**АНОТАЦІЯ**

*Гладких Н.О.* Підвищення ефективності преаналітичного етапу цитологічних технологій у діагностиці новоутворень щитоподібної залози. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 224 «Технології медичної діагностики та лікування» спеціалізація «Клінічна лабораторна діагностика» (22 – Охорона здоров’я). – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

Захист дисертації відбудеться в Харківському національному медичному університеті, МОЗ України, Харків, 2021.

Нормативно-правові документи, стандартні методи обстеження, спрямовані на діагностику новоутворень щитоподібної залози (ЩЗ), що з часом оновлюються, сприяють зазначеному процесу завдяки розробці та впровадженню новітніх технологій. Разом з тим проблема відсутності обґрунтованих комбінацій методів лабораторного дослідження на етапі передопераційного періоду з одночасним зростанням кількості зареєстрованих хворих на рак щитоподібної залози (РЩЗ) – на 21,7% з 2016 до 2020 року залишається актуальною.

Розв'язання проблемного питання потребує вдосконалення лабораторної діагностики, що з позиції доказовості вимагає залучення комплексного підходу з використанням нових критеріїв як загальновідомих, поширених в клінічній практиці методів, так і нових сучасних маркерів (імуноцитохімічних, імунохімічних). Важливим при цьому є запровадження діагностичного комплексу забезпечення моніторингу з метою оцінки прогнозу розвитку патологічного процесу ЩЗ, що дає можливість клініцисту обрати адекватну тактику ведення пацієнтів з обґрунтуванням оптимального строку  оперативного лікування.

Вищезазначене обумовило вивчення окресленого питання та обґрунтувало мету дослідження.

Метою дослідження є покращення ефективності лабораторного скринінгу новоутворень ЩЗ на основі запропонованого вдосконаленого комплексного підходу, за результатами моніторингу якого можна обґрунтувати тактику ведення зазначеного контингенту.

Для розв'язання поставлених завдань використовувались наступні методи: загальноклінічні, імунохімічні, цитологічні, імуноцитохімічні, морфологічні, ультразвукове дослідження, соціологічні , статистичні. В роботі застосовані описове моделювання, структурно-логічний, бібліосемантичний та компаративний аналіз.

База дослідження – консультативна поліклініка КЗ «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І.І. Мечникова». Період роботи охоплював 2017 – 2021 рр.

Критерії виключення з дослідження: вік — молодше 18 років; вагітні жінки; наявність супутніх онкологічних захворювань; регулярне вживання пацієнтом препаратів біотину.

У дослідження включено за результатами ультразвукового методу 60 пацієнтів у віці від 21 до 83 років (середній вік 54,6 ± 1,9 років). У випадках виявлення TI-RADS-4 (Thyroid image reporting and data system) категорії (проміжний ризик злоякісності вузла ЩЗ) пацієнтам була надалі виконана тонкоголкова аспіраційна пункційна біопсія (ТАПБ). Пацієнтів було розподілено на три групи (згідно з класифікацією Bethesda System – BSRTC).  До першої групи (BSRTC II) увійшли 18 пацієнтів із доброякісним ураженням, з яких 88,9% склали жінки та 11,1% чоловіки; середній вік дорівнював 46,6 ± 3,7 роки. До другої (BSRTC V) – було включено 20 пацієнтів жіночої статі з середнім віком 58,7 ± 3,1 роки з підозрою на злоякісну пухлину. Третю групу (BSRTC VI) склали  22 пацієнти зі злоякісною пухлиною, з яких 90.9% — жінки та 9.1% — чоловіки; середній вік — 57,4 ± 2,4 роки.

Дизайн дослідження передбачав послідовне виконання декількох взаємопов’язаних проспективних етапів діагностики.

 Перший етап включав застосування анкетно-опитувального методу та проведення ультразвукового дослідження. Другий – передбачав аналіз загальноклінічних та імунохімічних досліджень. На третьому етапі – проведення цитологічних та імуноцитохімічних досліджень.

Виділені групи вірогідно не відрізнялись між собою за статтю пацієнтів (χ2=2,21), індексом маси тіла (F=0,25, p>0,05), площею новоутворення за даними УЗД (Н=1,92, Н=2,11, Н=2,30 мм2) відповідно за групами. Пацієнти 1-ї групи були молодші інших за віковим складом. Слід зазначити, що понад половини пацієнтів у групах спостереження мали надлишкову масу тіла або ожиріння І-II ступеня – 55,6%; 50,0%; 72,7%, відповідно в 1-ї, 2-ї та 3-ї групи. Порівняльний аналіз відповідних показників, які увійшли в програму дослідження, не виявив вірогідної різниці між пацієнтами з надлишковою та нормальною масою тіла, що обумовило надалі не враховувати дану ознаку.

До факторів ризику згідно з запропонованою анкетою були включені наступні критерії: генетична схильність; праця в шкідливих умовах ( наявність пестицидів, промислових аерозолів, хімічних речовин та їх сполук, галогенів); тютюнопаління; перебування в зонах підвищеного радіаційного опромінення; лікування радіоактивним йодом в анамнезі.

За ROC-аналізом, прогностично важливими у виявлені серед них були лише наступні в 3-й групі: тютюнопаління; праця в шкідливих умовах (вплив пестицидів, промислових аерозолів, хімічних речовин та їх сполук, галогенів); тенденція генетичної схильності до патології щитоподібної залози.

За результатами показників загальноклінічного аналізу крові у хворих із новоутвореннями ЩЗ встановлені вірогідні відмінності в групах між рівнями формених елементів крові за розширеним їх складом (середній вміст гемоглобіну в еритроциті, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, тромбокрит, середній об'єм тромбоцитів, відсоток великих тромбоцитів). Виявлено, що для пацієнтів першої групи з доброякісним процесом характерне вірогідне зниження загального рівня гемоглобіну (103,3±7,1 г/л), його середнього вмісту (26,4±1,8 пг) і концентрації в еритроциті (296,2±7,4 г/л) відносно 2-ї (128,2 ± 5,0 г/л; 30,6 ± 0,6 пг; 315,7 ± 2,7 г/л) та третьої  групи досліджень (122,9 ± 4,0 г/л; 30,0 ± 0,6 пг; 311,9 ± 2,5 г/л) відповідно. Також у пацієнтів 1-ї групи вірогідно частіше мала місце мікроцитарна анемія. Для 2-ї групи характерним є вірогідне зниження загальної кількості тромбоцитів (220,4±39,5х109/л) та показника тромбокриту (0,25 ±0,04 %), а також підвищення середнього об’єму тромбоцитів (11,23±0,28 фл) та відсотка великих тромбоцитів (35±2,5 %) у порівнянні з 1-ю групою. Тоді, як для 1 групи – 387,7 ± 61,9 х109/л; 10,33 ± 0,19 фл; 0,39 ± 0,06 %; 28,2 ± 1,7 % та 2 групи – 299,9 ± 21,05х109/л; 0,69 ± 0,23 фл; 31 ± 0,02 %; 0,4 ± 1,9%.  Показники крові при злоякісному процесі у ЩЗ (3 група) відрізняються вірогідно більшою кількістю лейкоцитів (9,55±1,51х109/л) та часткою еозинофілів (4,33±1,51 %) і базофілів (0,68±0,12 %) у порівнянні з 1 групою (8,32 ± 0,62х109/л; 2,09 ±0.6 %; 0,64 ±0,17 %) та 2 групою (7,06±0,72х109; 1,88±0,42%;  0,39±0,07 %) відповідно.

Зазначимо, що перераховані показники у розрізі усіх параметрів перебувають в межах референтних значень. Проте, за результатами статистичного опрацювання (на основі ROC-аналізу) стало можливим обґрунтування нових порогових їх величин, що забезпечують диференційований підхід до визначення характеру процесу.

Оцінка тиреоїдного статусу пацієнтів з новоутвореннями ЩЗ показала наявність прямого взаємозв’язку між ступенем патологічного процесу в ЩЗ відносно рівнів тиреотропного гормону (ТТГ) та значень додаткових діагностичних індексів, а саме, тиреоїдного індексу (ТІ) та індексу прогресивної периферичної конверсії (ІпПК).

Так, попри те, що середній рівень ТТГ у сироватці крові пацієнтів всіх груп не виходив за межі референтного інтервалу, він мав свою диференціацію. При доброякісному характері утворення (1,45±0,28 мкМО/л); при підозрі на злоякісність пухлини (1,57±0,23 мкМО/л) та при злоякісності (2,00±0,14 мкМО/л) відповідно. Таким чином, рівень ТТГ був найвищим у пацієнтів зі злоякісним процесом.

Водночас рівень вільного тироксину (вТ4) у сироватці крові показав наявність зворотної його кореляції із потенціалом злоякісності утворень (r = - 0,45). При доброякісному ураженні ЩЗ рівень вТ4 був (11,91±2,09 пмоль/л). Навпаки, абсолютна більшість пацієнтів з підозрою на злоякісність (4,17±1,39 пмоль/л) та власне злоякісний процес (5,46±2,19 пмоль/л) мали нижчі значення.

За результатами оцінки показника концентрації вільного трийодтироніну (вТ3) у сироватці крові більшості хворих також не виявлено вихід їх значень за межі референтного інтервалу. Водночас установлено вірогідний зсув його значень. Зокрема, для доброякісних утворень (5,61±0,22 пмоль/л) та при підозрі на злоякісність (6,43±0,45 пмоль/л), а при злоякісному ураженні (5,10±0,36 пмоль/л) у порівнянні з попередніми. Крім того, за порівняльним аналізом величин даного показника, що також перебував в межах унормованих значень, викристалізовуються порогові критерії характеру патологічного процесу (доброякісне новоутворення – 4,67 - 6,30; підозра на злоякісність – 3,90 - 8,30 та злоякісне новоутворення – 3,87 - 7,50 пмоль/л).

Отже, периферичні гормони вТ3 та вТ4 можуть слугувати для розрахунку тиреоїдних індексів, а не для автономного використання, як предиктора. Тиреоїдний індекс (ТІ) та індекс прогресивної периферичної конверсії (ІпПК) значуще відрізнялись між групами (р<0.01) та були найвищими у пацієнтів з доброякісними пухлинами – ТІ≥16,0 (оптимальний рівень гормонів); ІпПК≤2,0 (оптимальне співвідношення тироксину і трийодтироніну); з підозрою на злоякісність — ТІ≤10,0 (оптимальний рівень гормонів); ІпПК≤0,7(збільшення конверсії тироксину в трийодтиронін); при злоякісності – ТІ≤7,0 (недостатність гормонів); ІпПК≤1,2 (збільшення конверсії тироксину в трийодтиронін).

За рівнями антитіл до тиреоїдної пероксидази (АТ-ТПО) не було визначено суттєвих міжгрупових відмінностей, що може свідчити про відсутність процесу імуногенного руйнування ЩЗ. Таким чином, отримані дані дозволяють прийти до висновку, що АТ-ТПО не належить до визначальних показників діагностики, що узгоджуються нинішнім обсягом обумовлених протоколом обстежень.

 Вперше вивчено значення рівня раково-ембріонального антигену (РЕА) у сироватці крові. Виявлено пряму залежність між показниками груп спостережень (r=0,33). При доброякісному ураженні ЩЗ (1-а група) середній рівень РЕА складав – 1,23±0,35 нг/мл. У пацієнтів з V категорією BSRTC (2-а група) цей показник становив – 2,06±0,28 нг/мл, тоді як в 3-й групі його рівень був 16,69±1,0 нг/мл, що вище референтного значення на відміну від попередніх двох. Отже, за умов наявності показника вище його унормованих величин однозначно слід вважати злоякісне походження новоутворення. Крім того, це дає підставу клініцисту передбачати поширеність та ймовірність несприятливого подальшого перебігу захворювання.

Порівняльний аналіз даних імуноцитохімічного дослідження у пацієнтів з новоутвореннями ЩЗ дозволив визначити взаємозв’язок рівня експресії тиреоглобуліну (ТГ), тиреоїдного фактора транскрипції-1 (TTF-1), Е-кадгерину та цитокератину-19 (ЦК-19) з потенціалом злоякісності пухлини для прагматичного аспекту передопераційної діагностики. Встановлено, що у пацієнтів з BSRTC-II (1-а група) спостерігалась слабка експресія ТГ (прогормону ЩЗ) у 77,8%  випадків та помірна у 22,2%. У 2-й групі пацієнтів з BSRTC-V категорією відзначалось підвищення інтенсивності реакції з антитілами до ТГ: лише у 20,0% випадків експресія була слабкою, а в 80,0 % - помірною (р<0,001 у порівняні з 1-ю групою). Пацієнти 3-ї групи з BSRTC-VI категорією мали високу експресію ТГ  у 63,6%  пацієнтів, помірна – у 9,1%, негативний результат отриманий у 18,2% випадку (р<0,001 проти даних у 1-й і 2-й групах). Негативність експресії зумовлює надання можливості клініцисту припустити твердження про диференціювання злоякісного процесу. Кореляційний аналіз підтверджує наявність прямого зв’язку між частотою підвищеної імуноекспресії ТГ і потенціалом злоякісності новоутворення ЩЗ – χ2=62,53; r=0,49; p<0,001, що підкреслює прогностичне значення цього маркера для ідентифікації злоякісного процесу на передопераційному етапі. Дослідження проліферативної активності тканини ЩЗ на основі експресії білка TTF-1 показало його високу диференційно прогностичну значущість для оцінки ризику злоякісного процесу у ЩЗ – χ2=109,6; r=0,96; p<0,001. Так, при доброякісному процесі у всіх випадках (100%) встановлено негативний статус експресії TTF-1, в 2-й групі на злоякісність пухлини – слабку реакцію (+) у 100% пацієнтів (p <0,001), в 3 групі – у 18,2 % випадків сильну експресію (+++), у 72,7% – помірну (++), у 9,1% – слабку (p <0,001 у порівнянні з попередніми групами).

Дослідження на реакцію Е-кадгерину, яка вважається протипухлинним супресором (антионкогеном), у досліджуваних зразках ЩЗ продемонструвала неоднозначні результати. При доброякісному характері новоутворення у 44,4% випадків експресія була відсутня, у 55,6% – слабка реакція. Наявність позитивної реакції Е-кадгерину відмічена в усіх біоптатах (100%) з підозрою на злоякісне новоутворення (2-а група), в тому числі слабкою спостерігалась у 90,0% випадків, помірною  —   в 10,0%. Водночас встановлено відсутність чіткого зв’язку експресії Е-кадгерину з неоплазією. Негативна експресія мала місце у 36,4 % випадків метастатичного ураження ЩЗ, слабка  – у 36,4%, помірна – у 27,2%.  Порівняльний аналіз наведених нижче даних (р=0,053 і р=0,001 з 1-ю і 2-ю групою відповідно) підтверджує, що Е-кадгерин не може бути використаний як окремий маркер. Визначене частково узгоджується  з сучасними даними відносно об'єму доопераційної діагностики. На противагу попередньому маркеру, експресія ЦК-19 з різним ступенем інтенсивності цитоплазматичного забарвлювання пухлинних клітин визначалася у всіх досліджуваних новоутвореннях V і VI категорії за шкалою BSRTC. Сильна експресія ЦК-19 відзначалась в 40,0% випадків при BSRTC-5 і 45,4% при BSRTC-6, помірна – у 50,0% і 36,4% випадків відповідно, слабка – в 10,0% і 18,2%, без вірогідних відмінностей між групами (p>0,05). Водночас при доброякісному процесі в 55,6% випадків відзначена відсутність реакції цитокератину-19, а в 44,4% – слабка експресія (p<0,001 у порівнянні з 2-ю і 3-ю групами). Отже,  ЦК-19 слід  відносити до перспективних маркерів ідентифікації  злоякісного процесу.

За результатами аналітико-синтетичній обробці отриманих даних в цілому сформований  триетапний підхід передопераційної діагностики. Перший – анкетно-опитувальний метод та ультразвукове дослідження; другий – передбачав аналіз загальноклінічних та імунохімічних досліджень, на третьому – цитологічних та імуноцитохімічних досліджень.

Застосування запропонованої триетапної моделі дослідження дозволить спростити процедуру спостереження за функцією ЩЗ з малоінвазивністю використаних тестів та зменшить фінансові витрати пацієнта в майбутньому.

Наукова новизна проведеного дослідження полягає в тому, що вперше проведена комплексна оцінка чинного обсягу лабораторного обстеження з метою скринінгової діагностики новоутворень ЩЗ з доведенням його недосконалості та обґрунтуванням потреби розширення на основі удосконалення відомих методів та залучення сучасних маркерів.

Набуло подальшого розвитку вивчення факторів ризику щодо виникнення новоутворень ЩЗ з виділенням провідних за результатами оцінки інформативності кожного.

Обґрунтований триетапний принцип комплексної діагностики новоутворень ЩЗ на основі прогностичних значень чинних методів з наступним об'єктивізованим групуванням, послідовність виконання яких забезпечує точність, мінімізує витрати та скорочує строки процедури.

Отримано підтвердження залежності між зміною значень показників в межах референтних величин відомих загальновизнаних в клінічній практиці методів обстеження та імовірністю ризику розвитку новоутворень ЩЗ.

Вперше доведена пряма кореляційна залежность між рівнем РЕА у сироватці крові та системою Bethesda з оцінки цитології щитоподібної залози.

Встановлено, що обґрунтована, імуноцитохімічна панель, до складу якої входять дані експресії Е-кадгерину, цитокератину-19, тиреоглобуліну, TTF-1 має прогностичну цінність щодо діагностики новоутворень щитоподібної залози на доопераційному етапі.

Доведена ефективність запропонованої комбінованої моделі, що поєднує відомі, широко застосовані  в клінічній практиці методи обстеження  з уточненими значеннями їх порогових величин та імуноцитохімічна панель, що разом слугують інструментом для ранньої діагностики новоутворень ЩЗ та моніторингу з прогностичним визначенням  їх перебігу.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що встановлені в межах референтних діапазонів порогові значення загальноклінічних та імунохімічних методів досліджень, який дозволяє забезпечити диференційований підхід до діагностики новоутворень ЩЗ.

Вперше виявлено прогностичну властивість та доцільність використання РЕА на передопераційному етапі діагностики новоутворень ЩЗ.

Запропонована імуноцитохімічна панель у складі комплексної системи, що забезпечує персоніфікований підхід до ранньої діагностики новоутворень ЩЗ та активного спостереження за процесом.

Розроблено модель комплексного лабораторного обстеження пацієнтів із захворюваннями ЩЗ, що передбачає триетапний підхід, в результаті якого забезпечується скринінг та досягається точність, скорочується термін діагностики із можливостями моніторингу.

 Отримані результати дослідження дозволяють авторці рекомендувати застосування запропонованих нововведень щодо діагностики новоутворень ЩЗ у широку клінічну практику ендокринологів та лікарів-лаборантів. Отримані результати дисертаційного дослідження впроваджені в практику у міській лікарні № 9, місто Кам'янське та в Комунальному некомерційному підприємстві «Павлоградська центральна районна лікарня» Вербківської сільської ради.

Результати досліджень наукової роботи також впроваджені та використовуються в навчальному процесі на кафедрі клінічної лабораторної діагностики Харківського національного медичного університету МОЗ України.

*Ключові слова:* щитоподібна залоза, новоутворення щитоподібної залози, TIRADS, Bethesda, рак щитоподібної залози, лабораторна діагностика, анемія, онкомаркери, імуноцитохімічне дослідження, тонкоголкова аспіраційна пункційна біопсія, раково-ембріональний антиген.

**SUMMARY**

 *Hladkykh N.O.* “Improving the efficiency of the preanalytical stage of cytological technologies in the diagnosis of thyroid neoplasm. — Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

 The thesis for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) academic degree in specialty 224 — “Technologies of medical diagnostics and treatment”, specialization “Clinical laboratory diagnostics” (22 — Health Care) — Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The defense of the PhD thesis will take place at Kharkiv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

Regulatory and legal documents, standard examination methods aimed at diagnosing thyroid neoplasms, which are updated over time, contribute to this process through the development and implementation of new technologies. However, the lack of reasonable combinations of laboratory methods in the preoperative period with a simultaneous increase in the number of registered patients with thyroid cancer (by 21.7% from 2016 to 2020), still remain relevant.

Solving the problem requires the improvement of laboratory diagnostics, which from the standpoint of evidence, requires a comprehensive approach using new criteria as well-known methods common in clinical practice and also new modern markers (immunocytochemical, immunochemical markers). It is important to introduce a diagnostic complex of monitoring to assess the prognosis of the pathological process of the thyroid gland to choose the clinician adequate management of patients with justification of the optimal duration of surgical treatment. This led to the study of the outlined issue and justified the purpose of the study.

The aim of the study was to improve the efficiency of laboratory screening of thyroid neoplasms on the basis of the proposed improved integrated approach, based on the monitoring to justify the tactics of this contingent.

The following methods were used to solve the tasks: general clinical, immunochemical, cytological, immunocytochemical, morphological, ultrasound, sociological, statistical. Descriptive modeling, structural-logical, bibliosemantic and comparative analysis are used in the work.

The research base is the consultative polyclinic of the Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital named after I.I. Mechnikov. The period of work — 2017-2021.

Exclusion criteria from the study: age — under 18 years; pregnant women; the presence of concomitant cancer; regular use of biotin medications by the patients.

According to the results of the ultrasound method, 60 patients aged 21 to 83 years (average age 54.6 ± 1.9 years) were included in the study. In cases of detection of TIRADS-4 category (intermediate risk of malignancy of the thyroid gland), patients subsequently underwent fine-needle aspiration puncture biopsy (FNA). Patients were divided into three groups (according to the classification Bethesda System — BSRTC). The first group included 18 patients with benign lesions, of which 88.9% were women and 11.1% men; the average age was 46.6 ± 3.7 years. The second group included 20 patients with suspected female malignancy with an average age of 58.7 ± 3.1 years.

The third group consisted of 22 patients with malignant tumors, of which 90.9% — were women and 9.1% — were men; the average age is 57.4 ± 2.4 years. The design of the study involved the successive implementation of several interrelated prospective stages of diagnosis. The first is an interrogation method and ultrasound examination; the second — provided for the analysis of general clinical and immunochemical studies, the third — cytological and immunocytochemical studies.

 The selected groups probably did not differ in the sex of patients (χ2 = 2.21), body mass index (F = 0.25, p> 0.05), the area of the neoplasm according to ultrasound (H = 1.92, H = 2, 11, H = 2.30 mm2), respectively by groups. Patients of the 1st group were younger than others. It should be noted that more than half of the patients in the observation groups were overweight or had obesity I-II degree — 55.6%; 50.0%; 72.7%, respectively, in the 1st, 2nd and 3rd groups. Comparative analysis of the relevant indicators included in the study program did not reveal a significant difference between patients with overweight and normal body weight, which led to further disregard for this feature.

Risk factors according to the proposed questionnaire included the following criteria: genetic predisposition; work in harmful conditions (pesticides, industrial aerosols, chemicals, and their compounds, halogens); smoking; staying in areas of high radiation exposure, radioactive iodine treatment.

 According to the ROC analysis, the 3rd group was prognostically important among them: smoking; working in harmful conditions (exposure to pesticides, industrial aerosols, chemicals, and their compounds, halogens; the tendency of genetic predisposition to pathology of the thyroid gland).

 There are probable differences in groups between the levels of formed blood elements in their expanded composition (Mean Corpuscular Hemoglobin, Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration, plateletcrit, Mean Platelet Volume, platelet large cell ratio) due to the results of general clinical blood tests with thyroid neoplasms. It was found that for patients of group 1 with a benign process is characterized by a probable decrease in total hemoglobin (103.3 ± 7.1 g / l), Mean Corpuscular Hemoglobin (26.4 ± 1.8 pg) and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (296.2 ± 7.4 g / l) relative to the 2nd (128.2 ± 5.0 g / l; 30.6 ± 0.6 pg; 315.7 ± 2.7 g / l) and 3rd study groups (122.9 ± 4.0 g / l; 30.0 ± 0.6 pg; 311.9 ± 2.5 g / l), respectively. Microcytic anemia was also likely to be more common for patients in group 1. The 2nd group is characterized by a probable decrease in the total number of platelets (220.4 ± 39.5×109 / l) and platelet count (0.25 ± 0.04%), as well as an increase in the Mean Platelet Volume (11.23 ± 0.28 fl) and the percentage of platelet large cell ratio (35 ± 2.5%) compared with 1 group. Whereas for 1 group — 387.7 ± 61.9 x109 / l; 10.33 ± 0.19 fl; 0.39 ± 0.06%; 28.2 ± 1.7% and 2 groups — 299.9 ± 21.05×109 / l; 0.69 ± 0.23 fl; 31 ± 0.02%; 0.4 ± 1.9%. Indicators of blood in the malignant process in the thyroid gland (group 3) differ significantly in the number of white blood cells (9.55 ± 1.51×109 / l) and the proportion of eosinophils (4.33 ± 1.51%) and basophils (0.68 ± 0.12 %) in comparison with 1 group (8.32 ± 0.62×109 / l; 2.09 ± 0.6%; 0.64 ± 0.17%) and group 2 (7.06 ± 0.72×109; 1.88 ± 0.42%, 0.39 ± 0.07%), respectively.

Moreover, these indicators in terms of all parameters are within the reference values. However, based on the results of statistical processing (based on ROC-analysis) it became possible to substantiate new thresholds, which provide a differentiated approach to determining the nature of the process.

The assessment of thyroid status of patients with thyroid neoplasms showed a direct correlation between the degree of pathological process in the thyroid gland relative to TSH levels and the values of additional diagnostic indices, namely thyroid index (TI) and progressive peripheral conversion index (IpPC).

Thus, despite the fact that the average level of TSH in the serum of patients of all groups did not exceed the reference range, it had its own differentiation. Benign nature of the formation (1.45 ± 0.28 μIU / l); tumor malignancy is suspected (1.57 ± 0.23 μIU / l) and malignancy (2.00 ± 0.14 μIU / l), respectively. So, the level of TSH was the highest of patients with malignant process.

At the same time, the level of fT4 in the blood serum showed its inverse correlation with the potential for malignancy (r = -0.45). In benign thyroid lesions, the level of fT4 was (11.91 ± 2.09 pmol / l). In contrast, the vast majority of patients with suspected malignancy (4.17 ± 1.39 pmol / l) and the malignancy itself (5.46 ± 2.19 pmol / l) had lower values.

Due to the results of the assessment of the concentration of fT3 in the serum of the majority of patients, their values were also not found of the reference interval. Simultaneously probable shift of its values is established. In particular for benign formations (5.61 ± 0.22 pmol / l) and in case of suspicion of malignancy (6.43 ± 0.45 pmol / l), and in case of malignant lesion (5.10 ± 0.36 pmol / l) compared to previous ones. In addition, the comparative analysis of the values of this indicator, which was also within the normalized values, crystallizes the threshold criteria for the nature of the pathological process (benign tumor — 4.67 – 6.30; suspected malignancy — 3.90 – 8.30 and malignant tumor — 3.87 – 7.50 pmol / L).

 Thus, peripheral hormones fT3 and fT4 may be used to calculate thyroid indices rather than for autonomous use as a predictor. Thyroid index (TI) and progressive peripheral conversion index (IpPC) differed significantly between groups (p <0.01) and were the highest of patients with benign tumors — TI≥16.0 (optimal hormone levels); IpPC≤2.0 (optimal ratio of thyroxine and triiodothyronine); with suspected malignancy — TI ≤10.0 (optimal level of hormones); IpPC≤0,7 (increase in conversion of thyroxine to triiodothyronine); in malignancy — TI≤7.0 (hormone deficiency); IpPC≤ 1,2 (increased conversion of thyroxine to triiodothyronine).

There were no significant intergroup differences in the levels of thyroid peroxidase antibodies (TPOAb), which may indicate the absence of the process of immunogenic destruction of the thyroid gland. Thus, the obtained data allow us to conclude that TPOAb does not belong to the diagnostic indicators that are consistent with the current volume of examinations due to the protocol.

The value of the level of cancer-embryonic antigen (CEA) in the serum was studied for the first time. A direct influence between the indicators of the observation groups (r = 0.33) was revealed. In benign thyroid lesions (group 1), the average level of CEA was 1.23 ± 0.35 ng / ml. In patients with category V BSRTC (group 2), this figure was — 2.06 ± 0.28 ng / ml. Whereas in group 3 its level was 16.69 ± 1.0 ng / ml, which is higher than the reference value in contrast to the previous two. Therefore, in the presence of an indicator above it's normalized values, the malignant origin of the neoplasm should be considered unambiguously. In addition, it gives the clinician reason to predict the prevalence and likelihood of adverse further course of the disease.

Comparative analysis of immunocytochemical data of patients with thyroid neoplasms revealed the correlation between the expression of thyroglobulin, thyroid transcription factor-1 (TTF-1), E-cadherin and cytokeratin-19 with the potential for tumor malignancy for pragmatic diagnosis. It was found that patients with BSRTC-II (group 1) had weak expression of thyroglobulin (thyroid hormone) in 77.8% of cases and moderate in 22.2%. In the 2nd group of patients with BSRTC-V category there was an increase in the intensity of the reaction with antibodies to thyroglobulin: only in 20.0% of cases the expression was weak, and in 80.0% — moderate (p <0.001 compared with the 1st group). Patients in group 3 with BSRTC-VI category had high thyroglobulin expression in 63.6% of patients, moderate — in 9.1%, a negative result was obtained in 18.2% of cases (p <0.001 against data in the 1st and 2nd groups). Negative expression makes it possible for the clinician to make claims about the differentiation of the malignant process. Correlation analysis confirms a direct link between the frequency of increased immunogenic expression of thyroglobulin and the potential for malignancy of the thyroid gland — χ2 = 62.53; r = 0.49; p <0.001, which emphasizes the prognostic value of this marker for the identification of malignant processes in the preoperative stage. The study of the proliferative activity of thyroid tissue based on the expression of TTF-1 protein showed it's high differential prognostic significance for assessing the risk of malignant process in the thyroid gland — χ2 = 109.6; r = 0.96; p <0.001. Therefore, in the benign process in all cases (100%) the negative status of TTF-1 expression was established, in the 2nd group on tumor malignancy — a weak reaction (+) in 100% of patients (p <0.001), in the 3rd group — in 18, 2% of cases strong expression (+++), in 72.7% — moderate (++), in 9.1% — weak (p <0.001 compared to previous groups).

The study of the reaction of E-cadherin, which is considered an antitumor suppressor (antioncogene), in the studied samples of the thyroid gland showed mixed results. With the benign nature of the neoplasm in 44.4% of cases, expression was absent, in 55.6% — a weak reaction. The presence of a positive reaction of E-cadherin was noted in all biopsies (100%) with suspicion of malignancy (group 2), including weak was observed in 90.0% of cases, moderate — in 10.0%. At the same time, there is no clear link between E-cadherin expression and neoplasia. Negative expression occurred in 36.4% of cases of metastatic thyroid disease, weak — in 36.4%, moderate — in 27.2%. A comparative analysis of the following data (p = 0.053 and p = 0.001 compared to groups 1 and 2, respectively) confirms that E-cadherin cannot be used as a separate marker. The definition is partially consistent with current data on the scope of preoperative diagnosis. In contrast to the previous marker, the expression of cytokeratin-19 with varying degrees of intensity of cytoplasmic staining of tumor cells was determined in all studied tumors of V and VI category on the BSRTC scale. Strong expression of cytokeratin-19 was observed in 40.0% of cases with BSRTC-5 and 45.4% with BSRTC-6, moderate — in 50.0% and 36.4% of cases, respectively, weak — in 10.0% and 18.2%, without significant differences between groups (p> 0.05). At the same time, in the benign process in 55.6% of cases there was no reaction of cytokeratin-19, and in 44.4% — weak expression (p <0.001 in comparison with the 2nd and 3rd groups). Therefore, cytokeratin-19 should be considered a promising marker in order to identify a malignant process.

According to the results of analytical and synthetic analysis of the obtained data, a three-stage approach to preoperative diagnosis is generally formed. The first is an interrogation method and ultrasound examination; the second — provided for the analysis of general clinical and immunochemical studies, the third — cytological and immunocytochemical studies.

The application of the proposed three-stage research model will simplify the procedure of monitoring thyroid function with minimally invasive tests used and reduce the patient's financial costs in the future.

The scientific innovativeness of the study is that for the first time a comprehensive assessment of the current volume of laboratory examination for screening diagnosis of thyroid tumors with proof of it's imperfection and justification of the need for expansion based on improved known methods and modern markers.

The study of risk factors for the occurrence of thyroid tumors has been further developed, with the selection of the leading ones according to the results of the assessment of the informativeness of each factor. The three-stage principle of complex diagnostics of thyroid neoplasms is substantiated on the basis of prognostic values of current methods with the subsequent objectified grouping, the sequence of which ensures accuracy, minimizes costs and reduces the time of the procedure.

Furthermore, the link between the change in the values of indicators within the reference values of the well-known in clinical practice methods of examination and the probability of risk of thyroid neoplasms was confirmed. For the first time, a direct correlation between the level of cancer-embryonic antigen in the serum and the Bethesda system for the assessment of thyroid cytology was proved.

It was found that the substantiated immunocytochemical panel, which includes data on the expression of E-cadherin, cytokeratin-19, thyroglobulin, TTF-1 has prognostic value for the diagnosis of thyroid neoplasms at the preoperative stage.

The effectiveness of the proposed combined model, which includes known, widely used in clinical practice examination methods with refined values of their threshold values and immunocytochemical panel, which together serve as a tool for early diagnosis of thyroid neoplasms and monitoring with prognostic determination of their course.

The practical significance of the obtained results is that the threshold values of general clinical and immunochemical research methods are established within the reference ranges, which allows providing a differentiated approach to the diagnosis of thyroid tumors.

For the first time, the prognostic property of cancer-embryonic antigen at the preoperative stage of diagnosis of thyroid tumors was revealed. The expediency of REA application at the preoperative stage of diagnosis is proved.

An immunocytochemical panel as a part of a complex system is proposed, which provides a personalized approach to early diagnosis of thyroid neoplasms and active monitoring of the process.

A model of complex laboratory examination of patients with thyroid diseases has been developed, which provides a three-stage approach as a result of which screening is provided and accuracy is achieved, the diagnostic period with monitoring capabilities is reduced.

The obtained results of the study allow the author to recommend the application of the proposed innovations in the diagnosis of thyroid tumors in the wide clinical practice of endocrinologists and laboratory physicians. The obtained results of the thesis research were put into practice in the city hospital № 9, the city of Kamyanske and in the Municipal non-profit enterprise “Pavlohrad Central District Hospital” of Verbkivska village council.

 The results of scientific research are also implemented and used in the educational process at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

*Key words:* thyroid gland, thyroid neoplasm, TIRADS, Bethesda, thyroid cancer, laboratory diagnosis, anemia, tumor markers, immunocytochemical study, fine-needle aspiration puncture biopsy, cancer-embryonic antigen.