

На правах рукописи

Зима Дмитрий Владимирович

**СТРЕСС И НАРУШЕНИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ РЕГУЛЯЦИИ
АПОПТОЗА В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
(КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.3.3. Патологическая физиология

3.1.9. Хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Симферополь - 2022

Работа выполнена в Институте «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

Научные руководители:

Зяблицкая Евгения Юрьевна, доктор медицинских наук, доцент

Безруков Олег Филиппович, доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Гребнев Дмитрий Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Черников Роман Анатольевич – доктор медицинских наук, заведующий отделением эндокринной хирургии Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2023 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 в Институте «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (295051 г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (295051, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7) и на сайте <http://cfuv.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 20 __ г.

Учёный секретарь
диссертационного совета 24.2.318.01
доктор медицинских наук, доцент

Зяблицкая Евгения Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности. Высокая заболеваемость хирургической патологией щитовидной железы (ЩЖ), прогрессирующая в 2020-2022 годах и существенная доля рака среди узловых образований (УО) ЩЖ, трудности их предоперационной диагностики говорят об актуальности работы [Bray F., 2021]. Вероятность техногенных катастроф и дестабилизация ядерной энергетической отрасли в мире в XXI веке потенцируют высокий риск роста ЗНО, а возрастающее патогенное действие внешней среды вызывает патоморфоз УО и требует совершенствования их диагностики [Безруков О.Ф., 2015, Asif F., 2018]. По данным Global Cancer Statistics 2020 рак ЩЖ находится на 11-м месте по частоте среди всех ЗНО и на 1-м – среди опухолей эндокринной системы. А число пациентов, требующих дифференциальной диагностики УО, превосходит заболеваемость раком в 10-15 раз. У людей в возрасте до 30 лет рак ЩЖ составляет 8,3– 12,0% в общей структуре онкопатологии [Каприн А., 2021].

Изучению роли стресса в возникновении тиреоидной патологии посвящено много работ, демонстрирующих комбинированное и изолированное действие стрессоров [Безруков О.Ф., 2017; Zhang J., 2018]. Показаны изменения структуры ЩЖ при стрессе, имеющие тяжелые последствия, включая развитие АИТ и рака, они связаны с динамикой экспрессии рецепторов апоптоза FAS-R, обеспечивающих элиминацию раковых клеток [Cruz C., 2016, Asif F., 2018]. Многие факторы патогенеза рака ЩЖ вызывают оксидативный стресс, который инициирует повреждения ДНК, онкотрансформацию тироцитов и поддерживает онкогенез [Metere A., 2018]. Однако нет систематизированных данных, обобщающих роль стресса в инициации заболеваний ЩЖ. Изменения структуры и функции ЩЖ при разных видах стресса мало детализированы в зависимости от пола и возраста, динамики клеточных популяций, экспрессии маркеров кинетики клеток.

Не установлены механизмы канцерогенеза неоплазий ЩЖ, нет ответа на вопрос: почему клетки опухоли, на протяжении многих лет не проявляющие активности, активируются, и карцинома переходит в проявленную форму. В связи с относительно благоприятным течением онкопроцесса в ЩЖ среди хирургов сформировались полярные точки зрения на объем операции при ранних стадиях папиллярного рака, что актуально, поскольку с улучшением техники ТАПБ, все больше таких больных подвергаются оперативному лечению [Ahmed S., 2019]. Стандартная диагностика базируется на УЗИ, определении ТТГ, Т₃, Т₄, кальцитонина и заключении цитологического исследования материала ТАПБ, которой принадлежит решающая роль в постановке диагноза [Воробьев С.Л., 2014]. Такой подход позволяет классифицировать выявленные изменения в 6 категорий по Bethesda, определяющих лечебную тактику и объем операции [Cibas E., 2009]. Однако у ряда пациентов он не удовлетворяет потребностям диагностики, когда цитологических признаков недостаточно для дифференциации доброкачественных и злокачественных опухолей. Большинство пациентов с

неопределенным цитологическим заключением направляются на операцию. При этом послеоперационное гистологическое исследование не всегда подтверждает злокачественную природу узлов в удаленной железе, поскольку тироциты доброкачественных фолликулярных неоплазий морфологически неотличимы от клеток фолликулярной карциномы. При папиллярной карциноме в цитологическом материале не всегда визуализируются клетки с достоверными ядерными изменениями [Михайлова М., 2015]. В связи с этим на предоперационном этапе актуален поиск биомаркеров и использование МГИ. Таким образом, актуален поиск как ключевых точек злокачественной трансформации тироцитов (в том числе при действии стресса), так и доступных методик объективизации диагностики.

Цель исследования – установить роль стресса и нарушений сигнального пути регуляции апоптоза в развитии патологии ЩЖ и разработать подходы к совершенствованию предоперационной диагностики для выбора хирургической тактики.

Задачи исследования:

1. Изучить функциональные и морфологические изменения ЩЖ на экспериментальной модели стресса и определить механизмы его пусковой роли в развитии тиреоидной патологии.

2. Выявить особенности экспрессии маркеров клеточного цикла: апоптоза FAS-R и пролиферации Ki-67 в тироцитах лабораторных белых крыс на модели стресса в эксперименте.

3. Изучить уровень экспрессии маркеров клеточного цикла: апоптоза FAS-R, антиапоптотического bcl-2, маркера повреждения генома p53 и пролиферации Ki-67 в тироцитах у пациентов в зависимости от вида патологии ЩЖ.

4. Разработать подходы к совершенствованию диагностики УО ЩЖ с использованием иммуноморфологических и молекулярно-генетических методик для выбора хирургической тактики.

5. Провести ретроспективный анализ эффективности разработанного алгоритма диагностики УО ЩЖ и изменений заболеваемости хирургической патологией ЩЖ в 2019-2022 годах.

Научная новизна. Впервые по комбинации различных патофизиологических, гистологических и клинических параметров комплексно проанализированы изменения в ткани ЩЖ в условиях изолированного и комбинированного стресса разной продолжительности. Определены закономерные изменения клеточного и гормонального гомеостаза, а также структуры фолликулярного эпителия и особенности динамики факторов, определяющих клеточный цикл или готовность тироцита к апоптозу. Впервые изучен уровень экспрессии маркеров клеточного цикла: FAS-R, bcl2, p53 и Ki-67 в тироцитах у пациентов в зависимости от вида патологии ЩЖ и установлена патогенетическая роль стресса и нарушения сигнального пути регуляции апоптоза в механизмах развития заболеваний ЩЖ на основании общности молекулярных изменений в эксперименте и клинике.

Впервые установлено, что при воздействии на организм стресса возникают закономерные изменения в экспрессии FAS-R на мембране тироцита. Разработан ИЦХ индекс расчета изменения кинетики клетки.

Разработаны рекомендации по диагностике рака ЩЖ на основании малоинвазивной методики ТАПБ, с проведением комплекса методов МГИ полученного аспирата и на клеточном блоке. Предложен алгоритм динамического наблюдения больных с новообразованиями ЩЖ неопределенного или неизвестного характера (МКБ 10).

Теоретическая и практическая значимость работы. Определена ведущая роль стресса, как основного инициирующего фактора в развитии тиреоидной патологии и половой диморфизм исследуемых параметров, чем могут быть обусловлены различия заболеваемости у мужчин и женщин. На основании комплексного патофизиологического исследования установлена роль стресса в развитии тиреоидной патологии. Разработан диагностический алгоритм, ориентированный на ТАПБ узлов ЩЖ, на основании которого оптимизирован выбор врачебной тактики ведения пациентов. Полученные результаты внедрены в клиническую хирургическую диагностическую практику и могут служить основой для дальнейшего изучения, разработки методов профилактики и комплексной терапии патологии ЩЖ.

Методы исследования. Работа имеет клинико-экспериментальный характер. В экспериментальной части использованы: моделирование стресса у белых крыс; определение показателей крови, кардиореспираторной регуляции, уровня гормонов; гистологические методы; ИГХ (определение экспрессии тироцитами маркеров FAS-R, Ki-67). Для исследований пациентов использованы: общие клинические методы в рамках диагностической работы (сбор анамнеза, осмотр, УЗИ с ТАПБ), морфологические методы для верификации диагноза: цитологическая оценка пунктата и гистологическое исследование операционного материала; ИГХ оценка экспрессии маркеров клеточного цикла FAS-R, bcl 2, p 53, Ki-67, исследование мутаций BRAF V600E методом ПЦР; ретроспективный анализ результатов диагностики на предоперационном и постоперационном этапах за период 3,5 года. В эксперименте и клинике использованы методы световой микроскопии, сканирования гистопрепаратов, морфометрия, статистические методы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Развитие стресса у лабораторных животных, проявляющееся изменением лейкоцитарной формулы крови и соответствующей отрицательной динамикой индекса Гаркави, изменением показателей кардиореспираторной системы, уровня гормонов в крови, сопровождается изменением структуры и функции ЩЖ: неоднородной или очаговой пролиферацией и дифференцировкой ее ткани, динамикой выработки тироксина и экспрессии маркеров митоза Ki-67 и апоптоза FAS-R в тироцитах. Эти процессы по-разному протекают у самцов и самок и зависят от вида и длительности стресса.

2. Схожая динамика маркеров клеточного цикла Ki-67 и FAS-R, дополненная исследованием маркеров bcl-2 и p53 при различной патологии ЩЖ показала общность механизмов нарушения клеточного цикла тироцитов

человека. Расчет индекса экспрессии молекулярных маркеров митоза и апоптоза по формуле $Z = FAS-R / (Ki67+1)$ с учетом результата исследования ткани на наличие мутации в гене BRAFV600E, а также кластерный анализ позволили выявить группы пациентов, где используемые молекулярные методы могут прогнозировать злокачественный потенциал ткани железы. Это позволяет дифференцировать материал по категориям низкого, среднего и высокого риска злокачественной трансформации.

3. Определение индекса злокачественности по результатам комплексного МГИ позволяет оптимизировать диагностику доброкачественных и злокачественных УО ЩЖ на предоперационном этапе. Внедрение такого алгоритма показало его эффективность на протяжении 3,5-летнего периода.

Степень достоверности и апробация результатов. Экспериментальное исследование выполнено в ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» на базе вивария и Центра коллективного пользования «Экспериментальная физиология» Института «Таврическая академия», Гистологической лаборатории с ИГХ и Лаборатории молекулярной биологии Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», имеющих разрешение для данных исследований. Работа с пациентами является профессиональной деятельностью диссертанта по хирургическому лечению эндокринной патологии в Клиническом медицинском многопрофильном центре Святителя Луки ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», г. Симферополя.

О достоверности результатов, обоснованности выводов свидетельствует достаточный объем работ в эксперименте и клинике, использование комплекса актуальных методов, адекватной математической обработкой и анализом. Использованы метрологически обеспеченные средства измерительной техники, лицензированное оборудование и реагенты.

Результаты представлены автором на тематических форумах: XXVIII Российский симпозиум по эндокринной хирургии «Калининские чтения», 19-20.10.2018, г. Саранск; «Эстафета вузовской науки-2019» ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им И.М. Сеченова», 27-28.02.2019, г. Москва; международный симпозиум Innovations in lifesciences, 10–11.10.2019, г. Белгород; научная конференция «Актуальные проблемы морфологии: эмбриональный и репаративный гистогенез, филогистогенез», 19.12.2019, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург; VIII конгресс «Актуальные вопросы врачебной практики», 7-11.09.2021 г., г. Ялта; VIII ежегодная национальная выставка Вузпромэкспо 2021 НОЦ «Сириус», 8.12.2021, г. Сочи; IX конгресс «Актуальные вопросы врачебной практики», 06–09.09.2022. г. Ялта; международная научно-практическая конференция «Эксперимент в хирургии и онкологии», 14–16.09.2022, г. Курск; всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Фундаментальные исследования – stopper или driver современной онкологии?», Национальный медицинский исследовательский центр онкологии, 20-21.10.2022, г. Ростов-на-Дону. Данные за 3 года включены в мультицентрическое исследование THY-COVID о влиянии пандемии COVID-19 на рак ЩЖ на базе университета Кальяри (Università degli Studi di Cagliari), Италия, 2022.

Личный вклад автора. Автором инициировано проведение исследования в связи с его деятельностью врача-хирурга, совместно с руководителями сформулированы цель и задачи работы, разработан ее дизайн. Автор выполнил все манипуляции и эксперимент на животных, ТАПБ и отработку диагностики с пациентами. В выполнении высокотехнологичных лабораторных методик автор принимал непосредственное участие совместно со специалистами лаборатории и самостоятельно оформил результаты, выполнил анализ полученных данных, биостатистические расчеты и подготовил статьи. Автором сформулированы выводы, разработаны научные и практические рекомендации.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, отражающих основные результаты: 2 статьи в журналах, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus; 6 статей в специализированных научных журналах, входящих в перечень ВАК Российской Федерации, 9 публикаций в сборниках материалов конференций, 1 патент на изобретение РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа содержит введение, обзор литературы, материал и методы, 4 главы с результатами собственных исследований, главу обобщения результатов и заключения, выводы, практические рекомендации и список литературы, содержащий 174 наименования. Работа изложена на 171 странице машинописного текста, иллюстрирована 19 таблицами, 9 диаграммами, 3 блок-схемами, 68 рисунками.

Клинический раздел получил поддержку из государственного задания FZEG-2020-0060 «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий», № АААА-А20-120122490026-1, где автор является исполнителем; экспериментальный раздел поддержан программой развития ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Выполнена комплексная работа: 1) эксперимент – для определения воздействия стресса на крыс, исследования ткани ЩЖ, регуляторных маркеров; 2) клиничко-лабораторное и ИГХ обследование пациентов с основными группами заболеваний ЩЖ – для сопоставления с результатами эксперимента, подбора и отработки методик МГТ, разработки диагностического алгоритма; 3) ретроспективный анализ за 3,5 года – для оценки эффективности алгоритма (рис. 1).

Экспериментальная часть выполнена на 100 крысах линии Wistar, табл. 1.

Для моделирования алиментарного стресса крыс 3 недели кормили прокаленным зерном и поили дистиллированной водой с добавлением 2 мг/л NaBr, не давая другого корма и воды. Животные получали бедный по составу однообразный рацион и воду, бедную йодом и обогащенную его антагонистом бромом. Такой состав воды характерен для грунтовых вод западных районов и открытых источников пресной воды степной части Крыма, где концентрация брома превышает предельно допустимую (0,2 мг/дм³).



Рисунок 1. Дизайн исследования.

Таблица 1. Схема эксперимента по изучению стресса на лабораторных крысах

Группа, название	Возраст (сут)	Масса (г)	Количество, N	Производимые манипуляции
1 Контроль	90	150,2 ±2,9	10♂,10♀	хендлинг во время ухода и взвешивания
2 Алиментарный стресс	90	151,8 ±3,6	10♂,10♀	ограничение питания: прокаленное зерно и дистиллированная вода с 2 мг/л NaBr – 3 недели
3 Гипокинетический стресс	90	180,5 ±3,1	15♂,15♀	фиксация животного в пенале 20 часов и свободное содержание 4 часа в сутки – 3 недели
4 Комбинированный стресс Алиментарный + Гипокинетический	110	160,4 ±2,9	15♂,15♀	ограничение питания: прокаленное зерно и дистиллированная вода с 2 мг/л NaBr – 3 недели + фиксация животного в пенале 20 часов и свободное содержание 4 часа в сутки – 3 недели на фоне ограничения питания

Гипокинетический стресс моделировали, помещая животных ежедневно на 20 часов в фиксаторы (animal restrainers) AE1001-R1 (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). Данную модель можно назвать и иммобилизационным стрессом, и гиподинамическим (термины мы используем как синонимы).

Комбинированный стресс – это продолжение эксперимента с алиментарным стрессом, когда животных, выдержавших 3 недели ограничения питания, подвергали фиксации в рестрейнерах при тех же условиях, что и крыс группы с гипокинезией, не меняя рацион и состав воды.

Длительность острого стресса – 7 суток, хронического – 21. Крыс в динамике (1, 7, 14, 21 день) *обследовали с помощью физиологических методик*:

1. Определяли ЧСС, ЧДД и SpO₂ с помощью комплекса Biopac MP150 (США) и программы «AcqKnowledge 4.2 for MP150».

2. Брали кровь (сублингвально) для расчета лейкоцитарной формулы и определения уровня гормонов методом ИФА. Использовали анализатор Mythic 18 (“Orphee”, Швейцария). На основании критериев Гаркави-Квакиной лейкоцитарная формула крови подтверждает стадию стресса. Коэффициент л/нс (соотношение лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов) показывает стресс-реакцию (<1), реакцию тренировки (1-2) и активации (2-4).

Для ИФА использовали анализатор Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США), наборы для определения кортизола «Кортизол-ИФА» K210; кортикостерона «Кортикостерон-ИФА» 210R, свободного и общего тироксина T₄ и трийодтиронина T₃ «T₄-ИФА», «T₃-ИФА», ТТГ «ТТГ-ИФА», Хема.

Для морфологического исследования крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом. Для гистологии использовано оборудование Leica (Германия, Австрия) и Millestone (Италия) – для преаналитического (вырезная станция, гистопроцессор LOGOS, микротом Leica RM 2255) и аналитического этапов (иммуногистостейнер BondMax, Микроскоп MD 2000 с цифровой камерой, сканер Aperio CS2 Leica), использованы расходные материалы Бювитрум (Россия), Leica (Германия). На парафиновых срезах толщиной 4 мкм проводили морфометрические исследования в программе IMAGEJ.

Общие клинические. Обследован 61 пациент в протоколе: УЗИ+ТАПБ → цитология мазков → операция → гистология + ИГХ + ИЦХ. Критерии включения – мужчины и женщины возраста 30-75 лет, пациенты КММЦ Святителя Луки, нуждающиеся в оперативном лечении. В гистологической лаборатории выполняли морфологическое исследование материала с применением, помимо классических методик, МГИ – экспрессии маркеров FAS-R, bcl 2, p53, Ki67, при показаниях – выявление мутаций BRAF V600E.

Для постановки ИГХ использовали антитела Ki67 (MM1, RTU; Novocastra, Великобритания) и FAS (ab82419, 1:200; Abcam, США), bcl-2 (NCL-L-BCL-2, RTU; Leica, Германия), p53 (NCL-L-p53-DO7, 1:800; Novocastra). Оценку экспрессии Ki-67 и p53 проводили методом подсчета позитивных клеток; FAS и bcl-2 – полуколичественным методом.

Для изготовления cell-block использовали агаровый и тромбиновый способы, когда из материала ТАПБ создается аналог тканевого блока.

Разработан авторский подход к верификации сомнительных цитологических изменений путем постановки ИЦХ реакции, по сути являющейся ИГХ методом с двумя маркерами на клеточном блоке. Он включает реакцию с маркером Ki-67 и FAS-R. По значениям уровней экспрессии определяли злокачественный потенциал опухоли путем вычисления индекса злокачественности Z по формуле: $Z = FAS-R / (Ki67 + 1)$, где FAS-R и Ki-67 – среднее количество иммунопозитивных клеток по 10 полям зрения в препарате. При показаниях к исследованию мутации BRAF V600E (микрокарцинома с подозрением на наследственный характер, быстрый рост), делали стружку из клеточного блока. МГИ проводили по методике ПЦР. Использовали набор «ДНК-Ткань-Ф-100» и «Тест- BRAF-ткань» (ООО «ТестГен», Россия), амплификатор LightCycler®96 System (Roche, Швейцария).

Метод ретроспективного анализа. Собраны данные из отделения хирургии КММЦ Святителя Луки и обслуживающей лаборатории Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского».

Пациенты разделены на три группы в зависимости от даты операции:

- группа 1: январь 2019 г. – февраль 2020 г., 14 мес. (до разработки алгоритма;
- группа 2: март 2020 г. – январь 2022 г., 23 мес. (во время разработки и апробации алгоритма);
- группа 3: февраль 2022 г. – июль 2022 г., 6 мес. (после внедрения алгоритма).

Эти периоды совпали с периодом до, во время и после пандемии COVID-19. Анализировали показатели, связанные с морфологической диагностикой после ТАПБ и операций, выполненных автором, и заболеваемость, связанную с внешними факторами. Тип исследования: региональное ретроспективное. Проанализированы классы по Bethesda и их соотношение в структуре заключений; вид операции, диагноз, сопоставление с цитологией. Для ЗНО – гистологические типы, размеры, стадия по TNM, экстратиреодный рост, метастазирование. Выполнено 1244 исследования: 828 ТАПБ и 416 оперативных вмешательств на ЩЖ.

При анализе количественных показателей использовали «MS Office – Excel», «STATISTICA – 10.0», параметрические и непараметрические методы. Определяли форму и меру связи методом Спирмена. Внутригрупповые различия оценивали с помощью критерия Вилкоксона, между группами – Манна-Уитни. Использован кластерный анализ. В ретроспективном анализе – хи-квадрат. Исследования согласованы комитетом по этике Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» (Протокол 4 от 12.04.2022 г).

Результаты исследования и обсуждение. 21-дневное действие иммобилизации, как на фоне нормального питания, так и при его ограничении, оказывает выраженный эффект на *показатели кардиореспираторной системы* крыс, что выражается в увеличении ЧСС на фоне снижения ЧДД и SpO₂. Изменения зарегистрированы с 7 суток, однако максимальная динамика отмечена на 21 сутки. В группе самцов и самок с гипокинезией на 21 сутки (везде $p < 0,05$) растет ЧСС: на 8,0-10,3%; снижаются ЧДД и SpO₂ на 22,4-23,1% и 10,2-13,3%, соответственно, более выражены изменения по всем показателям – у самок. При комбинированном стрессе в эти сроки растет ЧСС на 16,4-

23,1%, а также снижается ЧДД и SpO₂ на 19,0-30,0%, 12,5-18,7% соответственно, относительно значений этих показателей в 1 сутки, в этой группе ЧСС и ЧДД больше меняются у самок, а SpO₂ – у самцов.

Показатели крови крыс при гипокинетическом и комбинированном стрессе лабильны, снижение индекса стресса (от 5,5 до 1,1-1,3) начинается со 2 недели и отражает успешность модели. На 2-3 неделях показатели достигают значения реакции тренировки и стресс-реакции, изменяется уровень гормонов в крови. Алиментарный стресс не меняет изученные показатели.

При гипокинетическом стрессе у самцов и самок снижается уровень кортизола в 1,7-5,7 раз, а кортикостерон растет в 2,6-2,9 раз. У самок выявлена тенденция к росту ТТГ, при этом у самцов уровень ТТГ снижается в 2,0-6,0 раз ($p < 0,05$), уровень Т₄ сохраняется в пределах контрольных цифр, Т₃ не меняется.

В период 3-4 месяцев у крыс происходит созревание ткани ЩЖ. Стресс меняет *структуру* ЩЖ крыс. На органном уровне у самок на 21 сутки комбинированного стресса выявлено увеличение объема ЩЖ от $39,6 \pm 3,8 \text{ мм}^3$ до $56,7 \pm 4,0 \text{ мм}^3$ ($p \leq 0,05$). Действие стресса на тканевом уровне проявлено у всех групп животных с 7-14 суток, с максимумом к 21 дню. При алиментарном стрессе органы 110-суточных крыс, выглядят как железы 90-суточных контрольных животных, у самцов задержка дифференцировки ткани ЩЖ на фоне ограничения питания более выражена. Монофакторное воздействие вызывает задержку дифференцировки ткани, а комбинированный стресс меняет структуру ЩЖ: вызывает неравномерную пролиферацию, образование фолликулов причудливой формы с изменением высоты тироцитов.

Индекс пролиферации тироцитов имеет в целом отрицательную динамику, за исключением раннего периода гипокинетического стресса у самок, когда он на 7 сутки возрастает (от 2,4% до 11,3, при $p \leq 0,05$), но в дальнейшем происходит его снижение до 1,3-1,5% при прогрессивном росте экспрессии FAS-R в изолированной и комбинированной модели стресса. Большинство параметров при алиментарном стрессе не меняются, в отличие от иммобилизационного. Изменение показателей индекса Ki-67 и FAS-R у экспериментальных животных указывает на роль стресса в развитии нарушения клеточной кинетики ЩЖ.

Иммунофенотипический профиль ткани ЩЖ *человека* при различных группах заболеваний также выявил различия, мы исследовали дополнительно маркеры bcl-2 и p53. Однако Ki-67 и FAS-R оказались наиболее информативны.

Попарное сравнение нозологических групп по уровню экспрессии маркеров методом Манна-Уитни не выявило отличий (табл. 2). Однако кластерный анализ (табл. 3) позволил выделить группу (кластер 3), где у всех пациентов была гистологически верифицирована папиллярная карцинома, а значения экспрессии маркеров составило 2,3-9,0 для FAS и 0,9-4,1 для Ki-67. Это послужило идеей расчета Z-индекса злокачественности $Z = FAS-R / (Ki67 + 1)$. В кластере 3 индекс варьировал от 0,6 до 3,9. В кластер 2 вошли пациенты, у которых по результатам ТАПБ был коллоидный узел, подтвержденный гистологически. Остальные кластеры были гетерогенны по диагнозу. Результаты оценки реакции на клеточном блоке и ИЦХ совпали. В связи с

преимуществами клеточного блока (возможность делать серийные срезы для ИГХ, исследований генов), этот способ можно считать приоритетным.

Таблица 2. Экспрессия маркеров *Ki-67* и *FAS-R*, *Z*-индекс в тироцитах, в клеточном материале ТАПБ, метод ИЦХ

Диагноз	N число случаев	Маркер (m; Me [Min; Max])		
		FAS-R	Ki-67	Z-индекс
Папиллярный рак	31	7,2; 3,8 [0,0; 59,2]	4,4; 3,3 [0,5; 19,1]	2,8; 0,9 [0,0; 39,5]
Токсический зоб	13	2,7; 1,1 [0,0; 13,1]	3,0; 1,5 [0,0;11,0]	0,7; 0,3 [0,0; 3,6]
АИТ	5	6,5; 2,0 [0,0; 26,3]	2,5; 1,4 [0,5; 5,5]	2,9; 0,9 [0,0; 11,0]
Аденоматозный зоб	12	3,4; 2,6 [0,0; 13,9]	3,7; 1,5 [0,5; 14,9]	1,1; 0,4 [0,0; 5,12]

Таблица 3. Экспрессия маркеров *Ki-67* и *FAS-R*, *Z*-индекс в тироцитах в клеточном материале ТАПБ, метод ИЦХ, расчет для кластеров

Кластер	1	2	3	4	5
Маркер Me [Max;Min]	n=12	n=7	n=10	n=21	n=11
FAS-R	4,67 [0,0; 15,1]	14,6 [10,5; 59,2]	4,9 [2,3; 9,0]	1,4 [0,0; 3,9]	0,0 [0,0; 2,5]
Ki-67	8,7 [6,0; 19,1]	1,6 [0,5; 2,6]	2,5 [0,9; 4,1]	1,0 [0,0; 2,0]	4,5 [3,2; 6,4]
Z	0,3 [0,0; 1,8]	5,9 [3,1; 39,5]	1,8 [0,6; 3,9]	0,8 [0,0; 2,6]	0,0 [0,0; 0,4]

Таким образом, динамика экспрессии маркеров митоза и апоптоза выявлена в ткани ЩЖ крыс и на материале ТАПБ у пациентов на мазке и срезе клеточного блока. При расчёте соотношения экспрессии *Ki-67* и *FAS-R* есть группы (кластеры), перспективные для оценки злокачественности ткани. И этот метод доступен на предоперационном этапе, в том числе и для выявления мутации BRAFV600E. Мы разработали алгоритм верификации сомнительных цитологических изменений (рис. 2). При подозрении на опухоль выполняют УЗИ и ТАПБ. Материал доставляют в лабораторию, берут в работу для цитологии и готовят клеточный блок. Проводят ИГХ с *Ki-67* и *Fas-R*. По значениям экспрессии рассчитывают индекс *Z*: $Z = \text{Fas-R} / (\text{Ki-67} + 1)$. При подозрении на наличие мутации BRAFV600E экстрагируют ДНК и определяют искомую мутацию. При величине индекса *Z* менее 1,1 и отсутствии мутации судят о низком риске злокачественного роста (рекомендуют динамическое наблюдение). При величине индекса *Z* более 2,8 или (и) выявлении мутации делают заключение о высоком риске, ассоциированном с агрессивным типом опухоли. При гипоезоженности узла, норме показателей АТ к ТПО и ТТГ, величине *Z* более 2,8 рекомендуют гемитиреоидэктомию с ревизией региональных лимфоузлов. При подозрении на метастатическое поражение по данным УЗИ, КТ, МРТ – рекомендуют регионарную лимфодиссекцию с тиреоидэктомией. В случаях изоэзоженных характеристик узла, наличии биохимических показателей АИТ и величине индекса *Z* более 2,8 рекомендуют проведение жидкостной цитологии для исключения папиллярной карциномы. Если величина *Z* 1,1-2,8, то судят о среднем риске. Рекомендуют повторную ТАПБ с исследованием мутации BRAFV600E, в случае подтверждения опухолевой трансформации – гемитиреоидэктомию.

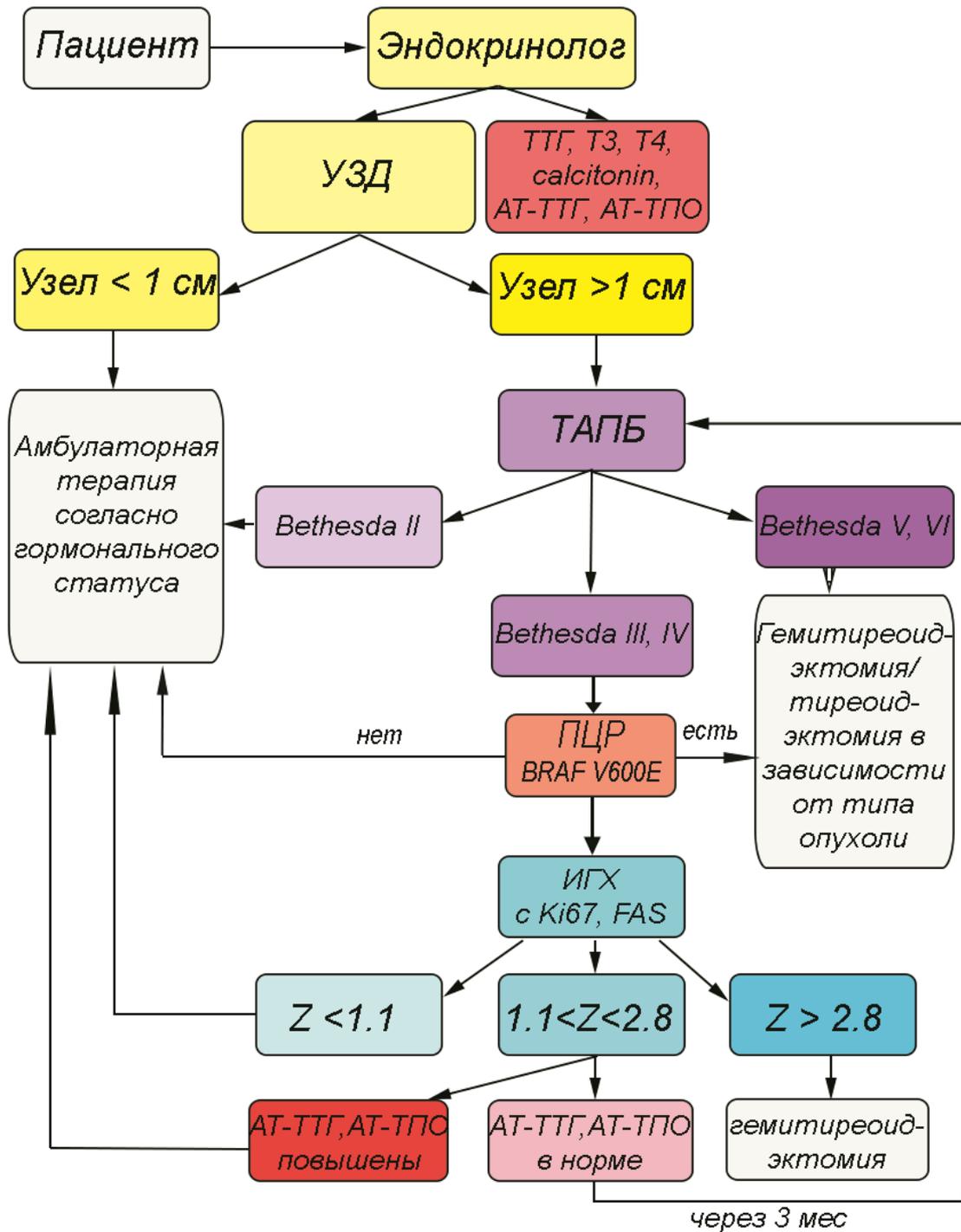


Рисунок 2. Алгоритм морфологической диагностики УО ЩЖ.

Таким образом, клеточный блок делает доступными молекулярные методики из биоматериала ТАПБ (опухоли) уже на предоперационном этапе.

Мы провели *ретроспективный анализ* эффективности данного алгоритма при его внедрении для диагностики хирургических заболеваний ЩЖ.

Важным фактом является стресс, которому подвергались пациенты, обратившиеся в период пандемии и в 2022 году. Это связано с социально-экономическими факторами, ограничениями, изменением привычного образа

жизни и обстоятельств, неизвестностью, страхом за здоровье свое и близких людей, потерями различного рода. Этот фактор влияет на мужчин и женщин. В нашем случае пандемия и ряд других событий стимулировали развитие стресса у жителей Крыма, попавших в выборку работы. На раннее и точное выявление ЗНО оказал эффект диагностический алгоритм, а на структуру заболеваемости – пандемия и стрессовое воздействие. Данные представлены в табл. 4-7. Растет процент УО, требующих оперативного вмешательства по подозрению на атипию или с достоверными признаками рака (III-VI категории по Bethesda) от 8,8% в 1 группе пациентов, до 14,1% во 2-й и 16,6% в 3-й. При сравнении цифр по критерию χ^2 значимость изменений высокая, а ошибка р не более 0,0003.

Количество женщин-пациенток больше, чем мужчин в 10-24 раза. Отмечен рост выявления рака ЩЖ у пациентов группы 3: на 2,1% рак в 2022 г. выявляется чаще по сравнению с группой 1 и на 9,8% ($p=0,045$) – по сравнению с группой 2. Это характерно для женщин. У мужчин в более чем 50% случаев поводом к оперативному вмешательству на ЩЖ в 2019 году был рак, а позже появились другие заболевания, снижающие удельный вес рака с 55,6% до 20% ($p\leq 0,001$).

Таблица 4. Результаты цитологии материала аспирационной биопсии узловых образований щитовидной железы в разные периоды

Группа за период времени	Количество обследованных (n)	Распределение (в %) по Bethesda Thyroid Classification					
		I	II	III	IV	V	VI
1 (до)	80	18,8	72,5	0,0	3,8	0,0	5,0
2 (во время)	561	9,4	76,5	3,0	3,6	1,4	6,1
3 (после)	187	5,9	77,5	6,4	4,3	2,7	3,2

Примечания для таблиц 4-7: Группа 1 – до разработки алгоритма, 2 – в период разработки и апробации, 3 – после внедрения в практику и применения.

Таблица 5. Данные о пациентах с заболеваниями щитовидной железы, прошедших оперативное лечение в разные периоды

Группа	Число операций (n)	Средний возраст \pm sd			% рака среди всех нозологий		
		все пациенты	мужчины	женщины	все пациенты	мужчины	женщины
1 (до)	93	51,9 \pm 14,4	48,6 \pm 17,1	52,2 \pm 13,9	38,7	55,6	36,9
2 (во время)	252	51,8 \pm 14,0	52,4 \pm 11,8	51,6 \pm 14,1	31,0	25,0*	30,6
3 (после)	71	51,2 \pm 10,6	41,4 \pm 5,4	51,8 \pm 10,7	40,8**	20,0*	42,4**

Примечание для таблиц 5-7: * - значимо по отношению к группе 1, ** - к группе 2.

Снижение активности оперативного лечения из-за пандемии отмечают большинство центров тиреоидной хирургии в мире [Medas F., 2022], в нашей практике все пациенты при обращении в клинику получили его. Результаты послеоперационного этапа демонстрируют три тенденции за изученный период

($p \leq 0,001$): 1) обратимый рост числа операций по поводу токсического зоба (более чем в 2,5 раза); 2) необратимый рост доли ЗНО (для папиллярного рака на 10,3%; 3) рост встречаемости В-клеточных аденом.

Таблица 6. Частота основных нозологических форм заболеваний щитовидной железы в разные периоды

Группа	Распределение (в %) по нозологическим формам										
	КЗ	АИТ	ТЗ	ТА	ФА	В-кл	ПР	ПРФ	ПРВ	ПРМ	МР
1 (до)	20,4	5,4	10,8	2,2	17,2	5,4	22,6	8,6	2,2	2,2	3,2
2 (во время)	14,3	7,1	26,6*	2,8	15,9	2,4	21,4	6,0	1,2	0	2,4
3 (после)	15,1	5,5	12,3**	0	19,2	8,2**	32,9***	4,1	0	1,4	1,4

Примечания: КЗ – коллоидный зоб (аденоматозный и многоузловой), АИТ – АИТ и тиреоидит Риделя, ТЗ – токсический зоб, ТА – токсическая аденома, ФА – фолликулярная аденома, В-кл – В-клеточная аденома (Гюртлеклеточная, онкоцитарная), ПР – папиллярный рак, ПРФ – фолликулярный вариант ПР, ПРВ – В-клеточный вариант ПР, ПРМ – метастаз ПР, МР – медуллярный рак, низкодифференцированная злокачественная опухоль.

Таблица 7. Результаты гистологии злокачественных новообразований щитовидной железы в разные периоды

Группа относительно пандемии	Средний размер узла (см) $\pm sd$	Данные микроскопии среди всех форм рака (в %)						
		микрокарцинома	tall-cell высокие клетки	инвазия рака в капсулу	прорастание капсулы	мультицентрический рост	метастазы в лимфатически узлы	ангиоинвазия
1 (до)	1,2 \pm 0,6	13,9	8,3	16,7	19,4	25,0	25,0	16,7
2 (во время)	1,0 \pm 0,8	39,5*	5,3	3,9*	11,8	11,8*	15,8*	10,5*
3 (после)	1,4 \pm 0,8	31,0*	0,0	10,3**	6,9*	13,8**	31,0**	3,4*

В постпандемический период выявлено ($p \leq 0,05$): увеличение числа микрокарцином (в 2,5 раза по сравнению с 2019 годом), рост среднего размера узла и числа опухолей на стадии 1, сокращение случаев операций на 3-4 стадии роста и частоты экстра tireоидного распространения опухолей (инвазия и прорастание в капсулу, ангиоинвазия в 2021-2022 годах резко меньше, чем в 2019 году). Это свидетельствует о разнонаправленных тенденциях: прирост пациентов с вновь появившимися новообразованиями и более ранний их визит к врачу в связи с манифестацией заболевания, более качественной диагностикой, но наличие категории пациентов, отложивших визит в клинику в связи с пандемией, а также с изменением заболеваемости в условиях стресса.

Таким образом, ретроспективный анализ показал, что выявлен рост процента УО, требующих оперативного вмешательства, по причине подозрения на атипию или с достоверными признаками. Установлен обратимый рост числа операций по поводу токсического зоба и необратимый рост доли ЗНО (особенно папиллярного рака); увеличение частоты встречаемости В-клеточных аденом; преобладание более дифференцированных форм рака с низким прогнозом риска, а также опухолей на более ранних стадиях роста.

ВЫВОДЫ

1. Иммобилизационный стресс вызывает у крыс реакцию повышенной активации на 14-21 сутки, сопровождающуюся увеличением ЧСС на 8,0-10,3%, снижением ЧДД и SpO₂ на 22,4-23,1% и 10,2-13,3%, соответственно; снижением уровня кортизола в крови в 1,7-5,7 раз и ростом уровня кортикостерона в 2,6-2,9 раз. Комбинированный стресс к 21 дню вызывает стресс-реакцию с более выраженными изменениями ЧСС и ЧДД, снижением SpO₂ до 30,0%, схожей динамикой кортизола и кортикостерона и сохранением выработки T₄ на уровне контрольных цифр, при этом у самцов уровень ТТГ снижается в 2,0-6,0 раз, а у самок имеет тенденцию к росту.

2. Монофакторный стресс задерживает дифференцировку ткани ЩЖ крыс, изменяет индекс пролиферации тироцитов: на 7 сутки он растет у самок (от 2,4% до 11,3%) и не меняется у самцов, а к 21-м суткам снижается до 1,3-1,5%, что сопровождается прогрессивным ростом экспрессии маркера апоптоза. Комбинированный стресс вызывает неравномерную дифференцировку ЩЖ: среди участков незрелой ткани образуются гипертрофические фолликулы, на фоне прогрессивного роста экспрессии FAS-R; у самок объем железы увеличивается на 30,2%.

3. У человека при папиллярной карциноме, токсическом зобе, АИТ и аденоматозном зобе на материале ТАПБ выявлена также разнонаправленная экспрессия маркеров митоза и апоптоза. Кластерный анализ выделил группу пациентов (со значениями 2,3-9,0 для FAS, 0,9-4,1 для Ki-67) с верифицированной папиллярной карциномой и группу – с коллоидным узлом. Предложен расчет Z-индекса, отражающего злокачественный потенциал ткани по формуле $Z = FAS-R / (Ki67+1)$, являющегося дополнительным критерием в сомнительных диагностических случаях.

4. Разработан и апробирован алгоритм комплексной предоперационной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных УО ЩЖ, который включает выполнение ТАПБ узлов под контролем УЗИ, приготовление цитологического препарата, изготовление клеточного блока и исследование экспрессии Ki-67 и FAS-R, вычисление индекса злокачественности, МГИ на наличие мутации V600E гена BRAF.

5. Ретроспективный анализ использования предложенного алгоритма за период 3,5 лет (с января 2019 по июль 2022 года) показал рост процента УО, требующих оперативного вмешательства, с подозрением на атипию или с достоверными признаками рака (III-VI категории по Bethesda) от 8,8% до 16,6%, рост частоты встречаемости папиллярного рака на 10,3% и выявление ЗНО на более ранних стадиях опухолевого роста.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рассчитан Z-индекс, отражающий злокачественный потенциал УО ЩЖ по формуле: $Z = FAS-R / (Ki67+1)$, где FAS-R и Ki-67 – среднее количество иммунопозитивных клеток по 10 полям зрения в препарате. При величине Z-индекса менее 1,1 и отсутствии мутации V600E гена BRAF судят о низком риске злокачественного роста и рекомендуют динамическое наблюдение, при величине Z-индекса более 2,8 или (и) наличии мутации делают заключение о высоком риске, при величине индекса 1,1-2,8 судят о среднем риске и рекомендуют повторную ТАПБ.

2. Предложено из материала ТАПБ готовить мазок и клеточный блок для выполнения ИГХ и МГИ (при показаниях). Это вносит вклад в решение проблемы выбора хирургической тактики, ориентируясь на данные традиционной ТАПБ узлов ЩЖ с применением молекулярных методик.

3. Знание ведущей роли стресса, как инициирующего фактора в развитии тиреоидной патологии, данные о половом диморфизме и функциональных особенностях ЩЖ, обуславливающих различия заболеваемости у мужчин и женщин, могут служить основой для дальнейшего изучения, разработки и внедрения в клиническую практику методов профилактики и комплексной терапии патологии ЩЖ с точки зрения ограничения стрессового воздействия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Геохимические факторы зобообразования / О.Ф. Безруков, Ф.Н. Ильченко, Э.Э. Аблаев, **Д.В. Зима** // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т.20, N 3-2. – С. 23–27.

2. Аблаев, Э.Э. Заболевания щитовидно-паращитовидного комплекса как социальная проблема / Э.Э. Аблаев, О.Ф. Безруков, **Д.В. Зима** // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т.20, N 3-1. – С. 146–151.

3. Безруков, О.Ф. Случай аномального прохождения верхней щитовидной артерии / О.Ф. Безруков, **Д.В. Зима** // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т.20, N 4. – С. 140–143.

4. Эктопия щитовидной железы: механизмы и клинические наблюдения / **Д.В. Зима**, М.А. Алиев, П.В. Кульбаба [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2019. – Т. 9, N 4. – С. 44–49.

5. Поиск маркеров молекулярной диагностики для оптимизации хирургической тактики при заболеваниях щитовидной железы / **Д.В. Зима**, О.Ф. Безруков, Е.Ю. Зяблицкая [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2020. – Т. 23, N 3. – С. 14–20.

6. Структурно-функциональные изменения щитовидной железы белых крыс при моделировании стресса / **Д.В. Зима**, Т.П. Макалиш, Е.А. Непритимова, Е.Ю. Зяблицкая // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2022. – Т. 12. № 4. – с. 23-28.

7. The pathogenetic role of stress in the course of thyroid gland cellular renewal / **D.V. Zima**, O.F. Bezrukov, T.P. Makalish [et al.] // The New Armenian Medical Journal. – 2019. – Vol.13, N 2. – P. 52–58.

8. Алгоритм морфологической диагностики узловых образований щитовидной железы (клинический опыт) / **Д.В. Зима**, О.Ф. Безруков, Е.П. Голубинская [и др.] // Вестник современной клинической медицины. – 2021. – Т. 14, N 4. – С. 73–77.

9. Хабаров, О. Р. Рак щитовидной железы у лиц пожилого и старческого возраста / О. Р. Хабаров, О. Ф. Безруков, **Д.В. Зима** // Актуальные вопросы современной медицины и гериатрии: материалы VII межрегиональной научно-практической гериатрической конференции врачей первичного звена здравоохранения Северо-Кавказского округа и Республики Крым (Симферополь, 25–26 мая 2016 г.). – Ставрополь, 2016. – С. 248–250.

10. УЗИ как критерий показаний к оперативному лечению новообразований щитовидной железы / О.Ф. Безруков, О.Р. Хабаров, Э.Э. Аблаев, **Д.В. Зима** // Альманах института хирургии им. А.В. Вишневского. – 2017. – N 1. – С. 481.

11. Безруков, О. Ф. Алгоритм амбулаторного обследования больного с заболеванием щитовидной железы / О.Ф. Безруков, Э.Э. Аблаев, **Д.В. Зима** // Science, Technology and Life – 2017 // Сборник трудов IV Международной научной конференции (Чехия, Карловы Вары – Россия, Москва, 24–25 декабря 2017 г.). – Москва: Международный центр научно-исследовательских проектов, 2018. – С. 449–459.

12. Безруков, О.Ф. Критерии отбора больных для оперативного лечения при узлообразовании в щитовидной железе / О.Ф. Безруков, **Д.В. Зима**, О.Р. Хабаров // Вопросы науки и практики – 2018. 1 сессия : сборник статей III Международной научной конференции (Москва, 18 февраля 2018 г.). – Москва: Общество с ограниченной ответственностью "Русальянс "Сова", 2018. – С. 224–228.

13. The indicators of cardiorespiratory system in rats in conditions of chronic hypokinetic stress on the background of normal and restricted nutrition / E.A. Birukova, **D.V. Zima**, O.F. Bezrukov [et al.] // Innovations in lifesciences. – 2019. – Vol.7. – P. 33–38.

14. Морфологическое исследование щитовидной железы (разнообразие методов и их интерпретация) / Е.Ю. Зяблицкая, О.В. Степанова, **Д.В. Зима**, Т.П. Макалиш // Весенние анатомические чтения : сборник статей научно-практической конференции, посвященной памяти доцента В. М. Левченко (Гродно, 31 мая 2019 г.). – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2019. – С. 43–48.

15. Изменение показателей кардиореспираторной системы крыс в условиях хронического гипокINETического стресса на фоне нормального и ограниченного питания / Е.А. Бирюкова, **Д.В. Зима**, Е.Ю. Зяблицкая [и др.] // Innovations in life sciences : сборник материалов Международного симпозиума. (Белгород, 10–11 октября 2019 г.). – Белгород : ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2019. – С. 35–36.

16. Клеточные и молекулярные изменения в ткани щитовидной железы при стрессе, лежащие в основе ее злокачественной трансформации / Е.Ю. Зяблицкая, **Д.В. Зима**, Т.П. Макалиш [и др.] // Морфология. – 2019. – Т. 156, N 6. – С. 97–98.

17. Половые отличия развития патологии щитовидной железы в ответ на стресс: экспериментальное исследование / **Д.В. Зима**, Е.Ю. Зяблицкая, О.Ф. Безруков [и др.] // Эксперимент в хирургии и онкологии : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции (Курск, 14–16 сентября 2022 г.). – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2022. – С. 34–36.

18. Патент № 2783304 Российская Федерация, МПК G01N 33/574 (2006.01), G01N 33/68 (2006.01), G01N 33/52 (2006.01), C12Q 1/6886 (2018.01), A61B 8/08 (2006.01). Способ дооперационной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных узловых образований щитовидной железы: №2021136832: заявл. 13.12.2021: опубл. 11.11.2022 / **Зима Д.В.**, Безруков О.Ф., Зяблицкая Е.Ю., Голубинская Е.П., Макалиш Т.П., Максимова П.Е., Непритимова Е.А. – 11 с. : ил.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АИТ – аутоиммунный тиреоидит
 АТ-ТПО – антитела к тиреопероксидазе
 АТ-ТГ – антитела к ТГ
 ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
 ЗНО – злокачественное новообразование
 ИГХ – иммуногистохимия
 ИФА – иммуноферментный анализ
 ИЦХ – иммуноцитохимия
 МГИ – молекулярно-генетическое исследование
 МКБ – международная классификация болезней
 SpO₂ – сатурация
 ТАПБ – тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия
 ТТГ – тиреотропный гормон
 Т₃ – трийодтиронин
 Т₄ – тетраiodтиронин
 УЗИ – ультразвуковое исследование
 УО – узловое образование
 ЧДД – частота дыхательных движений
 ЧСС – частота сердечных сокращений