечное эпидемиологическое исследование показателей заболеваемости у населения Восточного Казахстана, Западно-Казахстанской области, Южно-Казахстанской области и Северо-Казахстанской области за период с 2016 по 2020 год.

Считается что одним из самых распространенных причин АИЗЩЖ у взрослых в этих регионах является территориальная особенность, йодная обеспеченность и радиационный фон [190-192].

Ежегодная заболеваемость АИЗЩЖ составляет 7–10 человек на 100 000 населения, а распространенность данной нозологией в общей популяции достигает 2 – 7 % в зависимости от региона [193]. По отчетам в Республике Казахстан за 2015 г. есть проблемы низкой выявляемости заболеваний щитовидной железы на уровне ПМСП, тем не менее, процент заболеваний щитовидной железы среди всех эндокринологических заболеваний составляет 22,3 % (рисунок 8).

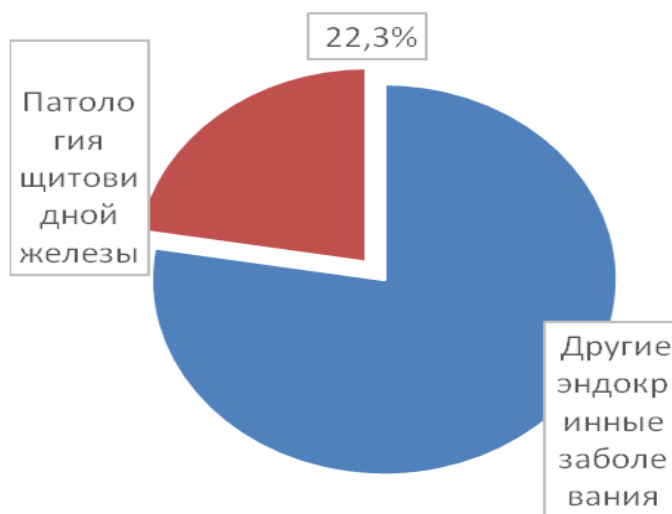


Рисунок 8 - Доля патологии щитовидной железы среди всех эндокринных заболеваний

Процентное соотношение среди заболеваний щитовидной железы по отношению к остальным составляет: гипотиреоз - 8,80 %, аутоиммунный тиреоидит - 9,80 %, узловой зоб, включая рак - 1,20 % и диффузный токсический зоб – 2,50 % (рисунок 9) [192,с. 9].

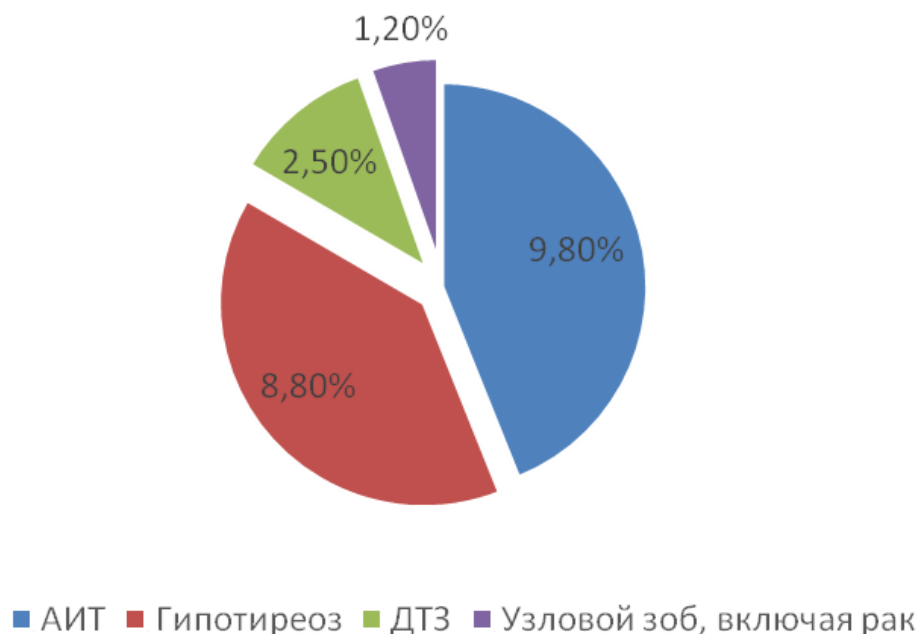


Рисунок 9 – Частота встречаемости нозологических форм заболеваний щитовидной железы

Были использованы статистические данные Республиканского центра развития здравоохранения по Западно-Казахстанской области, Восточному Казахстану, Южно-Казахстанской области и Северо-Казахстанской области за период с 2016 по 2020 год.

За время исследования проведен анализ имеющихся доступных статистических данных по АИЗЩЖ за период 2016–2020 гг.

Данные были взяты из статистических отчетов ПМСП и частных клиник города, из формы №12 «Отчет о числе заболеваний, зарегистрированных у больных, проживающих в районе обслуживания медицинской организации и контингентах больных, состоящих под диспансерным наблюдением», согласно приложению 11 к настоящему приказу Министра здравоохранения Республики Казахстан, от 22 февраля 2017 года № 128 "Об утверждении форм, предназначенных для сбора административных данных субъектов здравоохранения (рисунок 10).

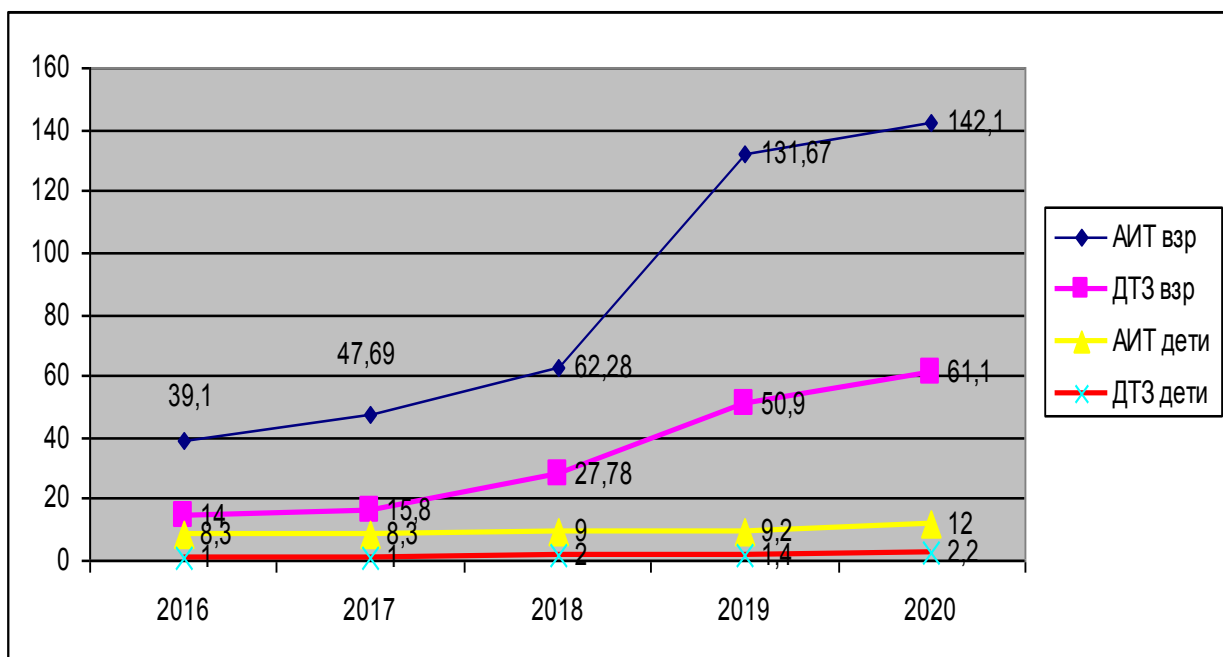


Рисунок 10 - Аутоиммунные заболевания щитовидной железы в период с 2016 по 2020 г.

Были рассчитаны за 5-летний период наблюдения показатели АИЗЩЖ, в расчете на 100 тыс. населения. Используя данные сектора статистики Республиканского центра развития здравоохранения по Восточному Казахстану, проведен анализ за период 2016–2020гг.

На рисунке 8 представлены данные, которые отражают динамику роста заболеваемости диффузным токсическим зобом и аутоиммунным тиреоидитом по Восточному Казахстану. Как видно из данных, представленных на рисунке № 9, количество людей, страдающих АИЗЩЖ ежегодно возрастает. По состоянию на 2020 год в восточном регионе Республики по сравнению с 2016 годом заболеваемость аутоиммунным тиреоидитом увеличилось на 24,8 %, диффузным токсическим зобом – на 22,0 %; суммарный рост составил 46,8 %.

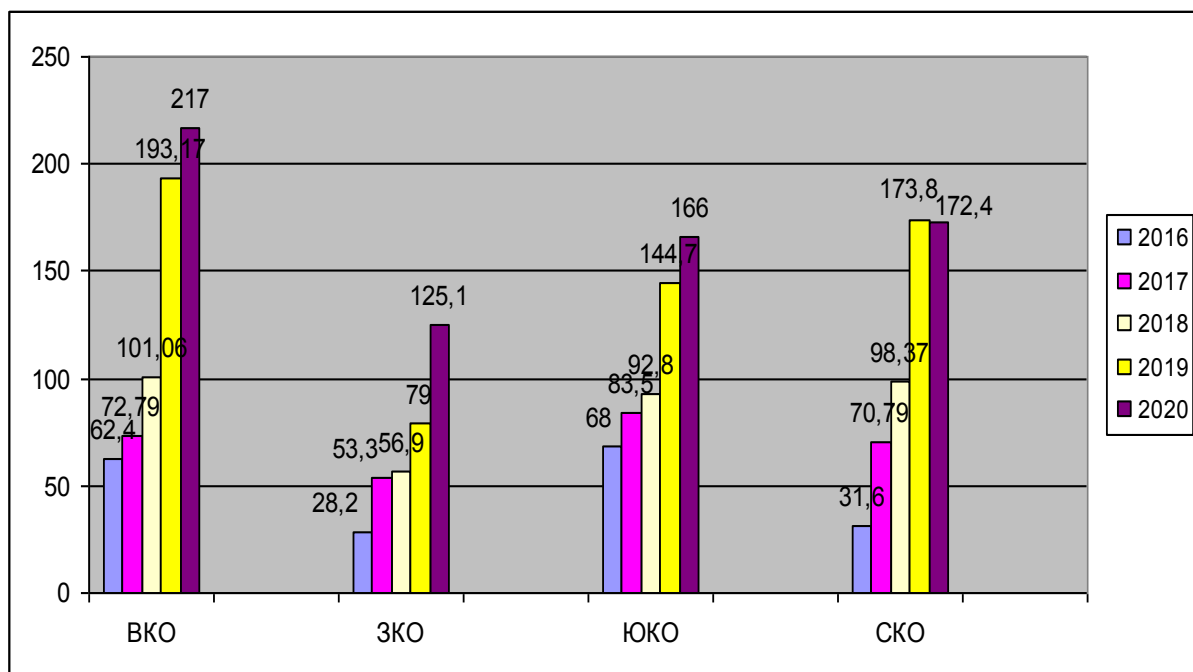


Рисунок 11 - Прирост аутоиммунных заболеваний щитовидной железы за период 2016–2020 гг. по ВК, ЗКО, СКО, ЮКО. Показатель на 100 тыс. населения

Эпидемиологические показатели частоты АИЗЩЖ по Восточному Казахстану и по обобщённым республиканским данным имеют тенденцию к увеличению. Анализ показателей заболеваемости за 2016-2020 годы по данным проведённого скрининга выявил прирост аутоиммунных заболеваний щитовидной железы по Восточному Казахстану на 46,8 %, в Южно-Казахстанской области– 44,1 %, в Северо-Казахстанской области – 45,5 %, в Западно-Казахстанской области– 43,61%.

Ранее в работах отечественных ученых было показано, что Казахстан в зависимости от клинико-географических данных относится к йоддефицитной территории [194].

По данным скринингового исследования в Западно-Казахстанской области можно наблюдать значительный прирост АИЗЩЖ: среди взрослого и детского населения, он составил 43,61 %. в Западном регионе Республики Казахстан как известно, сформировалась антропогенная провинция, которая имеет высокую загрязнённость почвы и воды бором, хромом и фтором. Воздействие различных выбросов промышленных заводов и ухудшение экологической обстановки отрицательно повлияло на состояние и функцию щитовидной железы среди местного населения [195].

Ежегодно все младенцы Алматинской области проходят неонатальный скрининг на врожденный гипотиреоз. Охваченность скринингом в данной области составляет 96 % [194,с. 42].

По данным кафедры эндокринологии Института усовершенствования врачей и по данным UNICEF, в 90-е годы частота неонатального гипотиреоза составляла 7,2 %, это достаточно большие цифры. Но после того, как

внедрили процедуру обязательной проверки всех новорожденных на гормоны щитовидной железы, этот процент уменьшился. Сразу после рождения у младенцев берут кровь из пяточки, чтобы проверить уровень ТТГ. Так же сыграло свою положительную роль и обязательное йодирование соли. По данным скринингового исследования в Южно-Казахстанской области можно наблюдать общий прирост аутоиммунных заболеваний щитовидной железы: среди взрослого и детского населения – 44,1 % [196].

По данным медико-демографических исследований за 2016-2020 г., а также по данным медицинско-информационной системы, обеспечивающей ведение процессов субъектов здравоохранения в электронном формате в Северо-Казахстанской области наблюдается общий прирост аутоиммунных заболеваний щитовидной железы среди взрослого и детского населения – 45,5 % [197].

Таким образом, проведенный анализ показал, что в Западно-Казахстанской области распространенность АИЗЩЖ ниже, чем в двух других областях. В Северо-Казахстанской области и в Восточном Казахстане показатели сходные. В Восточном Казахстане самый высокий показатель по аутоиммунным заболеваниям щитовидной железы на 100 000 населения (рисунок 11). Следует отметить, что распространенность аутоиммунных заболеваний щитовидной железы у взрослых женщин почти в четыре раза выше, чем у пациентов мужского пола, а распространенность заболеваний среди взрослых относительно высока по сравнению с детским населением во всех четырех регионах республики Казахстан.

#### **Синдром перекреста (overlap-syndrome) при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы**

Диагноз Синдром перекреста (overlap-syndrome) выставляли, когда у пациента выявляли клинические и лабораторные показатели для диагностики определенного заболевания (например, аутоиммунный тиреоидит), но также проявлялись признаки другого заболевания, такого как диффузный токсический зоб. Синдром перекреста (overlap-syndrome) был диагностирован, при наблюдении трансформации одного расстройства в другое в течение всего периода наблюдения (например, диффузный токсический зоб трансформировался в синдром перекреста). В основной группе у 41 пациента с первоначальным диагнозом диффузный токсический зоб был диагностирован переход в состояние синдрома перекреста (overlap-syndrome) (таблица 1).

Таблица 1 - Выявление «overlap-syndrome» в группах пациентов (n=398)

Группы пациентов		N	%
ДТЗ, тиреоидиты, аденомы при ДТЗ	Нет	355	89,0 %
	Да	44	11,0 %
Синдром перекреста (overlap-syndrome)	Нет	358	89,7 %
	Да	41	10,3 %

Сосуществование диффузного токсического зоба и аутоиммунного тиреоидита часто встречается в клинической практике, вероятно, из-за общих патогенетических механизмов, характерных для этих двух состояний. С практической точки зрения важно проводить скрининг пациентов на выявление синдрома перекреста (overlap-syndrome), поскольку наличие данного симптомокомплекса может повлиять на правильную оценку клинической картины у пациентов, тактику лечения, прогноз и долгосрочный результат терапии [198-199].

Таким образом, можно прийти к выводу что, синдром перекреста (overlap-syndrome) может быть не таким редким, как предполагалось ранее, и может возникнуть в любое время после постановки первичного диагноза аутоиммунный тиреоидит или диффузный токсический зоб. Все подозрительные случаи должны быть проверены на впервые выявленный синдром перекреста и пациенты должны получить адекватную терапию после подтверждения диагноза. Основная этиология синдрома перекреста точно не известна, но, вероятно, включает аутоиммунное переключение внешним стимулом у генетически восприимчивых людей.

Несмотря на то, что проявления обеих болезней могут наблюдаться одновременно, обычно симптоматика одного заболевания превалирует над симптомами другой болезни. Аутоиммунный синдром перекреста (overlap-syndrome) нередкая, хотя недостаточно изученная патология щитовидной железы, и изучать это направление актуально как для исследователей, так и для практикующих врачей.

Текущие и будущие исследования необходимы для лучшего понимания этих аспектов и, с клинической точки зрения, для определения возможного применения МкАТ 82 в качестве биомаркера синдрома перекреста (overlap-syndrome) при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.

### **3.2 Гетерогенность эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы**

В таблице 2 представлена демографическая характеристика участников исследования. Подавляющее большинство пациентов были женщинами как в подгруппе с аутоиммунным тиреоидитом (93,3 %) так и в подгруппе диффузным токсическим зобом (70,7 %). Средний возраст пациентов с диффузным токсическим зобом составил - 45,75 лет, с аутоиммунным тиреоидитом - 47,77 лет.

Большинство пациентов в этом исследовании были казахской национальности, что соответствует текущей демографической ситуации в Республике Казахстан. Пропорции пациентов с городским/сельским проживанием были схожими. Большинство пациентов находились под наблюдением на момент зачисления в исследование: 69,9 % в подгруппе аутоиммунный тиреоидит и 71,8 % в подгруппе диффузный токсический зоб.

Таблица 2 – Общая характеристика участников исследования (n=398)

Характеристика пациентов в группах		n	%
Пол	Мужчины	53	13,32 %
	Женщины	345	86,68 %
Возраст, медиана (25 и 75 перцентиль)		48	35; 59
Диагноз	АИТ	281	70,6 %
	ДТЗ	117	29,4 %
Национальность	Казахи	307	77,1 %
	Русские	91	22,8 %
Регион	ВК	381	95,7 %
	ЮКО	11	2,7 %
	СКО	6	1,5 %
Резиденция	Город	171	42,9 %
	Село	227	57,04 %
Анамнез	Обращение впервые	118	29,6 %
	Состоит на Д учете	280	70,3 %
Курение	Не курит	353	88,6 %
	Курит	45	11,3 %
Занятость	Не трудоустроен	93	23,3 %
	Трудоустроен	305	76,6 %
ИМТ	18,49 и <	10	2,5 %
	18,5 - 24,99	237	59,5 %
	30 и >	151	37,9 %

Анализ эпитопной специфичности аутоантител в сыворотке крови пациентов с АИТ и ДТЗ представлен в таблице 3.

Как видно из представленных данных, аутоантитела в сыворотке крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом ингибировали связывание МкАТ 63

значительнее, чем таковые в сыворотке пациентов с диффузным токсическим зобом: 59,62 % (48,99 %; 67,80 %) против 54,02 % (46,32 %; 62,63 %) соответственно.

Это различие позволяет предположить, что МкАТ 63 является перспективным биомаркером аутоиммунного тиреоидита (таблица 3).

Таблица 3 - Распределение МкАТ у пациентов с АИТ и ДТЗ

Эпитопы	Диагноз						Значение – Р
	АИТ			ДТЗ			
	Медиана (%)	25 Процентиль (%)	75 Процентиль (%)	Медиана (%)	25 Процентиль (%)	75 Процентиль (%)	
МкАТ 1	57.05	35.61	66.89	62.65	41.50	69.52	0.051
МкАТ 3	62.93	44.50	72.65	60.90	42.85	68.79	0.146
МкАТ 10	66.92	45.83	75.44	65.18	42.30	73.57	0.272
МкАТ 45	54.99	38.80	63.33	50.49	37.45	60.11	0.113
МкАТ 63	<b>59.62</b>	<b>48.99</b>	<b>67.80</b>	<b>54.02</b>	<b>46.32</b>	<b>62.63</b>	0.001
МкАТ 70	63.05	55.20	68.81	65.76	54.52	72.70	0.057
МкАТ 77	<b>51.13</b>	<b>31.00</b>	<b>62.25</b>	<b>54.36</b>	<b>36.90</b>	<b>68.03</b>	0.047
МкАТ 82	57.27	30.08	73.31	56.63	32.33	70.33	0.442

АТ к ТПО в сыворотке крови пациентов с ДТЗ ингибировали связывание МкАТ 77 в 54,36 % случаев (36,90 %; 68,03 %), против 51,13 % (31,00 %; 62,25 %) с АИТ, соответственно.

Статистически значимая разница в связывании МкАТ в зависимости от концентрации АТ к ТПО наблюдалась в отношении МкАТ 45, связывание которого значительно подавлялось в сыворотке крови пациентов с концентрацией АТ к ТПО более 1000 МЕ/мл (58,36 %) по сравнению с пациентами с концентрацией АТ к ТПО ниже 1000 МЕ/мл (52,37 %). Хотя ингибирование связывания МкАТ 45 было более выражено у пациентов с концентрацией АТ к ТПО более 1000 МЕ/мл, корреляции между этими



показателями выявлено не было, и таким образом, весьма маловероятно, что данный биомаркер будет иметь клиническое значение (таблица 4).

Таблица 4 - Ингибирование связывания МкАТ в зависимости от концентрации АТ к ТПО

Эпитопы	Концентрация антител к ТПО						Значение – Р
	< 1000 МЕ/мл			> 1000 МЕ/мл			
	Медиана (%)	25 Процентиль (%)	75 Процентиль (%)	Медиана (%)	25 Процентиль (%)	75 Процентиль (%)	
МкАТ 1	58.23	36.41	67.57	58.54	37.39	69.14	0.419
МкАТ 3	60.81	41.59	70.63	66.81	49.06	74.01	0.066
МкАТ 10	66.08	44.60	74.93	65.86	44.51	76.39	0.954
МкАТ 45	<b>52.37</b>	<b>37.80</b>	<b>61.80</b>	<b>58.36</b>	<b>39.98</b>	<b>67.05</b>	0.012
МкАТ 63	57.90	47.23	65.35	60.15	50.22	68.18	0.218
МкАТ 70	62.95	54.63	69.51	67.10	58.71	72.27	0.053
МкАТ 77	51.27	31.00	62.31	54.69	39.15	65.43	0.091
МкАТ 82	57.01	30.41	71.88	59.22	26.75	72.59	0.97

В таблице 5 отражено распределение степени ингибирования связывания с тиреопероксидазой различных МкАТ к ТПО в зависимости от наличия синдрома перекреста (Overlap syndrome). Сыворотка крови пациентов с синдромом перекреста (Overlap syndrome) показала менее значительное ингибирование связывания МкАТ 63 (52,47 %), чем у пациентов без синдрома перекреста (58,81 %). Однако АТ к ТПО в сыворотке пациентов с синдромом перекреста ингибировали связывание МкАТ 82 более значительно, чем таковые в сыворотке пациентов без синдрома перекреста: 67,68 % (50,02 %; 76,03 %) против 56,51 % (28,37 %; 71,88 %), соответственно (таблица 5).

Таблица 5 - Ингибирование связывания МкАТ аутоантителами сыворотки пациентов с синдромом перекреста (Overlap syndrome)

Эпитопы	Синдром перекреста (Overlap syndrome)						Значение – P
	Нет			Есть			
	Медиана (%)	25 Процентиль (%)	75 Процентиль (%)	Медиана (%)	25 Процентиль (%)	75 Процентиль (%)	
МкАТ 1	58.54	36.41	67.57	58.21	47.52	67.93	0.672
МкАТ 3	62.48	44.20	71.95	57.71	41.21	69.22	0.375
МкАТ 10	66.74	45.83	75.44	56.71	33.45	73.57	0.07
МкАТ 45	54.95	39.00	63.11	47.29	27.24	57.79	0.078
МкАТ 63	58.81	47.61	66.16	52.47	45.47	62.00	0.043
МкАТ 70	63.54	55.06	69.70	63.83	55.32	70.23	0.945
МкАТ 77	52.21	32.20	63.61	50.98	36.47	61.95	0.925
МкАТ 82	<b>56.51</b>	<b>28.37</b>	<b>71.88</b>	<b>67.68</b>	<b>50.02</b>	<b>76.03</b>	0.008

Поскольку тиреопероксидаза является специфичным для щитовидной железы аутоантигеном, необходимым для ее правильного функционирования, следует продолжить дальнейшие исследования, которые могут пролить свет на специфичность моноклональных антител при различных аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.

Выраженное ингибирование связывания МкАТ 82 при синдроме перекреста (overlap-syndrome) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения диффузного токсического зоба, при котором не требуется агрессивная терапия с развитием значительных последствий, таких как тяжелый гипотиреоз, гипопаратиреоз, тетания, парез голосовых связок [200].

ТПО представляет собой большой мембраносвязанный гликопротеин, участвующий в синтезе гормонов щитовидной железы, индуцируя йодирование остатков тирозина. Кроме того, ТПО индуцирует синтез на молекуле тиреоглобулина моно-йодтирозина и ди-йодтирозина [201]. Молекула ТПО состоит из 933 аминокислот, и из них первые 735 гомологичны миелопероксидазе (МПО) человека [202]. Хотя первичная структура молекулы ТПО понятна, существует недостаток знаний о ее топографии. До настоящего времени не удаётся получить трехмерную структуру тиреопероксидазы методом рентгеноструктурного анализа. Одним из решений этой проблемы является создание коллекций моноклональных антител к ТПО. За последние десятилетия рядом групп ученых были созданы такие коллекции моноклональных антител, часть из которых были выделены у пациентов с АИТ и диффузным токсическим зобом.

АТ к ТПО связывают ТПО на поверхности клеток щитовидной железы и преимущественно взаимодействуют со специфической частью молекулы ТПО, называемой “иммунодоминантной областью”, которая в основном состоит из МПО-подобного домена [203].

В определенной степени наше исследование дополняет результаты более ранних исследований. По данным А.В.Зубкова и соавторов 8 эпитопов 1, 2, 88, 3, 70, 79, 82 и 77 участвуют в конкуренции за центры связывания тиреопероксидазы с аутоантителами из сыворотки крови исследуемых с АИТ и ДТЗ. Для аутоантител максимальное ингибирование связывания выявлено, против МкАТ 3, которое составляет 60,3 % для исследуемых с ДТЗ и 61,8 % для исследуемых с АИТ. Степень ингибирования связывания не зависела от концентрации антител к ТПО в сыворотке крови исследуемых с ДТЗ. Тем не менее, эта разница не достигала уровня статистической значимости из-за относительно небольшого объема выборки. А.В. Зубков, Н.С. Кузьмина и соавторы отметили, что антитела к ТПО в сыворотке крови исследуемых с АИТ подавляли связывание МкАТ 77 больше, чем в сыворотках крови исследуемых с ДТЗ: 36,3 % и 54,3 % соответственно [204-210].

Данное исследование отличается от наших результатов, полученным при исследовании групп пациентов из Казахстана: в сыворотке крови пациентов с диффузным токсическим зобом наблюдалось более выраженное ингибирование МкАТ 77 по сравнению с сывороткой пациентов с аутоиммунным тиреоидитом: 54,36 % против 51,13 % соответственно.

Ruf J. и соавторы [211] обнаружили, что в сыворотке крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом, и с диффузным токсическим зобом наблюдается лишь умеренное ингибирование связывания аутоантител, нацеленных против эпитопа МкАТ 1, и Bosovsky A. с соавторами [212] пришли к аналогичному выводу для сыворотки крови пациентов с диффузным токсическим зобом. Однако, это не было подтверждено нашими результатами, поскольку степень ингибирования МкАТ 1 была сильнее и составляла 57,05 % для пациентов с аутоиммунным тиреоидитом и 62,65 % для пациентов с диффузным токсическим зобом.

Согласно данным более ранних исследований, степень ингибирования была выше в сыворотке крови пациентов, содержащих высокие уровни антител к ТПО (>1000 МЕ/мл), и составляла в среднем 70-90 %. Между тем, образцы, содержащие средние (200-500 МЕ/мл) и низкие концентрации аутоантител (100-200 МЕ/мл), характеризовались меньшей степенью ингибирования: 40-60 % и 20-30 % соответственно [213].

Это совпало с нашими результатами, но не полностью: хотя сыворотки крови, содержащие высокие (> 1000 МЕ/мл) уровни АТ к ТПО, ингибировали связывание моноклональных антител более интенсивно, степень ингибирования не превышало уровня 67,10 %.

Что касается синдрома перекреста (overlap-syndrome), нам не удалось найти ни одного исследования по изучению гетерогенности эпитопов АТ к ТПО при данной патологии.

Таким образом, наше исследование можно рассматривать, как первую попытку получить представление о специфичности эпитопов при этом аутоиммунном заболевании щитовидной железы.

### **3.3 Частота встречаемости интерлейкина 10 и Фактора некроза опухоли- $\alpha$ в сыворотке крови больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы**

Для определения иммунного статуса больных с АИЗЩЖ для прогнозирования дальнейшего клинического течения АИЗЩЖ в крови пациентов были определены концентрации цитокинов: ИЛ 10 и ФНО- $\alpha$ .

В таблице 6 представлены данные по определению уровня АТ к ТПО, ИЛ 10 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови пациентов с АИЗЩЖ.

Таблица 6 - Результаты определения АТ к ТПО, ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови пациентов с АИЗЩЖ

Статистика				
		АТ к ТПО	ИЛ 10	ФНО-альфа
1		2	3	4
N		149	149	149
Медиана		443,1000	0,8100	8,20000
Минимальные показатели		0,00	0,10	0,230
1		2	3	4
Максимальные показатели		11592,00	230,73	437,230
Процент или	25	180,9000	0,1000	4,17500
	75	965,9500	4,1300	43,34500

Статистические данные по группировке пациентов: по полу, функциональному статусу щитовидной железы, образованию узла, месту проживания и статусу по потреблению табачных изделий представлены в таблице 7. Данные показатели приведены с целью сравнения функционального состояния щитовидной железы с различными показателями.

Таблица 7 - Распределение пациентов по полу и функциональному статусу ЩЖ

Пол	Мужчины	14,77 %
	Женщины	85,23 %
Функциональный статус щитовидной железы	Гипофункция	71,81 %
	Гиперфункция	28,18 %
Узел	Есть	6,71 %
	Нет	93,29 %
Место проживания	Село	63,76 %
	Город	36,24 %
Курение	Да	14,09 %
	Нет	85,91 %

Статистический анализ показал, что концентрация ИЛ10 статистически значимо ниже у группы (Me = 0,1; IQR = 3,29), имеющие гиперфункцию щитовидной железы, в отличие от группы с гипофункцией щитовидной железы (Me = 1,2800; IQR = 4,60)  $p = 0,049951$ .

Также было обнаружено, что пациенты с гипофункцией щитовидной железы имели статистически значимое повышение уровня АТ к ТПО (Me = 520,30; IQR = 906,60) по сравнению с пациентами с гиперфункцией щитовидной железы (Me = 167,20; IQR = 421,52)  $p = 0,000003$ . Однако, никаких статически значимых различий в уровне ФНО- $\alpha$  между пациентами с гипо- и гиперфункцией щитовидной железы не наблюдалось  $p = 0,443789$ .

Корреляционный анализ показал существование негативной слабой силы связи между функциональным статусом щитовидной железы и концентрацией ИЛ10 ( $\tau_b = -0.141$ ,  $p = 0.04995$ ).

Также была обнаружена негативная средней силы связь между уровнем АТ к ТПО и функциональным статусом щитовидной железы ( $\tau_b = -0.31$ ,  $p = 0.000003326$ ).

Между ФНО- $\alpha$  и функциональным статусом щитовидной железы не была обнаружена корреляционная связь ( $p = 0.4438$ ).

Критерий согласия Пирсона показал о существовании связи между полом пациентов и функциональным состоянием щитовидной железы (гиперфункция и гипофункция)  $\chi^2 = 12,177151$ ,  $p = 0,000484$ .

У Мужчин чаще наблюдалась гиперфункция щитовидной железы (59,1%), тогда как у женщины - гипофункция щитовидной железы (77,2 %) (рисунок 12).

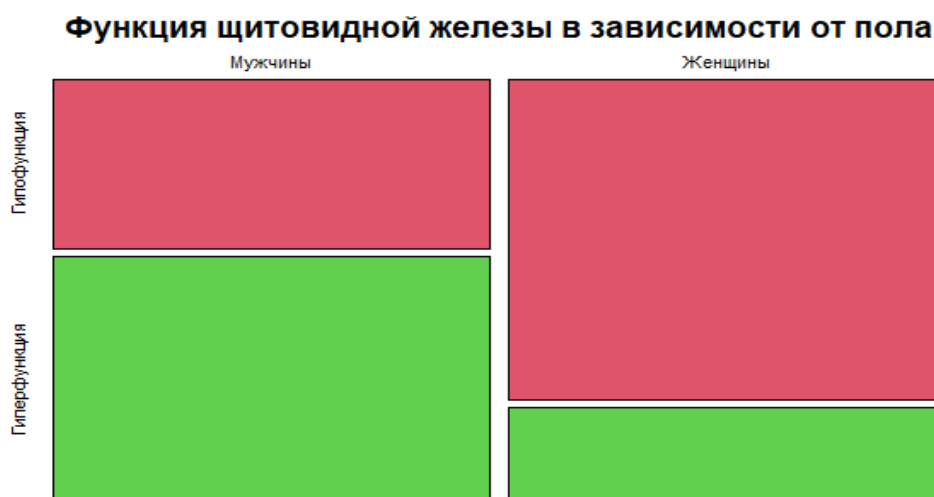


Рисунок 12 – Распределение гиперфункции и гипофункции щитовидной железы в зависимости от пола

Точный критерий Фишера не выявил статистически значимой связи между функцией щитовидной железы и выявлением узлов  $p = 0,145399$ , а также после применения критерия согласия Пирсона между функцией щитовидной железы и местом проживания не было обнаружена статистически значимой связи (село, город)  $\chi^2 = 0,214081$ ,  $p = 0,643587$ .

Как показано на рисунке 11 у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом концентрация ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови выше, чем у больных с диффузным токсическим зобом. Из общего количества 149 человек, выбранных из общей группы исследуемых, концентрация ФНО- $\alpha$  была повышена у 73 человек, а у 75 человек были нормальные показатели. Таким образом, статистический анализ показал, что ИЛ10 статистически значимо выше у группы пациентов ( $Me = 0,1$ ;  $IQR = 3,29$ ), имеющей диагноз АИТ, в отличие от группы пациентов с диффузным токсическим зобом. Цитокины: интерлейкин 10 и ФНО- $\alpha$  мало изучены в тиреологии, в связи с этим мы решили изучить связь между патогенезом диффузного токсического зоба, аутоиммунного тиреоидита и синдрома перекрёста (overlap-syndrome).

Для 149 пациентов: АИТ ( $n=97$ ), ДТЗ ( $n=52$ ) был определен уровень основных цитокинов: интерлейкина 10 и ФНО- $\alpha$ . Уровень интерлейкина 10 в сыворотке крови у пациентов с ДТЗ и АИТ был повышен относительно нормальных значений у 19,5 %, а у 80,5 % пациентов показатели интерлейкина 10 были в пределах нормы. ФНО- $\alpha$  был повышен у 48,9 % пациентов, у 50,3 % пациентов показатели ФНО- $\alpha$  были нормальными.

Статистически значимых различий и корреляции между уровнем ФНО- $\alpha$  между пациентами с гипо- и гиперфункцией щитовидной железы, функциональным статусом щитовидной железы и местом проживания не было обнаружено при использовании непараметрических методов (критерий

согласия Пирсона  $\chi^2$ ). Однако была выявлена группа пациентов (n=23) в которой наблюдался очень высокий уровень интерлейкина 10 (в 3 и более раз выше нормы) и повышенный уровень ФНО- $\alpha$ . И только у 4 пациентов высокий уровень интерлейкина 10 сочетался с нормальным уровнем ФНО- $\alpha$ .

### **3.4 Алгоритм диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител**

Для верификации диагноза диагностический комплекс должен включать обязательное ультразвуковое, лабораторное исследование с определением тиреотропного гормона (ТТГ), свободного Т4, антител к тиреопероксидазе (АТ к ТПО), антител к рецептору тиреотропного гормона (АТ к рТТГ) и антител к тиреоглобулину (АТ к ТГ).

Для своевременной диагностики синдрома перекреста при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы предложен алгоритм диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител.

Многоэтапная диагностика позволяет в преобладающем большинстве наблюдений установить точный диагноз.

Нами разработан и внедрен в практику алгоритм, позволяющий выявлять синдром перекреста (overlap-syndrome) при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы (рисунок 13).

Таким образом, внедрение алгоритма диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител рекомендует, что при обнаружении выраженного ингибирования МкАТ 82 при диффузном токсическом зобе, не требуется агрессивная терапия, лечение радиоактивным йодом или хирургическое лечение с возможным развитием значительных осложнений, таких как: тяжелый гипотиреоз, гипопаратиреоз, тетания, парез голосовых связок.

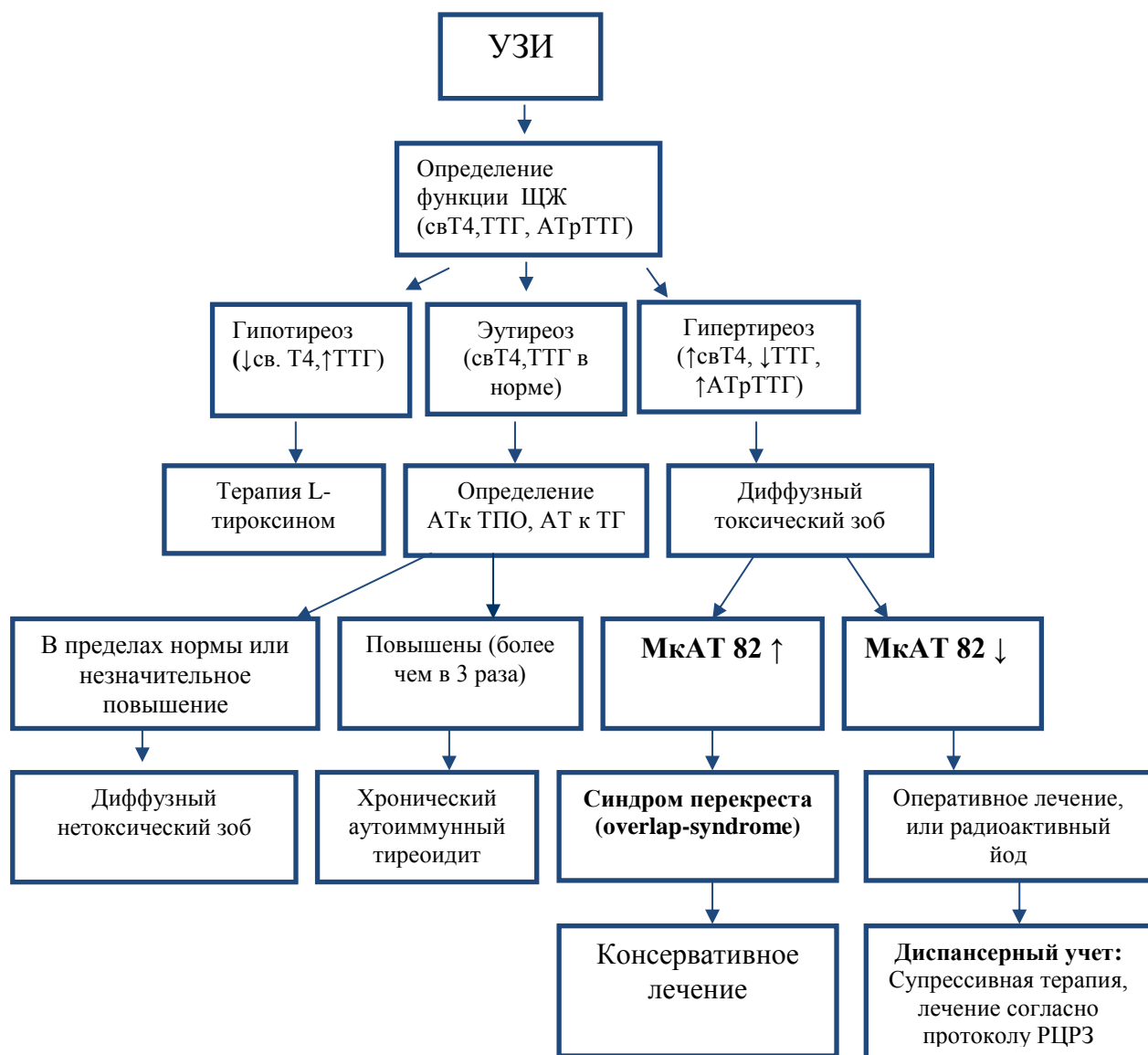


Рисунок 13 - Алгоритм диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено разработке эффективных критериев диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы на основе изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с АИЗЦЖ с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе. Проблема аутоиммунных заболеваний щитовидной железы занимает в современной тиреологии особое место по нескольким причинам. Во-первых, отмечается тенденция роста количества заболевших, во-вторых, территория Республики Казахстан является неблагополучной в отношении радиационного фона и йодной обеспеченности. По данным мировой литературы распространенность диффузного токсического зоба в общей популяции составляет около 1 %, в то время как аутоиммунный тиреоидит встречается примерно у 15% взрослых женщин, хотя преимущественно в субклинической форме. В группу риска входят женщины, возраст которых более 40 лет.

Заболевания щитовидной железы, включая аутоиммунные заболевания щитовидной железы, широко распространены в Казахстане, и их значение нельзя недооценивать из-за бывшего Семипалатинского ядерного испытательного полигона – крупнейшего советского полигона для испытаний ядерного оружия, расположенного в Восточном Казахстане [214]. Кроме того, начиная с 2010 года по настоящее время Казахстан является ведущим мировым производителем урановой руды [215-217].

Поскольку существенных мероприятий по профилактике попадания радиоизотопов в организм человека, по крайней мере, в первые два десятилетия функционирования полигона, не проводилось, значительные контингенты населения подвергались внешнему и внутреннему облучению, и в настоящее время в регионе проживают их потомки 3-4 поколения. Кроме того, Казахстан является регионом с дефицитом йода, что влияет на распространение заболеваний щитовидной железы. В условиях эндемических по йодному дефициту районов щитовидная железа особо чувствительна к действию радиоактивного излучения. Нормальное состояние щитовидной железы зависит от потребления йода. Наличие йодного дефицита приводит к развитию патологических изменений в тиреоидной системе, заключающихся исходно в активации регуляторных влияний, компенсирующих нарушения тиреоидного статуса за счёт гиперфункции железы, далее в развитии гиперплазии её тканей. Ранее проведенные исследования показали, что частота аутоиммунных заболеваний щитовидной железы значительно выше в регионах с дефицитом йода [218-219].

**Целью** данного исследования являлась разработка эффективных критериев диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы на основе изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с АИЗЦЖ с использованием моноклональных антител.

Для достижения указанной цели, был выполнен ряд задач, изложенных ниже.

В рамках реализации **первой задачи** исследования были проанализированы показатели заболеваемости щитовидной железой в период 2016–2020 гг. по ВК, ЗКО, СКО и ЮКО. Используя результаты медико-демографических исследований за 2016-2020 гг. и данные медицинско-информационной системы, обеспечивающей ведение процессов субъектов здравоохранения из статистического сборника «Здоровье населения Республики Казахстан и деятельность организации здравоохранения», было показано, что наблюдается прирост аутоиммунных заболеваний щитовидной железой по Восточному Казахстану – на 46,8 %, в Южно-Казахстанской области - 44,1 %, в Северо-Казахстанской области - 45,5 % и в Западно-Казахстанской области - 43,61 %.

Для реализации **второй задачи** нами проведено поперечное исследование 398 пациентов с диффузным токсическим зобом, аутоиммунным тиреоидитом и синдромом перекреста (overlap-syndrome). В ходе исследования проанализировали специфичность эпитопов тиреопероксидазы с моноклональными антителами. Мы использовали 8 МкАТ для тиреопероксидазы, из которых четыре реагировали с нативной ТПО и остальные реагировали с денатурированной ТПО.

Подавляющее большинство пациентов были женщинами как в группе с аутоиммунным тиреоидитом (93,3 %), так и в группе с диффузным токсическим зобом (70,7 %). Средний возраст пациентов составил: 47,77 года для пациентов с аутоиммунным тиреоидитом и 45,75 года для пациентов с диффузным токсическим зобом. Большинство пациентов в этом исследовании были казахской национальности, что соответствует текущей демографической ситуации в Республике Казахстан. Пропорции пациентов с городским/сельским проживанием были одинаковы. Большинство пациентов находились под наблюдением на момент зачисления в исследование: 69,9 % в группе с аутоиммунным тиреоидитом и 71,8 % в группе с диффузным токсическим зобом.

Распределение восьми различных МкАТ, направленных к тиреопероксидазе человека, в конкурентном анализе с аутоантителами из сыворотки крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом и диффузным токсическим зобом показало, что, аутоантитела в сыворотке крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом ингибировали связывание МкАТ 63 более значительно, чем в сыворотке пациентов с диффузным токсическим зобом: 59,62 % (48,99 %; 67,80 %) против 54,02 % (46,32 %; 62,63 %), соответственно.

Эти различия позволяют предположить, что МкАТ 63 является перспективным биомаркером для лабораторного подтверждения аутоиммунного тиреоидита.

Антитела к ТПО в сыворотке крови пациентов с диффузным токсическим зобом ингибировали связывание МкАТ 77 в 54,36 % случаев (36,90 %; 68,03 %), против 51,13 % (31,00 %; 62,25 %) в сыворотке крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом, соответственно.

В конкурентном анализе взаимодействия между МкАТ к ТПО и АТ к ТПО сыворотки в зависимости от концентрации аутоантител статистически значимая

разница наблюдалась в отношении МкАТ 45, связывание которого с тиреопероксидазой человека значительно подавлялось в сыворотке крови пациентов с высокой концентрацией АТ к ТПО более 1000 МЕ/мл (58,36 %) по сравнению с аутоантителами из сыворотки крови пациентов с концентрацией АТ к ТПО ниже 1000 МЕ/мл (52,37 %).

Хотя ингибирование связывания МкАТ 45 было более выражено с аутоантителами из сыворотки крови пациентов с концентрацией АТ к ТПО более 1000 МЕ/мл, корреляции между этими показателями выявлено не было, и, таким образом, маловероятно, что этот биомаркер будет иметь клиническое значение.

Сыворотка крови пациентов с синдромом перекреста (Overlap syndrome) показала менее значительное ингибирование связывания МкАТ 63 (52,47 %), чем у пациентов без синдрома перекреста (58,81 %). Однако АТ к ТПО из сыворотки крови пациентов с синдромом перекреста ингибировали связывание МкАТ 82 более значительно, чем аутоантитела из сыворотки крови пациентов без синдрома перекреста: 67,68 % (50,02 %; 76,03 %) против 56,51 % (28,37 %; 71,88 %), соответственно. Выраженное ингибирование связывания МкАТ 82 при синдроме перекреста (overlap-syndrome) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения диффузного токсического зоба.

Для реализации **третьей задачи** определяли уровень ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$  у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.

Из 149 человек, выбранных из общей группы исследуемых, уровень ФНО- $\alpha$  был повышен у 73 человек, у 75 человек показатели соответствовали норме. Статистический анализ показал, что ИЛ10 выше нормы у 19,4% пациентов. Статистические показатели ИЛ10 были выше у пациентов с диагнозом аутоиммунный тиреоидит.

При использовании критерия согласия  $\chi^2$  Пирсона статически значимых различий в уровне ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови пациентов с гипо- и гиперфункцией щитовидной железы, функциональным статусом щитовидной железы и местом проживания не было обнаружено. Но при этом в общей группе в сыворотке крови значения ФНО- $\alpha$  были повышены у 48,9% пациентов, у 50,3% пациентов были нормальные показатели.

В рамках реализации **четвёртой задачи** установлено, что выраженное ингибирование связывания МкАТ 82 при синдроме перекреста (overlap-syndrome) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения диффузного токсического зоба, при котором не требуется агрессивная терапия с развитием таких тяжёлых осложнений терапии, как тяжёлый гипотиреоз, гипопаратиреоз, тетания, парез голосовых связок. В конечном итоге, полученные в диссертационной работе результаты, позволили разработать алгоритм диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител.

При изучении нами гетерогенности эпитопов АТ к ТПО в группах пациентов с аутоиммунным тиреоидитом, диффузным токсическим зобом и

синдромом перекреста (overlap-syndrome), не удалось найти ни одного подобного исследования в мировой практике.

В связи с этим наше исследование можно рассматривать, как первую попытку получить представление о специфичности эпитопов при этом аутоиммунном заболевании щитовидной железы.

Таким образом, методом картирования эпитопов к ТПО с помощью МкАТ становится возможным исследовать гетерогенность человеческих аутоантител к ТПО у пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы.

На данный момент актуальным является поиск клинико-диагностических маркеров синдрома перекреста (overlap-syndrome) при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы для прогноза и течения заболевания и выбора лечебной тактики. Представляет научный интерес расширение и углубление знаний не только относительно аутоиммунного тиреоидита, диффузного токсического зоба, и синдрома перекреста (overlap-syndrome), которые имеют важное значение в прогнозе качества жизни пациентов. В связи с этим, актуально всестороннее исследование гетерогенности эпитопов антипероксидазных аутоантител в сыворотке крови пациентов с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе: определить их место в структуре хирургической патологии щитовидной железы, клиническую роль, основные клинико-морфологические признаки, а также применение МкАТ 82 в качестве современного метода оценки прогноза течения заболеваний щитовидной железы, особенно в случае overlap-syndrome.

Принимая во внимание высокую частоту распространения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, проведение скрининга на предмет носительства маркера МкАТ 82 может стать эффективным методом ранней диагностики синдрома перекреста (overlap-syndrome). В экологически неблагоприятных условиях, в местах эндемии и последствий радиационного облучения изучение предрасполагающих маркеров, как например, МкАТ 82 необходимо проводить в виде скрининговых исследований групп риска. Данное обстоятельство создает необходимость пересмотра и расширения существующего клинического протокола по тиреопатологии.

### **Выводы**

1. Анализ заболеваемости за период 2016-2020 г.г. выявил общий прирост аутоиммунных заболеваний щитовидной железы по Восточному Казахстану на 46,8 %, Южно-Казахстанской области – 44,1 %, Северо-Казахстанской области – 45,5 %, Западно-Казахстанской области – 43,61 %. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы чаще встречаются у лиц со средним возрастом  $47,18 \pm 14,99$  лет. Подавляющее большинство пациентов – женщины, как в подгруппе АИТ (93,3 %), так и в подгруппе ДТЗ (70,7 %).

2. Выраженное ингибирование связывания МкАТ 82 при синдроме перекреста (overlap-syndrome) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения диффузно токсического зоба. Аутоантитела в сыворотке крови пациентов с аутоиммунным тиреоидитом ингибировали

связывание МкАТ 63 более значительно, чем аутоантитела из сыворотки крови пациентов с диффузным токсическим зобом. Это различие позволяет предположить, что МкАТ 63 является перспективным дополнительным биомаркером АИТ.

3. Статистический анализ результатов показал, что значения ИЛ-10 выше нормы у 19,4% пациентов, у 80,5 % пациентов показатели нормальные. Статистические показатели ИЛ10 были выше в группе пациентов с диагнозом аутоиммунный тиреоидит.

После использования критерия согласия  $\chi^2$  Пирсона статически значимых различий в уровне ФНО- $\alpha$  между группами пациентов с гипо- и гиперфункцией щитовидной железы, функциональным статусом щитовидной железы и местом проживания не было обнаружено статистически значимой и корреляционной связи. Но при этом в общей группе значения ФНО- $\alpha$  были повышены у 48,9% пациентов, у 50,3% пациентов - показатели нормальные.

4. Разработан алгоритм диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием моноклональных антител. Предложенный алгоритм позволяет обеспечить своевременную диагностику синдрома перекрёста (overlap-syndrome) на основе патогенетических различий, рекомендовано, что при обнаружении выраженного ингибирования МкАТ 82 при диффузном токсическом зобе не требуется агрессивная терапия с развитием таких возможных осложнений, как гипопаратиреоз, тетания, тяжёлый гипотиреоз, парез голосовых связок. Обнаружение выраженного ингибирования МкАТ 82 может иметь полезную диагностическую ценность в качестве дополнительного диагностического инструмента для постановки диагноза синдром перекрёста в самые ранние сроки, что позволит снизить частоту осложнений аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Изучение гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы рекомендуется к применению в практической медицине для диагностики синдрома перекреста (overlap-syndrome) с применением диагностического биомаркера МкАТ 82.

2. Разработан алгоритм диагностики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы с использованием коллекции моноклональных антител к тиреопероксидазе человека.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Vanderpump M.P.J., Tunbridge W.M.G., French J.M., Appleton D., Bates D., Clark F. et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham survey // *Clin Endocrinol.* – 1995. - №43(1). – P. 55–68.
- 2 Caturegli P. Kimura H. Rocchi R. Rose NR. Autoimmune thyroid diseases // *Curr Opin Rheumatol.* – 2007. – Vol. 19, №1. – P. 44–48.
- 3 Hollowell J.G., Staehling N.W., Flanders W.D., Hannon W.H., Gunter E.W., Spencer C.A. et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2002. - №87(2). – P. 489–499.
- 4 Ramos-Leví A.M., Marazuela M. Pathogenesis of thyroid autoimmune disease: the role of cellular mechanisms // *Endocrinología y Nutrición.* – 2016. - №63(8). – P. 421–429.
- 5 Rapoport B., McLachlan S.M. Graves' hyperthyroidism is antibody-mediated but is predominantly a Th1-type cytokine disease // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2014. - №99. – P. 4060–4061.
- 6 Tomer Y., Davies T.F. Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function // *Endocr Rev.* – 2003. - №24. – P. 694–717.
- 7 Anaya J.M., Castiblanco J., Rojas-Villarraga A. et al. The multiple autoimmune syndromes. A clue for the autoimmune tautology // *Clin Rev Allergy Immunol.* – 2012. - №43. – P. 256–264.
- 8 Guo J., Jaume J.C., Rapoport B., McLachlan S.M. Recombinant thyroid peroxidase-specific Fab converted to immunoglobulin (IgG) molecules: evidence for thyroid cell damage by IgG1 but not IgG4 autoantibodies // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1997. - №82. – P. 925–931.
- 9 Mahler Michael, Marvin J. Fritzler Epitope specificity and significance in systemic autoimmune diseases. – 2019. – 120 p.
- 10 Latrofa F., Phillips M., Rapoport B., McLachlan S.M. Human monoclonal thyroglobulin autoantibodies: epitopes and immunoglobulin genes // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2004. - № 89(10). – P. 5116.
- 11 Gora M., Gardas A., Wiktorowicz W., Hobby P., Watson P.F., Weetman A.P. et al. Evaluation of conformational epitopes on thyroid peroxidase by antipeptide antibody binding and mutagenesis // *Clin Exp Immunol.* – 2004. – Vol. 1, №36(1). – P. 137–144.
- 12 Krishnamurthy B., Dudek N.L., McKenzie M.D., Purcell A.W., Brooks A.G., Gellert S. et al. Responses against islet antigens in NOD mice are prevented by tolerance to proinsulin but not IGRP // *J Clin Invest.* – 2006. - Vol. 1, №16(12). – P. 3258.

- 13 Quaratino S., Osman M., Ruf J., McLachlan S.M., Rapoport B., Londei M. Human autoantibodies modulate the T cell epitope repertoire but fail to unmask a pathogenic cryptic epitope // *J Immunol.* – 2005. - №174. – P. 557.
- 14 Latrofa F., Ricci D., Montanelli L., Altea M.A., Pucci A., Pinchera A. et al. Thyroglobulin autoantibodies of patients with subacute thyroiditis are restricted to a major B cell epitope // *J Endocrinol Invest.* – 2012. - №35(8). – P. 712.
- 15 Marcocci C., Marino M. Thyroid-directed antibodies. In: Braverman L.E., Utiger R. editors. *Laboratory Assessment of Thyroid Function.* - Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005. - Part 2. - P. 360–372.
- 16 Caturegli P., Kuppers R.C., Mariotti S., Burek C.L., Pinchera A., Ladenson P.W. et al. IgG subclass distribution of thyroglobulin antibodies in patients with thyroid disease // *Clin Exp Immunol.* – 1994. - Vol. 98. – P. 464–469.
- 17 Yin X., Latif R., Bahn R., Davies T.F. Genetic profiling in Graves' disease: further evidence for lack of a distinct genetic contribution to Graves' ophthalmopathy // *Thyroid.* – 2012. - №22(7). – P. 730–736.
- 18 Brix T.H., Hegedus L. Twins as a tool for evaluating the influence of genetic susceptibility in thyroid autoimmunity // *Ann Endocrinol.* – Paris, 2011. - №72(2). – P. 103–107.
- 19 Brix T.H., Hegedus L. Twin studies as a model for exploring the aetiology of autoimmune thyroid disease // *Clin Endocrinol.* – 2012. - Vol. 76, №4. – P. 457–64.
- 20 Muscogiuri G., Mari D., Prolo S., Fatti L.M., Cantone M.C., Garagnani P. et al. 25 hydroxyvitamin D deficiency and its relationship to autoimmune thyroid disease in the elderly // *Int J Environ Res Public Health.* – 2016. - Vol. 13, №9. – P. 850.
- 21 Giovinazzo S., Vicchio T.M., Certo R., Alibrandi A., Palmieri O., Campenni A. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms/haplotypes and serum 25(OH)D3 levels in Hashimoto's thyroiditis // *Endocrine.* – 2016. - Vol. 55, №2. – P. 599–606.
- 22 McLachlan Sandra M., Nagayama Yuji, Pichurin Pavel N., Mizutori Yumiko, Chen Chun-Rong, Misharin Alexander, Aliesky Holly A., Basil Rapoport. The Link between Graves' Disease and Hashimoto's Thyroiditis: A Role for Regulatory T Cells // *Endocrinology.* – 2007. – Vol. 148, issue 12. – P. 5724–5733.
- 23 Muller I., Giani C., Zhang L. et al. Does thyroid peroxidase provide an antigenic link between thyroid autoimmunity and breast cancer? // *Int J Cancer.* - 2014. - №34. - P. 1706-1714.
- 24 Ris-Stalpers C., Bikker H. Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to TPO mutations // *Mol Cell Endocrinol.* - 2010. - №322. - P. 38-43.
- 25 Stoupa A., Chaabane R., Guériouz M. et al. Thyroid Hypoplasia in Congenital Hypothyroidism Associated with Thyroid Peroxidase Mutations // *Thyroid.* - 2018. - №28. - P. 941-944.



- 26 Greenbaum J.A., Andersen P.H., Blythe M. et al. Towards a consensus on datasets and evaluation metrics for developing B-cell epitope prediction tools // *Journal of Molecular Recognition*. - 2007. - №20. – P. 75–82.
- 27 Sela-Culang I., Kunik V., Ofra Y. The structural basis of antibody-antigen recognition // *Frontiers in Immunology*. - 2013. - №4. – P. 302.
- 28 Soria-Guerra R.E., Nieto-Gomez R., Govea-Alonso D.O., Rosales-Mendoza S. An overview of bioinformatics tools for epitope prediction: implications on vaccine development // *J Biomed Inform.* – 2015. - №53. – P. 405–414.
- 29 Potocnakova L., Bhide M., Pulzova L.B. An introduction to B-cell epitope mapping and in Silico epitope prediction // *J Immunol Res.* – 2016. - №1. – P. 6760830.
- 30 Goldsby R.A., Kindt T.J., Kuby J., Osborne B.A. *Immunology*. - New York: W. H. Freeman, 2002. – 105 p.
- 31 Blum J.S., Wearsch P.A., Creswell P. Pathways of antigen processing // *Annual Review of immunology*. - 2013. - №31. – P. 443–473.
- 32 Matsuo H., Kohno K., Niihara H., Morita E. Specific IgE Determination to Epitope Peptides of  $\omega$ -5 Gliadin and High Molecular Weight Glutenin Subunit Is a Useful Tool for Diagnosis of Wheat-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis // *J Immunol*. - 2005. - №175(12). – P. 8116-8122.
- 33 Nybakken G.E., Oliphant T., Johnson S., Burke S., Diamond M.S., Fremont D.H. Structural basis of West Nile virus neutralization by a therapeutic antibody // *Nature*. – 2005. - Vol. 437, №7059. – P. 764-769.
- 34 Quaratino S., Osman M., Ruf J., McLachlan S.M., Rapoport B., Londei M. Human autoantibodies modulate the T cell epitope repertoire but fail to unmask a pathogenic cryptic epitope // *J Immunol*. – 2005. - №174. – P. 557–563.
- 35 Dai Y., Carayanniotis K.A., Eliades P., Lymberi P., Shepherd P., Kong Y. et al. Enhancing or suppressive effects of antibodies on processing of a pathogenic T cell epitope in thyroglobulin // *J Immunol*. – 1999. - Vol. 162, №12. – P. 6987–92
- 36 Latrofa F., Phillips M., Rapoport B., McLachlan S.M. Human monoclonal thyroglobulin autoantibodies: epitopes and immunoglobulin genes // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2004. - Vol.89, №10. – P. 5116–5123.
- 37 Malthiery Y., Henry M., Zanelli E. Epitope mapping of human thyroglobulin reveals a central immunodominant region // *FEBS Lett.* – 1991. - Vol. 279, №2. – P. 190–192.
- 38 Gora M., Gardas A., Wiktorowicz W., Hobby P., Watson P.F., Weetman A.P. et al. Evaluation of conformational epitopes on thyroid peroxidase by antipeptide antibody binding and mutagenesis // *Clin Exp Immunol.* – 2004. - Vol. 136, №1. – P. 137–144.
- 39 Okosieme O.E., Premawardhana L.D., Jayasinghe A., Kaluarachi W.N., Parkes A.B., Smyth P.P. et al. Thyroglobulin autoantibodies in iodized subjects: relationship between epitope specificities and longitudinal antibody activity // *Thyroid*. – 2005. - Vol. 15, №9. – P. 1067–1072.

- 40 Latrofa F., Ricci D., Montanelli L., Altea M.A., Pucci A., Pinchera A. et al. Thyroglobulin autoantibodies of patients with subacute thyroiditis are restricted to a major B cell epitope // *J Endocrinol Invest.* – 2012. - Vol. 35, №8. – P. 712–714.
- 41 Jespersen M.C., Peters B., Nielsen M., Marcatili P. BepiPred-2.0: improving sequence-based B-cell epitope prediction using conformational epitopes // *Nucleic Acids Res.* – 2017. - Vol. 45. – P. 24–29.
- 42 Kringelum J.V., Lundegaard C., Lund O., Nielsen M. Reliable B cell epitope predictions: impacts of method development and improved benchmarking // *PLoS Comput Biol.* – 2012. - Vol. 8, №12. – P. 1002829.
- 43 Doytchinova I.A., Flower D.R. VaxiJen: a server for prediction of protective antigens, tumour antigens and subunit vaccines // *BMC Bioinform.* – 2007. - Vol. 8. – P. 4.
- 44 Baltisberger B.L., Minder C.E., Bürgi H. Decrease of incidence of toxic nodular goitre in a region of Switzerland after full correction of mild iodine deficiency // *Eur. J. Endocrinol.* – 1995. – Vol. 132, №5. – P. 546–549.
- 45 Bauer M.T., Glenn M., Pilhatsch A. Gender differences in thyroid system function : relevance to bipolar disorder and its treatment // *Bipolar Disord.* – 2013. – Vol. 69, №19. – P. 387–396.
- 46 McGrogan A., Seaman H.E., Wright J.W., de Vries C.S. The incidence of autoimmune thyroid disease: a systematic review of the literature // *Clin. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 69. – P. 687–696.
- 47 Inaba H., Leslie J., De Groot, Takashi Akamizu. Thyrotropin Receptor Epitope and Human Leukocyte Antigen in Graves' Disease // *Front Endocrinol Lausanne.* – 2016. - Vol. 7. - P. 120-126.
- 48 Baltisberger B.L., Minder C.E., Bürgi H. Decrease of incidence of toxic nodular goitre in a region of Switzerland after full correction of mild iodine deficiency // *Eur. J. Endocrinol.* – 1995. – Vol. 132, №5. – P. 546–549.
- 49 Rossich L.E., Thomasz L., Nicola J.P. et al. Effects of 2-iodohexadecanal in the physiology of thyroid cells // *Mol Cell Endocrinol.* – 2016. - №437. – P. 292-301.
- 50 Magnusson R.P., Chazenbalk G.D., Gestautas J. et al. Molecular cloning of the complementary deoxyribonucleic acid for human thyroid peroxidase // *Mol Endocrinol.* – 1987. - №1. – P. 856–861.
- 51 Зубков А.В., Свиридов В.В., Кузьмина Н.С. Аутоантитела к линейным и конформационным эпитопам пероксидазы щитовидной железы при аутоиммунном тиреоидите и диффузном токсическом зобе // *Материалы международной конференции «Биология – наука 21 века».* – М., 2012. - С. 303-304.
- 52 Zubkov A.V., Kuzmina N.S. Study of the human anti-thyroid peroxidase antibodies epitopes heterogeneity // *Autoimmunity Congress.* – Granada: Spain, 2012. - Vol. 383. – P. 38-101.
- 53 Gora M., Gardas A., Wiktorowicz W., Hobby P., Watson P.F., Weetman A.P. et al. Evaluation of conformational epitopes on thyroid peroxidase by

antipeptide antibody binding and mutagenesis // Clin Exp Immunol. - 2004. - Vol. 136, №1. – P. 137–144.

54 Stassi G., De Maria R. Autoimmune thyroid disease: new models of cell death in autoimmunity // Nature Rev Immunol. – 2002. - Vol. 2, №3. – P. 195–204.

55 Paschke R., Vogg M., Swillens S., Usadel K.H. Correlation of microsomal antibodies with the intensity of the intrathyroidal autoimmune process in Graves' disease // J Clin Endocr. Metab. – 1993. - Vol. 77, №4. – P. 939–943.

56 Bermann M., Magee M., Koenig R.G. et al. Differential autoantibody responses to thyroid peroxidase in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis // J Clin Endocrinol Metab. – 1993. - Vol. 77, №4. – P. 1098–1101.

57 Ferrari S.M., Fallahi P., Elia G., Ragusa F., Camastra S., Paparo S.R. et al. Novel therapies for thyroid autoimmune diseases: An update // Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. – 2020. - Vol. 34, №1. – P. 101366.

58 Bossowski A., Stasiak-Barmuta A., Czarnocka B., Urban M., Dadan J. Application of mouse monoclonal antibodies for identification of antigen regions of human thyroid peroxidase in adolescents with Graves' disease and non-toxic multinodular goiter by flow cytometry // Autoimmunity. – 2005. - Vol. 38, №8. – P. 605–611.

59 Zubkov A.V., Kuzmina N.S., Mazurina S.A. et al. The method to detect sige to thyroid peroxidase in cases of the patients with autoimmune and allergic diseases // Microbiol J. – 2019. - Vol. 3. – P. 31–36.

60 Ross D.S., Burch H.B., Cooper D.S. et al. American Thyroid Association Guidelines for Diagnosis and Management of Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis // Thyroid. – 2016. - Vol. 26, №10. – P. 1343–1421.

61 Rotondi M., Virili C., Pinto S., Coperchini F., Croce L., Brusca N. et al. The clinical phenotype of Graves' disease occurring as an isolated condition or in association with other autoimmune diseases // J Endocrinol Invest. – 2020. - Vol. 43, №2. – P. 157–162.

62 Fard-Esfahani A., Emami-Ardekani A., Fallahi B., Fard-Esfahani P., Beiki D., Hassanzadeh-Rad A. et al. Adverse effects of radioactive iodine-131 treatment for differentiated thyroid carcinoma // Nucl Med Commun. – 2014. - Vol. 35, №8. – P. 808–1017.

63 Taurog A.M. Hormone synthesis: thyroid iodine metabolism. Werner and Ingbar's The // Thyroid. – 2000. - №8. – P. 61–85.

64 Williams D., Le S., Godlewska M., Hoke D., Buckle A. Thyroid Peroxidase as an Autoantigen in Hashimoto's Disease: Structure, Function, and Antigenicity // Horm Metab Res. – 2018. - Vol. 50, №12. – P. 908–921.

65 Subkov A.V., Sviridov V.V., Kirillova G.A., Gavrilova N.F., Kusnezova G.I., Jakovleva E.V. et al. Evaluation of epitopes specificity of antibodies to thyroid peroxidase in autoimmune thyroid disorders // Clin Exp Thyroidol. – 2011. - Vol. 7, №2. – P. 63-125.

66 Nauseef W.M. Biosynthesis of human myeloperoxidase // Arch Biochem Biophys. – 2018. - №642. – P. 1-9.

67 Garber J.R., Cobin R.H., Gharib H. et al. American association of clinical endocrinologists, American thyroid association taskforce on hypothyroidism in adults. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the american association of clinical endocrinologists and the American thyroid association // *Thyroid*. – 2012. - №22. – P. 1200–1235.

68 Twyffels L., Strickaert A., Virreira M. et al Anoctamin-1/TMEM16A is the major apical iodide channel of the thyrocyte // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2014. - №307. – P. 1102-1112.

69 Louzada R.A., Corre R., Ameziane-El-Hassani R. et al. Conformation of the N-Terminal Ectodomain Elicits Different Effects on DUOX Function: A Potential Impact on Congenital Hypothyroidism Caused by a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Production // *Defect*. – 2018. - №28. – P. 1052-1062.

70 Estrada J.M., Soldin D., Buckey T.M. et al. Thyrotropin isoforms: implications for thyrotropin analysis and clinical practice // *Thyroid*. – 2014. - Vol. 24. – P. 411–423.

71 Mammen J.S., McGready J., Ladenson P.W. et al. Unstable thyroid function in older adults is caused by alterations in both thyroid and pituitary physiology and is associated with increased mortality // *Thyroid*. – 2017. - №27. – P. 1370–1377.

72 Bremner A.P., Feddema P., Leedman P.J. et al. Age-related changes in thyroid function: a longitudinal study of a community-based cohort // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2012. - №97. – P. 1554–1562.

73 Troshina E.A. On the issue of deficiency and excess of iodine in the human body. *Klinicheskaya ekperimental'naya tireidologiya* // *Clinical experimental thyroidology*. – 2010. - Vol. 4. – P. 9–16.

74 Ghaddhab C., Kyrilli A., Driessens N. et al. Factors contributing to the resistance of the thyrocyte to hydrogen peroxide // *Mol Cell Endocrinol*. – 2019. - Vol. 481. – P. 62-70.

75 Ghaddhab C., Kyrilli A., Driessens N. et al. Factors contributing to the resistance of the thyrocyte to hydrogen peroxide // *Mol Cell Endocrinol*. - 2019. - № 481. - P. 62-70.

76 Генделека Г.Ф. Атипичные формы течения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы как проявление аутоиммунного синдрома перекреста (OVERLAP-синдрома) // *Международный эндокринологический журнал*. - 2014. - №3. – С. 103-108.

77 Fortunato R.S., Lima de Souza E.C., Ameziane-el Hassani R. et al. Functional consequences of dual oxidase-thyroperoxidase interaction at the plasma membrane // *J Clin Endocrinol Metab*. - 2010. - №9(5). - P. 5403-5411.

78 Song Y., Ruf J., Lothaire P. et al. Association of duoxes with thyroid peroxidase and its regulation in thyrocytes // *J Clin Endocrinol Metab*. - 2010. - №95. - P. 375-382.

- 79 Senou M., Khalifa C., Thimmesch M. et al. A coherent organization of differentiation proteins is required to maintain an appropriate thyroid function in the Pendred thyroid // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2010. - №95. - P.4021-4030.
- 80 Wémeau J.L., Kopp P. Pendred syndrome // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* - 2017. - №31. - P. 213 - 224.
- 81 Mondal S., Mugesh G. Novel thyroid hormone analogues, enzyme inhibitors and mimetics, and their action // *Mol Cell Endocrinol.* - 2017.- №458.- P. 91-104.
- 82 Klimovich V.B., Rudenko I.Y., Vasilevsky D.I. et al. Isotypic composition and epitopic specificity of autoantibodies against thyroglobulin *Meditsinskaya immunologiya* // *Medical immunology.* – 2000. - №4. – P. 377-383.
- 83 Mondal S., Raja K., Schweizer U. et al. Chemistry and Biology in the Biosynthesis and Action of Thyroid Hormones // *Angew Chem Int Ed Engl.* – 2016. - №1. – P. 7606-7630.
- 84 Pérez-Moreiras J.V., Alvarez-López A., Gómez E.C. Treatment of active corticosteroidresistant graves' orbitopathy // *Ophthalmic plastic and reconstructive surgery.* – 2014. - №30. – P. 162-167.
- 85 Chung H.R. Iodine and thyroid function // *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* – 2014. - Vol. 19. – P. 8-12.
- 86 Noguchi Y., Harii N., Giuliani C. et al. Thyroglobulin (Tg) induces thyroid cell growth in a concentration-specific manner by a mechanism other than thyrotropin/cAMP stimulation // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2010. - Vol. 391. – P. 890-894.
- 87 Nazar M., Nicola J.P., Vélez M.L. et al. Thyroid peroxidase gene expression is induced by lipopolysaccharide involving nuclear factor (NF)- $\kappa$ B p65 subunit phosphorylation // *Endocrinology.* – 2012. - №153. – P. 6114-6125.
- 88 Rauer C., Ringseis R., Rothe S. et al. Sterol regulatory element-binding proteins are regulators of the rat thyroid peroxidase gene in thyroid cells // *PLoS One.* – 2014. - Vol. 9. - P. 91265.
- 89 Wen G., Ringseis R., Eder K. Endoplasmic reticulum stress inhibits expression of genes involved in thyroid hormone synthesis and their key transcriptional regulators in FRTL-5 thyrocytes // *PLoS One.* – 2017. - №12. – P. 13-27.
- 90 Lee J., Kim S., Park Y.J. et al. Thyroid Hormone-Disrupting Potentials of Major Benzophenones in Two Cell Lines (GH3 and FRTL-5) and Embryo-Larval Zebrafish // *Environ Sci Technol.* – 2018. - №52. – P. 8858-8865.
- 91 Wang Y., Zhao X., Jiang X. et al. Molecular characterization of thyroid peroxidase gene in porcine (*Sus scrofa*) // *J Genet Genomics.* – 2010. - №37. – P. 381-388.
- 92 Le S.N., Porebski B.T., McCoey J. et al. Modelling of Thyroid Peroxidase Reveals Insights into Its Enzyme Function and Autoantigenicity // *PLoS One.* – 2015. - №10. – P. 11-19.

- 93 Roelfsema F., Veldhuis J.D. Thyrotropin secretion patterns in health and disease // *Endocr Rev.* – 2013. - №34. – P. 619–657.
- 94 Godlewska M., Góra M., Buckle A.M. et al. A redundant role of human thyroid peroxidase propeptide for cellular, enzymatic and immunological activity // *Thyroid.* – 2014. - №24. – P. 371-382.
- 95 Williams D.E., Le S.N., Godlewska M. et al. Thyroid Peroxidase as an Autoantigen in Hashimoto's Disease: Structure, Function, and Antigenicity // *Horm Metab Res.* – 2018. - №50. – P. 908-921.
- 96 Nauseef W.M. Biosynthesis of human myeloperoxidase // *Arch Biochem Biophys.* – 2018. - Vol. 642. – P. 1-9.
- 97 Garber J.R., Cobin R.H., Gharib H. et al. American association of clinical endocrinologists, American thyroid association taskforce on hypothyroidism in adults. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the american association of clinical endocrinologists and the American thyroid association // *Thyroid.* – 2012. - №22. – P.1200–1235.
- 98 Twyffels L., Strickaert A., Virreira M. et al. Anoctamin-1/TMEM16A is the major apical iodide channel of the thyrocyte // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2014. - Vol. 307. – P.1102-1112.
- 99 Louzada R.A., Corre R., Ameziane-El-Hassani R. et al. Conformation of the N-Terminal Ectodomain Elicits Different Effects on DUOX Function: A Potential Impact on Congenital Hypothyroidism Caused by a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> // Production Defect. – 2018. - №28. – P.1052-1062.
- 100 Estrada J.M., Soldin D., Buckey T.M. et al. Thyrotropin isoforms: implications for thyrotropin analysis and clinical practice // *Thyroid.* – 2014. - Vol. 24. – P.411–423.
- 101 Mammen J.S., McGready J., Ladenson P.W. et al. Unstable thyroid function in older adults is caused by alterations in both thyroid and pituitary physiology and is associated with increased mortality // *Thyroid.* – 2017. - №27. – P. 1370–1377.
- 102 Bremner A.P., Feddema P., Leedman P.J. et al. Age-related changes in thyroid function: a longitudinal study of a community-based cohort // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2012. - №97. – P. 1554–1562.
- 103 Troshina E.A. On the issue of deficiency and excess of iodine in the human body. *Klinicheskaya ekperimental'naya tireidologiya* // *Clinical experimental thyroidology.* – 2010. - №4. – P. 9–16.
- 104 Ghaddhab C., Kyrilli A., Driessens N. et al. Factors contributing to the resistance of the thyrocyte to hydrogen peroxide // *Mol Cell Endocrinol.* - 2019. - №481. – P. 62-70.
- 105 Sendelica G.F. Atypical forms current autoimmune thyroid disease as a manifestation of the autoimmune overlap syndromes (OVERLAP syndrome). *Mezhdunarodnyy endokrinologicheskiy zhurnal* // *International journal of endocrinology.* – 2014. - №3. – P.103-108.

- 106 Панфилова Е.А., Крук Л.П., Исаева М.П., Османова П.О., Бостанова Ф.А., Трошина Е.А. Развитие болезни грейвса на фоне длительно существующего первичного гипотиреоза в исходе аутоиммунного тиреоидита // Проблемы эндокринологии. – 2020. - №66(5). – С. 24-30.
- 107 Gonzalez-Aguilera B., Betea D., Lutteri L. et al. Conversion to Graves disease from Hashimoto thyroiditis: a study of 24 patients // Arch Endocrinol Metab. – 2018. - Vol. 62, №6. – P.609-614.
- 108 Aversa T., Valenzise M., Salerno M. et al. Metamorphic thyroid autoimmunity in Down Syndrome: From Hashimoto's thyroiditis to Graves' disease and beyond // Ital J Pediatr. – 2015. - №41. – P. 87.
- 109 Furqan S., Haque N.U., Islam N. Conversion of autoimmune hypothyroidism to hyperthyroidism // BMC Res Notes. – 2014. - №7. – P. 489.
- 110 Joplin G.F., Fraser R. Thyrotoxicosis Developing in Recurrent Nodular Goitre with Focal Thyroiditis // J R Soc Med. – 1959. - №52. – P.177–178.
- 111 Doniach D., Hudson R.V., Roitt L.M. Human autoimmune thyroiditis; Clinical studies // Brit Med J. – 1960. - Vol. 1, №5170. – P.365–373.
- 112 Gavras L., Thomson J.A. Late thyrotoxicosis complicating autoimmune thyroiditis // Acta Endocrinol. – 1972. - №69. – P. 44–46.
- 113 Takasu N., Yamada T., Sato A. et al. Graves' Disease Following Hypothyroidism Due To Hashimoto's Disease: Studies Of Eight Cases // Clin Endocrinol (Oxf). – 1990. - Vol. 33, №6. – P. 687-698.
- 114 Ahmad E., Hafeez K., Arshad M.F., Isuga J., Vrettos A. Hypothyroidism conversion to hyperthyroidism: it's never too late // Endocrinol Diabetes Metab Case Reports. – 2018. - №6. – P.687–698.
- 115 Moriarty M., Mills E., Yap H.L., Hamda A., Tache Y. ed. Conversion of autoimmune hypothyroidism to hyperthyroidism with thyroid eye disease // Endocr Abstr. – 2015. - Vol. 12, №7. – P. 180745.
- 116 Takasu N., Matsushita M. Changes of TSH-Stimulation Blocking Antibody (TSBAbs) and Thyroid Stimulating Antibody (TSAbs) Over 10 Years in 34 TSBAbs-Positive Patients with Hypothyroidism and in 98 TSAbs-Positive Graves' Patients with Hyperthyroidism: Reevaluation of TSBAbs and TSAbs in TSH-Receptor-Antibody (TRAb)- Positive Patients // J Thyroid Res. – 2012. - №1. – P. 182176.
- 117 Wong M., Inder W.J. Alternating hyperthyroidism and hypothyroidism in Graves' disease // Clin Case Rep. – 2018. - №6. – P. 1684–1688.
- 118 Генделека Г.Ф. Аутоиммунный синдром перекреста (overlap-синдром) при заболеваниях щитовидной железы — terra incognita тиреологии // Міжнародний ендокринологічний журнал. - 2016. - №2. - P. 140-151.
- 119 Song Y., Ruf J., Lothaire P. et al. Association of duoxes with thyroid peroxidase and its regulation in thyrocytes // J Clin Endocrinol Metab. – 2010. - №95. – P. 375-382.
- 120 Antonelli A., Ferrari S.M., Corrado A. et al. Extra-ocular muscle cells from patients with Graves' ophthalmopathy secrete  $\alpha$  (CXCL10) and  $\beta$  (CCL2) chemokines

under the influence of cytokines that are modulated by PPAR $\gamma$  // Autoimmunity reviews. – 2014. - №13. – P. 1160-1166.

121 Delerive P., De Bosscher K., Besnard S. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-kappaB and AP-1 // The Journal of biological chemistry. – 1999. - №274. – P. 32048-32054.

122 Crescioli C., Cosmi L., Borgogni E. et al. Methimazole inhibits CXC chemokine ligand 10 secretion in human thyrocytes // Journal of Endocrinology. - 2007. - №195. – P. 145-155.

123 Antonelli A., Saracino A., Alberti B. et al. High-dose intravenous immunoglobulin treatment in Graves' ophthalmopathy // Acta endocrinologica. - Copenhagen, 1992. - №126. – P. 13-23.

124 Bartalena L., Krassas G.E., Wiersinga W. et al. Efficacy and safety of three different cumulative doses of intravenous methylprednisolone for moderate to severe and active Graves' orbitopathy // The journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2012. - №97. – P. 4454-4463.

125 Fallahi P., Ferrari S.M., Elia G. et al. Novel Therapies for Thyroid Autoimmune Diseases // Expert review of clinical pharmacology. – 2016. - №9. – P. 853-861.

126 Ross D.S., Burch H.B., Cooper D.S. et al. American Thyroid Association Guidelines for Diagnosis and Management of Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis // Thyroid. – 2016. - Vol. 26, №10. – P. 1343–1421.

127 Senou M., Khalifa C., Thimmesch M. et al. A coherent organization of differentiation proteins is required to maintain an appropriate thyroid function in the Pendred thyroid // J Clin Endocrinol Metab. – 2010. - №9(5). – P. 4021-4030.

128 Ganesh B.B., Bhattacharya P., Gopisetty A. and Prabhakar B.S. Role of cytokines in the pathogenesis and suppression of thyroid autoimmunity // J. Interferon Cytokine Res. – 2011. - №31. – P. 721–731.

129 Paschke R., Schuppert F., Taton M., Velu T. Intrathyroidal cytokine gene expression profiles in autoimmune thyroiditis // J Endocrinol. - 1994. - №141. – P. 309–315.

130 Shin J.I., Kim M.J., Lee J.S. Graves' disease, rheumatoid arthritis, and anti-tumor necrosis factor-alpha therapy // J Rheumatol. – 2009. - №36. – P. 449–450.

131 Anaya J.M., Rojas-Villarraga A., García-Carrasco M. The autoimmune tautology: from polyautoimmunity and familial autoimmunity to the autoimmune genes: autoimmune dis. – 2012. – P. 1–2.

132 Галактионов В.Г. Иммунология: учебник для вузов. – Изд. 3-е., испр. и доп. Высшее профессиональное образование. Естественные науки. - М.: Академия, 2004. - 528 с.

133 Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д.Б., Ройт А. Иммунология = Immunology. – Изд. 7-е. - М.: Логосфера, 2007. - 568 с.

134 Новиков В.В., Добротина Н.А., Бабаев А.А. Иммунология: учебное пособие. - Нижний Новгород: Изд-во Нижегород. гос. ун-та, 2005. - 212 с.



135 Rapoport B., Banuelos B., Aliesky H.A., Hartwig Trier N., McLachlan S.M. Critical differences between induced and spontaneous mouse models of Graves' disease with implications for antigen-specific immunotherapy in humans // *J Immunol.* – 2016. - №197. – P. 4560.

136 Watson P.F., Pickerill A.P., Davies R., Weetman A.P. Semi-quantitative analysis of interleukin -1a ,interleukin-6 and interleukin-8 mRNA expression by human thyrocytes // *J Mol Endocrinol.* - 1995. - №15. – P. 11-21.

137 Маклакова Т.П., Зорин В.Н., Шепель Т.Т. и др. Содержание иммунорегуляторных белков и цитокинов в крови при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы // *Проблемы эндокринологии.* – 2014. - №19. - С. 13.

138 Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor // *Annu. Rev. Immunol.* - 2001. - №19. – P. 683–765.

139 O'Garra A., Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control // *Nat. Med.* - 2004. - №10. – P. 801–805.

140 Roncarolo M.G., Gregori S., Battaglia M., Bacchetta R., Fleischhauer K., Levings M.K. Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans // *Immunol. Rev.* - 2006. - №212. – P. 28–50.

141 Sabatos-Peyton C.A., Verhagen J., Wraith D.C. Antigen-specific immunotherapy of autoimmune and allergic diseases // *Curr. Opin. Immunol.* - 2010. - №22. – P. 609–615.

142 Maloy K.J., Powrie F. Regulatory T cells in the control of immune pathology // *Nat. Immunol.* - 2001. - №2. – P. 816–822.

143 Mauri C., Bosma A. Immune regulatory function of B cells // *Annu. Rev. Immunol.* - 2012. - №30. – P. 221–241.

144 Kristensen Birte, Hegedüs Laszlo, Lundy Steven K., Brimnes Marie K., Smith Terry J., Nielsen Claus H. Characterization of Regulatory B Cells in Graves' Disease and Hashimoto's Thyroiditis // *PLoS One.* – 2015. - Vol. 10, №5. – P. 127949.

145 Yokota S., Imagawa T., Mori M. et al. Efficacy and safety of tocilizumab in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo controlled, withdrawal phase III trial // *Lancet.* – 2008. - №371. – P. 998-1006.

146 Banga J.P., Barnett P.S., McGregor A.M. Immunological and molecular characteristics of the thyroid peroxidase autoantigen // *Autoimmunity.* – 1991. - Vol. 8, №4. – P. 335–343.

147 Llorente L., Richaud-Patin Y., Fior R. et al. In vivo production of interleukin-10 by nonT cells in rheumatoid arthritis, Sjogren's syndrome, and systemic lupus erythematosus. A potential mechanism of B lymphocyte hyperactivity and autoimmunity // *Arthritis Rheum.* – 1994. - №37. – P. 1647–1655.

148 Furuzawa-Carballeda J., Alcocer-Varela J. Interleukin-8, interleukin-10, intercellular adhesion molecule- 1 and vascular cell adhesion molecule-1 expression

levels are higher in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis than in osteoarthritis // *Scand J Immunol.* – 1999. - №50. – P. 215–222.

149 Melgar S., Yeung M.M., Bas A. et al. Over-expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis // *Clin Exp Immunol.* – 2003. - №134. – P. 127–137.

150 Mirakian R., Hammond L.J., Bottazzo G.F. TH1 and TH2 cytokine control of thyrocyte survival in thyroid autoimmunity // *Nat Immunol.* – 2001. - №2. – P. 371.

151 Antonelli A., Fallahi P., Elia G., Ragusa F., Paparo S.R., Ruffilli I. et al. Graves' disease: Clinical manifestations, immune pathogenesis (cytokines and chemokines) and therapy // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* – 2020. - №34. – P. 101388.

152 Kahaly G.J., Bartalena L., Hegedüs L., Leenhardt L., Poppe K., Pearce S.H. European Thyroid Association guideline for the management of Graves' hyperthyroidism // *European Thyroid Journal.* - 2018. - №7. – P. 167–186.

153 Komorowski J., Jankiewicz J., Robak T., Błasińska Morawiec M., Stępien H. Cytokines serum levels as the markers of thyroid activation in Graves' disease // *Immunology Letters.* – 1998. - №60. – P. 143–148.

154 Rousset F., Garcia E., Defrance T. et al. Interleukin-10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B-lymphocytes // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1992. - №89. – P. 1890–1893.

155 de Waal Malefyt R., Haanen J., Spits H. et al. Interleukin-10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigen-specific human T-cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression // *J Exp Med.* – 1991. - №174. – P. 915–924.

156 Jafarzadeh A., Poorgholami M., Izadi N., Nemati M., Rezaei M. Immunological and hematological changes in patients with hyperthyroidism or hypothyroidism // *Clinical and Investigative Medicine.* – 2009. - №33. – P. 271–279.

157 De Leo S., Lee S.Y., Braverman L.E. Hyperthyroidism // *Lancet.* – 2016. – Vol. 388, №10047. – P. 906–918.

158 Taylor P.N., Albrecht D., Scholz A., Gutierrez-Buey G., Lazarus J.H., Dayan C.M. et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism // *Nat Rev Endocrinol.* – 2018. – Vol. 14, №5. – P. 301–316.

159 Takeoka Keiko, Watanabe Mikio, Matsuzuka Fumio, Miyauchi Akira, Yoshinori Iwatani. Increase of Serum Interleukin-10 in Intractable Graves' Disease. - 2004 <https://doi.org/10.1089/105072504773297876> 18.01.2020.

160 Bree L., Gallagher B.A., Shiel R.E., Mooney C.T. Prevalence and risk factors for hyperthyroidism in Irish cats from the greater Dublin area // *Ir Vet J.* – 2018. - №71. – P. 2.

161 Kuś A., Radziszewski M., Glina A., Szymański K., Jurecka-Lubieniecka B., Pawlak-Adamska E. et al. Paediatric-onset and adult-onset Graves' disease share multiple genetic risk factors // *Clin Endocrinol.* – 2019. – Vol. 90, №2. – P. 320–327.

162 L-F Lv., Jia H.Y., Zhang H.F., Hu Y.X. Expression level and clinical significance of IL-2, IL-6 and TGF- $\beta$  in elderly patients with goiter and hyperthyroidism // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2017. - Vol. 21, №20. – P. 4680–4686.

163 Akahane M., Watanabe M., Inoue N., Miyahara Y., Arakawa Y., Inoue Y. et al. Association of the polymorphisms of chemokine genes (IL8, RANTES, MIG, IP10, MCP1 and IL16) with the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases // *Autoimmunity.* – 2016. - Vol. 49, №5. - P. 312–319.

164 Anvari M., Khalilzadeh O., Esteghamati A., Momen-Heravi F., Mahmoudi M., Esfahani S.A. et al. Graves' disease and gene polymorphism of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-12, and IFN- $\gamma$  // *Endocrine.* – 2010. - Vol. 37, №2. – P. 344–348.

165 Gu L.Q., Zhu W., Pan C.M., Zhao L., Zhang M.J., Liu J.M. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) polymorphisms in Chinese patients with Graves' disease // *Clin Biochem.* – 2010. - Vol. 43, №3. – P. 223–227.

166 Kamizono S., Hiromatsu Y., Seki N., Bednarczuk T., Matsumoto H., Kimura A. et al. A polymorphism of the 5' flanking region of tumour necrosis factor alpha gene is associated with thyroid-associated ophthalmopathy in Japanese // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 2000. - Vol. 52, №6. – P. 759–764.

167 Simmonds M.J., Heward J.M., Howson J.M., Foxall H., Nithiyananthan R., Franklyn J.A. et al. A systematic approach to the assessment of known TNF-alpha polymorphisms in Graves' disease // *Genes Immun.* – 2004. - Vol. 5, №4. – P. 267–273.

168 Chen R.H., Chen W.C., Wang T.Y., Tsai C.H., Tsai F.J. Lack of association between pro-inflammatory cytokine (IL-6, IL-8 and TNF-alpha) gene polymorphisms and Graves' disease // *Int J Immunogenet.* – 2005. - Vol. 32, №6. – P. 343–347.

169 Durães C., Moreira C.S., Alvelos I., Mendes A., Santos L.R., Machado J.C. et al. Polymorphisms in the TNFA and IL6 genes represent risk factors for autoimmune thyroid disease // *PLoS One.* – 2014. - Vol. 9, №8. – P. 105492.

170 Jiang W.Y. Associations between TNF-alpha gene polymorphisms and the risk of Graves' disease: diss. - Shandong University, 2004. – 111 p.

171 Gong Y. Associations of IL-1, IL-4 and IL-6 gene polymorphisms with the risk of Graves' disease: diss. - Shandong University, 2003. – 140 p.

172 Kim S.M., Ryu V., Miyashita S., Korkmaz F., Lizneva D., Gera S., Latif R., Davies T.F., Iqbal J., Yuen T., Zaidi M.J. Thyrotropin, Hyperthyroidism, and Bone Mass // *Clin Endocrinol Metab.* – 2021. - Vol. 106, №12. – P. 4809-4821.

173 Benson C.A., Powell H.R., Liput M., Dinham S., Freedman D.A., Ignatowski T.A., Stachowiak E.K., Stachowiak M.K. Immune Factor, TNF $\alpha$ , Disrupts Human Brain Organoid Development Similar to Schizophrenia-Schizophrenia Increases Developmental Vulnerability to TNF $\alpha$  // *Front Cell Neurosci.* – 2020. - Vol. 14. – P. 233.

174 Глазанова Т.В., Бубнова Л.Н., Трунин Е.М., Кузмичев А.С., Павлова И.Е. Продукция некоторых цитокинов у больных с аутоиммунными

заболеваниями щитовидной железы // Проблемы эндокринологии. – 2004. - Т. 50, №1. – С. 29-33.

175 Hase H., Ando T., Eldeiry L., Brebene A., Peng Y., Liu L., Amano H., Davies T.F., Sun L., Zaidi M., Abe E. TNF alpha mediates the skeletal effects of thyroid-stimulating hormone // Proc Natl Acad Sci USA. – 2006. - Vol. 103, №34. – P. 12849-12854.

176 Diez J.J., Hernanz A., Medina S. et al. Serum concentrations of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and soluble TNF-alpha receptor p55 in patients with hypothyroidism and hyperthyroidism before and after normalization of thyroid function // Clin. Endocrinol. – Oxford, 2002. - №57. – P. 515–521.

177 Coperchini F., Pignatti P., Leporati P., Carbone A., Croce L. et al. Normal human thyroid cells, BCPAP, and TPC-1 thyroid tumor cell lines display different profile in both basal and TNF-alpha-induced CXCL8 secretion . Endocrine 54 , 123 – 128 Akalin A., Colak O., Alatas O., Efe B. Bone remodelling markers and serum cytokines in patients with hyperthyroidism // Clin. Endocrinol. – Oxford, 2002. - №57. – P. 125–129.

178 Cohen B.L., Sachar D.B. Update on anti-tumor necrosis factor agents and other new drugs for inflammatory bowel disease // BMJ. – 2017. - №357. – P. 2505.

179 Kandir S., Keskin E. Serum IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$  levels in thyroidectomized rats. - Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2015. - Vol. 22. – P. 16-22.

180 Miyakoshi H., Ohsawa K., Yokoyama H., Nagai Y., Ieki Y. et al. Exacerbation of hypothyroidism following tumor necrosis factor-alpha infusion // Intern Med. – 1992. - №31. – P. 200– 203.

181 Lubecka-Macura A., Kohut M. TNF superfamily – mechanisms of action, biologic functions and therapeutic possibilities // Gastroenterology Rev. – 2010. - №5. – P. 303–309.

182 Zheng R.Q., Abney E.R., Chu C.Q. et al. Detection of in vivo production of tumour necrosis factor-alpha by human thyroid epithelial cells // Immunology. – 1992. - №75. – P. 456–462.

183 Grubeck-Loebenstein B., Buchan G., Chantry D. et al. Analysis of intrathyroidal cytokine production in thyroid autoimmune disease: thyroid follicular cells produce interleukin-1 alpha and interleukin-6 // Clin Exp Immunol. – 1989. - №77. – P. 324–330.

184 Diez J.J., Hernanz A., Medina S., Bayon C., Iglesias P. Serum concentrations of tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) and soluble TNF- $\alpha$  receptor p55 in patients with hypothyroidism and hyperthyroidism before and after normalization of thyroid function // Clin. Endocrinol. – Oxford, 2002. - №57. – P. 515–521.

185 Atzeni F., Doria A., Ghirardello A. et al. Organ-specific autoantibodies in patients with rheumatoid arthritis treated with ada-limumab: a prospective long-term follow-up // Autoimmunity. - 2008. - №41. – P. 87–91.

186 Hershman J.M., Pang X.P. et al. Action of tumor necrosis factor-alpha on thyroid cells // *Trans Am Clin Climatol Assoc.* – 1994. - №105. – P. 131–144.

187 Cohen B.L., Sachar D.B. Update on anti-tumor necrosis factor agents and other new drugs for inflammatory bowel disease // *BMJ.* – 2017. - №357. – P. 2505.

188 Miyakoshi H., Ohsawa K., Yokoyama H., Nagai Y., Ieki Y., Bando Y.I., Kobayashi K. Exacerbation of hypothyroidism following tumor necrosis factor-alpha infusion // *Intern. Med.* - 1992. - Vol. 31, №2. – P. 200-203.

189 Ogiwara T., Araki O., Morimura T. et al. A novel mechanism for the inhibition of type 2 iodothyronine deiodinase by tumor ne-crosis factor: involvement of proteasomal degradation // *Endocr J.* – 2013. - №60. – P. 1035–1045.

190 Bode H., Ivens B., Bschor T., Schwarzer G., Henssler J., Baethge C. Association of Hypothyroidism and Clinical Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis // *JAMA Psychiatry.* – 2021. - №78. – P. 1375–1383.

191 Çelik I., Akalin S., Erbaş T. Serum levels of interleukin 6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in hyperthyroid patients before and after propylthiouracil treatment // *European Journal of Endocrinology.* - 1995. - №132. – P. 668–672.

192 Eshaghkhani Y., Sanati M.H., Nakhjavani M., Safari R., Khajavi A., Ataei M., Jadali Z. Disturbed Th1 and Th2 balance in patients with Graves' disease // *Minerva Endocrinologica.* - 2016. - №41. – P. 28–36.

193 Грязнова М.А., Хамнуева Л.Ю. Особенности цитокиновой регуляции при аутоиммунной патологии щитовидной железы (обзор) «Иркутский государственный медицинский университет» // *The Journal of scientific articles “Health and Education Millennium”.* - Иркутск; Российская Федерация, 2017. - Т. 19, №7. - С. 33-40.

194 Еспенбетова М.Ж., Жуманбаева Ж.М., Крыкпаева А.С. Бұрынғы Семей ядролық сынақ полигон аймағына жататын тұрғындардың қалқанша без ауруының кездесу жиілігі // *Original article Science & Healthcare.* - 2016. - №6. – Б. 80-87.

195 Адылханов Т.А., Масадыков А.С. Особенности эпидемиологии заболеваний щитовидной железы в восточном регионе Республики Казахстан в современных условиях // *Медицина.* – 2009. - №1. - С. 42-45.

196 Кудабаяева Х.И., Базарғалиев Е.Ш., Кошмаганбетова Г.К. Анализ заболеваемости патологией щитовидной железы в западном регионе Республики Казахстан // *Астраханский медицинский журнал.* - 2013. - №5. – С. 103-108.

197 Святова Г.С., Салимбаева Д.Н., Кирикпаева М.С., Березина Г.М. 10 лет неонатальному скринингу в Республике Казахстан: итоги и перспективы // *Медицинская генетика.* – 2017. - №10. – С. 14-17.

198 Святова Г.С., Салимбаева Д.Н., Есламғалиева Ш.Н. Анализ неонатального генетического скрининга на врожденный гипотиреоз в Республике Казахстан // *Педиатрия және балалар хирургиясы.* – 2018. - №3(93). – С. 12-17.

199 Еспенбетова М.Ж. Изменение эндокринного статуса у жителей районов, прилегающих к Семипалатинскому полигону, как отдаленные последствия ядерных испытаний: дис. ... док. мед. наук. - Алматы, 1994. - С. 56-59.

200 Кудабаетова И., Базаргалиев Е.Ш., Кошмаганбетова Г.К. О проблеме йоддефицитных состояний в Республике Казахстан // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2013. - №3(39). - С. 18-23.

201 ЮНИСЕФ; Глобальная сеть по йоду. Рекомендации по мониторингу программ йодирования соли и оценке статуса йодной обеспеченности населения (русскоязычная версия) // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. - 2018. - Т. 14, №2. - С. 100–112.

202 Беисбекова А.К., Кайнарбаева М.С., Быкыбаева С.А. и др. Обеспеченность йодом детей и женщин репродуктивного возраста в Павлодарской, Северо-Казахстанской и Актюбинской областях // Вестник Казахского национального медицинского университета. - 2015. - №1. - С. 405–409.

203 Manorama Swain, Truptirekha Swain, Binoy Kumar Mohanty. Autoimmune thyroid disorders-An update // Journal List. Indian J Clin Biochem. - 2005. - Vol. 20, №1. – P. 9–17.

204 Генделека Г.Ф. Аутоиммунный синдром перекреста (overlap-синдром) при заболеваниях щитовидной железы – terra incognita тиреоидологии // Международный эндокринологический журнал. – 2016. - №2(74). – С. 140-152.

205 Rotondi M., Virili C., Pinto S., Coperchini F., Croce L., Brusca N. et al. The clinical phenotype of Graves' disease occurring as an isolated condition or in association with other autoimmune diseases // J Endocrinol Invest. – 2020. - Vol. 43, №2. – P. 157–62.

206 Fard-Esfahani A., Emami-Ardekani A., Fallahi B., Fard-Esfahani P., Beiki D., Hassanzadeh-Rad A. et al. Adverse effects of radioactive iodine-131 treatment for differentiated thyroid carcinoma // Nucl Med Commun. – 2014. - Vol. 35, №8. – P. 808–817.

207 Taurog A.M. Hormone synthesis: thyroid iodine metabolism. Werner and Ingbar's The // Thyroid. – 2000. - №8. – P. 61–85.

208 Magnusson R.P., Chazenbalk G.D., Gestautas J. et al. Molecular cloning of the complementary deoxyribonucleic acid for human thyroid peroxidase // Mol Endocrinol. – 1987. - №1. – P. 856–861.

209 Williams D., Le S., Godlewska M., Hoke D., Buckle A. Thyroid Peroxidase as an Autoantigen in Hashimoto's Disease: Structure, Function and Antigenicity // Horm Metab Res. - 2018. - Vol. 50, №12. – P. 908–921.

210 Зубков А.В., Свиридов В.В., Кириллова Г.А., Гаврилова Н.Ф., Кузнецова Г.И., Яковлева И.В., Шамкина Е.В., Кузьмина Н.С. Изучение эпитопной специфичности аутоантител к тиреоидной пероксидазе при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы // Журнал «Клиническая и экспериментальная тиреоидология». – 2011. – Т. 7, №2. – С. 43-48.

211 Ruf J., Toubert M.E., Czarnocka B., Durand-gorde J.M., Ferrand M., Carayon P. Relationship between immunological structure and biochemical properties of human thyroid peroxidase // *Endocrinology*. – 1989. - Vol. 125, №3. – P. 1211–1218.

212 Bossowski A., Stasiak-Barmuta A., Czarnocka B., Urban M., Dadan J. Application of mouse monoclonal antibodies for identification of antigen regions of human thyroid peroxidase in adolescents with Graves' disease and non-toxic multinodular goiter by flow cytometry // *Autoimmunity*. – 2005. - Vol. 38, №8. – P. 605–611.

213 Zubkov A.V., Kuzmina N.S., Mazurina S.A. et al. The method to detect sige to thyroid peroxidase in cases of the patients with autoimmune and allergic diseases // *Microbiol J*. – 2019. - №3. – P. 31–36.

214 Drozdovitch V., Schonfeld S., Akimzhanov K., Aldyngurov D., Land C.E., Luckyanov N. et al. Behavior and food consumption pattern of the population exposed in 1949–1962 to fallout from Semipalatinsk nuclear test site in Kazakhstan // *Radiat Environ Biophys*. – 2011. - Vol. 50, №1. – P. 91–103.

215 Semenova Y., Pivina L., Zhunussov Y., Zhanaspayev M., Chirumbolo S., Muzdubayeva Z. et al. Radiation-related health hazards to uranium miners // *Environ Sci Pollut Res Int*. – 2020. - Vol. 27, №28. – P. 34808–34822.

216 Kudabayeva K.I., Koshmaganbetova G.K., Mickuviene N., Skalnaya M.G., Tinkov A.A., Skalny A.V. Hair Trace Elements are Associated with Increased Thyroid Volume in Schoolchildren with Goiter // *Biol Trace Elem Res*. - 2016. - Vol. 174, №2. – P. 261–266.

217 Semenova Y., Zhunussov Y., Pivina L., Abisheva A., Tinkov A., Belikhina T. et al. Trace element biomonitoring in hair and blood of occupationally unexposed population residing in polluted areas of East Kazakhstan and Pavlodar regions // *J Trace Elem Med Biol*. – 2019. - Vol. 56. – P. 31–37.

218 Merrill S.J., Minucci S.B. Thyroid Autoimmunity: An Interplay of Factors // *Vitam Horm*. – 2018. - Vol. 106. – P. 129–45.

219 Hamada A., Zakupbekova M., Sagandikova S., Espenbetova M., Ohashi T., Takamura N. et al. Iodine prophylaxis around the Semipalatinsk Nuclear Testing Site, Republic of Kazakstan // *Public Health Nutr*. – 2003. - Vol. 6, №8. – P. 785–789.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### Анкета выявления состояния функции щитовидной железы

#### Оценка состояния и функции щитовидной железы

Дата \_\_\_\_\_

#### АНКЕТА

Ф.И.О. больного \_\_\_\_\_  
Пол \_\_\_\_\_ национальность \_\_\_\_\_  
Дата рождения \_\_\_\_\_ место рождения \_\_\_\_\_  
Место проживания в данный момент \_\_\_\_\_  
С какого периода живете в дан. регионе \_\_\_\_\_  
Образование \_\_\_\_\_  
Место работы \_\_\_\_\_  
Вредные привычки \_\_\_\_\_  
Контактный телефон, сот. \_\_\_\_\_  
E-mail \_\_\_\_\_  
Имеются ли в семье больные с зобом: \_\_\_\_\_  
Было ли рак щитовидной железы в семье \_\_\_\_\_  
Жалобы \_\_\_\_\_  
Когда была обнаружена патология щит. жел. \_\_\_\_\_  
Диагноз \_\_\_\_\_  
Получали ли лечение \_\_\_\_\_  
Какое лечение получили \_\_\_\_\_  
УЗИ щитовидной железы на момент обследования:  
Контуры \_\_\_\_\_ Эластичность \_\_\_\_\_  
Размеры щитовидной железы: V \_\_\_\_\_ перешеек \_\_\_\_\_  
Правая доля \_\_\_\_\_ левая доля \_\_\_\_\_  
Эхоструктура: \_\_\_\_\_  
Эхогенность: \_\_\_\_\_  
Узлы: Правая доля: \_\_\_\_\_ Левая доля \_\_\_\_\_  
Заключение: \_\_\_\_\_  
Биопсия \_\_\_\_\_  
ТТГ \_\_\_\_\_ Т4 \_\_\_\_\_ АТ ТПО \_\_\_\_\_ АТ ТТГ \_\_\_\_\_  
Сахар крови натощак \_\_\_\_\_ после еды \_\_\_\_\_  
ХС \_\_\_\_\_ ЛПВП \_\_\_\_\_ ЛПНП \_\_\_\_\_ Триглицериды \_\_\_\_\_  
Коэффициент атерогенности \_\_\_\_\_ Склеротерапия \_\_\_\_\_  
Вес \_\_\_\_\_ Рост \_\_\_\_\_ ОТ \_\_\_\_\_





## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### Форма информированного согласия пациента

#### ИНФОРМИРОВАННОЕ ДОБРОВОЛЬНОЕ СОГЛАСИЕ ПАЦИЕНТА ИССЛЕДОВАНИЕ

##### В РАМКАХ ВЫПОЛНЕНИЯ НАУЧНОЙ РАБОТЫ ПО ТЕМЕ

**«Совершенствование изучения гетерогенности эпитопов  
антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными  
заболеваниями щитовидной железы»**

**Сроки выполнения диссертации: 2018-2021 гг.**

На базе Государственного медицинского университета ГМУ г. Семей

**Цель работы:** Изучить гетерогенность эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе.

**Задачи:** 1. Провести эпидемиологическую оценку аутоиммунных заболеваний щитовидной железы по Восточно-Казахстанской области и в целом по Казахстану.  
2. Изучить гетерогенность эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе.  
3. Изучить роль цитокинов - IL-10, ФНО альфа с помощью твердофазового ИФА  
4. Разработать эффективные критерии диагностики и профилактики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

Пациент отдает себе отчет и том, что он/она может в любой момент отказаться от участия в исследовании и что такой отказ ни в коей мере не повлияет на его /ее дальнейшее лечение или медицинскую помощь.

Предполагается, что ни в каких сообщениях по данному исследованию не будет указано имя пациента или сообщено какому-либо третьему лицу.

Подписывая эту форму, я не теряю никаких прав, принадлежащих мне закону. Я имел/а возможность задать вопросы, на которые получила удовлетворившие меня ответы.

Я, \_\_\_\_\_  
(Ф.И.О. полностью)

даю добровольное согласие на проведение следующей манипуляции:

Проведение биопсии щитовидной железы:  ДА  НЕТ

Мне в доступной и понятной форме разъяснены правила подготовки к лабораторным исследованиям и возможные погрешности в результатах при их несоблюдении, вероятные риски манипуляций (боль или дискомфорт при введении иглы, гематома в области пункции, обморок).

Я подтверждаю, что согласен (-а) с тем, что результаты исследования будут готовы не менее чем через 6 мес и претензий по обоснованности их выполнения предъявлять не буду.

Я утверждаю, что все интересующие меня вопросы мною заданы, все полученные ответы и разъяснения сотрудником ГМУ г. Семей мною поняты, возможный риск предстоящих манипуляций мною осознан.

Я получила экземпляр «Информированного согласия пациента»

« \_\_\_\_\_ » 20\_\_ год. Подпись пациент \_\_\_\_\_

Ф.И.О и подпись сотрудника ГМУ г. Семей Ахметова В.Т.: \_\_\_\_\_

Если у Вас возникнут какие-либо вопросы Вы можете обратиться в Этический комитет ГМУ г.Семей тел: 8(7222) 569755 (внутрен 1047) г.Семей ул. Абая 103

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

### Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы №1. Протокол к акту №179 НЭС от 02 Марта 2023 года «Способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе» КГП на ПХВ "Больница скорой медицинской помощи" г. Семей

G-041.06.06.56-2022

Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы

Ред. 01.

Стр.1 из 1

#### А К Т

#### внедрения результатов научно-исследовательской работы

**Наименование учреждения:** Больница скорой медицинской помощи, г. Семей КГП на ПХВ.

**Наименование предложения:** Способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе

**Работа включена из:** Диссертации.

**Форма внедрения:** Внедрение способа диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, путем изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе.

**Ответственный за внедрение и исполнитель:**

Еспенбетова М.Ж. д.м.н., профессор, эндокринолог кафедры терапии НАО «МУС»;  
Ахметова В.Т. ассистент кафедры общей врачебной практики г. Семей.

**Краткая аннотация:** Предложенный способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы заключается в улучшении диагностики и лечения больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. Полученные новые данные фундаментального характера о патогенетических факторах, сопряженных с аутоиммунной патологией щитовидной железы расширяют существующие представления об этиологии и иммунопатогенезе аутоиммунного тиреоидита и диффузного токсического зоба. Это говорит о необходимости дополнительных исследований для изучения генетических, биологических и молекулярных факторов, лежащих в основе синдрома перекреста, для дальнейшего развития понимания этого сложного и разнообразного аутоиммунного состояния. Органосохранность, или отказ от оперативного лечения в пользу лекарственного лечения позволит избежать употребление заместительной гормональной терапии в течение всей жизни.

**Эффективность внедрения:** Лечебно-диагностический. Способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы рекомендуется к применению в практической медицине для диагностики overlap-syndrome (синдрома перекреста). Доказано что выраженное ингибирование связывания МКАТ 82 при overlap-syndrome - (синдром перекреста) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения ДТЗ, при котором не требуется агрессивная терапия с развитием осложнения, таких как, гипопаратиреоз, тетания, тяжелый гипотиреоз, парез голосовых связок...

**Предложения, замечания, учреждения, осуществляющего внедрение** Нет  
**Срок внедрения:** Пациенты были включены в исследование в период с 1 Января 2016 года по 31 Декабря 2019 года.

Директор КГП на ПХВ  
«Больница скорой медицинской помощи»  
Города Семей

Заведующая отделением  
эндокринологии БСМП г. Семей.

Члены (ответственные за внедрение)  
д.м.н. профессор эндокринолог.  
Кафедра терапии НАО МУС

Исполнитель ассистент кафедры  
ОВП г. Семей



Сабитов Е.Т.

Смагулова С.У.

Еспенбетова М.Ж.

Ахметова В.Т.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

### Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы №2. Протокол к акту №179 НЭС от 02 Марта 2023 года «Способ изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе» Поликлиника ТОО «Әділ-Ем» г. Семей

G-041.06.06.56-2022

Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы

Ред. 01.

Стр.1 из 1

#### А К Т

#### внедрения результатов научно-исследовательской работы

**Наименование учреждения:** Больница скорой медицинской помощи, г. Семей КГП на ПХВ.

**Наименование предложения:** Способ изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе

**Работа включена из:** Диссертации.

**Форма внедрения:** Внедрение способа диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, путем изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе.

**Ответственный за внедрение и исполнитель:**

Еспенбетова М.Ж. д.м.н., профессор, эндокринолог кафедры терапии НАО «МУС»;

Ахметова В.Т. ассистент кафедры общей врачебной практики г. Семей.

**Краткая аннотация:** Предложенный способ изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы заключается в улучшении диагностики и лечения больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. Полученные новые данные фундаментального характера о патогенетических факторах, сопряженных с аутоиммунной патологией щитовидной железы расширяют существующие представления об этиологии и иммунопатогенезе аутоиммунного тиреоидита и диффузного токсического зоба. Это говорит о необходимости дополнительных исследований для изучения генетических, биологических и молекулярных факторов, лежащих в основе синдрома перекреста, для дальнейшего развития понимания этого сложного и разнообразного аутоиммунного состояния. Органосохранность, или отказ от оперативного лечения в пользу лекарственного лечения позволит избежать употребление заместительной гормональной терапии в течение всей жизни.

**Эффективность внедрения:** Лечебно-диагностический. Способ изучения гетерогенности эпитопов антитиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы рекомендуется к применению в практической медицине для диагностики overlap-syndrome (синдрома перекреста). Доказано что выраженное ингибирование связывания МКАТ 82 при overlap-syndrome - (синдром перекреста) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения ДТЗ, при котором не требуется агрессивная терапия с развитием осложнениями. таких как, гипопаратиреоз, тетания, тяжелый гипотиреоз, парез голосовых связок...

**Предложения, замечания, учреждения, осуществляющего внедрение** Нет

**Срок внедрения:** Пациенты были включены в исследование в период с 1 Января 2016 года по 31 Декабря 2019 года.

Директор КГП на ПХВ  
«Больница скорой медицинской помощи»  
Города Семей



Сабитов Е.Т.

Заведующая отделением  
эндокринологии БСМП г. Семей.

Смагулова С.У.

Члены (ответственные за внедрение)  
д.м.н. профессор эндокринолог.  
Кафедра терапии НАО МУС

ЕЖ

Еспенбетова М.Ж.

Исполнитель ассистент кафедры  
ОВП г.Семей

ВТ

Ахметова В.Т.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

### Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы №3 . Протокол к акту №179 НЭС от 02 Марта 2023 года «Способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе» КГКП «Центр первичной медико-санитарной помощи №12 горда Семей» управления здравоохранения области Абай

G-041.06.06.56-2022

Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы

Ред. 01.

Стр.1 из 1

#### А К Т

#### внедрения результатов научно-исследовательской работы

**Наименование учреждения:** Больница скорой медицинской помощи, г. Семей КГП на ПХВ.

**Наименование предложения:** Способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе

**Работа включена из:** Диссертации.

**Форма внедрения:** Внедрение способа диагностики и лечения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, путем изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы с использованием моноклональных антител к тиреоидной пероксидазе.

**Ответственный за внедрение и исполнитель:**

Еспенбетова М.Ж. д.м.н., профессор, эндокринолог кафедры терапии НАО «МУС»;

Ахметова В.Т. ассистент кафедры общей врачебной практики г. Семей.

**Краткая аннотация:** Предложенный способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы заключается в улучшении диагностики и лечения больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. Полученные новые данные фундаментального характера о патогенетических факторах, сопряженных с аутоиммунной патологией щитовидной железы расширяют существующие представления об этиологии и иммунопатогенезе аутоиммунного тиреоидита и диффузного токсического зоба. Это говорит о необходимости дополнительных исследований для изучения генетических, биологических и молекулярных факторов, лежащих в основе синдрома перекреста, для дальнейшего развития понимания этого сложного и разнообразного аутоиммунного состояния. Органосохранность, или отказ от оперативного лечения в пользу лекарственного лечения позволит избежать употребление заместительной гормональной терапии в течение всей жизни.

**Эффективность внедрения:** Лечебно-диагностический. Способ изучения гетерогенности эпитопов анти тиреопероксидазных аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы рекомендуется к применению в практической медицине для диагностики overlap-syndrome (синдрома перекреста). Доказано что выраженное ингибирование связывания МКАТ 82 при overlap-syndrome - (синдром перекреста) можно рассматривать как один из потенциальных маркеров благоприятного течения ДТЗ, при котором не требуется агрессивная терапия с развитием осложнениями. таких как, гипопаратиреоз, тетания, тяжелый гипотиреоз, парез голосовых связок...

**Предложения, замечания, учреждения, осуществляющего внедрение** Нет

**Срок внедрения:** Пациенты были включены в исследование в период с 1 Января 2016 года по 31 Декабря 2019 года.

Директор КГП на ПХВ  
«Больница скорой медицинской помощи»  
Города Семей

Заведующая отделением  
эндокринологии БСМП г. Семей.

Члены (ответственные за внедрение)  
д.м.н. профессор эндокринолог.  
Кафедра терапии НАО МУС

Исполнитель ассистент кафедры  
ОВП г.Семей



Сабитов Е.Т.

Смагулова С.У.

Еспенбетова М.Ж.

Ахметова В.Т.

# ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Авторское право № 35248 от «27» апреля 2023 года

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

АВТОРЛЫҚ ҚҰҚЫҚПЕН ҚОРҒАЛАТЫН ОБЪЕКТІЛЕРГЕ ҚҰҚЫҚТАРДЫҢ  
МЕМЛЕКЕТТІК ТІЗІЛІМГЕ МӘЛІМЕТТЕРДІ ЕНГІЗУ ТУРАЛЫ

**ҚУӘЛІК**

2023 жылғы «27» сәуір № 35248

Автордың (лардың) жөні, аты, әкесінің аты (егер ол жеке басын куәландыратын құжатта көрсетілсе):  
**АХМЕТОВА ВЕНЕРА ТУРСЫНОВНА, Еспенбетова Майра Жаксимаовна, Юрковская Оксана  
Александровна, Жуманбаева Жанар Махмұтовна**

Авторлық құқық объектісі: **ғылыми туынды**

Объектінің атауы: **Совершенствование изучения гетерогенности эпитопов антирепероксидазных  
аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы**

Объектіні жасаған күні: **11.01.2023**

Құжат тұлғасына қатысты мәліметтер: <http://www.kazpatent.kz/ru> сайтының  
"Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге болады. <https://copyright.kazpatent.kz>

Подлинность документа возможно проверить на сайте [kazpatent.kz](http://kazpatent.kz)  
в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

ЭЦҚ қол қойылды

Е. Оспанов



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

## СВИДЕТЕЛЬСТВО

О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР  
ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

№ 35248 от «27» апреля 2023 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):  
АХМЕТОВА ВЕНЕРА ТУРСЫНОВНА, Еспенбетова Майра Жаксимановна, Юрковская Оксана  
Александровна, Жуманбаева Жанар Махмұтовна

Вид объекта авторского права: произведение науки

Название объекта: Совершенствование изучения гетерогенности эпитопов анти tireопероксидазных  
аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы

Дата создания объекта: 11.01.2023



Құжат тұтынушысының <http://www.kazpatent.kz/ru> сайтының  
"Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге бөлады. <https://copyright.kazpatent.kz>  
Подлинность документа возможно проверить на сайте [kazpatent.kz](https://copyright.kazpatent.kz)  
в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

Подписано ЭЦП

Е. Оспанов

# ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

Авторское право № 35247 от «27» апреля 2023 года



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

## СВИДЕТЕЛЬСТВО

О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР  
ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

№ 35247 от «27» апреля 2023 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):  
**АХМЕТОВА ВЕНЕРА ТУРСЫНОВНА, Еспенбетова Майра Жаксимаовна, Юрковская Оксана  
Александровна, Жуманбаева Жанар Махмұтовна**

Вид объекта авторского права: **произведение науки**

Название объекта: **Интерлейкин 10 и фактора некроза опухоли -α при аутоиммунных заболеваниях  
щитовидной железы**

Дата создания объекта: **10.01.2023**



Құжат түпнұсқасын <http://www.kazpatent.kz/ru> сайтының  
"Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге болады. <https://copyright.kazpatent.kz>

Подлинность документа возможно проверить на сайте [kazpatent.kz](http://www.kazpatent.kz)  
в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

Подписано ЭЦП

Е. Оспанов



## ПРИЛОЖЕНИЕ И

### Выражение признательности участникам исследования

Автор выражает глубокую признательность администрации и медицинским работникам медицинских организации, где проводился набор материала.

Автор выражает особую признательность Федеральному государственному бюджетному научному учреждению «Научно-исследовательскому институту вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» (Москва, Россия) за финансирование, методологическую помощь, реактивы и оборудование, предоставленные для исследования. Комплексное участие и сотрудничество сторон стало неотъемлемой частью проведения работы, которое имело решающее значение для успешного его завершения.