

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОНТРАСТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ОПУХОЛЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тимофеева Л.А.^{1,2,3}, Александров Ю.К.⁴, Тухбатуллин М.Г.³,
Алешина Т.Н.^{1,2}, Сенча Е.А.⁵

1 - ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». г. Чебоксары, Россия.

2 - АУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашской Республики. г. Чебоксары, Россия.

3 - Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России. г. Казань, Россия.

4 - ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России. г. Ярославль, Россия.

5 - ФГБУ «9-й лечебно-диагностический центр» Министерства обороны РФ. г. Москва, Россия.

Обоснование применения ультразвукового исследования с использованием контрастных препаратов при опухолях щитовидной железы.

Материалы и методы. Проведено сравнительное изучение данных ультразвукового исследования с контрастным усилением (КУУЗИ) с использованием контрастных препаратов (КП) и иммуногистохимического исследования (ИГХ) опухолей щитовидной железы (ЩЖ) различного морфологического строения. Обследовано 30 пациентов (возраст 51,3±6,2 года). Исследование выполнялось на ультразвуковом аппарате DC-8 (Mindray, China) с использованием ЭК «Соновью» (SonoVue, Italy). ИГХ проводили с использованием первичных моноклональных антител (МКАТ) к CD31, VEGF и виментину фирмы DAKO (Danmark). Морфологические исследования проводились на микроскопе DM-20 (Optika Microscopes, Italy) с помощью программы Optimas (EN ver. 2.0). Полученные изображения оценивали по выраженности положительно проэкспрессировавших клеток.

Результаты и обсуждение. Сравнение данных стандартного УЗИ (энергетическое и цветное доплеровское картирование) и КУУЗИ показало, что выраженность сосудистого компонента опухолей щитовидной железы невелика, и оценка его не гарантирует успех дифференциальной диагностики. Отсутствует прямая зависимость между параметрами васкуляризации в доплеровском режиме, присутствием сосудистых структур и морфологической формой опухоли.

При сравнительном же анализе данных КУУЗИ и экспрессии CD31 и VEGF при различных опухолях щитовидной железы показал, что наиболее высокие показатели экспрессии характерны злокачественных опухолей ЩЖ, меньшие – для аденом ЩЖ. Показатели экспрессии CD31 и VEGF имеют корреляцию с рядом показателей КУУЗИ. Данный факт открывает новые возможности использования КУУЗИ как объективного метода, основывающегося на количественных параметрах, в дифференциальной диагностике опухолей ЩЖ.

Заключение. Ультразвуковое исследование с использованием контрастов является положительной опцией, дающей дополнительные возможности при дифференциальной диагностике опухолей щитовидной железы. Особенности сосудистого русла опухолей щитовидной железы, связанные с активностью факторов, влияющих на формирование сосудистых структур в ткани и опухолях щитовидной железы, имеют корреляцию с рядом показателей сонографии с применением контрастов.

Ключевые слова: щитовидная железа, ультразвуковое исследование с применением контраста, иммуногистохимическое исследование, CD31, виментин, VEGF.

Контактный автор: Тимофеева Л.А., e-mail: adabai@mail.ru

Для цитирования: Тимофеева Л.А., Александров Ю.К., Тухбатуллин М.Г., Алешина Т.Н., Сенча Е.А. Обоснование применения ультразвукового исследования с использованием кон-

Статья получена: 06.04.21

Статья принята: 12.05.21

THE FEASIBILITY OF THE CONTRAST ENHANCED ULTRASOUND EXAMINATION IN THYROID TUMORS

Timofeeva L.A.^{1,2,3}, Aleksandrov Yu.K.⁴, Tukhbatullin M.G.³,
Aleshina T.N.^{1,2}, Sencha E.A.⁵

1 - I.N. Ulianov Chuvash State University. Cheboksary, Russia.

2 - Republican clinical oncological dispensary. Cheboksary, Russia.

3 -Kazan State Medical Academy. Kazan, Russia.

4 - Yaroslavl state medical University. Yaroslavl, Russia.

5 - 9th Medical and Diagnostic Center of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Moscow, Russia.

Purpose. To justify the use of ultrasound examination with contrast media in thyroid tumors.

Materials and methods. Ultrasound examination findings using contrast media and those of immunohistochemical examination of thyroid tumors having different morphological structure were compared. 30 patients (51.3 ± 6.2 years of age) were examined. The study was conducted on the ultrasound device DC-8 (Mindray, China) using an ultrasound contrast agent "SonoVue" (SonoVue, Italy). Immunohistochemical examination was carried out using primary monoclonal antibodies (MKAT) to CD31, VEGF and vimentin produced by DAKO Company (Denmark). Morphological studies were conducted using the microscope DM-20 (Optika Microscopes, Italy) with the help of Optimas program (ver. 2.0). The resulting images were evaluated by severity of positively expressed cells.

Results and discussion. Comparing findings of standard ultrasound examination (energy and color Doppler mapping) and ultrasound examination showed that the expressiveness of the vascular component in thyroid tumors was low and its evaluation did not guarantee differential diagnosis success. There was no direct correlation between the parameters of vascularization in Doppler mode, the presence of vascular structures and the tumor's morphological form.

A comparative analysis of ultrasound examination findings and expression of CD31 and VEGF in different thyroid tumors showed that the highest indices of expression were characteristic for malignant thyroid tumors; they were lower in thyroid adenoma. Indices of CD31 and VEGF expression correlated with a number of ultrasound examination indicators. This fact gives new opportunities for the use of ultrasound examination as an objective method based on quantitative parameters in the differential diagnosis of thyroid tumors.

Conclusion. Ultrasound examination using contrast media is a positive option, which gives additional opportunities in the differential diagnosis of thyroid tumors. Features of the vascular bed in thyroid tumors associated with the activity of factors influencing vascular structures formation in the thyroid tissue and tumors are correlated with a number of indicators obtained by sonography using contrast media.

Keywords: the thyroid gland, ultrasound examination using contrast media, immunohistochemical examination, CD31, vimentin, VEGF.

Corresponding author: Timofeeva L.A., e-mail: adabai@mail.ru

For citation: Timofeeva L.A., Aleksandrov Yu.K., Tukhbatullin M.G., Aleshina T.N., Sencha E.A. The feasibility of the contrast enhanced ultrasound examination in thyroid tumors. REJR 2021; 11(2):115-121. DOI: 10.21569/2222-7415-2021-11-2-115-121.

Received: 06.04.21

Accepted: 12.05.21

Появление современных методик и технологий в медицине дало новые возможности в дифференциальной диагностике внутренних и поверхностно расположенных органов, в том числе патологии щитовидной железы (ЩЖ) [1 - 8]. Появившиеся зарубежные публикации [9 - 11], отражающие применение контрастов при ультразвуковой диагностике патологии ЩЖ, указывают на ее особенности при диффузных и очаговых изменениях органа. Отечественные работы прямо говорят о необходимости ее использования при дифференциальной диагностике узловых заболеваний щитовидной железы, в частности опухолей ЩЖ [12 - 14]. Основным аргументом исследователей являются выраженные процессы неоангиогенеза, характерные для аденом ЩЖ и рака щитовидной железы (РЩЖ). Изучение возможностей КУУЗИ при патологии щитовидной железы, также как и ИГХ, проведено большим числом исследователей [15 - 17]. Указанные работы приводят разрозненные свидетельства, но исследования, посвященные оценке сосудистого компонента опухолей ЩЖ и окружающей их паренхимы с единой комплексной оценкой методов лучевой диагностики и патоморфологии, отсутствуют.

Цель исследования.

Обоснование применения ультразвукового исследования с использованием контрастных препаратов при опухолях щитовидной железы.

Материалы и методы исследования.

Проведено сравнительное изучение данных КУУЗИ и ИГХ опухолей щитовидной железы различного морфологического строения. Обследовано 30 пациентов (возраст $51,3 \pm 6,2$ года): 10 пациентов с аденомами ЩЖ, 20 – с РЩЖ. Исследование выполнялось на ультразвуковом аппарате Mindray DC-8 (Mindray, China) с использованием линейного датчика 7,5-15 МГц в режиме «Contrast» с фиксацией видеопетли. Эхоконтрастирование осуществлялось за счет внутривенного введения 2,4 мл ЭК «Соновью» (SonoVue, Italy). При КУУЗИ определяли интенсивность и однородность контрастного усиления, скорость накопления и вымывания контраста. Учитывали количественные показатели: время накопления (ТPI), максимальная интенсивность накопления (PI), время двукратного снижения накопления контраста (DT/2). ИГХ проводили с использованием первичных моноклональных антител (МКАТ) фирмы DAKO (Danmark). Морфологические исследования проводились на микроскопе DM-20 (Optika

Microscopes, Italy) с помощью программы Optimas (EN ver. 2.0). Для исследования препаратов, окрашенных моноклональными антителами к CD31, VEGF и виментину, производили фотосъемку каждого препарата в 10 полях зрения при увеличении $\times 100$. Обработка полученных изображений заключалась в оценке площади гистологического препарата и выраженности положительно проэкспрессированных клеток. Использовались следующие критерии: 1 – если доля темноокрашенных ядер превышала 3 четверти всех ядер, то интенсивность окраски обозначалась как выраженная (более 75%, +++); 2 – если доля ярко окрашенных ядер не превышала 3 четвертей всех ядер, то интенсивность была умеренно положительной (25-75%, ++); 3 – если доля ядер темно-коричневого цвета не превышала 1 четверти всех ядер, то интенсивность была слабо положительной (0-24%, +).

Обработка данных.

Статистический анализ проводился с помощью программы STATISTICA 12,5 (StatSoft, 2014) этапно, в зависимости от направления исследования: при оценке КУУЗИ – ROC-анализ, при сравнительной оценке ИГХ и КУУЗИ – логистическая регрессия.

Результаты исследования.

Исследование показало, что сосудистое русло опухолей щитовидной железы зависит от их морфологического строения, что находит отражение как в особенностях развития и формирования, так и в гормональной активности (рис.1, 2).

При изучении особенности накопления контраста было отмечено, что для аденом ЩЖ и фолликулярного РЩЖ характерным было его равномерное накопление (в 84,2%), при папиллярном РЩЖ преобладало неоднородное накопление ЭК (54,5%). Также для аденом ЩЖ было характерно более выраженное, интенсивное накопление ЭК (в 80%), чем в папиллярном РЩЖ (63,6%) и фолликулярном РЩЖ (55,6%).

При измерении времени накопления (ТPI) эхоконтраста было установлено, что наиболее быстро пик накопления наступает в аденомах ЩЖ (n=10) – $19,43 \pm 2,54$ с (от 14,6 до 24,5), более медленно в папиллярном раке (n=11) – $20,64 \pm 4,37$ с (от 14,8 до 28,6) и еще более медленно в фолликулярном раке (n=9) – $21,24 \pm 3,67$ с (от 17,6 до 29,3). При этом различия показателя ТPI в опухолях достоверны ($p > 0,05$).

При оценке максимальной интенсивности накопления контраста показатель PI в аденомах ЩЖ составил $33,71 \pm 3,41$ дБ (от



Рис. 1 (Fig. 1)

Рис. 1. КУУЗИ.

Артериальная фаза (гистологическое заключение – аденома щитовидной железы). Узел щитовидной железы.

Fig. 1. CEUS.

Arterial phase (a pathology report adenoma of the thyroid gland). A thyroid nodule.

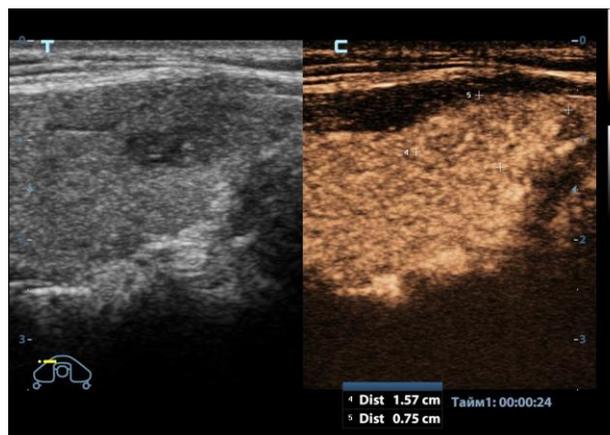


Рис. 2 (Fig. 2)

Рис. 2. КУУЗИ.

Венозная фаза (гистологическое заключение – папиллярный рак щитовидной железы). Узел щитовидной железы.

Fig. 2. CEUS.

Venous phase (histological conclusion – papillary thyroid cancer). A thyroid nodule.

27,5 до 39,2), в фолликулярном РЩЖ – 34,64±1,18 дБ (от 33,8 до 36,4), в папиллярном РЩЖ – 31,08±1,65 дБ (от 28,6 до 33,2). Различия показателя PI в опухолях оказались недостоверными (p>0,05).

Время падения интенсивности до половины PI (DT/2) при аденомах ЩЖ составило 78,70±12,37 с (от 56 до 92), при фолликулярном РЩЖ – 57,44±6,82 с (от 49 до 70), при папиллярном РЩЖ – 64,00±10,27 с (от 52 до 82).

Скорость снижения контрастирования за 30 секунд после пика интенсивности (DV) .

С учетом того, что КУУЗИ используется для оценки особенностей сосудистого русла, проведен сравнительный анализ показателей КУУЗИ и оценки васкуляризации в режимах цветного и энергетического доплеровского картирования (табл. №1).

Таким образом, ROC-анализ показал, что при дифференциальной диагностике опухолей щитовидной железы ни один из показателей КУУЗИ не имеет преимуществ перед доплеровским исследованием.

При изучении показателей доплеровского исследования, КУУЗИ и данных ИГХ было установлено, что выраженность экспрессии CD31 высока в аденомах ЩЖ и фолликулярном раке ЩЖ, а при папиллярном раке была незначительной (рис. 3). При сравнительном анализе установлена слабо выраженная корреляция уровня экспрессии

CD31 лишь с одним показателем – максимальной интенсивности накопления контраста (PI). Корреляция экспрессии CD31 и показателей доплеровского исследования отсутствует.

При оценке экспрессии виментина, являющегося универсальным маркером для злокачественных опухолей различных локализаций, установлены низкие уровни экспрессии как при аденомах ЩЖ, так и при фолликулярном и папиллярном РЩЖ. При оценке экспрессии VEGF было отмечено, что в злокачественных опухолях она была более выраженной, чем в аденомах ЩЖ, причем значительные отличия при папиллярном и фолликулярном РЩЖ отсутствовали (рис. 4). При сравнительном анализе установлена корреляция уровня экспрессии VEGF с показателем DT/2 (время падения интенсивности до половины PI), причем она имела более четкую корреляцию. Корреляция экспрессии VEGF и показателей доплеровского исследования также отсутствует.

Сравнение данных стандартного УЗИ (энергетическое и цветное доплеровское картирование) и КУУЗИ показало, что выраженность сосудистого компонента опухолей ЩЖ невелика, и оценка его не гарантирует успех дифференциальной диагностики. Отсутствует прямая зависимость между параметрами васкуляризации в доплеровском режиме, присутствием сосудистых структур

Таблица №1. Параметры ROC-анализа, отражающие прогностические возможности методик.				
Параметры статистики	Показатели доплеровского картирования и КУУЗИ			
	Васкуляризация	TPI	PI	DT/2
AUC	0,891±0,044	0,593±0,047	0,635± 0,045	0,802±0,036
95% доверительный интервал	0,778 ÷ 0,959	0,511 ÷ 0,671	0,554 ÷ 0,711	0,730 ÷ 0,862
J	0,6786	0,2562	0,3318	0,4907
Se	82,86	52,78	87,50	86,11
Sp	85,00	72,84	45,68	62,96
+PV	87,1	70,35	66,324	73,986
-PV	80,2	55,79	74,945	78,761

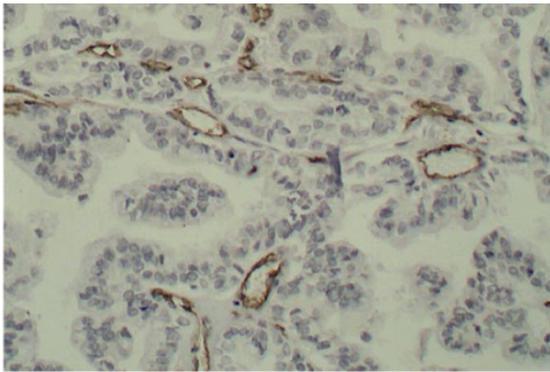


Рис. 3 (Fig. 3)

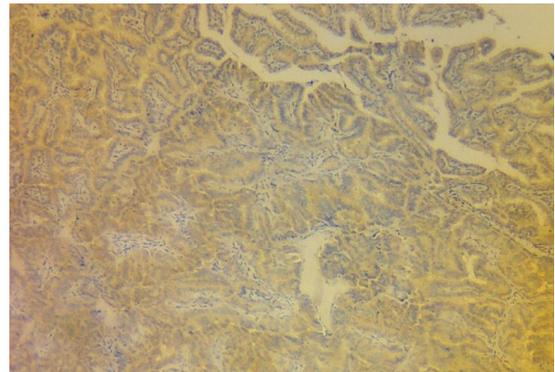


Рис. 4 (Fig. 4)

Рис. 3. Микропрепарат.

ИГХ. Экспрессия CD31 в ткани опухоли (интенсивность окрашивания +) (окраска гематоксилин-эозином, ув.200). Папиллярный РЩЖ.

Fig. 3. Microslide.

ИНС. Expression of CD31 in tumor tissue (intensity of staining +) (stained with hematoxilin-eosin, HC.200). Papillary thyroid cancer.

Рис. 4. Микропрепарат.

ИГХ. Экспрессия VEGF в ткани опухоли (интенсивность окрашивания ++) (окраска гематоксилин-эозином, ув.100). Папиллярный РЩЖ.

Fig. 4. Microslide.

ИНС. VEGF expression in tumor tissue (intensity of staining ++) (stained with hematoxilin-eosin, HC.100). Papillary thyroid cancer.

и морфологической формой опухоли.

При сравнительном же анализе данных КУУЗИ и экспрессии CD31 и VEGF при различных опухолях щитовидной железы показал, что наиболее высокие показатели экспрессии характерны для злокачественных опухолей ЩЖ, меньшие – для аденом ЩЖ. Показатели экспрессии CD31 и VEGF имеют корреляцию с рядом показателей КУУЗИ.

Данный факт открывает новые возможности использования КУУЗИ как объективного метода, основывающегося на количественных параметрах, в дифференциальной диагностике опухолей ЩЖ.

Выводы.

Ультразвуковое исследование с использованием контрастных препаратов позволяет получить объективную количественную

оценку кровотока в опухолях щитовидной железы. Многообразие сосудистых изменений в опухолях ЩЖ создает определенные сложности в их оценке. Отсутствует выраженная прямая корреляция между маркерами сосудистых изменений в опухолях щитовидной железы и показателями КУУЗИ.

Список литературы:

1. Александров Ю.К., Яновская Е.А., Шубин Л.Б., Дякив А.Д. Эффективность стратификационных систем в диагностике узловых заболеваний щитовидной железы. *Проблемы эндокринологии*. 2019; 65 (4): 216-226.
2. Терновой С.К. Абдураимов А.Б., Лесько К.А. и др. Возможности маммографии и качественной эластографии в диагностике рака молочной железы при гипотиреозе. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2013; (5): 50-59.
3. Сенча А.Н., Сенча Е.А., Пеняева Э.И., Федоткина Е.П., Бикеев Ю.В., Тимофеева Л.А. Ультразвуковые контрасты в эхографии. *Практическая медицина*. 2018; 1 (112): 74-80.
4. Синюкова Г.Т., Гудилина Е.А., Данзанова Т.Ю., Шолохов В.Н., Лепэдату П.И., Аллахвердиева Г.Ф., Костякова Л.А., Бердников С.Н. Современные технологии ультразвуковой визуализации в диагностике местного рецидива рака щитовидной железы. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2016; 9-3 (51): 81-84.
5. Тимофеева Л.А., Алешина Т.Н., Максимова А.В. Роль комплексного ультразвукового исследования в оценке первичного рака щитовидной железы в дооперационном периоде *Вестник Чувашского университета*. 2013; 3: 540-545.
6. Желонкина Н.В., Пойтина А.С., Польшкин В.В., Рыженкова М.И., Паришин В.С., Медведев В.С. Возможности эхографии в дифференциальной диагностике фолликулярных опухолей щитовидной железы. *Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2016; 25 (4): 35-45.
7. Борсуков А.В. Быть или не быть ti-rads: полемические заметки с Евразийского форума по раку щитовидной железы. *Эндокринная хирургия*. 2016; 10(3): 33-36.
8. Тухбатуллин М.Г., Сафиуллина Л.Р., Галеева З.М., Хамзина Ф.Т. и др. Эхография в диагностике заболеваний внутренних и поверхностно расположенных органов. *Казань, Мед. книга*, 2016. 208.
9. Cantisani V., Bertolotto M., Weskott H.P., Romanini L., Grazhdani H., Passamonti M. et al. Growing indications for

Источник финансирования и конфликт интересов.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования и конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

CEUS: the kidney, testis, lymph nodes, thyroid, prostate, and small bowel. *Eur. J. Radiol*. 2015; 84: 1675-1684

10. Hu Y., Li P., Jiang S., Li F. Quantitative analysis of suspicious thyroid nodules by contrast-enhanced ultrasonography. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8 (7): 11786-11793.
11. Zhao R.N. Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound of thyroid nodules coexisting with Hashimoto's thyroiditis. *Zhongguo Yi XueKeXue Yuan XueBao*. 2015; 37 (1): 66-70.
12. Сенча А.Н., Могутов М.С., Пеняева Э. И., Патрунов Ю.Н., Кашиманова А.В., Сенча Е.А. Возможности ультразвукового исследования с контрастным усилением в диагностике рака щитовидной железы. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2015; 6: 10-27.
13. Сенча Е. А. Ультразвуковое исследование с контрастным усилением в диагностике опухолей щитовидной железы. *Российский электронный журнал радиологии*. 2017; 7 (3): 44-52.
14. Сенча А.Н., Сенча Е.А., Пеняева Э.И., Тимофеева Л.А. Ультразвуковое исследование щитовидной железы. Шаг за шагом. От простого к сложному. М., МЕДпресс-информ, 2019. 208 с.
15. Стяжкина С.Н., Порываева Е.А., Климентов М.Н., Леднева А.В. Возможности иммуногистохимического исследования для оценки пролиферативной активности ткани щитовидной железы. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 2. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=26185> (дата обращения: 22.04.2019).
16. De Araujo-Filho VJ, Alves VA, de Castro IV, Lourenço SV, Cernea CR, Brandão LG, Ferraz AR. Vascular endothelial growth factor expression in invasive papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2009; 19: 1233-1237.
17. Viale G, Dell'Orto P, Coggi G, Gambacorta M. Coexpression of cytokeratins and vimentin in normal and diseased thyroid glands. Lack of diagnostic utility of vimentin immunostaining. *The American journal of surgical pathology*. 1989; 13 (12): 1034-40. Epub 1989/12/01.

References:

1. Alexandrov Yu.K., Yanovskaya E.A., Shubin L.B., Dyakiv A.D. The effectiveness of stratification systems in the diagnosis of thyroid nodular diseases. *Endocrinology problems*. 2019; 65 (4): 216-226 (in Russian).
2. Ternovoy S.K. Abduraimov A.B., Lesko K.A. and others. Possibilities of mammography and high-quality elastography in the diagnosis of breast cancer in hypothyroidism. *Ultrasound and functional diagnostics*. 2013; (5): 50-59 (in Russian).

sian).

3. Sencha A.N., Sencha E.A., Penyaeva E.I., Fedotkina E.P., Bikeev Yu.V., Timofeeva L.A. Ultrasound contrasts in echography. *Practical medicine*. 2018; 1 (112): 74-80 (in Russian).
4. Sinyukova G.T., Gudilina E.A., Danzanova T.Yu., Sholokhov V.N., Lepedatu P.I., Allakhverdieva G.F., Kostyakova L.A., Berdnikov S.N. Modern technologies of ultrasound imaging in the diagnosis of local recurrence of thyroid cancer. In-

- ternational research journal. 2016; 9-3 (51): 81-84 (in Russian).
5. Timofeeva L.A., Aleshina T.N., Maksimova A.V. The role of complex ultrasound in the assessment of primary thyroid cancer in the preoperative period *Vestnik Chuvash University*. 2013; 3: 540-545 (in Russian).
 6. Zhelonkina N.V., Poitina A.S., Polkin V.V., Ryzhenkova M.I., Parshin V.S., Medvedev V.S. Possibilities of echography in the differential diagnosis of follicular tumors of the thyroid gland. *Radiation and risk (Bulletin of the National Radiation Epidemiological Register)*. 2016; 25 (4): 35-45 (in Russian).
 7. Borsukov A.V. To be or not to be ti-rads: polemic notes from the Eurasian Forum on Thyroid Cancer. *Endocrine Surgery*. 2016; 10 (3): 33-36 (in Russian).
 8. Tukhbatullin M.G., Safiullina L.R., Galeeva Z.M., Khamzina F.T. and other *Echography in the diagnosis of diseases of internal and superficially located organs. Kazan, Med. book, 2016.208 (in Russian)*.
 9. Cantisani V., Bertolotto M., Weskott H.P., Romanini L., Grazhdani H., Passamonti M. et al. Growing indications for CEUS: the kidney, testis, lymph nodes, thyroid, prostate, and small bowel. *Eur. J. Radiol.* 2015; 84: 1675-1684
 10. Hu Y., Li P., Jiang S., Li F. Quantitative analysis of suspicious thyroid nodules by contrast-enhanced ultrasonography. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8 (7): 11786-11793.
 11. Zhao R.N. Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound of thyroid nodules coexisting with Hashimoto's thyroiditis. *Zhongguo Yi XueKeXue Yuan XueBao*. 2015; 37 (1): 66-70.
 12. Sencha A.N., Mogutov M.S., Penyaeva E.I., Patrunov Yu.N., Kashmanova A.V., Sencha E.A. Possibilities of contrast-enhanced ultrasound in the diagnosis of thyroid cancer. *Ultrasound and functional diagnostics*. 2015; 6: 10-27 (in Russian).
 13. Sencha EA *Ultrasound examination with contrast enhancement in the diagnosis of thyroid tumors. Russian electronic journal of radiology*. 2017; 7 (3): 44-52 (in Russian).
 14. Sencha A.N., Sencha E.A., Penyaeva E.I., Timofeeva L.A. *Ultrasound examination of the thyroid gland. Step by step. From simple to complex. M., MEDpress-inform, 2019. 208 p. (in Russian)*.
 15. Styazhkina S.N., Poryvaeva E.L., Klimentov M.N., Ledneva A.V. Possibilities of immunohistochemical studies to assess the proliferative activity of thyroid tissue. *Modern problems of science and education*. 2017; 2. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=26185> (date of access: 22.04.2019) (in Russian).
 16. De Araujo-Filho VJ, Alves VA, de Castro IV, Lourenço SV, Cernea CR, Brandão LG, Ferraz AR. Vascular endothelial growth factor expression in invasive papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2009; 19: 1233-1237.
 17. Viale G, Dell'Orto P, Coggi G, Gambacorta M. Coexpression of cytokeratins and vimentin in normal and diseased thyroid glands. Lack of diagnostic utility of vimentin immunostaining. *The American journal of surgical pathology*. 1989; 13 (12): 1034-40. Epub 1989/12/01.