

На правах рукописи

Джикаев Григорий Давидович

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО
АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА**

14.03.02 – патологическая анатомия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Волгоград-2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Боташева Валентина Салиховна.**

Официальные оппоненты:

Мозеров Сергей Алексеевич

доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой морфологии Обнинского института атомной энергетики – филиала федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

Орлинская Наталья Юрьевна

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «_____» _____ 2016 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.008.01 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, площадь Павших борцов, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной научной библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1; www.volgmed.ru)

Автореферат разослан «_____» _____ 2016 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук

Григорьева Наталья Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В настоящее время отмечается рост частоты аутоиммунных заболеваний в целом, в том числе хронического аутоиммунного тиреоидита, который занимает от 20 до 50 % в структуре тиреоидной патологии. По данным ряда авторов аутоиммунным тиреоидитом страдают 3-4 % населения России [Аметов А. С., 2001; Абдулхалимова М.М., 2002; Дедов И.И. и др., 2002; Ирмякова А.Р. и др., 2012; Репина Е.А. и др., 2013]. При этом сохраняется тенденция к увеличению частоты аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, особенно в экологически неблагоприятных регионах. Это обусловлено истинным ростом числа больных аутоиммунным тиреоидитом в экологически неблагоприятных регионах России [Бронников В.И. и др., 2005; Карлович Н.В. и др., 2005; Чурилов Л.П. и др., 2014], последствиями стресса, а также гипердиагностикой. Хронический аутоиммунный тиреоидит не имеет патогномичных клинических признаков, течение длительное и доброкачественное. Аутоиммунный тиреоидит протекает под масками других заболеваний щитовидной железы [Repina E.A. et al., 2013; Miyazaki M. et al., 2016; Кандроп В.И., 2001; Петунина, Н.А., 2002; Андросова Д.С., 2007].

Рост частоты аутоиммунного тиреоидита, трудности диагностики, отсутствие единой морфологической классификации и общепринятых морфологических критериев, противоречивые мнения ученых в отношении аутоиммунного тиреоидита свидетельствуют об актуальности данной проблемы и наличии множества нерешенных вопросов [Fallahi P. et al., 2016; Synoracki S. et al., 2016; Гринева Е.Н., 2003; Адамова Я.Г. и др., 2007].

В развитии аутоиммунного тиреоидита важную роль играют факторы внешней секреции. Среди исследователей существуют противоречивые мнения о риске развития аутоиммунного тиреоидита под влиянием генетических факторов и факторов окружающей среды [Guastamacchia E. et al., 2015; Ramos-Leví AM, Marazuela M., 2016; Wiersinga W.M., 2016; Кандроп В.И. и др., 1997; Алтухова Н.А. и др., 1999; Адамова Я.Г. и др., 2007]. Некоторые авторы считают, что высокие дозы йода могут привести к значительному увеличению частоты развития аутоиммунного тиреоидита [Luo Y. et al., 2014; Sun X. et al., 2014; Kolypetri P. et al., 2015]. В регионах с высоким содержанием йода в воде регистрируется широкая распространенность аутоиммунного тиреоидита. В йоддефицитных регионах аутоиммунного тиреоидит встречается реже. Однако, согласно данным других исследователей, распространенность аутоиммунного тиреоидита у жителей регионов с низким содержанием йода в воде достигает довольно высоких цифр до 27 % [Ajjan R.A., Weetman A.P., 2015; Kolypetri P. et al., 2015; Броверманн Л.И., 2000; Бронников В.И. и др., 2005; Алиева Л.Т., 2005; Андросова Д.С. и др., 2007]. Помимо гипотиреоза при аутоиммунном тиреоидите имеется риск малигнизации, что обусловлено пролиферацией тиреоцитов с образованием тяжелой или сосочковых структур. Пациенты с аутоиммунным тиреоидитом относятся к группе с повышенным риском малигнизации [Sahin M. et al., 2006; Nanba T. et al., 2009; Fiore E. et al., 2015; Krátký J., Jiskra J., 2015; Garcia-Rodriguez L., et al., 2016; Поверенный А.М. и

др., 2003; Петров В.Г. и др., 2004; Фридман М.В. и др., 2013; Морозов Д.А. и др., 2015].

По данным ряда авторов в патогенезе аутоиммунного тиреоидита важное значение имеет дефект иммунологического надзора, нарушение дифференцировки Т-лимфоцитов, а именно, снижение супрессивной и повышением хелперной функции, продукции органоспецифических антител к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе В-лимфоцитами и плазматическими клетками [Clark D.E., 1995; Jenkins R.C. et al., 2002; Fallahi P. et al., 2016; Петров С.В. и др., 2005, Вагапова Г.Р., 2007; Парамонова О.В. и др., 2010]. Таким образом, исследование особенностей патоморфогенеза и критериев морфологической диагностики хронического аутоиммунного тиреоидита является актуальной научной задачей [Pasquale M. D. et al., 2001; Bossowski A., 2007; Vojdani A., 2011; Yoo W.S., Chung H.K., 2016; Кузьменок О.И., 2000; Исаева М.А. и др., 2008; Репина Е.А. и др., 2012].

Цель исследования

Изучить закономерности морфологических изменений и критерии диагностики хронического аутоиммунного тиреоидита.

Задачи исследования

1. Исследовать заболеваемость аутоиммунным тиреоидитом в Ставропольском крае.
2. Выявить морфологические изменения в щитовидной железе при диффузной форме аутоиммунного тиреоидита на операционном и секционном материале.
3. Изучить морфологические изменения в щитовидной железе при узловой форме аутоиммунного тиреоидита и очаговом тиреоидите.
4. Охарактеризовать иммунофенотип тиреоидного эпителия и лимфоидных клеток при различных формах аутоиммунного тиреоидита.
5. Определить параметры областей ядрышковых организаторов при различных формах аутоиммунного тиреоидита.

Научная новизна исследования

1. Уточнены сведения и получены новые данные о структуре региональной тиреоидной патологии в Ставропольском крае и выявлена высокая частота (18%) аутоиммунного тиреоидита.
2. Впервые на основе проведенного анализа иммунофенотипа с использованием маркеров CD-3, CD-20, тиреоглобулина при различных формах аутоиммунного тиреоидита выявлены особенности соотношения различных видов лимфоцитов и эндокриноцитов в щитовидной железе.
3. Впервые с учетом экспрессии биомаркеров Ki-67, p53 и определения морфометрических параметров областей ядрышковых организаторов тироцитов дана комплексная характеристика процессов пролиферации, клеточной гибели и активности синтеза рибосомной РНК фолликулярного эпителия при различных формах аутоиммунного тиреоидита.
4. Впервые на аутопсийном материале выявлена высокая степень (35,1%) скрытой тиреоидной патологии, не диагностированной при жизни, среди которой доля аутоиммунного тиреоидита составляет 11,4%.

Научно- практическая значимость

Полученные результаты патологоанатомического исследования могут быть использованы в практическом здравоохранении при изучении операционного материала и проведении интраоперационных биопсий щитовидной железы, что улучшит качество патогистологической диагностики аутоиммунного тиреоидита.

Результаты иммуногистохимических исследований с применением маркеров Ki-67, p53, CD-3, CD-20 и тиреоглобулина углубляют и расширяют представления о характере морфологических изменений при хроническом аутоиммунном тиреоидите и могут быть использованы в фундаментальных патоморфологических исследованиях. Полученные результаты показателей областей ядрышковых организаторов тироцитов могут служить в качестве дополнительных критериев оценки пролиферативной активности фолликулярного эпителия при различных формах аутоиммунного тиреоидита для выявления дисплазий.

Полученные данные о характере морфологических изменений при аутоиммунном тиреоидите могут быть использованы для научных целей, при чтении лекций и проведении практических занятий по патологической анатомии, а также при составлении учебных и справочных пособий.

Основные положения, выносимые на защиту

1. За последние годы отмечается рост частоты аутоиммунного тиреоидита в Ставропольском крае. На аутопсийном материале определяется скрытая тиреоидная патология (аутоиммунный тиреоидит), не диагностированная при жизни. В структуре тиреоидной патологии скрытой аутоиммунный тиреоидит занимает третье место после эндемического зоба и аденом.
2. Комплексная патологоанатомическая характеристика аутоиммунного тиреоидита с использованием гистохимических, иммуногистохимических методов, последующим программным морфометрическим анализом, а также определением морфометрических параметров ядрышковых организаторов позволили уточнить имеющиеся и выделить новые морфологические критерии диагностики аутоиммунного тиреоидита.
3. Диффузная форма аутоиммунного тиреоидита характеризуется увеличением пролиферации клеток лимфоидного ряда с иммунофенотипом CD-3(+) и CD-20(+) на фоне уменьшения уровня экспрессии Ki-67 в тироцитах. При узловой форме отмечается усиление пролиферативной активности тироцитов в узловых образованиях, что свидетельствует об активации механизмов компенсаторно-приспособительного характера.

Апробация работы

Результаты исследования докладывались и обсуждались в материалах 8-ой научно-практической конференции врачей Карачаево-Черкесской республики (Черкесск, 2010), II конференции педиатров Северо-Кавказского Федерального округа (Пятигорск, 2011), на заседаниях краевого общества патологоанатомов (Ставрополь, 2011), на научно-практической конференции "Актуальные вопросы современной тиреоидной патологии (Ставрополь, 2012), на

международной конференции "Физиологические проблемы адаптации" (Ставрополь-Минск, 2015).

Внедрение результатов исследования

Основные положения и выводы диссертации внедрены в учебный процесс на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, в учебный процесс на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, в работу патологоанатомического отделения МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г.Ставрополя, в работу патологоанатомического отделения Карачаево-Черкесской республиканской клинической больницы.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 3 - в журналах перечня изданий Высшей Аттестационной Комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 140 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора, литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Список литературы включает 211 источников, в том числе 127 отечественных и 84 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 60 рисунками, 11 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Материалом для исследования послужили 134 медицинские карты больных с морфологически верифицированными диагнозами аутоиммунного тиреоидита, находившихся на лечении в хирургических отделениях 2-ой, 3-ей, и 4-ой городских больниц г. Ставрополя за 2009-2015 годы. Полученный материал анализировался по частоте, локализации и характеру патологического процесса. Проводили ретроспективный клинико-морфологический анализ историй болезни.

Проведено гистологическое исследование операционного и аутопсийного материала. Операционный материал представлен 134 щитовидными железами, взятыми во время операции у больных. Аутопсийный материал представлен 114 щитовидными железами, взятыми во время аутопсии в патологоанатомических отделениях у умерших от заболеваний, не связанных с патологией щитовидной железы. В качестве контрольного материал использовали 46 щитовидных желез, взятых в бюро судебно-медицинской экспертизы у лиц, погибших от несчастных случаев. Операционный материал исследован макроскопически и микроскопически. При макроскопическом исследовании определяли размеры, массу, форму, цвет, консистенцию, состояние капсулы. Затем ткань щитовидной железы разрезали на

параллельные пластины толщиной 0,5 см, осматривали поверхность разреза, определяли цвет, распространенность процесса (диффузный или очаговый), наличие очагов уплотнения, фокусов измененной ткани и кистозных полостей. При наличии узлов определяли их размеры, количество, цвет, консистенцию и характер поверхности. При наличии кистозных полостей описывали их содержимое и размеры. Особое внимание при макроскопическом исследовании уделялось состоянию капсулы (наличие или отсутствие капсулы, наличие спаек капсулы с окружающими тканями, толщина капсулы и дефекты в ней). Все обнаруженные подозрительные участки маркировали, из них брали кусочки для гистологического исследования. Кусочки фиксировали в 10 % нейтральном забуференном растворе формалина, проводили через спирты возрастающей крепости и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5-6 микрон. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, по Маллори в модификации Гейденгайна, толуидиновым синим, проводили ШИК-реакцию (по методу А.Л. Шабаша).

Иммуногистохимическое исследование проводили пероксидазо-антипероксидазным методом по стандартным диагностическим протоколам.

Материал подвергали фиксации в 10-% нейтральном формалине с последующей стандартной гистологической проводкой и заливкой в парафин. Визуализацию проводили с помощью непрямого иммунопероксидазного метода. Изготовленные парафиновые срезы (5 мкм) подвергали депарафинизации и обезвоживанию по стандартной гистологической методике.

Демаскировку антигенных детерминант проводили нагреванием в водяной бане при 98°C в течение 30 мин.

Иммуногистохимическое исследование проводили в соответствии с рекомендуемым протоколом фирмы производителя, подбирали рабочее разведение первичных антител и время инкубации. Для достоверности полученных результатов применяли позитивные и негативные контроли антител. В качестве хромогена использовали 3-диаминобензидин тетрагидрохлорид. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием биомаркеров Ki-67, p53, тиреоглобулина, CD 3, CD 20.

Для выявления ядрышкового организатора был использован метод, описанный D.Ploton и J.Crocker и модифицированный в отделе патологической анатомии ОНЦ РАМН. Готовили срезы из парафиновых блоков, после депарафинизации срезы фиксировали в смеси этанола с уксусной кислотой. Затем срезы инкубировали в 50 % растворе азотнокислого серебра /AgNO₃/. Для оценки активности ядрышковых организаторов определяли величину, форму и число аргентофильных гранул. Проводили подсчет гранул выборочно в 30 полях зрения при увеличении x900 под иммерсией. При подсчете определяли общее количество гранул, плотность гранул и расположение их [Боташева В.С., 2000].

Общую площадь и плотность областей ядрышковых организаторов (ОЯОР) определяли в 30 полях зрения с помощью компьютерной программы

"Видеотест Морфо", в которой создали методики дифференцировки ОЯОР на основании оптических параметров.

Проведено комплексное морфометрическое исследование гистологических препаратов щитовидной железы в контрольной группе и при различных формах АИТ. Морфометрическое исследование проведено в соответствии с принципами системного подхода в изучении количественно-пространственной организации морфологических структур в норме и патологии по методам Г. Г. Автандилова (1980, 1981, 1984, 1996), включающих в себя трехмерную реконструкцию морфометрических признаков на плоскости.

Для максимальной объективизации количественно-качественных изменений при аутоиммунном тиреоидите использован метод компьютерной микротелефотометрии. Комплекс морфометрических исследований включал в себя следующие параметры:

- 1) диаметр фолликулов;
- 2) определение средней высоты тиреоидного эпителия (А-клеток);
- 3) определение средней высоты В-клеток (клеток Ашкенази);
- 4) определение площади тироцитов (А-клеток);
- 5) определение площади В-клеток (клеток Ашкенази);
- 6) определение площади ядер.

Микрофотосъемку гистологических микропрепаратов с помощью микроскопа Leica DM 1000, фотодокументирование осуществляли цифровой камерой DFC 420 с программным обеспечением ImageScope M.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США), Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., США). В зависимости от характера данных использовали: ранговый однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса в сочетании с апостериорными критериями Дана (множественные сравнения для выборок разного объема); непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Для проверки распределения на нормальность использовали критерий Шапиро-Уилка. Статистически значимыми расценивались изменения при $p < 0,05$, рассчитывали 95% доверительный интервал d-Коэна [Реброва О.Ю., 2002; Сергиенко В.И. и др., 2012].

Результаты исследования и их обсуждение

Нами проведен анализ заболеваемости аутоиммунным тиреоидитом населения г. Ставрополя за 2009 - 2015 год.

Из 134 случаев 118 (88 %) составили женщины, 16 (11,9%) – мужчины, т.е. патологические процессы в щитовидной железе по нашим данным встречаются у женщин в 7 раз чаще, чем у мужчин. По возрасту материал распределился следующим образом (таблица 1).

При анализе распределения операционного материала показано, что количество оперативных вмешательств на щитовидной железе по поводу аутоиммунного тиреоидита увеличилось с 8,9 % в 2009 году до 18 % в 2015 году, т.е. почти в 2 раза. Данный показатель свидетельствует об увеличении числа больных с аутоиммунным тиреоидитом. Отмечается положительная динамика роста (табл. 1).

Таблица 1.

Количественное распределение операционного материала аутоиммунного тиреоидита по годам

Годы	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Всего
Количество случаев АИТ	12	13	18	22	22	23	24	134
	8,9%	9,7%	13,4%	16,4%	16,4%	17,7%	18,0%	100%

При анализе распределения материала по характеру патологического процесса выявлено, что наиболее часто (45,5 % случаев) встречается диффузная форма АИТ, узловая форма встречается в 28,4 % случаев. Очаговый тиреоидит в нашем материале составил 35 случаев (26,1 %) и встречался на фоне различных патологических процессов (табл. 2).

Таблица 2.

Распределение операционного материала по форме тиреоидита

Количество случаев	Гистологический диагноз			Всего
	Аутоиммунный тиреоидит, диффузная форма	Аутоиммунный тиреоидит, узловая форма	Очаговый тиреоидит	
	61	38	35	134
	45,5%	28,4%	26,1%	100%

Щитовидные железы, взятые во время аутопсии, исследованы макроскопически: определяли размеры, вес, состояние поверхности и вид на разрезе. Правую и левую доли железы разрезами на пластины толщиной 0,5 см. Для гистологического исследования брали кусочки из подозрительных мест.

Аутопсийный материал распределен на 3 группы:

I группа - неизменные щитовидные железы, использованные в качестве контрольного материала - 36 случаев (31,6 %).

II группа - щитовидные железы с возрастными атрофическими и склеротическими изменениями - 38 случаев (33,3 %)

III группа - щитовидные железы с наличием патологических изменений, не диагностированных при жизни - 40 случаев (35,1 %).

В третьей группе аутопсийных щитовидных желез выявлены различные патологические процессы, которые не были диагностированы при жизни, что составило 35,1 %. Таким образом, в эндемическом регионе (Ставропольском крае) у каждого третьего умершего обнаружены патологические изменения в щитовидных железах, т.е. имела место скрытая тиреоидная патология.

При исследовании аутопсийного материала патологоанатомических отделений из 114 случаев женщины составили 97 (85,1 %) случаев, мужчины - 17 (14,9 %) случаев. Патологические процессы в аутопсийных щитовидных железах чаще встречаются в возрасте от 40 до 60 лет (табл. 3).

Таблица 3.

Распределение аутопсийного материала в зависимости от возраста и пола умерших

Пол	Возраст (в годах)									Итого
	0-10	11-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80 и старше	
Женщины	-	4	5	13	32	28	12	3	-	97
Мужчины	-	1	2	3	5	4	2	-	-	17
Всего	-	5	7	16	37	32	14	3	-	114

Анализ, проведенного нами исследования операционного материала за 7 лет (2009-2015 гг.) показал, что число операций по поводу аутоиммунного тиреоидита увеличилось в 2 раза от 8,9 % до 18 %. Наибольшее увеличение оперативных вмешательств отмечено за последние 4 года. Среди оперированных больных преобладали женщины (88,1 %). Полученные нами результаты сопоставимы с данными других исследователей, согласно которым наблюдается увеличение заболеваемости АИТ за последние 30 лет, что связывается с загрязнением окружающей среды, улучшением методов диагностики и увеличением потребления йода [Ott J. et al., 2011; Luo Y. et al., 2014; Sun X. et al., 2014; Kolypetri P. et al., 2015; Хмельницкий, О. К., Елисеева Н. А., 2003].

Проведенные нами сопоставления клинического и гистологического диагнозов операционного материала показали, что имеет место гиподиагностика АИТ. В клинических диагнозах преобладает узловой (многоузловой) зоб.

Анализ результатов проведенного гистологического исследования операционного материала показал, что понятие «хронический аутоиммунный тиреоидит» является неоднородным и в нем можно выделить следующие формы: диффузная форма, узловая форма. Остается спорным вопрос об отношении очаговой формы тиреоидита к аутоиммунным процессам.

Диффузная форма аутоиммунного тиреоидита характеризуется наличием классических признаков аутоиммунного тиреоидита: уменьшение размеров фолликулов, уплощение паренхимы железы и замещение ее соединительной тканью с развитием склероза и гиалиноза, лимфоплазмочитарная инфильтрация с образованием лимфоидных фолликулов со светлыми центрами размножения. Лимфоидные инфильтраты могут быть 3 типов: мелкие без центров размножения, средние с формированием фолликулов и крупные с большими центрами размножения. Результаты морфометрических исследований продемонстрировали уменьшение диаметра фолликулов на 21,4 % ($p < 0,05$), уменьшение высоты фолликулярного эпителия на 50,0 % ($p < 0,05$), уменьшение площади тироцитов на 31,7 % ($p < 0,05$) и уменьшение площади ядер тироцитов на 41,0 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об атрофических процессах в паренхиме железы и подтверждается мнением ряда исследователей [Fallahi P. et al., 2016; Synoracki S. et al., 2016; Иванова О. И. и др., 2006; Адамова Я.Г. и др., 2007].

Результаты морфометрического исследования щитовидной железы при различных формах АИТ

Исследуемые параметры	Контрольная группа	Формы аутоиммунного тиреоидита		
		Диффузная форма	Узловая форма	Очаговый тиреоидит
Диаметр фолликулов, мкм	498,0 ± 0,01	107,6 ± 0,03*	204,8 ± 0,02*	231,4 ± 0,02*
Высота тиреоидного эпителия (А-клеток), мкм	10,2 ± 0,01	5,4 ± 0,03*	7,6 ± 0,03*	8,9 ± 0,01*
Площадь тироцитов (А-клеток), мкм ²	34,3 ± 0,01	10,8 ± 0,02*	25,2 ± 0,02*	17,8 ± 0,03*
Площадь ядер тироцитов, мкм ²	7,8 ± 0,01	3,2 ± 0,02*	5,6 ± 0,01*	5,8 ± 0,02*

Примечание: статистическая значимость различий с контрольным материалом обозначена* - $p < 0,05$.

Атрофические процессы в паренхиме железы сопровождаются снижением пролиферативной активности фолликулярного эпителия, что подтверждается уменьшением экспрессии маркера пролиферации Ki-67 на 3,0 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, уменьшением количества областей ядрышковых организаторов на 0,2 % ($1,6 \pm 0,03$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($1,8 \pm 0,02$ %), что свидетельствует о снижении пролиферативных процессов [Боташева В.С., 2000]. В очагах лимфоидной пролиферации наблюдается высокая экспрессия Ki-67 ($37,5 \pm 0,02$ %), а в центрах размножения - $70,0 \pm 0,03$ % ($p < 0,05$), что соответствует данными ряда авторов [Казаков С.П., 2004; Шанцева Т.Д. и др., 2004].

При сопоставлении гистологических и иммуногистохимических показателей четко определяется тенденция снижения экспрессии маркеров в участках атрофии паренхимы железы и высокая экспрессия в очагах лимфоидной инфильтрации и, особенно, в центрах размножения фолликулов. Выявленная закономерность свидетельствует о постепенном прогрессирующем снижении пролиферативной активности тироцитов.

Важным диагностическим критерием при АИТ является оксифильноклеточная трансформация фолликулярного эпителия. Оксифильноклеточная трансформация характеризуется появлением в щитовидной железе В-клеток (клеток Ашкенази), которые выстилают фолликулы железы или образуют солидные скопления. Отличительной

особенностью этих клеток является эозинофильная зернистость цитоплазмы и негативная реакция на тиреоглобулин.

При морфометрическом исследовании высота В-клеток (клеток Ашкенази) составила - $34,6 \pm 0,02$ мкм ($p < 0,05$) по сравнению с контролем ($10,2 \pm 0,01$ мкм), а их площадь - $69,2 \pm 0,01$ мкм² ($p < 0,05$) по сравнению с контролем ($34,3 \pm 0,01$ мкм²).

Таким образом, на основании проведенного морфологического исследования выявлены следующие гистологические иммуногистохимические и морфометрические критерии диагностики диффузной формы аутоиммунного тиреоидита:

- атрофия паренхимы железы: уменьшение диаметра фолликулов в 5 раз ($107,6 \pm 0,03$ мкм, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($498,0 \pm 0,01$ мкм);
- уплощение фолликулярного эпителия: уменьшение высоты тиреоидного эпителия в 2 раза ($5,4 \pm 0,03$ мкм, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($10,2 \pm 0,01$ мкм);
- лимфоидная инфильтрация стромы с образованием лимфатических фолликулов;
- оксифильноклеточная трансформация фолликулярного эпителия;
- низкий уровень экспрессии протеина Ki-67 в фолликулярном эпителии ($2,0 \pm 0,02$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($5,0 \pm 0,02$ %);
- низкий уровень экспрессии P53 в фолликулярном эпителии ($3,0 \pm 0,03$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($4,0 \pm 0,03$ %);
- слабо позитивная реакция на тиреоглобулин ($25,3 \pm 0,02$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($58,4 \pm 0,01$ %);
- высокий уровень экспрессии CD 20;
- уменьшение количества областей ядрышковых организаторов в тиреоидном эпителии ($1,6 \pm 0,03$ мкм², $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($1,8 \pm 0,02$).

Представленные критерии обоснованы результатами собственных исследований, морфометрическими и статистическими данными.

Сравнительная оценка результатов гистологического и иммуногистохимического исследований узловой формы аутоиммунного тиреоидита показала, что при узловой форме тиреоидита характерной особенностью является сочетание классических признаков аутоиммунного тиреоидита с наличием зобных узлов. Узлы чаще всего имели строение коллоидного зоба, в небольшом количестве случаев - паренхиматозного зоба. Узловые образования могут быть одиночные, но чаще всего множественные. Вне зобных изменений отмечается атрофия паренхимы железы и неравномерно выраженные склеротические изменения. Лимфоплазмочитарная инфильтрация сохраняется, имеются очаги оксифильноклеточной трансформации фолликулярного эпителия.

При морфометрическом исследовании выявлено уменьшение диаметра фолликулов ($204,8 \pm 0,02$ мкм, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($498 \pm 0,01$ мкм), уменьшение высоты фолликулярного эпителия ($7,6 \pm 0,03$ мкм, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($10,2 \pm 0,01$ мкм), уменьшение площади тироцитов ($25,2 \pm 0,02$ мкм², $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($34,3 \pm 0,01$ мкм²),

уменьшение площади ядер тироцитов ($5,6 \pm 0,01$ мкм², $p < 0,05$), по сравнению с контролем ($7,8 \pm 0,01$ мкм²), что свидетельствует о наличии атрофических процессов в паренхиме железы.

При узловой форме аутоиммунного тиреоидита: экспрессия Ki-67 в тироцитах колеблется в широких пределах - в участках атрофии и фиброза экспрессия Ki-67 снижена на 5 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, в зобно-измененной ткани экспрессия Ki-67 - умеренная, а в зонах лимфоидной инфильтрации - высокая.

Экспрессия протеина p53 при узловой форме тиреоидита выражена неравномерно: в участках атрофии паренхимы низкая ($12,5 \pm 0,02$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($4,0 \pm 0,03$ %), в зобно-измененной ткани умеренная, а в очагах пролиферации фолликулярного эпителия и лимфоцитарных инфильтратах высокая.

Наибольшие сложности возникают при диагностике узловой формы аутоиммунного тиреоидита. Многие патологоанатомы оценивают гистологическую картину данной формы тиреоидита как узловой (многоузловой) зоб с очаговым тиреоидитом. Для верификации гистологического диагноза и во избежание диагностических ошибок целесообразно использовать иммуногистохимические методы. Достоверными являются показатели экспрессии тиреоглобулина. При диффузной форме АИТ экспрессия тиреоглобулина на 33,1 % ниже ($p < 0,05$) по сравнению с контролем ($58,4 \pm 0,01$ %), а при узловой форме в зобно-измененных участках экспрессия тиреоглобулина на 17,9 % ($p < 0,05$) выше контрольных значений, отмечается цитоплазматическое окрашивание. Разнонаправленное изменение экспрессии тиреоглобулина при различных формах АИТ может частично объяснить отсутствие гипотиреоза у больных с различными уровнями анти-тиропероксидазных и анти-тироглобулиновых антител в плазме крови [Ehlers M. et al., 2016].

Важным диагностическим признаком АИТ в патоморфологии является оксифильноклеточная трансформация фолликулярного эпителия. Определяются очаги скопления клеток Ашкенази (В-клеток), которые выстилают фолликулы или образуют солидные скопления. В-клетки значительно крупнее по сравнению с фолликулярным эпителием, в цитоплазме их определяется оксифильная зернистость.

При узловой форме АИТ лимфоидная инфильтрация наблюдается в ткани щитовидной железы вне зобных образований. Изредка инфильтраты располагаются под капсулой узлов. Клеточный состав инфильтратов при узловой форме АИТ аналогичен диффузной форме - инфильтраты образованы CD 3 позитивными Т-лимфоцитами, а в центрах размножения фолликулов преобладают CD 20 позитивные В-лимфоциты.

На основании проведенного морфологического исследования выделены следующие гистологические, иммуногистохимические и морфометрические критерии диагностики узловой формы аутоиммунного тиреоидита:

- сочетание классических признаков АИТ с наличием узловых образований;

- атрофия паренхимы железы вне узлов: диаметр фолликулов уменьшен ($204,8 \pm 0,02$ мкм, $p < 0,05$) по сравнению с контролем в 2 раза;
- атрофия и уплощение фолликулярного эпителия: высота тиреоидного эпителия уменьшена ($7,6 \pm 0,03$ мкм, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($10,2 \pm 0,01$ мкм);
- склеротические изменения в строме железы очаговые;
- лимфоцитарные инфильтраты с образованием лимфатических фолликулов;
- оксифильноклеточная трансформация фолликулярного эпителия;
- умеренный уровень экспрессии Ki-67 ($10,0 \pm 0,01$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($5,0 \pm 0,02$ %) и повышенная экспрессия P 53 ($12,5 \pm 0,02$ %, $p < 0,05$), по сравнению с контролем ($4,0 \pm 0,03$ %).
- выраженная позитивная реакция на тиреоглобулин ($76,3 \pm 0,03$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($58,4 \pm 0,01$ %) в узловых образованиях, слабо позитивная реакция на тиреоглобулин в участках атрофии паренхимы;
- высокий уровень экспрессии CD-20 в лимфоидных фолликулах и, особенно, в центрах размножения.
- увеличение количества областей ядрышковых организаторов в тиреоидном эпителии в 2 раза ($3,2 \pm 0,01$ мкм², $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($1,8 \pm 0,02$).

Представленные критерии обоснованы результатами собственных исследований, морфометрическими и статистическими данными.

Взаимоотношения вторичного очагового тиреоидита и АИТ, как нозологических единиц, является одним из нерешенных вопросов в патологической анатомии. Очаговый тиреоидит является одним из нерешенных вопросов в отношении АИТ. Очаговый тиреоидит - это не самостоятельная форма АИТ, он встречается при узловых (многоузловых) зобах, аденомах, карциномах. Характеризуется наличием очаговых лимфоцитарных инфильтратов без центров размножения. Инфильтраты небольших размеров, состоят из Т-лимфоцитов. При очаговом тиреоидите отсутствуют оксифильноклеточная трансформация фолликулярного эпителия, отсутствуют деструктивные изменения паренхимы железы.

При морфометрическом исследовании наблюдается уменьшение диаметра фолликулов ($231,4 \pm 0,02$ мкм, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($498,0 \pm 0,01$ мкм), уменьшение высоты тиреоидного эпителия ($8,9 \pm 0,01$ мкм) по сравнению с контролем ($10,2 \pm 0,01$ мкм), уменьшение площади тироцитов ($17,8 \pm 0,03$ мкм², $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($34,3 \pm 0,01$ мкм²), уменьшение площади ядер ($5,8 \pm 0,02$ мкм², $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($7,8 \pm 0,01$ мкм²).

При иммуногистохимическом исследовании отмечается невысокая экспрессия Ki-67 и P53, реакция на тиреоглобулин в очагах лимфоидной инфильтрации негативная.

Анализ результатов гистологического и иммуногистохимического исследования показал, что при очаговом тиреоидите отсутствует ряд классических признаков АИТ, а именно, оксифильноклеточная трансформация фолликулярного эпителия, формирование фолликулов с центрами размножения. Полученные нами результаты подтверждают мнение о том, что

очаговый тиреоидит, не являясь самостоятельным заболеванием, возникает как хроническая воспалительная реакция в ответ на повреждение паренхимы щитовидной железы [Fiore E. et al., 2015; Krátký J., Jiskra J., 2015; Garcia-Rodriguez L., et al., 2016; Фридман М.В. и др., 2013; Морозов Д.А. и др., 2015].

Параметры областей ядрышковых организаторов при очаговом тиреоидите почти не изменились в сравнении с контрольной группой.

На основании проведенного морфологического исследования выделены следующие гистологические, иммуногистохимические и морфометрические критерии диагностики очагового тиреоидита:

- наличие очаговых лимфоцитарных инфильтратов без формирования фолликулов со светлыми центрами;
- сочетание очаговых инфильтратов с другими патологическими процессами в щитовидной железе;
- отсутствие оксифильноклеточной трансформации эпителия;
- экспрессия протеина Ki-67 ($6,5 \pm 0,06$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($5,0 \pm 0,02$ %), P53 ($5,0 \pm 0,05$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($4,0 \pm 0,03$ %), тиреоглобулина ($67,2 \pm 0,03$ %, $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($58,4 \pm 0,01$ %);
- умеренные показатели параметров ядрышковых организаторов тироцитов ($2,0 \pm 0,03$, $p < 0,05$);
- слабопозитивная реакция на CD 20 в инфильтратах.

Представленные критерии обоснованы результатами собственных исследований, морфометрическими и статистическими данными.

Области ядрышковых организаторов (ОЯОР) - это участки вторичных перетяжек десяти акроцентрических хромосом, которые локализованы на их коротких плечах. В указанных локусах находятся гены, которые кодируют рибосомные РНК (рРНК) и с ними ассоциированы кислые негистоновые белки: С23/нуклеолин, 110К-протеин, 80К-протеин, В23/нуклеофозилин, фосфопротеины РР135 и РР05. Негистоновые белки обладают аргирофильными свойствами и хорошо окрашиваются нитратом серебра. Ag-ОЯОР-белки контролируют митотический цикл клетки и скорость прохождения различных фаз цикла. Установлена прямая зависимость между пролиферативной активностью клетки и уровнем экспрессии негистоновых белков [Боташева В.С., 2000].

При исследовании ОЯОР анализ полученных результатов показал, что при диффузной форме аутоиммунного тиреоидита общая площадь ядрышковых организаторов тироцитов не увеличивается, что свидетельствует о низкой пролиферативной активности клеток фолликулярного эпителия [Боташева В.С., 2000].

При узловой форме АИТ общая площадь ОЯОР увеличивается почти в 2 раза ($0,17 \pm 0,01$ мкм², $p < 0,05$) по сравнению с контролем ($0,08 \pm 0,02$ мкм²). Значительное увеличение площади ОЯОР выявлено в узловых образованиях, что свидетельствует о высокой пролиферативной активности фолликулярного эпителия. При очаговом тиреоидите общая площадь ОЯОР увеличивается незначительно ($0,11 \pm 0,02$ мкм², $p < 0,05$).

Таким образом, на основании проведенного исследования ОЯОР (общая площадь, увеличение количества и увеличение плотности гранул) выявлена прямая зависимость между активностью ОЯОР и степенью пролиферации тироцитов. Параметры ОЯОР могут быть дополнительными критериями пролиферативной активности тироцитов при различных формах аутоиммунного тиреоидита.

ВЫВОДЫ

1. В Ставропольском крае заболеваемость аутоиммунным тиреоидитом выросла за 7 лет (2009-2015 гг.) от 8,9‰ до 18‰. Аутоиммунный тиреоидит встречался в 7 раз чаще у женщин, чем у мужчин.
2. При исследовании аутопсийного материала выявлено наличие скрытой тиреоидной патологии в 35,1% случаев, а доля аутоиммунного тиреоидита среди них составила 11,4%.
3. При гистологическом исследовании операционного материала щитовидных желез обнаружено, что диффузная форма аутоиммунного тиреоидита характеризуется выраженными атрофическими изменениями паренхимы железы, активацией десмопластических процессов с диффузными склеротическими изменениями в строме, оксифильноклеточной трансформацией тиреоидного эпителия и лимфо-плазмноклеточной инфильтрацией.
4. Узловая форма аутоиммунного тиреоидита характеризуется наличием узла с нечетко выраженной капсулой, полиморфностью строения, пролиферацией эпителия на фоне атрофических и склеротических изменений. Очаговый тиреоидит характеризуется наличием очаговых инфильтратов в строме щитовидной железы при различных патологических процессах и не является самостоятельной формой аутоиммунного тиреоидита.
5. Обнаруженное при иммуногистохимическом исследовании снижение уровня экспрессии Ki-67 в тироцитах на 3,0%, уменьшение экспрессии тиреоглобулина на 35,1 % при диффузной форме аутоиммунного тиреоидита свидетельствует о нарушении процессов пролиферации и снижении секреторной активности тиреоидного эпителия. Увеличение экспрессии Ki-67 на 5,0 %, усиление экспрессии p53 на 8,5 % и усиление экспрессии тиреоглобулина на 17,9 % при узловой форме аутоиммунного тиреоидита свидетельствуют об усилении пролиферативных процессов тироцитов, на фоне активации проапоптозных механизмов и повышении секреторной активности тиреоидного эпителия как проявление компенсаторной реакции в щитовидной железе.
6. В лимфоидных фолликулах и инфильтратах при аутоиммунном тиреоидите выявлены отличия в распределении Т- и В-клеток: определялась наиболее высокая экспрессия CD-20 в центрах размножения лимфоидных фолликулов, наиболее высокая экспрессия CD-3 обнаруживалась в мантийной зоне лимфоидных фолликулов. При очаговом тиреоидите лимфоидные инфильтраты состояли из CD-3 позитивных Т-лимфоцитов.
7. При диффузной форме аутоиммунного тиреоидита уменьшается количество ядрышковых организаторов в одном тироците на 25%, общая площадь их

уменьшается на 11,1%, что свидетельствует о снижении функциональной активности ядрышек. При узловой форме аутоиммунного тиреоидита наблюдается увеличение количества ядрышковых организаторов тироцитов в 2 раза, общая площадь ядрышек увеличивается в 2 раза, что свидетельствует о повышении активности ядрышковых организаторов в тироцитах как проявление компенсаторной реакции в щитовидной железе.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Представленные результаты морфологических изменений в щитовидной железе при аутоиммунном тиреоидите могут быть использованы: в учебном процессе на кафедрах патологической анатомии и эндокринологии; при оформлении аналогичных разделов учебных пособий и монографий; в патологоанатомических отделениях учреждений здравоохранения для диагностики различных форм аутоиммунного тиреоидита на операционном материале с применением иммуногистохимических методов и показателей областей ядрышковых организаторов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Боташева, В. С. Аутоиммунный тиреоидит (Зоб Хашимото) / В. С. Боташева, Г. Д. Джикаев // Актуал. пробл. практ. здравоохранения: 8-ая науч.-практ. конф. врачей Карачаево-Черкесской респ. : [сб. тез.] – Черкесск, 2010. – С. 30-32.
2. Боташева, В. С. Диагностическая значимость В-клеточной гиперплазии в диагностике различных патологических процессов щитовидной железы / В. С. Боташева, Г. Д. Джикаев, О. И. Севрюкова // Материалы IV Всерос. съезда патологоанатомов. – Белгород, 2013. – С. 234-235.
3. **Боташева, В. С. Комплексное гистологическое и иммуногистохимическое исследование В-клеток при аутоиммунном тиреоидите и неопластических процессах щитовидной железы / В. С. Боташева, Г. Д. Джикаев, О. И. Севрюкова // **Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4, ч. 1. – С 48-50.****
4. Боташева, В. С. Морфологические особенности очагового тиреоидита / В. С. Боташева, Г. Д. Джикаев // 15-я ежегодная Неделя медицины Ставрополя: науч.-практ. конф. : сб. науч. работ. –Ставрополь, 2011. – С. 70-71.
5. Боташева, В. С. Особенности течения аутоиммунного тиреоидита у лиц пожилого возраста / В. С. Боташева, Г. Д. Джикаев, Л. Е. Петрова // Актуал. вопр. гериатрии: материалы второй конф. гериатров Сев.-Кавказ. федер. округа «Качество жизни лиц пожилого и старческого возраста – зеркало здоровья населения». – Пятигорск, 2011. – С. 92-94.
6. **Боташева, В. С. Оценка пролиферативной активности и апоптоза при аутоиммунном тиреоидите / В. С. Боташева, Г. Д. Джикаев, О. И.**

Севрюкова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2013. – № 2. – С. 62-64.

7. Боташева, В. С. Показатели областей ядрышковых организаторов тиреоцитов при аутоиммунном тиреоидите / В. С. Боташева, Г. Д. Джикаев // Физиологические проблемы адаптации: сб. науч. статейМеждунар. конф., посвящ. 45-летию каф. анатомии и физиологии, единению научного сообщества физиологов России иРесп. Беларусь (18-20 нояб. 2015 г.) – Ставрополь, 2015. – С. 37-39.
8. Боташева, В. С. Роль В-клеток щитовидной железы при аутоиммунном тиреоидите Хасимото / В. С. Боташева, Л. П. Гордеева, Г. Д. Джикаев // Вестн. медицины. – 2013. – № 13. – С. 17-18.
9. Джикаев, Г. Д. Актуальные вопросы диагностики аутоиммунного тиреоидита / Г. Д. Джикаев // Фундаментальные исследования в биологии и медицине : [сб. науч. тр.]. – Ставрополь, 2011. –Вып.IX. – С. 32-35.
10. Джикаев, Г. Д. Морфологические критерии активности аутоиммунного тиреоидита / Г. Д. Джикаев // Вестн. молодого ученого. – 2012. – № 1. – С. 21-23.
11. **Джикаев, Г.Д. Особенности лимфоцитарной инфильтрации щитовидной железы при очаговом и аутоиммунном тиреоидите / Г. Д. Джикаев // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10, ч. 3. – С. 498-500.**