

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ГЮНЕЙ МУСА КЫЗЫ ГАНИЕВА

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНАТОМИЧЕСКИХ И
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В НОРМЕ И ПРИ РАЗЛИЧНЫХ
ФОРМАХ ЗОБА**

3241-01 – «Анатомия человека»

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени доктора
философии по медицине

Баку – 2016

Работа выполнена в Научно-Исследовательском Центре Азербайджанского Медицинского Университета и в департаменте клинической и экспериментальной патологии Института Морфологии им. А.Н. Натишвили при Тбилиском Государственном Университете им. И.А. Джавахишвили.

Научный руководитель:

академик РАН, з.д.н.,
доктор наук по медицине,
профессор

В.Б. Шадлинский

Официальные оппоненты:

доктор наук по медицине, профессор
доктор философии по медицине

Н.Т.Мовсумов
А.Г.Дамиров

Ведущее учреждение: Кафедра анатомии человека и биомеханики Азербайджанской Государственной Академии Физкультуры и Спорта

Защита диссертации состоится «_24_»_02_____2016г. в
«_____» часов на заседании Диссертационного совета FD 03.013 при
Азербайджанском Медицинском Университете

Адрес: AZ1078, г. Баку, ул. Марданов Гардашлары, 100 (Физико-химический корпус АМУ, II этаж, кафедра патофизиологии)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Азербайджанского Медицинского Университета.

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь
Диссертационного
совета FD 03.013
д.м.н., профессор

М.К.Аллахвердиев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В условиях роста числа различных патологий щитовидной железы (ЩЖ) большое значение придается идентификации морфологических изменений железистой ткани. Структурные трансформации в железе связаны не только с пролиферативными изменениями отдельных компонентов системы тиреонов, но и с дезорганизацией нормальных структур гисто-гематического барьера этого органа. Последнее приводит к нарушениям функции трофических, дифференциальных и специализированных структурных элементов.

Вопросы усовершенствования диагностических критериев дисфункции ЩЖ занимают особое место в современной эндокринологии и патологии. По данным литературы (Шадлинский В.Б., 1999; Коган Е.А. и др., 2006; Полоз Т.Л. и др., 2006; Магеррамова З.З., 2010; Gogiachvili L. и др., 2007) при высокоразрешающем узловом сканировании узлы в ЩЖ определяются у каждого второго обследуемого. По информации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в разных районах планеты возросло количество заболеваний раком ЩЖ, возникших на фоне предшествующих доброкачественных процессов в органе (Васильева О.А., 2006; Agini-Lombardi, Antonangeli L. et al., 2007; Zimmerman M., Wegmuller R. et al., 2010).

Фундаментальные исследования по проблеме пато- и морфогенеза заболеваний ЩЖ в районах Азербайджана и Грузии, характеризующихся общностью климатогеографических показателей (сухая, полуаридная зона с малым количеством осадков) и демографических данных, таких как, слабая урбанизация, преимущественная занятость населения в сельскохозяйственном производстве, не проводились. Значительный удельный вес заболеваемости ЩЖ приходится на детей и лиц репродуктивного возраста. В обоих исследуемых регионах преобладают формы узлового токсического зоба у лиц обоего пола в молодом и среднем возрасте. Йодопрофилактика эффективна у детей до 15 лет за счет снижения частоты новых случаев заболеваемости за период 2007-2010 год, однако это не влияет на показатели регрессии зоба у взрослого населения (Цхоидзе Ю.Т., 1965; Маркоу К.Б. и др., 2001; Касаткина Э.П., 2006).

По данным ВОЗ, горные районы Азербайджанской части Кавказа являются риск-зоной высокого распространения зоба как у взрослых, так и у детей школьного возраста. Имеются эпидемио-

логические исследования особенностей рака и других поражений ЩЖ в приграничных с Азербайджанской Республикой районах Ирана (Larijani B. et al., 2005).

Патология ЩЖ наиболее зависима от состояния окружающей среды. Функция ЩЖ тонко реагирует на природные и техногенные факторы, поэтому ЩЖ часто рассматривается как маркер экологического неблагополучия региона.

Основная причина экологических проблем в нашей Республике заключается в низком уровне воды при нефтегазовой добыче, а также питьевой воды, образовании искусственных озер, вызванных нарушением контроля над водным слоем, и аккумуляции воды на данной территории в процессе очистки нефти. Такие районы Абшерона как Гарадаг, Бинагади, Сураханы, Сабаил считаются особенно загрязненными нефтью и нефтепродуктами, и находятся под пристальным вниманием медиков и экологов. Меры по улучшению экологической ситуации в данном регионе регулируются указом Президента Азербайджанской Республики: «Комплекс мер с 2006-2010 г.г. по улучшению экологической ситуации в Республике Азербайджан».

За последние годы в связи с глобальным изменением климата и антропогенными воздействиями частота патологии этого органа возросла, значительно изменился клинико-морфологический спектр повреждений.

Все вышесказанное подтверждает, что из всех видов эндокринной патологии ЩЖ наиболее тесно связаны с окружающей средой, поскольку структура и функция железы во многом зависят от поступления в организм йода и других микроэлементов.

По современным представлениям, в патогенезе заболеваний ЩЖ ведущее значение придается аутоиммунным механизмам (Балаболкин М.Н., 1986; Armengol M. et al., 2001; Zois C., Stavrou I. et al.; 2003). На сегодняшний день уже не вызывает сомнения тот факт, что диффузный токсический зоб (ДТЗ) аутоиммунное заболевание.

Из заболеваний ЩЖ в клинической практике наиболее часто встречается узловое перерождение тиреоидной паренхимы без нарушения функции железы. На сегодняшний день этиология и патогенез эутиреоидного зоба, неизвестны (Алиев З.О., 2006; Фадеев В.В., 2003, 2007; Chachibaia V., Gogiashvili L., et al., 2002).

В последние годы внимание специалистов сфокусировано на факторах ангиогенеза, так как ангиогенез считается решающим фактором роста и метастазирования опухолей. В этом плане, эндо-

кринные железы являются наиболее востребованной экспериментальной моделью изучения ангиогенеза. Несмотря на многочисленные исследования различных форм зоба (Шадлинский В.Б., 1999; Коган Е.А. и др., 2006; Полоз Т.Л. и др., 2006; Gogiashvili L. et al., 2007), информация с учетом иммуногистохимических факторов роста ЩЖ, остается недостаточной.

Вышеуказанные факторы убеждают нас в том, что вопросы структурного патоморфоза неопухолевых заболеваний ЩЖ продолжают оставаться актуальной проблемой морфологических наук, клинической эндокринологии и патологии.

Цель исследования. Изучение структурно-функциональных особенностей перестройки ткани ЩЖ в норме и при различных формах зоба (диффузный токсический, многоузловой токсический и узловой эутиреоидный зоб) на операционном материале с оценкой экспрессии ростстимулирующих факторов и факторов ангиогенеза.

Задачи исследования:

1. Дать оценку изменениям гистологического, ультраструктурного и морфометрического профиля паренхимы щитовидной железы при диффузном, многоузловом токсическом (гипертиреоз) и узловом эутиреоидном зобе;

2. Дать оценку гистологического, электронно-микроскопического и морфометрического профиля сосуристо-стромального комплекса щитовидной железы при токсической и эутиреоидной формах зоба;

3. Дать характеристику структурным особенностям и пространенности экспрессии молекулярных маркеров ангиогенеза при гипер- и гипofункции ЩЖ: определить маркерное прогностическое значение отдельных факторов роста с целью оценки гиперпластических тенденций по конкретным формам зоба.

4. Выявить взаимноотношения между паренхимой и сосуристо-стромальным компонентом при различной функциональной активности щитовидной железы.

Научная новизна. В результате анатомического, гистологического, иммуногистохимического (ИГХ), ультраструктурного и морфометрического исследования изменений, протекающих в эпителиальных клетках при заболеваниях ЩЖ впервые были показаны:

Морфология ЩЖ при гипертиреозе характеризуется удлинением активного капиллярного русла, гипертрофией и гиперплазией ядер тиреоцитов, отчасти их стратификацией, возрастанием объемных

долей митохондрии. При гипертиреозе отмечены низкий индекс отмирания ядер тиреоцитов по сравнению с эутиреоидным зобом, утолщение базальных мембран фолликулов и капилляров. Диффузная лимфоидноклеточная инфильтрация, приводит к снижению объема функционирующей паренхимы, и участвует в уменьшении продукции тироксина, переходящего в гипотиреоз.

Показано, что индекс гибели ядер и структурно-функциональная активность лизосом при многоузловом токсическом зобе (МТЗ) повышен по сравнению с ДТЗ, что указывает на высокую катаболическую активность и на деструктивные процессы.

При УЭЗ в паренхиме выявлены высокий индекс гибели ядер, резкий рост площади капилляров, рост активности лизосомного аппарата, редукция органелл и обширные участки цитолиза.

Выявлено, что при токсической форме зоба активируется рецепторный статус тиреоцитов и эндотелиоцитов к сосудистому эндотелиальному фактору роста (VEGF) с одновременным увеличением плотности сосудистой сети. В отличие от токсической формы зоба при УЭЗ снижается площадь занятая сосудистыми структурами, что указывает на отсутствие неоангиогенеза.

Практическая значимость исследования. Проведенное исследование позволяет оптимизировать методы лечения пациентов с узловым зобом: вариабельность в структуре ЩЖ и ее сосудистой сети позволяет наметить новые подходы к хирургическому и медикаментозному лечению, обосновать целенаправленные лечебно-профилактические мероприятия по снижению заболеваемости ЩЖ, особенно, йододефицитных состояний. Кроме того эти данные могут быть использованы при дифференциальной диагностике заболеваний ЩЖ. Полученные сведения также весьма полезны при разработке методических рекомендаций, написании учебных пособий и монографий по эндокринологии.

Основные положения диссертации, представленные на защиту:

1. При токсических формах зоба (диффузный, многоузловой) средние показатели диаметра просвета капилляров, площадей тиреоцитов, их цитоплазмы и ядер, количества фолликулов и тиреоцитов, а также коэффициент митотической активности достигают более высокого значения по сравнению с другими формами зоба. Ультраструктурные изменения фолликулярного эпителия указывают на усиление

синтетических, транспортных и энергетических процессов на клеточном уровне.

На фоне гиперфункции железы при МТЗ повреждения мембранных структур и внутриклеточные деструктивные процессы выражены более резко, чем при ДТЗ;

2. Для УЭЗ характерна низкая интенсивность синтетических, транспортных и энергетических процессов. Отмечается резкий рост повреждений мембранных структур и внутриклеточных деструктивных процессов, что проявляется в высоком индексе отмирания ядер, в росте активности лизосомального аппарата, редукции органелл, существовании обширных участков цитолиза. Эти факты можно считать выражением усиления катаболических процессов;

3. При УЭЗ рост площади капилляров по сравнению с токсическим зобом, в определенном смысле определяют стабильность эутиреоидного состояния железы;

4. При УЭЗ выявляется увеличение количества клеток Hürtle на фоне полнокровия и неоангиогенеза, что предопределяет прогностический признак клеточной дисплазии тиреоидной паренхимы. Поэтому использование лишь одного из морфологических методов не всегда является решающим для оценки потенциала опухолевого роста.

Практическое внедрение. Полученные данные диссертационной работы внедрены на кафедрах анатомии человека и внутренних болезней II Азербайджанского Медицинского Университета.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ (перечень см. в конце автореферата).

Апробация работы. Диссертация апробирована на межкафедральной заседании кафедры анатомии человека (протокол № 02 от 04.12.2015г.) и на семинаре апробационной комиссии диссертационного совета F/D 03.013 при Азербайджанском Медицинском Университете (протокол № 01 от 15.01.2016 г.).

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на: юбилейной конференции, посвященной к 115-летию со дня рождения профессора А.М. Алиева (Баку, 2012), юбилейной конференции, посвященной к 95-летию кафедры анатомии человека Азербайджанского Медицинского Университета (Баку, 2014), XIII конгрессе Международной Ассоциации Морфологов и VII съезд ВНОАГЭ (Тюмень, 2014), XVIII конгрессе Международной Федерации Ассоциаций анатомов (Пекин, 2014), Международном

конгрессе “Euromedica” (Ганновер, 2014), конференции, посвященной результатам научно-исследовательской работы сотрудников АМУ на тему «Актуальные проблемы медицины» (Баку, 2014).

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 158 печатных страницах, состоит из введения, обзора литературы (глава I), материала и методов исследования (глава II), результатов собственных исследований (глава III, IV, V), обсуждения полученных результатов, 6 выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает названия 257 источников, из которых 8 отечественных и 250 зарубежных. Собственные исследования документированы 46 фотографиями и 9 таблицами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом изучения был выбран операционно-биопсийный материал от пациентов обоего пола, которые оперировались по поводу токсического и узлового эутиреоидного зоба в разных клиниках Азербайджанского Медицинского Университета в период от 2010-го до 2012-го года. Все пациенты были жителями Азербайджана и проживали в различных районах. В работе использован также ретроспективный анализ материала из образцов ЩЖ за период 2007-2009 гг. от пациентов из тех же регионов Азербайджана.

Часть материала получена от лиц, проживающих в приграничных районах Грузии и Азербайджана (Лагодехи, Сагареджо, Марнеули, Закатала, Белокань, Шеки, Ганджа), наблюдавшихся в Национальном Институте Эндокринологии Тбилиси (Грузия).

Обработка клинических данных проводилась по разработанной нами анкете, в которой учитывали: 1) пол; 2) возраст; 3) местожительство; 4) длительность анамнеза; 5) характер дооперационного лечения; 6) фактор наследственности, причем у женщин фиксировали также гинекологический анамнез; 7) анализ данных тонкоигольной аспирационной биопсии – FNA и количество узлов; 8) наличие других хирургических вмешательств. Общее количество историй болезней составило 789 случаев патологии ЩЖ.

Когортную группу исследования составили 383 пациента, из них 107 лица, проживающие в приграничных регионах Азербайджана и Грузии, получающие специализированную медицинскую помощь в клинике Национального Института Эндокринологии Тбилиси. Сводные данные о клиническом материале представлены в таблице.

Таблица

Распределение клинического материала по нозологии

узловой эутиреоидный зоб	токсический зоб		всего
	диффузный	узловой (многоузловой.)	
241	83	59	383

Контрольную группу из 25 наблюдений (условно «норма») составили материалы из Объединения Судебно-Медицинской Экспертизы и Патологической Анатомии Минздрава Азербайджанской Республики (лица обоего пола, не имеющие в анамнезе эндокринной патологии).

Наследственная отягощенность по болезням ЩЖ выявилась у 47% лиц когортной группы (180). Женщины составили основную группу пациентов (женщин- 306, мужчин - 77). Возраст пациентов от 12 до 71 лет (средний возраст $42,3 \pm 8,66$).

А) Материалы по диффузному токсическому зобу.

В когортной группе пациентов из 383 наблюдений ДТЗ отмечался в 83 случаях, среди них преобладали мужчины в возрасте 19-49 лет ($n=44$). Во всех случаях ЩЖ была диффузно увеличена. У 64,5% больных зафиксирован зоб III степени; у 27,9% – IV степени; у 6,38% – V степени.

Б) Материалы по многоузловому токсическому зобу.

Из числа гипертиреозов МТЗ наблюдался в 59 случаях (женщин – 51, мужчин – 8). Возраст больных от 35 до 55 лет, длительность заболевания от 1-го до 5 лет. Симптоматика включала нарушение гемодинамики, потливость, дрожание, снижение веса, апатию, общую слабость, аритмии. Во всех случаях отмечалось наличие «токсикоза- T_3 » – избыток трийодтиронина в плазме.

В) Материалы по узловому эутиреоидному зобу.

Наиболее распространенный тип патологии ЩЖ в нашем материале. Из 241 случаев в 77 имел место УЭЗ, (224 – женщины, 17 – мужчин) возраст – от 12-ти до 71 лет. УЭЗ, в целом преобладал у женщин в возрасте от 30 до 60 лет (средний возраст $37,8 \pm 10,2$). Длительность заболевания варьировала от нескольких месяцев до 20 лет.

Серийные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по методу ван Гизона.

Для целей электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5% забуференном растворе глutarальдегида в течение 2 часов на льду, дофиксировали в течение 2-х часов в 2% растворе осмиевой кислоты (pH=7,34), обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне. Блоки заключали в смесь эпон-аралдита. Ультратонкие срезы получали на ультратоме Reichert-Ultracut (Австрия), контрастировали 2% спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца. Образцы изучали и фотографировали в электронном микроскопе Tesla BS 500 (Чехия) при ускоряющем напряжении прибора 70 кВт.

Для изучения особенности экспрессии VEGF и TSH были использованы фиксированные в 12% формалине и заключенные в парафин образцы ткани ЩЖ.

Для исключения ложноположительных и ложноотрицательных результатов одновременно с тканью злобноизмененной ЩЖ ИГХ реакции ставились и с другими образцами ЩЖ: при условно норме (контроль n=10), фолликулярной аденоме (n=10), папиллярной карциноме (n=8), тиреоидите Hashimoto (n=10).

Оценка экспрессии VEGF и TSH проводилась полуколичественным методом по числу позитивно окрашенных клеток в баллах. На каждом срезе просчитывались окрашенные тиреоциты либо эндотелиоциты: 0– отсутствие окраски; 1– меньше 30% окрашенных клеток; 2– приблизительно 30-60% окрашенных клеток; 3 – больше 60% окрашенных клеток. При подсчете микрососудов VEGF-позитивные поля зрения, несмотря на присутствие или отсутствие просвета сосуда, считались отдельными сосудами.

С целью количественной характеристики структурных компонентов паренхимы ЩЖ изучали площадь сечения фолликула, площади тиреоцитов, их ядер и цитоплазмы, диаметр просвета капилляров (Автандилов Г.Г., 1984; 1992). Кроме того, считали среднее число фолликулов в поле зрения, среднее количество тиреоцитов в одном фолликуле при поперечном сечении более 2/3, количество ядер в одном тиреоците. Был использован бимолекулярный микроскоп типа AI-12 (об. 90, ок. 7), триокулярный микроскоп DaffodilMCX100, окуляр-микрометр МОВ-1-15х. На электроннограммах ЩЖ производили ультрастереометрию структурных элементов тиреоцитов, а

также составных элементов их митохондрий с помощью специальной тест-системы (Ташке К., 1980).

Результаты подверглись статистическому анализу с применением параметрического критерия t-Стьюдента. Кроме того для проверки и уточнения полученных результатов использован непараметрический критерий – U-критерий Уилкоксона (Манна-Уитни). Вычисления проводились на компьютере с помощью электронной таблицы EXCEL.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что для ДТЗ не характерно резкое увеличение размера фолликулов и их структурных элементов. Средний показатель площади фолликулов увеличен незначительно ($8,64 \pm 3,7 \text{ мкм}^2$), по сравнению с контрольной группой ($8,14 \pm 0,01 \text{ мкм}^2$). По данным целого ряда авторов (Алешин Б.В. и др., 1988; Свани Н., 2004; Jamashita H. et al., 1997; Mazeto G. et al., 2004) при ДТЗ гиперплазия тиреоцитов возможна лишь за счет увеличения количества клеток, выстилающих фолликул, в результате чего в просвете фолликула образуются так называемые сосочковые выросты. Часть авторов (Redmond O. et al, 1978; Riesco J., 1998) отмечает наличие в фолликулярных клетках многочисленных митозов, а другая часть исследователей выявила несоответствие между пролиферацией фолликулярных клеток и количеством митотических фигур (Раихлин Н.Т., Букаева И.А., 2011; Nilsson G., 1974; Pujol-Borrell R., 1983).

По нашим данным, при диффузном, а также при МТЗ обнаруживаются единичные фигуры митотического деления. Хотя одновременный подсчет выявил значительное увеличение количества фолликулов и тиреоцитов, которое достигает максимального значения в случае ДТЗ (количество фолликулов- $78,3 \pm 3,26$; количество тиреоцитов- $43,0 \pm 1,48$, $p < 0,001$).

Изучение количественных изменений параметров ядра и цитоплазмы тиреоцитов ЩЖ показало, что средняя площадь ядер и цитоплазмы тиреоцитов достигают максимального значения при ДТЗ (площадь цитоплазмы - $4,4 \pm 0,3 \text{ мкм}^2$; площадь ядра - $4,27 \pm 0,4 \text{ мкм}^2$), минимального – в случае УЭЗ (площадь цитоплазмы - $2,5 \pm 0,2 \text{ мкм}^2$; площадь ядра - $2,15 \pm 0,01 \text{ мкм}^2$). Наши наблюдения показали, что при УЭЗ имеет место увеличение размеров фолликулов. Средний показатель площади фолликулов среди разных типов зоба максимального значения достигает именно при УЭЗ ($14,40 \pm 0,3 \text{ мкм}^2$). Соответственно,

уменьшается количество фолликулов ($36,1 \pm 0,9$, $p < 0,001$) в поле зрения. Увеличение площади фолликулов и их растяжение происходит в основном за счет коллоида.

При тиреотоксикозе состояние ультраструктуры тиреоцитов выражает их функциональную напряженность, с вторичной частичной деструкцией вследствие гиперфункции. В эпителиальных клетках усиливаются синтетические, транспортные и энергетические процессы, что со своей стороны, значительно способствует усилению кровотока.

Для гипертиреоза характерно наличие большого количества хорошо развитого ГЭР за счет гиперплазии составляющих компонентов сети и аппарата Гольджи (Кондаленко В.Ф. и др., 1970; Рухадзе Р.Г., Гачечиладзе Ц.В., 1999; Тупикина Е.Б., Степанов С.А. и др., 2000). ГЭР занимает значительную часть цитоплазмы (Антелава В.В., Гогиашвили Л.Е., 1979). В некоторых клетках ГЭР представлен в виде вакуолей и больших цистерн неправильной формы (Свани Н., 2004). По нашим данным, при тиреотоксикозе (чаще при диффузной форме) увеличивается площадь поверхности плазматической мембраны за счет многочисленных псевдоподий и микроворсинок.

При тиреотоксикозе количество митохондрий увеличено (Рухадзе Р.Г., Гачечиладзе Ц.В., 1999; Gogiashvili L., Giorgadze E. et al., 2007; Miloni E., Studer H., 1980), одновременно увеличены количество и размер лизосом, хотя увеличение количества вторичных лизосом наиболее резко наблюдается при ДТЗ (Антелава В.В., Гогиашвили Л.Е., 1979). Реакция митохондрий однозначна: значительно возрастает не только количество и размеры митохондрий, но и количество крист, плотность матрикса, разнообразность внутриматриксных включений, что, по-видимому, связано с усилением активности окислительно-восстановительных процессов. Мы зафиксировали также связь митохондрий с ГЭР, лизосомами и элементами коллоида. Относительно лизосом можно предположить, что лизосомный аппарат расширяется за счет увеличения количества и размеров первичных лизосом, что является показателем усиления функциональной активности тиреоцитов. При узловом варианте зоба вокруг лизосомного аппарата рельефно выделяются участки цитолизиса, имеются вакуоли аутофагоцитоза и остаточные тельца. Соответственно, показатель индекса отмирания ядер при МТЗ и процессы, способствующие данному феномену, выражены активнее, чем при ДТЗ.

Результаты исследования показали, что при эутиреозе апикальные микроворсинки низкие и представлены в малом количестве.

Почти не имеются инвагинации плазмолеммы (Miloni E., Studer H., 1980; Mizukami J., Matsukava S., 1982; Mizukami J., Michigishi T. et al. 1994). В цитоплазме тиреоцитов много вакуолей, полных коллоида, мало митохондрий (Свани Н., 2004; Lupulescu A., 1965), при узловых формах отмечается укорочение, инволюцию микроворсинок и набухание матрикса митохондрий. Полости ГЭР сужены, комплекс Гольджи слабо развит. В этом плане наши данные соответствуют с литературными данными. Большое количество митохондрий наблюдается в цитоплазме В-клеток (Hurtle-клетках). Отмирание ядер максимального значения ($1,3 \pm 0,03\%$) достигает при УЭЗ, минимального ($0,9 \pm 0,03\%$) – в случае ДТЗ.

При УЭЗ, по данным электронномикроскопического исследования, часто наблюдается сморщивание ядер фолликулярных клеток, пикнозы. Микроворсинки, расположенные на апикальной поверхности клетки, слущены. Элементы ГЭР вакуолизированы, резко уменьшается количество рибосом на мембранах. Наблюдается очаговая и диффузная гомогенизация матрикса митохондрий, вакуолизация матрикса, деструкция крист, нарушение двухконтурности мембраны. Комплекс Гольджи уменьшается в размере, происходит вакуолизация его элементов. Вместе с ростом дезорганизации этих органелл, увеличивается активность лизосомального аппарата.

На протяжении десятилетий считается, что гипертиреоз характеризуется избыточным развитием соединительной ткани (Васильева, О.А., 2006; Morita M. et al., 1994). По данным проведенных исследований, при ДТЗ соединительная ткань развита избыточно, что, по нашему мнению, вызвано пролиферацией фибробластов, избыточным накоплением межклеточного вещества и коллагена.

Известно, что ДТЗ является аутоиммунным заболеванием. С этой точки зрения можно сделать вывод о том, что эффекторныe белки Т-лимфоцитов влияют на фибробласты и стимулируют процессы синтеза коллагена. Вместе с избыточным развитием коллагеновых волокон одновременно в соединительной ткани происходит их лизис.

По данным большинства авторов, УЭЗ характеризуется слабо развитой соединительной тканью. Хотя имеются факты избыточного развития соединительной ткани, с явлениями фиброза и гиалиноза (Петрова Н.И., Бирюкова О.В., 2002; Хмельницкий О.К., 1998; 2002).

По нашим данным, при УЭЗ соединительная ткань развита неравномерно. Межфолликулярные перегородки резко утолщены,

местами соединительная ткань гиалинизирована. Часто встречаются обширные очаги склероза с кальцинозом вблизи сосудов

Изменения стромы сопровождаются перестройкой микроциркуляторного русла. Существуют данные, что взаимосвязь тиреоидной паренхимы и кровеносных сосудов в значительной степени зависит от функционального состояния органа (Рухадзе Р.Г., 1994; Рухадзе Р.Г., Гачечиладзе Ц.В., 1999; Шадлинский В.Б., 1999). Увеличение функциональной активности ЩЖ сопровождается неоваскулогенезом. Характерен стаз крови в капиллярах.

Как показали результаты исследования, основные патологические процессы в ЩЖ, опосредованы принципиально различными, неоднозначными структурными сдвигами на молекулярном, субклеточном и клеточном уровнях. Количественное исследование различных структурных единиц ЩЖ, оценка сосудисто-стромальных и паренхиматозно-стромальных взаимоотношений в зобноизмененной ЩЖ определило для нас ряд теоретических позиций, характерных для гипер-, эу- и гипотиреоидного состояния.

При избытке выработки тироксина и трийодтиронина отмечается распад коллагенообразное вещество отека межклеточного вещества (Рухадзе Р.Г., Гачечиладзе Ц.В., 1999; Redmond O., Tuffery A., 1978). Можно сделать вывод, что увеличение объема стромы при тиреотоксикозе является следствием чрезмерной продукции межклеточного матрикса. Об этом свидетельствуют утолщение и огрубение базальных мембран фолликулов и капилляров, междольковых и внутридольковых перегородок. При тиреотоксикозе постоянно наблюдали избыточную продукцию соединительной ткани как волокнистого, так и межклеточного его компонента.

Данные ИГХ исследований, а именно плотности сосудистой сети по экспрессии VEGF, указывают на то, что данный показатель увеличен при ДТЗ и МТЗ, а также при папиллярной карциноме (контроль ложноположительной реакции) и сохраняет близкие к «норме» параметры при эутиреозе. В полном соответствии с данными фактами, при ДТЗ наблюдается удлинение функционирующего капиллярного русла с расширением просвета капилляров. При эутиреозе расширение просвета сохранилось, но уменьшилась длина функционирующего капиллярного русла, что ухудшает кровоснабжение паренхимы, следовательно, снижает ее функциональную активность. Все эти факты указывают на т.н. субклинический гипотиреоз.

Таким образом, полученные нами данные, судя по активности и развитию ультраструктурных компонентов тиреоцитов, указывают на усиление энергетических и синтетических процессов в клетках фолликулярного эпителия.

При изучении данных электронно микроскопических фото постоянно отмечалось увеличение размеров мембранной поверхности клетки, митохондрий и ГЭР. Именно возрастание доли белкосинтезирующих органелл и коллоидных капель в клетках, одновременно с наличием признаков гиперактивности ядра и ядрышек, служили подтверждением общей синтетической активности паренхимы ЩЖ при гипертиреозном зобе. Близкие к нашим данным наблюдения отмечены в работе Коган Е.А. и соавт. (2006). Наши данные позволяют постулировать вывод о том, что при гипертиреозе имеет место однозначное увеличение числа фолликулов и фолликулярных клеток в них. Однако подсчет митотического индекса не выявил одновременного увеличения митозов, число которых не существенно отличалось от «нормы». При этом нашими исследованиями зафиксировано усиление ангиогенеза по экспрессии VEGF, а также отека межклеточной стромы, расширение просвета капилляров, их удлинение.

Таким образом, при гипертиреозе имеет место комплекс пролиферативных внутриклеточных, тканевых и органных процессов, способствующих усилению кровообращения, синтетической и метаболической активности ЩЖ. При гипотиреозе, наоборот, имеет место уменьшение числа функционирующих фолликулов и капилляров, отсутствует неоваскуляризация. При этом резко снижается метаболическая активность тиреоидного эпителия. В тиреоцитах происходит снижение площади, занятой митохондриями, кристы в них редуцированы, что свидетельствует об уменьшении уровня митохондриального дыхания. Следовательно, при гипотиреозе можно говорить о нарушении гормон-синтетической функции тиреоцитов. На тканевом уровне отмечается уменьшение размеров фолликулов. В этом плане примечательно, что при гипотиреозе и т.н. эутиреоидном состоянии имеет место увеличение индекса отмирания ядер тиреоцитов и гиперплазия лимфоидной ткани.

Высокий индекс отмирания ядер тиреоцитов сопровождается резким уменьшением количества как тиреоцитов, так и количества фолликулов в паренхиме ЩЖ. Следовательно, гипотиреоз может быть следствием снижения числа тироксин продуцирующих клеток, либо,

исходя из данных ИГХ, снижения чувствительности клеток к TSH. Принимая во внимание значительный ростстимулирующей, в том числе, сосуdistостимулирующий эффект TSH, при гипотиреозе имеет место подавление VEGF рецепторного статуса тиреоцитов, что отражается в уменьшении количества и плотности микроциркуляторного русла. Мы также анализировали площади, занятые сосуdistыми структурами, где не было значимых различий между доброкачественными и злокачественными поражениями. Эти данные говорят о следующем: ангиогенез, сопровождающий доброкачественные, гипертрофические изменения, провоцирует формирование новых сосудов с небольшим диаметром, тогда как при злокачественных опухолях имеют место немногочисленные сосуды, но с доминированием широкого диаметра. Самые широкие, но немногочисленные сосуды выявились именно при фолликулярной карциноме (Пуруа Н.З., Гогиашвили Л.Е. и др., 2013; McHenry C., 2011). Однако особого типа кровоснабжения в виде сосуdistых комплексов клубочкового типа, характерного для стромы папиллярного рака, в доброкачественных новообразованиях (именно, в нашем операционном материале) мы не выявили. Следовательно, отсутствие характерных сосуdistых изменений в узловых образованиях, определяемых по экспрессии VEGF, является достоверным диагностическим признаком отсутствия опухолевого роста. Доброкачественные узловые образования в ЩЖ различались по интенсивности окраски продукта реакции, которая определялась нами полуколичественным методом. Согласно полученным результатам, небольшие площади, занятые сосуdistами, характерны для доброкачественных узловых образований (узловой зоб, аденома). Плотность сосуdistого поля находится в прямой корреляции от гистологического варианта поражения (малигнизированный, доброкачественный).

Таким образом, можно заключить, что гиперплазия фолликулов и тиреоцитов происходит не только под воздействием TSH, но и VEGF, играющего центральную роль в развитии и прогрессии тиреоидной гиперплазии.

ВЫВОДЫ

1. Морфология ЩЖ при гипертиреозе характеризуется удлинением активного капиллярного русла, гипертрофией и гиперплазией ядер тиреоцитов, отчасти их стратификацией, возрастанием объемных долей митохондрий и белоксинтезирующих структур, ответственных за метаболическую активность. В этом случае

отмечается активность десмопластических процессов с избыточной продукцией межклеточного материала, утолщение базальных мембран фолликулов и коллагенообразование. Диффузная лимфоидноклеточная инфильтрация приводит к снижению объема функционирующей паренхимы и служит причиной уменьшения продукции тироксина, переходящего в гипотиреоз.

2. При токсической форме зоба активируется рецепторный статус тиреоцитов и эндотелиоцитов VEGF с одновременным увеличением плотности микрососудистой сети. Экспрессия TSH является одним из показателей не только усиления гормонообразования, но и синхронизируя и стимулируя синтез VEGF, это явление обладает ангиогенным эффектом, обеспечивает микро- и макрофолликулярную гиперплазию ЩЖ.

3. Изменение в ЩЖ при эутиреоидном зобе, а именно, гипоплазия митохондрий, ГЭР, редукция сети функционирующих капилляров и низкая способность к коллоидообразованию приводят к редукции паренхимы с формированием афункциональных цистаденом. Это является одной из причин нарушения эутиреоидного равновесия с переходом в субклинический гипотиреоз. Низкая активность метаболических и внутриклеточных транспортных систем свидетельствует о том же.

4. При УЭЗ, вместе с дезорганизацией органелл увеличивается индекс отмирания ядер тиреоцитов, одновременно, констатируется рост площади фолликулов, в сравнении с тиреотоксическим состоянием, что способствует относительной стабильности эутиреоидного состояния ЩЖ. Наблюдается нарушение гормонообразования, чувствительности к TSH и к VEGF.

5. При эутиреоидном зобе снижается площадь занятая сосудистыми структурами, что указывает на отсутствие неоангиогенеза. Отсутствие в операционном материале характерных “глобусных” сосудистых структур в узловых образованиях с низкой экспрессией VEGF является достоверным диагностическим признаком отрицательного туморогенного потенциала роста.

6. В узловых образованиях преобладание клеток Hürtle в режиме увеличения плотности сосудистых структур предопределяет вероятность клеточной дисплазии тиреоидной паренхимы. По плотности сосудистых структур в узловых образованиях можно выделить 3 формы узлов: а) высокая форма – узловой зоб; б) общая

низкая форма - узлы с очагами малигнизации; в) промежуточная форма – тиреоидит Hashimoto.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Данные, полученные в ходе диссертационной работы, которые касаются морфофункциональных особенностей ЩЖ в норме и при различных формах зоба, в обобщенном виде могут найти практическое применение в клинической эндокринологии и лабораторной диагностике.

2. Результаты исследования позволят разработать новые методы хирургического и медикаментозного лечения патологий ЩЖ, обосновать целенаправленные лечебно-профилактические мероприятия по снижению заболеваемости этого органа, особенно, йододефицитных состояний.

3. Полученные данные, могут быть использованы в медицинских ВУЗах на курсах лекционно-практических занятий по анатомии человека и гистологии, эмбриологии и цитологии. Кроме того, эти данные будут полезны в качестве дополнительного материала при разработке рекомендаций, учебных пособий и руководств по эндокринной системе, а также при дифференциальной диагностике заболеваний ЩЖ.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Normada və zobun müxtəlif formaları zamanı böyümə faktorlarının ekspressiyasına dair / Ə.M. Əliyevin anadan olmasının 115 illiyinə həsr edilmiş konfransın materialları, Bakı, 2012, s.456-457. Həmmüəllif: Şadlinski V.B., İsayev A.B.

2. Параметры функциональных единиц щитовидной железы при диффузно-токсическом и узловом эутиреоидном зобе у населения приграничных районов Азербайджана и Грузии // Georgian medical News, Грузия, 2013, с.67-72. Соавт: Шадлинский В.Б., Гогиашвили Л.Е., Цагарели З.Г.

3. Особенности изменений морфометрических показателей элементов паренхимы щитовидной железы при различных видах зоба // Журнал анатомия и гистопатология, Воронеж, 2013, №2, с. 56-59. Соавт: В.Б. Шадлинский, А.Б. Исаев

4. Гистологические особенности паренхимы щитовидной железы при гипертиреозе // Ж. Здоровье, Баку, 2013, №4, с.180-183. Соавт: В.Б. Шадлинский

5. Экспрессия тиреостимулирующего гормона и онкомаркера рецептора эпидермального фактора роста в ткани щитовидной железы при различных гистологических формах зоба // Азербайджанский Медицинский Журнал, Баку, 2013, №4, с.50-54

6. Toksik zob zamanı qalxanabənzər vəzin parenximasının morfo-funksional xüsusiyyətləri // Azərbaycan Təbabətinin müasir nailiyyətləri, Bakı, 2013, №4, s.38-41

7. Значение данных тонкоигольной аспирационной биопсии щитовидной железы (ЩЖ) в диагностике и оптимизации лечения узловых образований // Scientific journal of Academic Research BLACK SEA, Tbilisi, Georgia, 2013, v.05, ISSUE 05, p.48-50. Соавт: В.Б. Шадлинский, А.Б. Исаев, З.Г. Цагарели

8. Features of changes the structure of the thyroid gland in euthyroid goiter / Material's of the XIII international Medical congress «Euromedica-Hannover, 2014, p.199-200. Coauthor: V.B. Shadlinski, A.B. Isayev

9. Электронная микроскопия паренхимы щитовидной железы при токсическом зобе / Azərbaycan Tibb Universiteti əməkdaşlarının elmi-tədqiqat işlərinin yekunlarına həsr edilmiş “Təbabətin aktual problemləri” mövzusunda elmi konfransın materialları, Bakı, 2014, s.291-292

10. Экспрессия тиротропного гормона и онкомаркера рецептора эпидермального фактора роста при различных формах зоба / Материалы XII конгресса МАМ и VII съезда ВНОАГЭ // Ж. Морфология, Тюмень, 2014, т.145, №3, с.217. Соавт: В.Б. Шадлинский

11. IFAA2014-1-036 Morpho-functional features of vascular-stromal complex of thyroid gland at euthyreoid goiter / The 18th congress of the international federation of Associations of Anatomists (IFAA2014) Anatomy from gross to molecular and digital // Annals of anatomy, Augusts 8-10, Beijing, China, 2014, p.11. Coauthor: V.B. Shadlinsky

12. Состояния капилляров щитовидной железы при различных формах зоба / Сборник матер. Междун. науч. конф. посв. 95-летию юбилею создания кафедры анатомии человека АМУ, Баку, 2014, с.310-312. Соавт: В.Б. Шадлинский

13. Особенности структурных изменений сосудисто-стромального комплекса щитовидной железы при эутиреоидной и токсической

формах зоба // Медицинский вестник Башкортостана, Уфа, 2014, т.9, №3, с.91-94. Соавт: В.Б. Шадлинский, К.Н. Джандиери, А.Б. Исаев

14. Иммуногистохимические особенности щитовидной железы при различных формах зоба /Матер. межд. науч. конф. «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии», Москва, 2014, с. 291-292. Соавт: В.Б. Шадлинский

15. Особенности структурно-функциональных единиц щитовидной железы при токсическом и узловом эутиреоидном зобе / Ümummilli lider H. Əliyevin anadan olmasının 92-ci ildönümünə həsr olunmuş Təbabətin Aktual problemləri elmi-praktik konfransının materialları, Bakı, 2015, s.214

**NORMADA VƏ ZOBUN MÜXTƏLİF FORMALARINDA
QALXANABƏNZƏR VƏZİN ANATOMİK VƏ MOLEKULAR -
BİOLOJİ KOMPONENTLƏRİNİN MÜQAYİSƏLİ TƏHLİLİ**

XÜLASƏ

İşin məqsədi xəstələrin cərrahi materialında böyümə və angiogeneza amillərinin ekspressiyasını qiymətləndirmək şərti ilə normada və zobun müxtəlif formaları zamanı cərrahi əməliyyat materialında qalxanabənzər vəzi toxumasının yenidən qurulmasının morfo-funksional xüsusiyyətlərini kompleks şəkildə öyrənməkdən ibarət olmuşdur.

Materialın əsas hissəsini 2010-2012-ci illərdə Azərbaycan Tibb Universitetinin klinikalarında eutireoid və toksiki zobla əlaqəli əməliyyat olunmuş hər iki cinsdən olan pasiyentlərin cərrahi-biopsiya materialı və 2007-2009-cu illərdə həmin xəstəliklə əlaqəli əməliyyat olunmuş pasiyentlərin arxiv materiallarının retrospektiv təhlili təşkil edir.

Qarşıya qoyulan məqsədə çatmaq üçün anatomik, histoloji, histokimyəvi, ultrastruktur və morfometrik müayinə üsullarından istifadə olunub.

Tədqiqatların nəticələri göstərdi ki, hipertireoz zamanı qalxanabənzər vəzin morfolojiyası üçün aktiv kapilyar şəbəkəsinin uzanması, tireositlərin nüvəsinin hipertrofiya və hiperplaziyası (bəzən çoxqatlılıq), zülalsintezedici strukturların və mitoxondrilərin həcm payının artması səciyyəvidir. Tireositlərin nüvəsinin ölüm indeksinin aşağı olması, follikulların bazal zərflərinin qalınlaşması və kollagenəmələgəlmə də hipertireozun səciyyəvi xüsusiyyətlərindəndir. Aşkar olunmuşdur ki, toksiki zob zamanı tireositlərin və VEGF-in reseptor statusu aktivləşir, mikrodamar şəbəkəsinin sıxlığının artması müşahidə olunur.

Müəyyən olunmuşdur ki, mitoxondrilərin və dənəli endoplazmatik retikulumun hipoplaziyası, kapilyarların reduksiyası, kolloidəmələgəlmə qabiliyyətinin aşağı olması eutireoid zob zamanı qalxanabənzər vəzidə parenximanın afunksional sistadenomlarının əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunan reduksiyasına gətirib çıxarır. Bu hal subkliniki hipotireoza keçməklə eutireoid tarazlığının pozulmasının səbəblərindən biri olub, qalxanabənzər vəzin eutireoid vəziyyətinin nisbi sabitliyini təmin edərək hormon-əmələgəlmənin, TSH və VEGF-in ekspressiyasının zəiflədiyini göstərir. Eutireoid zob zamanı damar strukturlarının sahəsinin azalması neoangiogenezin olmamasından xəbər verir.

**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ANATOMICAL AND
MOLECULAR - BIOLOGICAL COMPONENTS OF THE
THYROID GLAND IN NORMAL CONDITION AND VARIOUS
FORMS OF GOITER**

SUMMARY

Purpose of this investigation is the comprehensive study of morpho-functional characteristics of the thyroid gland in normal condition and various forms of goiter (Grave's disease, multinodular toxic goiter and nodular euthyroid goiter) in the surgical materials of patients from the regions of Azerbaijan Republic with the assessment of expression of the growth factors and factors of angiogenesis.

The relational database was the operational and biopsy materials from patients of both sexes operated for toxic and euthyroid goiters in clinics of the Azerbaijan Medical University (2010-2012 years) and the retrospective analysis of samples of the thyroid glands (2007-2009 years).

To achieve this goal was applied the anatomical, histological, histochemical, ultrastructural and morphometric methods of investigation. The morphology of the thyroid gland is characterized by a prolongation of the active capillary bed, hypertrophy and hyperplasia of the nuclei of thyrocytes, partly of their stratification, increasing of volumetric fraction of mitochondria and protein synthesis structures responsible for metabolic activity in hyperthyroidism. The low death index of nuclei of the thyrocytes, thickening of the basement membranes of follicles and collagen formation are marked in hyperthyroidism.

The receptor status of thyrocytes and endothelial cells to vascular endothelial growth factor (VEGF) with a simultaneous increasing of the density of microvascular network is activated in the toxic goiter.

It was also found that the hypoplasia of mitochondria, granular endoplasmic reticulum and low ability of colloid formation in euthyroid goiter lead to reduction of parenchyma with formation of nonfunctional cystadenomas of thyroid gland, which is one of the causes of euthyroid disbalance with transition to the subclinical hypothyroidism. This condition contributes the relative stability of euthyroid state of the thyroid gland and indicates the decreasing of hormonopoiesis, sensitivity to TSH and VEGF. The reduced areas of vascular structures in euthyroid goiter show the absence of neoangiogenesis.

Список сокращенных терминов

ЩЖ – щитовидная железа

ДТЗ – диффузный токсический зоб

МТЗ – многоузловой токсический зоб

УЭЗ – узловой эутиреоидный зоб

ИГХ – иммуногистохимическая реакция

TSH– Thyroidstimulatinghormone (тиреостимулирующийгормон)

VEGF – vascularendothelialgrowthfactor (сосудистый эндотелиальный фактор роста)

ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикулум

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI
SƏHİYYƏ NAZİRLİYİ

AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ

Əlyazması hüququnda

GÜNEY MUSA QIZI QƏNİYEVƏ

**NORMADA VƏ ZOBUN MÜXTƏLİF FORMALARINDA
QALXANABƏNZƏR VƏZİN ANATOMİK VƏ MOLEKULAR -
BİOLOJİ KOMPONENTLƏRİNİN MÜQAYİSƏLİ TƏHLİLİ**

3241-01 – “İnsan anatomiyası”

Tibb üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim edilən dissertasiyanın

A V T O R E F E R A T I

Bakı – 2016