

2. Нестеренко, Ю. А. Выбор метода пластики пахового канала при плановых операциях/ Ю. А. Нестеренко, С. А. Сайбулаев// Хирургия. –2008. – №12. – С.35–39.

3. Способ выбора метода хирургического лечения паховой грыжи: заявка № а 20180186 / В. С. Новицкая, А. Н. Михайлов, С. М. Смотрин, С. А. Жук, В. А. Копыцкий. – Оpubл. 04.09.2018.

4. Смотрин, С. М. Хирургическое лечение паховых грыж в Гродненском регионе / С. М. Смотрин, С. А. Визгалов // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегодной итоговой науч.-практ. конференции (25-26 января 2018 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. В.А.Снежицкий – Гродно : ГрГМУ, с. 701-704.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РАЗНООБРАЗИЕ МЕТОДОВ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ)

Зяблицкая Е. Ю., Степанова О. В., Зима Д. В., Макалиш Т. П.

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского
(структурное подразделение)

Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского

Актуальность. В эксперименте морфологическое исследование является ключевым для обоснования результатов научной работы, фотографии представляют собой лучший демонстрационный материал, а данные подсчетов и анализа количественных параметров – доказательную базу. В клинике морфология является ключом обоснования диагноза, определяет стадию болезни, тактику лечения, эндокринологического и онкомониторинга, прогноз. Щитовидная железа (ЩЖ) является доступным органом для морфологического исследования, предложена масса методов, среди которых исследователь может подобрать удачную комбинацию для решения научных задач [1-5].

Цель данного обзора: представить методологический раздел работы для морфологов-практиков и научных сотрудников, изучающих структуру и функции ЩЖ человека и млекопитающих животных.

Задачи работы: 1) обосновать эффективность структурно-функционального подхода в исследовании ЩЖ; 2) описать методы исследования ЩЖ на органном, тканевом, клеточном и ультраструктурном уровнях; 3) представить основы интерпретации результатов указанных методов.

Методы исследования. Работа проведена на ЩЖ лабораторных крыс линии Вистар и операционном материале ЩЖ хирургического отделения с соблюдением этических требований работы с экспериментальными животными и согласием пациентов. Исследования выполнены в Гистологической лаборатории ЦНИЛ Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ЦКП «Молекулярная биология». Использовали оборудование: станция вырезки LEEC ltd (Leica, Германия),

гистологический процессор LOGOS (Milestone, Италия), центр для заливки Leica EG 1150 (Leica, Германия), автоматический микротом Leica RM 2255 (Leica, Германия), лабораторный микроскоп Leica DM2000 (Leica, Германия), гистосканер Aperio CS2 (Leica, Германия).

Исследования выполнены в рамках проекта № АААА-А18-118112690030-2 от 26.11.2018, ФГАОУ ВО "КФУ им. В.И. Вернадского" Министерства высшего образования и науки РФ (внутренний конкурс), по теме «Патофизиологические механизмы неопластических и аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и оптимизация их цитологической и гистологической диагностики».

Результаты и выводы. Структурно-функциональный подход в исследовании ЩЖ. ЩЖ демонстративна в проявлении своей функции у человека при гипер-и гипотиреозе, в том числе изменениями личностных характеристик. Часто ее структурные особенности экспрессивны на органном уровне – деформация шеи, видимые узлы при ультразвуковом исследовании, показательна гистологическая картина, характеризующая функциональное состояние ткани. Это настраивает исследователя на комплексный структурно-функциональный подход, созвучный теориям соотношения структуры и функции в общей патологии и выражению отечественных клиницистов И. В. Давыдовского и В. Х. Василенко о том, что функция без структуры немыслима, а структура без функции бессмысленна. Функциональные методики дают уверенность в интерпретации морфологических результатов и рекомендованы для науки, в клинике они входят в стандарт обследования [1-5].

ЩЖ как мишень гипофизарного тиреотропина (ТТГ) является регулятором онтогенетических процессов роста и созревания. Тиреоидные гормоны являются универсальными стимуляторами, в связи с их широким спектром действия на метаболические процессы, нейроэндокринные механизмы регуляции морфогенеза и функций. В связи с этим изменения ЩЖ влекут за собой каскад системных процессов в органах регуляторных и висцеральных систем. Взаимодействия ЩЖ и репродуктивной системы через гипоталамо-гипофизарное звено регуляции обусловлено химическим сходством тропных гормонов, наличием циклических ритмов секреции ЩЖ, закономерных фазам овариального цикла. Тиреоидные гормоны активируют шишковидное тело и дисфункциональные состояния ЩЖ реализуются в различных нарушениях цикличности, частым итогом которых являются ановуляторные циклы.

Таким образом, в функциональную часть исследования ЩЖ целесообразно включать: 1) определение уровня тиреоидных гормонов в крови – тироксина (Т₄) и трийодтиронина (Т₃), гипофизарного ТТГ; 2) вычисление индексов гистологического строения ЩЖ (ниже), строение позволяет сделать вывод о функции; 3) косвенные данные – темпы прироста массы, температура тела, метаболические, гемодинамические,

дыхательные показатели, параметры генеративного аппарата, гормональной функции гонад, фертильность.

Важно учитывать суточные ритмы, в эксперимент брать самок с синхронизированным эстральным циклом, проводить исследования в диэструс.

Содержание T_4 в крови подвержено значительным колебаниям. У самцов уровень T_4 ниже, чем у самок (по нашим данным $36,4 \pm 9,3$ и $61,9 \pm 7,9$ нмоль/л, соответственно), но половые отличия данного показателя часто недостоверны, что связано с ошибкой средней. Синтез тироксина чувствителен к различным экспериментальным условиям. В отличие от этого, содержание T_3 часто стабильно в пределах группы ($2,0-2,2 \pm 0,1$ нмоль/л) [1]. Для интерпретации важно учесть ряд фактов биохимии, физиологии секреции и регуляции функций ЩЖ. T_4 и T_3 являются йодтиронидами, синтезируются в тироцитах или высвобождаются из тиреоглобулина при его протеолизе, стимулируемом ТТГ. Эти гормоны транспортируются в комплексе с белками, преимущественно с тироксинсвязывающим глобулином. ЩЖ секретирует преимущественно T_4 , из которого в тканях под действием дейодирующих ферментов образуется большая часть T_3 . Транспортные белки имеют большее сродство к T_4 , они определяют его концентрацию в сыворотке, ограничивают проникновение в клетки и периферический метаболизм. Ядерные рецепторы, напротив, имеют большее сродство к T_3 , и активность определяет преимущественно T_3 . На наш взгляд, уровень общего T_4 и общего T_3 (сумма свободной и связанной фракции) отражает не только функцию ЩЖ, но и картину физиологической регуляции, обусловленной «запросом периферии», уровнем гормонов-регуляторов, которыми являются рилизинг-факторы гипоталамуса, ТТГ, эстрогены и другие модулирующие гормоны, влияющие на синтез йодтиронинов и транспортных белков. Уровень T_3 отражает общую картину метаболизма – указывает анаболическую или катаболическую направленность обмена в периферических тканях (гипо-, гипер-, и эутиреоидное состояние), а T_4 – указывает на сдвиги центральной регуляции функции ЩЖ. При этом оба гормона взаимосвязаны, поскольку являются последовательными звеньями метаболической цепи, регулируемой по механизму обратной связи центра и периферии.

Анатомо-гистологические методы исследования ЩЖ. Показатели нормы морфологических параметров ЩЖ широко изучены и стандартизированы [4-5], характерна структурная и функциональная асимметрия: правая доля крупнее и более активна; поэтому важно исследовать обе доли. При исследовании ЩЖ у мелких грызунов после декапитации под эфирным наркозом, рассекают кожу в *regiocervicalisanterior*, отделяют поверхностные мышцы срединной группы, отпрепарировав участок гортани и верхнюю часть трахеи от

мышц, клетчатки и пищевода, отсекают участок воздухопроводящих путей длиной 8-12 мм. Зафиксировав препаровальной иглой трахею, отсекают от хрящей гортани и трахеи правую и левую доли. Доли имеют эллипсоидную форму, расположены по бокам, каудальнее гортани до уровня 4-5-го трахеальных колец, насыщенного буро-красного цвета; перешеек тонкий, часто не виден, расположен на вентральной поверхности трахеи. Целесообразно определять линейные размеры долей ЩЖ до ее отсечения от трахеи во избежание деформации. Вычислять объем можно по формуле $V = \pi ABC/6$, где V – объем, A – длина, B – ширина, C – толщина; или методом вытеснения жидкости. Для определения асимметрии долей проводят исследование $Ka = 100 * \frac{(F1-F2)}{F1}$, где Ka – коэффициент асимметрии, $F1$ – больший параметр, $F2$ – меньший.

По мере роста крыс выявляется увеличение размеров и объема железы. Максимально возрастает длина долей. Размеры ЩЖ в постнатальном онтогенезе не имеют половых особенностей. Высокая функциональная активность ЩЖ самок, связанная с репродуктивным циклом, приводит к тому, что она по объему не уступает железе более крупных самцов. Рождение крысят и лактация увеличивают объем железы, но прирост статистически незначим [1].

Для гистологического исследования доли отсекали скальпелем и помещали в 10% нейтральный формалин на 18 часов фиксации для светооптических методик и последующего пропитывания парафином. При выполнении иммуноморфологических методик в эксперименте с мелкими животными, при заливке целесообразно вручную монтировать мультиблок, для последующего изготовления серийных парафиновых срезов толщиной 4 мкм. Для электронной микроскопии и исследования полутонких срезов, залитых в смолы, необходимо часть правой доли сразу помещать в раствор глютарового альдегида на фосфатном буфере для стандартной пробоподготовки этой методики.

На парафиновых срезах оптимальны морфометрические исследования. Измеряли структуры в центральном участке максимального фронтального среза правой доли при увеличении 400х. С учетом вытянутой формы фолликулов, измеряли больший и меньший диаметры, высоту тироцитов в разных участках – в центре большей и меньшей полуокружностей; площадь фолликулов. Измеряли площади коллоида и стромы (в том числе сосудов); площадь эпителия вычисляли как разность общей площади и суммы площадей коллоида и стромы. При исследовании размеров фолликулов и тироцитов изучали по 6 наибольших фолликулов в поле зрения, а при исследовании плоскостных параметров – поле зрения. Данные исследования рекомендовано проводить в программе, где возможна калибровка, например в доступной IMAGEJ. На основании указанных параметров удобно вычислять индексы:

$\Phi\text{КИ} = S_{\text{э}}/S_{\text{к}}$, $\text{ИС} = S_{\text{э}}/S_{\text{с}}$, где $\Phi\text{КИ}$ – фолликулярно-коллоидный индекс (показатель зрелости железы), ИС – индекс склерозирования (соотношение стромально-сосудистого и паренхиматозного компонентов), $S_{\text{э}}$ – относительная площадь эпителия, $S_{\text{к}}$ – коллоида, $S_{\text{с}}$ – стромы; индекс Брауна (накопления коллоида) по формуле: $\text{ИБ} = D_{\text{ф}}/2H_{\text{т}}$, где ИБ – индекс Брауна (показывает функциональную активность), $D_{\text{ф}}$ – средний диаметр фолликула, $H_{\text{т}}$ – средняя высота тироцита.

Эти индексы являются обратными: их уменьшение свидетельствует об увеличении показателя и наоборот. Можно изучать эксцентриситет: $\text{Э} = (D - d)/d$, где Э – эксцентриситет (отражает степень отклонения фолликулов от круглой формы), D – больший диаметр фолликула ЩЖ, d – меньший.

У самок крыс в периоды 30-60, 60-90, 90-180 суток выявлено увеличение высоты тироцитов, диаметра и площади фолликулов. Рост показателей происходит синхронно, изменения не сопровождаются значимой динамикой относительного содержания паренхиматозных и стромальных компонентов, а также функциональных индексов при сравнении смежных возрастных групп. Отличия параметров ЩЖ у самок с разным репродуктивным статусом: у рожавших самок – уменьшение ИС вследствие активной васкуляризации; у лактирующих – прирост стромы, уменьшение площади эпителия и $\Phi\text{КИ}$. У самцов, начиная с 60 суток, синтез коллоида происходит столь интенсивно, что изменения его относительного содержания, а также соответствующая динамика индексов (уменьшение $\Phi\text{КИ}$ и рост ИБ) значимы между соседними возрастными группами. Со 180-х суток происходит стабилизация состояния железы, прирост площади эпителия и $\Phi\text{КИ}$. Различная возрастная динамика тканевых компонентов железы у самцов и самок отражена половыми отличиями гистометрических параметров. В 30 суток содержание коллоида у самцов меньше, к 90-м суткам этот показатель растет, что приводит к уменьшению $\Phi\text{КИ}$ и росту индекса Брауна. В 180-270 суток отличия незначимы.

На полутонких срезах ЩЖи увеличении 1000х хорошо визуализируются тироциты, входящие в состав фолликулов и расположенные парафолликулярно (не контактирующие с коллоидом), а также в островках интерфолликулярного эпителия (ИФЭ). Хорошо видна структура тироцитов в фолликулах (форма, «высота», выпуклый апикальный и уплощенный базальный полюса, расположение и строение ядер, вакуоли), структура капилляров и перикапиллярное пространство, ограниченное базальными мембранами тироцитов и эндотелиоцитов. Это важно для функциональной характеристики ткани железы. Площадь ИФЭ является составной частью общей площади эпителия, взятой за основу при расчетах $\Phi\text{КИ}$ и ИС , динамика которых важна для оценки степени зрелости. Островки ИФЭ на парафиновых срезах описаны как

скопления эпителиальных клеток и участки малодифференцированной паренхимы, они хорошо визуализируются на полутонких срезах и имеют первостепенное значение для исследования онтогенетических особенностей структуры. Очевидна закономерность: у молодых животных участки эпителия, не контактирующего на срезе с коллоидом заметно больше, как за счет фрагментов истинного ИФЭ, так и частей фолликулов при прохождении среза сквозь клетки без захвата полости, вследствие малого размера фолликулов, малого содержания коллоида и большой высоты тироцитов. Такие участки слабо дифференцируются от истинного ИФЭ. Мы выявили значительное преобладание эпителия над площадью коллоида и стромы у молодых крыс.

Существует два представления об интерфолликулярных островках: 1) это самостоятельные образования; 2) они появляются при прохождении среза через стенку фолликула, не захватывая его полость или с минимальным захватом полости (их описывают как микрофолликулы). Вторая точка зрения правомочна и подтверждается рядом данных электронной микроскопии. С любой точки зрения, увеличение площади ИФЭ (или эпителия, не контактирующего с коллоидом) является показателем роста, пролиферативной активности и низкой дифференцировки ткани железы.

Цитологический метод является также эффективным элементом исследования ЩЖ из материала, полученного методом тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ), он подробно изложен в специализированных пособиях [2] И оптимален на предоперационном этапе в клинике. Использование унифицированной классификации патологии железы по Bethesdasystem (2010) помогает определиться с тактикой консервативного или хирургического лечения.

Список литературы:

1. Бессалова Е. Ю. Анатомия щитовидных желез белых крыс в норме и при парентеральном введении ксеногенной спинномозговой жидкости // Патология. – 2011. – Т.8, № 3. – С. 100-103.
2. Воробьев С. Л. Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы (цитология для патологов, патология для цитологов). – СПб. : Издательско-полиграфическая компания «КОСТА», 2014. – 104 с.
3. Гордиенко В. М., Козырицкий В. Г. Ультраструктура желез эндокринной системы. – Киев: Здоровье, 1998. – 287 с.
4. Забродин В. А., Толстенкова Е. С., Васильева О. А. Сравнительно-морфологическое исследование щитовидной железы млекопитающих животных и человека // Морфология. – 2011. – Т. 140, № 4. – С. 27–31.
5. Хмельницкий О. К. Щитовидная железа как объект морфометрического исследования / О. К. Хмельницкий, М. С. Третьякова // Архив патологии. – 1998. – Т. 60, № 4. – С. 44–46.