

<https://doi.org/10.17116/patol20177963-7>

## Молекулярно-биологические маркеры пролиферации, апоптоза и ангиогенеза при диффузном токсическом зобе

С.В. ДОРА<sup>1</sup>, М.Г. РЫБАКОВА<sup>1</sup>, Д.А. АЛЕКСЕЕВ<sup>1</sup>, Ю.С. КРЫЛОВА<sup>2,3</sup>, А.Р. ВОЛКОВА<sup>1</sup>, Л.А. БЕЛЯКОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Патогенез диффузного токсического зоба до конца не изучен. В литературе все чаще обсуждаются вопросы, связанные с процессами, происходящими в самой щитовидной железе — пролиферацией, апоптозом, ангиогенезом. **Цель** исследования — изучение клинико-лабораторных показателей и экспрессии белков Ki-67, Bcl-2, Bax, Fas-L, CD34, VEGF, FGF при различном послеоперационном исходе у больных, оперированных по поводу диффузного токсического зоба. **Материал и методы.** В исследование включены 24 женщины, которым выполнена операция по методике Е.С. Драчинской. Проводились иммуногистохимические реакции по стандартному протоколу. Определялась экспрессия белков Ki-67, Bcl-2, Bax, Fas-L, CD34, VEGF, ангиопоэтина, FGF. **Результаты.** У больных с послеоперационным тиреотоксикозом установлена значимо большая экспрессия: антиапоптотического белка Bcl-2, маркера пролиферации Ki-67, сосудистых факторов (FGF, VEGF) и CD34. **Заключение.** Выявлено, что при относительной площади экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 более 2,19 или белка пролиферации Ki-67 более 1,059 прогнозируется развитие послеоперационного тиреотоксикоза с точностью более 85%.

*Ключевые слова:* диффузный токсический зоб, пролиферация тиреоцитов, апоптоз, ангиогенез.

## Molecular biological markers for proliferation, apoptosis, and angiogenesis in diffuse toxic goiter

S.V. DORA<sup>1</sup>, M.G. RYBAKOVA<sup>1</sup>, D.A. ALEKSEEV<sup>1</sup>, YU.S. KRYLOVA<sup>2,3</sup>, A.R. VOLKOVA<sup>1</sup>, L.A. BELYAKOVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Acad. I.P. Pavlov Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; <sup>2</sup>D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology, Saint Petersburg, Russia; <sup>3</sup>I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia

The pathogenesis of diffuse toxic goiter has not yet been fully understood. The literature increasingly commonly focuses on the issues related to the processes occurring in the thyroid gland itself: proliferation, apoptosis, and angiogenesis. **Objective:** to investigate clinical and laboratory parameters, as well as the expression of Ki-67, Bcl-2, Bax, Fas-L, CD34, VEGF, and FGF proteins in various postoperative outcomes of patients operated on for diffuse toxic goiter. **Subjects and methods.** The investigation enrolled 24 women who had undergone surgery using the technique described by E.S. Drachinskaya. Immunohistochemical tests were carried out according to the standard protocol. The expression of Ki-67, Bcl-2, Bax, Fas-L, CD 34, VEGF, angiopoietin, and FGF proteins was determined. **Results.** The patients with postoperative thyrotoxicosis were ascertained to have a significantly greater expression of anti-apoptotic protein Bcl-2, proliferation marker Ki-67, vascular factors (FGF, VEGF), and CD 34. Conclusion. The relative expression area of the anti-apoptotic protein Bcl-2 of more than 2.19 or the proliferation protein Ki-67 of more than 1.059 was found to predict the development of postoperative thyrotoxicosis with an accuracy of higher than 85%.

*Keywords:* diffuse toxic goiter, thyroid cell proliferation, apoptosis, angiogenesis.

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) — аутоиммунное заболевание, в основе которого лежит продукция аутоантител к собственному рецептору тиреотропного гормона (ТТГ) [1]. До настоящего времени остается неясным, какие факторы влияют на клиническое течение заболевания и соответственно определяют возможность прогнозирования консервативного и оперативного лечения. В последние годы в литературе обсуждаются вопросы, связанные непосредственно как с изучением состояния иммунной системы при ДТЗ, так и с процессами, происходящи-

ми в щитовидной железе (ЩЖ), — пролиферацией, апоптозом, ангиогенезом.

Ядерный белок Ki-67 широко используется в качестве маркера пролиферации [2, 3], в том числе и тиреоцитов. Имеются данные, что при ДТЗ по сравнению с диффузным токсическим зобом (ДУНЗ) экспрессия Ki-67 в тиреоцитах значимо выше [4].

Увеличение количества тиреоцитов при ДТЗ может быть связано не только с повышенной пролиферацией, но

и с замедлением апоптоза клеток тиреоидного эпителия. Апоптоз может быть запущен двумя основными механизмами. Внешний путь активации апоптоза связан с семейством рецепторов смерти, в том числе с Fas/FasL-взаимодействием. Внутренний путь связан с ответом на цитотоксические стимулы или со снижением ростовых факторов и трофических сигналов, поступающих в клетку в виде цитокинов [5, 6]. Оба пути приводят к активации инициаторных каспаз (каспаз 8 и 10 в первом случае и каспазы 9 во втором).

В литературе имеются работы, в которых показано, что при ДТЗ повышается экспрессия антиапоптотических молекул, таких как Bcl-2, и снижается экспрессия Fas, что может способствовать подавлению апоптоза и усилению пролиферации тиреоцитов [7–11]. Изучаются связи между экспрессией различных белков ЩЖ и иммунологическими показателями. В работе А. Bossowski и соавт. [12] выявлена статистически значимая корреляция между экспрессией Bcl-2 в тиреоцитах у больных ДТЗ и уровнем антител к рецептору ТТГ ( $r=0,47$ ;  $p<0,03$ ).

В настоящее время изучается экспрессия ангиогенных факторов в ЩЖ у больных ДТЗ. Одним из важнейших ангиогенных факторов является сосудистый фактор роста (VEGF). Работы по изучению VEGF у больных ДТЗ неоднозначны. Так, по данным А. Jebreel и соавт. [13], различий между плотностью стенок сосудов и патологией ЩЖ не выявлено. При сравнении VEGF у больных с аутоиммунной патологией ЩЖ и заболеваниями с автономной дисфункцией было показано, что экспрессия VEGF при аутоиммунных заболеваниях ниже. Р. Malkomes и соавт. [14] показали противоположные результаты — значимую экспрессию VEGF и его рецепторов (VEGF-R1 и VEGF-R2) в ткани ЩЖ у оперированных больных ДТЗ. Авторы делают вывод, что выявленные изменения могут способствовать пролиферации тиреоцитов и соответственно развитию и рецидивированию зоба.

Фактор роста фибробластов (FGF) участвует в регуляции ангиогенеза и имеет множество функций, включая пролиферацию и хемотаксис из нескольких типов клеток, включая фибробласты, эндотелиальные клетки и гладкомышечные клетки [15]. В 1998 г. N. Emoto и соавт. [16] показали высокий уровень экспрессии FGF при ДТЗ. По результатам экспериментальных работ в других тканях существует взаимозависимость уровня FGF и VEGF. FGF-2 индуцирует экспрессию генов *VEGF* на эндотелиальных клетках [17, 18]. Вполне вероятно, что FGF может выступать в качестве ангиогенного фактора и в ЩЖ при непосредственном воздействии VEGF и индуцировать развитие зоба.

Таким образом, в основе патогенеза ДТЗ лежит несколько неразрывно связанных между собой процессов.

Целью настоящего исследования явилось изучение клинико-лабораторных показателей, а также экспрессии белков Ki-67, Bcl-2, Вах, Fas-L, CD34, VEGF, FGF при различном послеоперационном исходе у больных, оперированных по поводу ДТЗ.

## Материал и методы

В исследование были включены 24 женщины, которым в связи с отсутствием ремиссии ДТЗ более чем 2 года от момента включения в исследование была выполнена операция по методике Е.С. Драчинской. В зависимости от уровня ТТГ все пациенты были разделены на три группы:

1-я группа — после операции сохранялся стойкий эутиреоз; 2-я группа — развился гипотиреоз; 3-я группа — развился тиреотоксикоз. Оценивали показатели лабораторных и инструментальных методов исследования и их динамика в процессе лечения. Уровни ТТГ, св.Т<sub>4</sub>, св.Т<sub>3</sub>, содержание в сыворотке крови антител к рецептору ТТГ и антител к ТПО оценивали иммуноферментным методом. Объем ЩЖ рассчитывали по данным ультразвукового исследования (УЗИ).

У 24 больных ДТЗ сделаны серийные срезы ЩЖ толщиной 5 мкм. Проводили иммуногистохимические реакции по стандартному протоколу. Для визуализации использовали компоненты системы NovoLink Polymer Detection System (500 test) фирмы «Novocastra» (Великобритания). Были использованы первичные антитела (Ki-67 клон М1В-1, «ДАКО», Дания; Вах клон SP47, «Спринт», США; Bcl-2 клон 124, «ДАКО», Дания; Fas-L клон 5D1, «Новокастра», Великобритания; VEGF «Новокастра», Великобритания; FGF «Новокастра», Великобритания). Результаты реакции оценивали морфометрически. Подсчет объектов в иммуногистохимических препаратах осуществляли с использованием светового микроскопа, объектив  $\times 40$ , бинокулярная насадка  $\times 1,5$  и окуляры  $\times 10$ . При помощи цифровой камеры оптическое изображение переводилось в цифровое и далее морфометрия выполнялась с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений ВидеоТест — Морфология 5.2. Экспрессию исследуемого маркера в клеточной популяции оценивали по относительной площади экспрессии, которую рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения, и выражали в процентах. Оценка экспрессии CD34 в сосудах проводилась методом визуального подсчета объектов по Г.Г. Автандилову.

Для объективной оценки функциональной активности ЩЖ интраоперационно были взяты образцы ткани ЩЖ; проанализировано 245 гистологических препаратов (на пациента — не менее 5 из каждой доли, включая узловые образования). Использовали морфометрические количественные показатели, предложенные О.К. Хмельницким [19]: высота тиреоцитов, площадь фолликулов, фолликулярно-коллоидный индекс.

Статистический анализ результатов исследования выполнен с помощью программы Statistica v10.

## Результаты

Средний возраст пациентов ДТЗ составил  $45,71 \pm 2,56$  года. Морфометрическая и лабораторная характеристика больных представлена в табл. 1.

При гистологическом исследовании морфологическая картина ЩЖ отличалась неоднородностью и на одном гистологическом срезе сочетались морфологические признаки повышенной и пониженной функциональной активности (мозаичность строения). Как видно из представленных данных, площадь фолликулов в 3-й группе (пациенты с послеоперационным тиреотоксикозом) была достоверно меньше ( $6891,36 \pm 671,35$  мкм), чем во 2-й группе (пациенты с послеоперационным гипотиреозом) ( $11432,24 \pm 1244,57$  мкм),  $p=0,007$ . При оценке лабораторных показателей исходно уровень антител к рецептору ТТГ крови был достоверно выше ( $p=0,002$ ) в группе с рецидивом тиреотоксикоза после операции, а антител к

**Таблица 1. Морфометрические и лабораторные показатели у обследованных пациентов диффузным токсическим зобом**

Показатель	1-я группа (n=8)	2-я группа (n=8)	3-я группа (n=8)	p
Площадь фолликулов, мкм	8830,46±902,43	11432,24±1244,57*	6891,36±671,35*	0,007
Высота тиреоцитов, мкм	5,26±0,24	4,40±0,37*	5,97±0,53*	0,083
Антитела к рецептору ТТГ, мМЕ/л	4,25±2,46	3,25±0,62*	17,62±4,43*	0,002
Антитела к ТПО, МЕ/мл	205,62±115,99	847,5±172,42*	117,62±55,25*	0,005
Объем ЩЖ перед операцией, см <sup>3</sup>	48,81±5,69	41,37±5,90	73,29±19,11	нд

**Таблица 2. Иммуногистохимические показатели щитовидной железы у обследованных пациентов диффузным токсическим зобом**

Показатель	1-я группа (n=8)	2-я группа (n=8)	3-я группа (n=8)	p
Vcl-2, %	1,36±0,25	1,24±0,29*	3,13±0,29*	0,001
Vax, %	1,12±0,15	0,77±0,28	1,46±0,40	нд
Vcl-2/Vax, %	1,20±0,10	1,09±0,23*	7,68±3,80*	0,007
Ki-67, %	0,07±0,06	0,31±0,11*	2,04±0,40*	<0,0001
Fas-L, %	1,08±0,31	1,88±0,19*	0,82±0,12*	0,002
CD34	7,75±0,90	9,00±0,42*	12,00±0,71*	0,005
VEGF, %	—	22,12±1,67	35,62±1,83	0,001
FGF, %	—	0,11±0,01*	0,16±0,01*	0,01

**Таблица 3. Корреляционная зависимость между клиническими, лабораторными, иммуногистохимическими, морфофункциональными показателями у оперированных больных диффузным токсическим зобом**

Пара маркеров	Больные ДТЗ	
	R	p
Антитела к рецептору ТТГ—объем ЩЖ	0,561	0,004
Антитела к рецептору ТТГ—площадь фолликулов	-0,597	0,002
Объем ЩЖ—высота тиреоцитов	0,527	0,008
Vcl-2—антитела к рецептору ТТГ	0,659	<0,0001
Vcl-2—антитела к ТПО	-0,423	0,04
Vcl-2—Ki-67	0,751	<0,0001
Ki-67—антитела к ТПО	-0,419	0,04
FGF—антитела к рецептору ТТГ	0,63	0,001
VEGF—антитела к рецептору ТТГ	0,739	0,002
FGF—объем ЩЖ	0,74	0,002
FGF—Ki-67	0,603	0,01

ТПО в группе больных с послеоперационным гипотиреозом ( $p=0,005$ ).

При сопоставлении иммуногистохимических показателей во 2-й и 3-й группах установлена значимо большая экспрессия у пациентов с послеоперационным тиреотоксикозом: Vcl-2 ( $p=0,001$ ), Ki-67 ( $p\leq 0,0001$ ), CD 34 ( $p=0,005$ ), FGF ( $p=0,001$ ), VEGF ( $p=0,001$ ) и соотношения экспрессии Vcl-2/Vax ( $p=0,007$ ). Анализ Fas-L показал, что экспрессия была выше у больных с послеоперационным гипотиреозом ( $p=0,002$ ) (табл. 2).

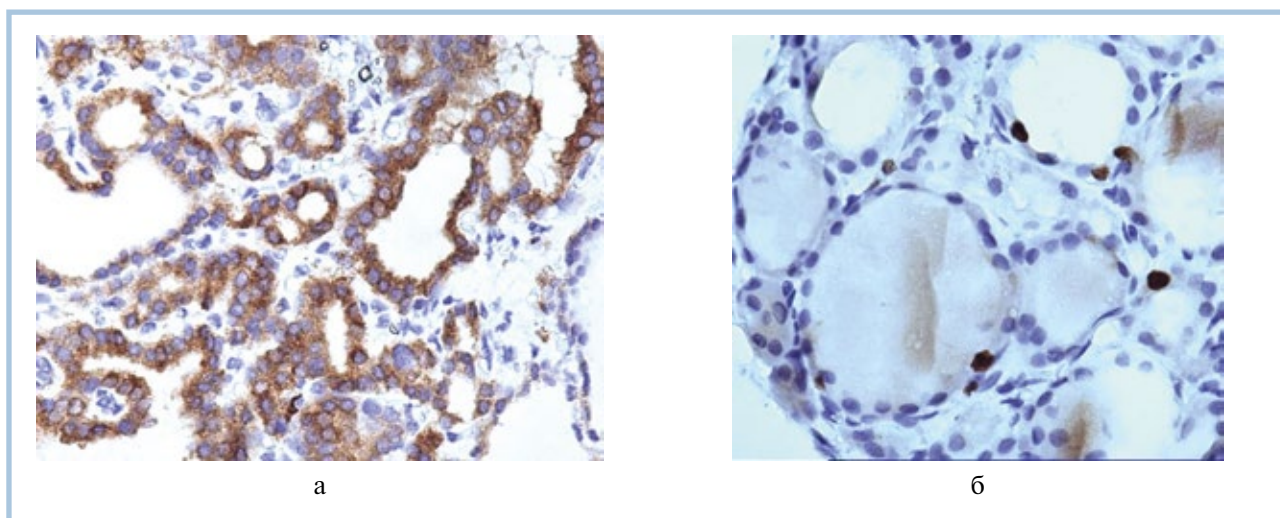
Был проведен корреляционный анализ между изучаемыми показателями. Выявлена значимая корреляционная связь между уровнем антител к рецептору ТТГ и объемом ЩЖ, к рецептору ТТГ и площадью фолликулов, объемом ЩЖ и высотой тиреоцитов, Vcl-2 и уровнем антител к рецептору ТТГ, Vcl-2 и исходным уровнем антител к ТПО, Vcl-2 и Ki-67, Ki-67 и уровнем антител к ТПО, FGF и уровнем антител к рецептору ТТГ, VEGF и уровнем антител к рецептору ТТГ, FGF и объемом ЩЖ, FGF и Ki-67 (табл. 3).

Корреляционный анализ подтверждает тесную связь между иммунологическими, структурными и клиническими показателями.

Для выявления маркера, определяющего послеоперационный исход у больных ДТЗ, была выполнена процедура пошагового дискриминантного анализа. При проведении анализа между 2-й и 3-й группами главной дискриминантной переменной оказался антиапоптотический белок Vcl-2, при его значении более 2,19 вероятность послеоперационного тиреотоксикоза составляет 87,5% (см. рисунок, а). Кроме того, главной дискриминантной переменной является белок пролиферации Ki-67, при его значении более 1,059 вероятность послеоперационного тиреотоксикоза составляет 87,5% (см. рисунок, б).

## Заключение

Понимание механизмов рецидивирующего течения ДТЗ важно не только с теоретической точки зрения, но имеет большое практическое значение. В настоящее вре-



Экспрессии белка Vcl-2 (а) и Ki-67 (б) в щитовидной железе пациента с послеоперационным тиреотоксикозом. ПАП-метод с использованием антител к Vcl-2 и Ki-67.  $\times 40$ .

мя в связи с невозможностью прогнозирования послеоперационного исхода у больных ДТЗ выполняется экстирпация ЩЖ и пациенты пожизненно принимают гормональную заместительную терапию. Выявленные нами особенности морфогенеза, ангиогенеза и экспрессии белков апоптоза и пролиферации позволяют выделить группу больных ДТЗ с высоким риском развития послеоперационного тиреотоксикоза. По результатам нашего исследования у больных ДТЗ с послеоперационным тиреотоксикозом была установлена значимо большая экспрессия: антиапоптотического белка Vcl-2, маркера пролиферации Ki-67, сосудистых факторов роста (FGF, VEGF) и CD34. Кроме того, выявлено, что при относительной площади экспрессии антиапоптотического белка Vcl-2 более 2,19 или белка пролиферации Ki-67 более 1,059 прогнозируется развитие послеоперационного тиреотоксикоза с вероятностью 87,5%. Выявленная положительная корреляционная связь антител к рецептору ТТГ с объемом ЩЖ и с антиапоптотическим белком Vcl-2 свидетельствует о пролиферативном потенциале ЩЖ на фоне высокого уровня антител к рецептору ТТГ у больных ДТЗ.

Имеются работы, в которых показано, что VEGF может секретироваться непосредственно фолликулярными клетками ЩЖ, вероятно, в ответ на стимуляцию рецептора ТТГ [14, 20]. В нашей работе выявлена сильная корреляционная связь между сосудистыми факторами роста (VEGF, FGF) и уровнем антител к рецептору ТТГ. Можно предположить, что чем активнее стимуляция рецептора ТТГ, тем более выражен синтез сосудистых факторов роста. Вероятно усиление ангиогенеза в свою очередь приводит к еще большей пролиферации тиреоцитов и утяжелению течения ДТЗ, что подтверждается значимыми корреляционными связями между объемом ЩЖ, белком пролиферации Ki-67 и FGF.

Концепция и дизайн исследования: С.В.Д., М.Г.Р.  
Сбор и обработка материала: С.В.Д., Д.А.А., Ю.С.К.  
Статистическая обработка: С.В.Д., Л.А.Б.  
Написание текста: С.В.Д., А.Р.В.  
Редактирование: М.Г.Р.  
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Кочергина И.И. Диффузный токсический зоб. *Терапия*. 2015;4(4):6-11. [Kochergina II. Diffuse toxic goiter. *Terapiya*. 2015;4(4):6-11. (In Russ.)].
2. Mazeto GM, Oliveira ML, Padovani CR, Montenegro MR, Aragon FF, Schmitt FC. Thyroid cell proliferation in Graves' disease. Use of MIB-1 monoclonal antibody. *Acta Cytol*. 2004;48(1):57-63. <https://doi.org/10.1159/000326284>
3. Кандрор В.И., Крайнова И.В., Крюкова ИВ., Мкртумова Н.А. К механизмам пролиферации и гибели тиреоцитов при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2006;9-10:56-60. [Kandrор VI, Krainova IV, Kryukova IV., Mkrтumova NA. On the mechanisms of thyrocyte proliferation and death in autoimmune thyroid diseases. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk*. 2006;(9-10):56-60. (In Russ.)].
4. Domoslawski P, Podhorska-Okolow M, Pula B, Lukieniczuk T, Dziegiel P. Expression of estrogen and progesterone receptors and Ki-67 antigen in Graves' disease and nodular goiter. *Folia Histochem Cytobiol*. 2013;51(2):135-140. <https://doi.org/10.5603/FHC.2013.0021>
5. Варга О.А., Рябков В.А. Апоптоз: понятие, механизмы реализации, значение. *Экология человека*. 2006;7:28-32. [Varga OA, Ryabkov VA. Apoptosis: concept, mechanisms of realization, significance. *Ekologiya cheloveka*. 2006;(7):28-32. (In Russ.)].



<https://doi.org/10.5222>

6. Цыган В.Н., Иванов А.М., Бубнов В.А., Никитин В.Ю., Цыган Н.В., Криворучко А.Б. *Введение в методологию исследования апоптоза при онкологических заболеваниях*. СПб.: ВМедА; 2010. [Tsygan VN, Ivanov AM, Bubnov VA, Nikitin VYu, Tsygan NV, Krivoruchko AB. *Introduction to the methodology of the study of apoptosis in cancer diseases*. St. Petersburg: VMEDA; 2010. (In Russ.)].
7. Chen S, Fazle Akbar SM, Zhen Z, Luo Y, Deng L, Huang H, Chen L, Li W. Analysis of the expression of Fas, FasL and Bcl-2 in the pathogenesis of autoimmune thyroid disorders. *Cell Mol Immunol*. 2004;1(3):224-228.
8. Hiromatsu Y, Kaku H, Mukai T, Miyake I, Fukutani T, Koga M, Shoji S, Toda S, Koike N. Immunohistochemical analysis of bcl-2, Bax and Bak expression in thyroid glands from patients with Graves' disease. *Endocr J*. 2004;51(4):399-405. <https://doi.org/10.1507/endocrj.51.399>
9. Labat-Moleur F, Chabre O, Guillermet C, Chaffanjon P, Blumet-Rondeu F, Bauchet A, Franc B, Brambilla E, Bachelot I, Dumont JE, Negoescu A. Graves-Basedow disease goiter: a model of Bax-Bcl2 regulated apoptosis. *Thyroid*. 1999;9(5):483-492. <https://doi.org/10.1089/thy.1999.9.483>
10. Morshed SA, Latif R, Davies TF. Delineating the autoimmune mechanisms in Graves' disease. *Immunol Res*. 2012;54(1-3):191-203. <https://doi.org/10.1007>
11. Sera N, Kawakami A, Nakashima T, Nakamura H, Imaizumi M, Koji T, Abe Y, Usa T, Tominaga T, Ejima E, Ashizawa K, Yokoyama N, Ishikawa N, Ito K, Eguchi K. Fas/FasL mediated apoptosis of thyrocytes in Graves' disease. *Clin Exp Immunol*. 2001;124(2):197-207. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2001.01476.x>
12. Bossowski A, Czarnocka B, Bardadin K, Urban M, Niedziela M, Dadan J. Expression of Bcl-2 family proteins in thyrocytes from young patients with immune and nonimmune thyroid diseases. *Horm Res*. 2008;70(3):155-156. <https://doi.org/10.1159/000145017>
13. Jebreel A, England J, Bedford K, Murphy J, Karsai L, Atkin S. Vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptors expression and microvascular density in benign and malignant thyroid diseases. *Int J Exp Pathol*. 2007;88(4):271-277. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2007.00533.x>
14. Malkomes P, Oppermann E, Bechstein WO, Holzer K. Vascular endothelial growth factor--marker for proliferation in thyroid diseases? *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013;121(1):6-13. <https://doi.org/10.1055>
15. Itoh N. The Fgf families in humans, mice, and zebrafish: their evolutionary processes and roles in development, metabolism, and disease. *Biol Pharm Bull*. 2007;30(10):1819-1825. <https://doi.org/10.1248/bpb.30.1819>
16. Emoto N, Onose H, Sugihara H, Minami S, Shimizu K, Wakabayashi I. Fibroblast growth factor-2 free from extracellular matrix is increased in papillary thyroid carcinomas and Graves' thyroids. *Thyroid*. 1998;8(6):491-497. <https://doi.org/10.1089/thy.1998.8.491>
17. Eichmann A, Corbel C, Jaffredo T, Bryant C, Joukov V, Kumar V, Alitalo K, le Douarin NM. Avian VEGF-C: cloning, embryonic expression pattern and stimulation of the differentiation of VEGFR2-expressing endothelial cell precursors. *Development*. 1998;125(4):743-52.
18. Seghezzi G, Patel S, Ren CJ, Gualandris A, Pintucci G, Robbins ES, Shapiro RL, Galloway AC, Rifkin DB, Mignatti P. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries: an autocrine mechanism contributing to angiogenesis. *J Cell Biol*. 1998;141(7):1659-1673. <https://doi.org/10.1083/jcb.141.7.1659>
19. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. СПб.: СОТИС; 2002. [Khmel'nitskii OK. *Cytological and histological diagnosis of thyroid diseases*. St. Petersburg: Sotis; 2002. (In Russ.)].
20. Дедов И.И., Трошина Е.А., Мазурина Н.В. Молекулярно-генетические аспекты новообразований щитовидной железы. *Проблемы эндокринологии*. 2000;46(2):22-30. [Dedov II, Troshina EA, Mazurina NV. Molecular-genetic aspects of thyroid neoplasms. *Problemy endokrinologii*. 2000;46(2):22-30. (In Russ.)].

Поступила 29.05.2017