

Клинико-морфологическое обоснование профилактики и лечения послеоперационного гипотиреоза у больных диффузным токсическим зобом

Р.Т. Нигматуллин, М.А. Нартайлаков, С.В. Федоров

**Федеральное государственное учреждение
Всероссийский Центр глазной и пластической хирургии, Уфа**

Реферат

Разработаны новые методы оценки морфо-функционального состояния щитовидной железы: иммуногистохимическое исследование митотической активности тиреоцитов и оценка внутриорганного кровотока щитовидной железы при ультразвуковом исследовании в режиме цветного энергетического доплеровского картирования. Разработан и внедрен алгоритм обследования больных с диффузным токсическим зобом для выявления факторов риска развития послеоперационного гипотиреоза. Разработан и внедрен новый метод субтотальной резекции щитовидной железы с сохранением нижней щитовидной артерии.

Разработаны и внедрены методы профилактики и лечения послеоперационного гипотиреоза при хирургическом лечении больных диффузным токсическим зобом путем применения аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы». Разработка и внедрение в клиническую практику компьютерной программы «Интеллектуальная система диагностики заболеваний щитовидной железы на основе нейросетевых технологий» позволило расширить диагностические возможности при различных заболеваниях щитовидной железы, определить выбор метода лечения диффузного токсического зоба и с достоверностью более 95% прогнозировать развитие послеоперационного гипотиреоза.

Ключевые слова: профилактика и лечение послеоперационного гипотиреоза, диффузный токсический зоб, биоматериалы Аллоплант.

Введение

Послеоперационный гипотиреоз (ПОГ) является актуальной проблемой хирургического лечения диффузного токсического зоба (ДТЗ), поскольку количество оперативных вмешательств на щитовидной железе (ЩЖ) при этой нозологии возрастает, а число больных ПОГ не имеет тенденции к уменьшению и колеблется, по данным разных авторов, от 2,7 до 75% (Калинин А.П., 1987; Романчишен А.Ф., 2003; Фадеев В.В., 2004). Весьма важным является и то обстоятельство, что среди больных с послеоперационной недостаточностью ЩЖ преобладают

лица молодого и среднего возраста, т.е. представители наиболее продуктивной части населения, в связи с чем проблема профилактики и лечения ПОГ приобретает социальное значение.

По данным Садыкова Ф.Г. (1973), Гатауллина Н.Г. (1974), Рахматуллина И.Г. (1983), Субхангулова З.М. (1993) Республика Башкортостан относится к эндемичному региону по зубной патологии. Заболеваемость диффузным токсическим зобом в зонах йодного дефицита выше, чем в общей популяции (Галеев М.А., 1981; Фадеев В.В., 2005). По данным медицинского информационно-аналитического центра Министерства здравоохранения Республики Башкортостан (РБ) за 2003 год, показатель общей заболеваемости тиреотоксикозом составил 256 человек на 100000 населения. ДТЗ диагностирован у 76,8% от общего числа тиреотоксикоза.

Хирургический метод в большинстве случаев является ведущим в лечении ДТЗ, однако недостаточность сведений о достоверных причинах развития ПОГ лишает научной основы организацию профилактики этого осложнения и создает условия для эмпиризма в определении показаний, выборе метода и объема оперативного лечения. Это обусловлено тем, что до настоящего времени отсутствуют универсальные тесты, позволяющие судить о степени и глубине патологических нарушений, как в самой железе, так и в патогенетически значимых системах организма (иммунной, гуморальной и др.).

Известно, что регенеративная способность ЩЖ определяет ее функциональное состояние. Однако известные методы морфометрической оценки регенераторного потенциала в большей степени имеют субъективный характер и не отражают истинную пролиферативную активность тиреоцитов.

Очевидно, предупреждение гипотиреоза не может идти только по пути увеличения остатка резецированной ЩЖ, поскольку в литературе описано множество случаев развития гипотиреоза с размерами тиреоидного остатка 15 и более грамм (Романчишен А.Ф., 2003). Ряд авторов (Кириллов Ю.Б., 2001; Заривчацкий М.Ф., 2002; Аристархов В.Г., 2003) предлагают оставлять большой объем ткани щитовидной железы при выраженной лимфоидной инфильтрации стромы

железы, у пациентов старшего возраста. Для улучшения результатов хирургического лечения диффузного токсического зоба и снижения активности аутоиммунных процессов исследователи (Селиверстов О.В., Привалов В.А., 1995; Неймарк М.И., Калинин А.П., 1995, 2003) предлагают в предоперационном периоде проведение эфферентных методов детоксикации. В большинстве случаев субтотальная резекция щитовидной железы (СРЦЖ) проводится после перевязки магистральных верхних и нижних щитовидных артерий. Однако, об изменении регенеративной активности остаточной ткани ЩЖ в результате значительной редукции кровотока сведения в литературе практически отсутствуют. В доступных нам литературных источниках мы не обнаружили сравнительных данных об исходах операции в зависимости от применяемых методов СРЦЖ с перевязкой всех магистральных артерий ЩЖ, и методов СРЦЖ с оставлением магистральных (ой) артерий ЩЖ.

Другая проблема - «рецидив тиреотоксикоза» - заставляет некоторых авторов (Фадеев В.В., 2004; Canaris G.J., 2000; Barakate M.S., 2002) признать целью оперативного лечения ДТЗ - гипотиреоз с последующей заместительной гормональной терапией, считая рецидив «худшим» исходом операции. Однако необходимо учитывать, что методы заместительной гормональной терапии ограничены из-за узкого спектра биологических эффектов. Известны случаи рефрактерности к вводимым извне гормонам, побочные и аллергические реакции. В связи с этим особого внимания заслуживают методы лечения, которые принято называть альтернативными. К ним относятся трансплантация и стимуляции регенерации щитовидной железы. В настоящее время основным препятствием к широкому применению в клинической практике трансплантации щитовидной железы являются вопросы ее приживления. Остаются не до конца выясненными особенности течения реактивных и пластических процессов в трансплантате в зависимости от тканевого ложа, поэтому поиск наиболее оптимального места для пересадки органа (ткани) имеет актуальное значение.

С точки зрения наиболее физиологического восполнения недостаточной функции органа оптимальным является восстановление его регенераторного по-

тенциала и подавление аутоиммунной агрессии. Немногочисленные публикации свидетельствуют об эффективности стимуляции репаративной регенерации ЩЖ инфракрасным спектром лазерного излучения (Аристархов Р.В., 2003), интраоперационного дозированного криовоздействия (Хазиев В.В., 2003). Однако работ, посвященных этому разделу, в тиреодологии к сожалению мало. Перспективным направлением в компенсации недостаточной функции органов является их стимуляция различными аллогенными биостимуляторами. Данное направление изучается во «Всероссийском центре глазной и пластической хирургии» (г. Уфа), а также в «Челябинском биомедицинском центре» (НПМО «Модуль»). Проведенные исследования по применению биоматериалов для лечения различных заболеваний (прогрессирующая близорукость, помутнение роговицы, травмы и ожоги глаз, цирроз и травмы печени, язвенная болезнь и др.) (Мулдашев Э.Р., 1994; Нартайлаков М.А., 1995; Нигматуллин Р.Т., 1996; Муслимов С.А., 2000) доказали высокую эффективность их применения. Однако литература, посвященная стимуляции регенерации щитовидной железы при помощи аллогенных биоматериалов, отсутствует.

Все вышеизложенное свидетельствует о недостаточной изученности вопросов, связанных с хирургическим лечением диффузного токсического зоба, профилактикой и лечением послеоперационного гипотиреоза. Указанные обстоятельства послужили основанием для проведения систематического исследования данных вопросов в условиях эксперимента и в клинике.

Цель исследования

Улучшить результаты хирургического лечения диффузного токсического зоба путем разработки и внедрения методов профилактики и лечения послеоперационного гипотиреоза.

Задачи исследования

1. На модели экспериментального гипотиреоза у крыс изучить морфологические характеристики приживления и функционирования трансплантатов после гетеротопической пересадки аллогенной ткани щитовидной железы.

2. В эксперименте изучить эффективность интраоперационной стимуляции регенерации остаточной ткани ЩЖ аллогенным биоматериалом.

3. На основании ретроспективного исследования результатов хирургического лечения больных диффузным токсическим зобом определить факторы риска развития послеоперационного гипотиреоза.

4. Изучить митотическую активность тиреоцитов при диффузном токсическом зобе при помощи иммуногистохимического исследования.

5. Разработать алгоритм выбора метода субтотальной резекции щитовидной железы у больных диффузным токсическим зобом с учетом факторов риска развития послеоперационного гипотиреоза.

6. Изучить эффективность клинического применения аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы» при профилактике и лечении послеоперационного гипотиреоза.

7. Усовершенствовать систему амбулаторного наблюдения за больными диффузным токсическим зобом в до- и послеоперационном периодах путем разработки и внедрения современных информационных технологий.

Экспериментальные исследования. Материалы и методы

Эксперименты проводились на 150 неимбредных белых крысах-самцах массой 150-200 г, в возрасте 4-5 мес., в двух направлениях (табл. 1):

1) эксперименты с трансплантацией аллогенной измельченной ткани щитовидной железы в различные тканевые ложа крысам с гипотиреозом, возникшим в результате оперативного удаления щитовидной железы (I группа);

2) эксперименты с интраоперационной стимуляцией регенерации аллогенным биоматериалом «Стимулятор регенерации щитовидной железы» остаточной тиреоидной ткани после субтотальной резекции щитовидной железы (II группа).

Целью экспериментов с пересадкой аллогенной ткани щитовидной железы тиреоидэктомизированным крысам было изучение возможности морфогистогенеза и функционирования тиреоидной ткани в различных тканевых

ложах (мышцы бедра, подкожная межлопаточная жировая клетчатка и жировая клетчатка брыжейки тонкой кишки).

Для моделирования гипотиреоза производилось тотальное удаление щитовидной железы по оригинальной методике под эфирным наркозом. На 21 сутки после создания экспериментальной модели гипотиреоза производилась трансплантация измельченной ткани щитовидной железы инъекционным методом. В зависимости от места введения аллогенного трансплантата ЩЖ животные были распределены на серии опытов по 30 крыс в каждой.

Таблица 1. Распределение экспериментального материала в группах исследования по сериям опытов.

Группы исследования	Серии опытов	Характер эксперимента	Кол-во крыс
I группа – аллотрансплантация ткани щитовидной железы тиреоидэктомизированным крысам в различные тканевые ложа	1	Аллотрансплантация в толщу мышц бедра	30
	2	Аллотрансплантация в жировую клетчатку межлопаточной области	30
	3	Аллотрансплантация в жировую клетчатку брыжейки тонкой кишки	30
II группа – изучение регенерации остаточной ткани щитовидной железы после ее субтотальной резекции	4	Стимуляция культуры ЩЖ аллогенным биоматериалом (основная)	30
	5	Спонтанная регенерация ЩЖ (контрольная)	30
Итого	150		

Для получения трансплантата использовалась паренхима щитовидной железы интактной крысы. Трансплантат готовили в асептических условиях путем измельчения щитовидной железы глазными ножницами после освобождения от соединительно-тканых образований, до размеров 0,3 – 0,5 мм. Для изучения тканевой реакции мышечного ложа на пересадку ткани ЩЖ подготовленный трансплантат вводился инъекционным методом в латеральную поверхность бедра в объеме 2 мл.

Трансплантация в объеме 2 мл в подкожную клетчатку производилась

также инъекционно в межлопаточную область.

Для трансплантации в жировую клетчатку брыжейки тонкой кишки производилась срединная лапаротомия. Для инъекции выбиралось место с наиболее развитой жировой клетчаткой в дубликатуре брюшины. Вводилось не более 1 мл во избежание разрывов брюшины. Рана ушивалась послойно.

Выводили животных из эксперимента в различные сроки после пересадки передозировкой парами эфира. Проводилось гистологическое исследование полученных трансплантатов и тканевого ложа, морфометрия при помощи программы Biovision 3.0, а также содержание гормонов в крови методом иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка проводилась при помощи программ Statistica v6.0, Microsoft Excel.

Результаты экспериментальных исследований

Динамическое морфологическое исследование показало, что при пересадке ткани ЩЖ в толщу мышц бедра наблюдается выраженная ответная реакция со стороны тканевого ложа. В ложе трансплантата выявляются клетки лимфо-плазмоцитарного, макрофагального и фибробластического дифферона, эозинофилы (рис.1). При этом эндокриноциты не формируют сплошного слоя клеток. В некоторых образующихся фолликулах обнаруживается коллоид. Клетки, формирующие атипичные фолликулы, сохраняют правильное строение, имеют

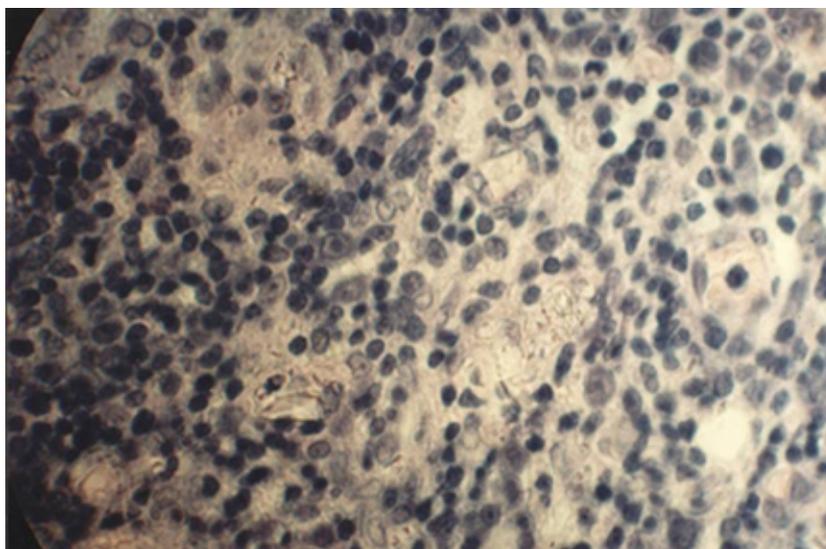


Рис. 1. Аллотрансплантация ткани щитовидной железы в мышцу, 90 суток. Лимфо-плазмоцитарная инфильтрация трансплантата, атипичные фолликулы. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение X180.

кубическую форму, размеры соответствуют клеткам интактной ЩЖ.

Воспалительные процессы в трансплантате и тканевом ложе поддерживались активацией сосудистых элементов тканевого ложа, обильно кровоснабжавших трансплантат. В процессе перестройки трансплантата происходило статистически недостоверное уменьшение площади ядер эндокриноцитов. Изменения в строении ЩЖ свидетельствовали о структурных перестройках, которые отражают процесс адаптации тиреоидной паренхимы к новым условиям функционирования.

Гормональное исследование (табл. 2) у крыс данной группы выявило нарастание концентрации тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) в первые 30 суток после трансплантации, а затем наблюдалась стабилизация их уровня с незначительными статистически недостоверными колебаниями, при этом концентрация тиреотропного гормона (ТТГ) не достигала нормальных значений. Таким образом, при пересадке в мышечное ложе аллогенный трансплантат приживляется и функционирует, однако вследствие иммунологического конфликта регенерация носит морфологически незавершенный характер.

Таблица 2. Концентрация гормонов в плазме крыс на разных сроках после аллотрансплантации измельченной ткани щитовидной железы в толщу мышц бедра.

Гормоны	Интактные крысы	Крысы с послеоперационным гипотиреозом	Трансплантация в толщу мышц бедра		
			30 сут.	60 сут.	90 сут.
Т ₃ , нмоль/л	1,9±0,18	1,2±0,2	1,4±0,21	1,5±0,18	1,3±0,24
Т ₄ , нмоль/л	69,3±8,4	12,8±2,1	35,2±4,8*	33,1±3,3*	29,4±5,2*
ТТГ, мМЕ/л	0,85±0,12	14,6±2,6	6,2±2,8*	5,2±2,4*	9,3±1,8

Примечание: * - достоверность различия показателей по сравнению со значениями на 21 сут. после тиреоидэктомии $p < 0.05$.

Пересадка измельченной ЩЖ в подкожную жировую клетчатку межлопаточной области вызывала наиболее выраженную реакцию тканевого ложа. Характер деструктивных изменений оказался более грубым, чем при трансплантации в мышечное ложе. Вслед за реваскуляризацией наблюдалась выраженная лимфоидная инфильтрация и разрушение вновь образованных фол-

ликулов, и к 90 суткам наблюдалась почти полная резорбция трансплантата (рис.2). Фрагменты трансплантата были сохранены лишь локально, в виде конгломерата органоспецифических клеток. Данные морфометрии отражают процессы прогрессирующего уменьшения площади ядер эндокриноцитов, что также свидетельствует о снижении функции трансплантата.

Затухание функции трансплантата подтверждали гормональные исследования (табл.3). После подъема концентрации гормонов щитовидной железы

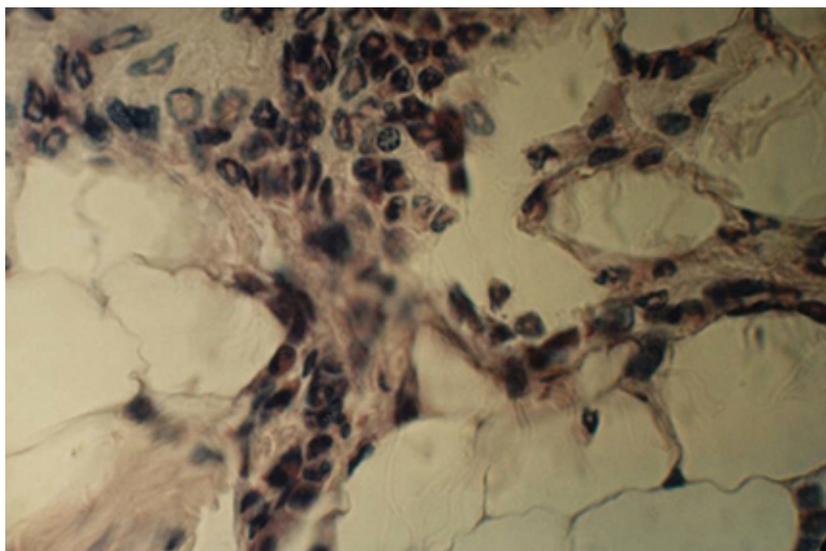


Рис 2. Аллотрансплантация ткани щитовидной железы в подкожную жировую клетчатку, 90 суток. Резорбция трансплантата. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение X180.

в первые 30 суток после трансплантации по сравнению с исходным гипотиреозом, наблюдалось ее плавное уменьшение, что связано с постепенной резорбцией трансплантата.

Таблица 3. Концентрация гормонов в плазме крыс на разных сроках после аллотрансплантации измельченной ткани щитовидной железы в межлопаточную жировую клетчатку.

Гормоны	Интактные крысы	Крысы с послеоперационным гипотиреозом	Трансплантация в межлопаточную жировую клетчатку		
			30 сут.	60 сут.	90 сут.
T ₃ , нмоль/л	1,9±0,18	1,2±0,2	1,5±0,32	1,4±0,26	1,1±0,16
T ₄ , нмоль/л	69,3±8,4	12,8±2,1	33,6±6,5*	28,5±4,8*	14,8±3,2
ТТГ, мМЕ/л	0,85±0,12	14,6±2,6	10,1±2,2	12,2±2,9	13,8±3,2

Примечание: * - достоверность различия показателей по сравнению со значениями на 21 сут. после тиреоидэктомии $p < 0.05$.

Основной особенностью трансплантации измельченной тиреоидной паренхимы в жировую клетчатку брыжейки является восстановление органоспе-

цифических структур щитовидной железы – фолликулов. При аллотрансплантации щитовидной железы в брыжейку происходило приживание трансплантата и развивался процесс, сходный с процессом гиперфункции железы. Постепенно увеличивался диаметр фолликулов и объём коллоида. Для самих фолликулов была характерна исключительная вариабельность как размеров, так и формы от округлой, диаметром 10 – 12 мкм, до овальной формы с альвеолоподобными выростами, диаметром до 40 мкм, между которыми определялись островки интерфолликулярного эпителия. В процессе перестройки трансплантата происходило изменение не только площади фолликул, но и площади ядер тиреоцитов. При этом динамика изменения этой величины соответствовала динамике изменения предыдущей. Это объяснялось тем, что увеличение объёма коллоида в фолликуле или его снижение происходит в тесной связи с состоянием выделяющих его тиреоцитов. В качестве положительного фактора мы рассматривали появление к 60 суткам парафолликулярных эндокриноцитов или так называемых С-клеток в структуре фолликулов. К 90-м суткам морфологическое строение и параметры эндокриноцитов, формирующих фолликулы, возвращались к нормальным достаточно стабильным параметрам: ядра округлые диаметром 4,5 - 5,0 мкм, границы клеток слабо контурировали. Подобная динамика изменения площади ядер отражает функциональную и регенераторную активность трансплантата. Примечательно, что в зоне контакта трансплантата с тканевым ложем (жировой клетчаткой брыжейки) отсутствовала клеточная инфильтрация и к 60 суткам формировалась соединительнотканная капсула. По-видимому, можно говорить о моделировании дольки или доли ЩЖ.

Важным признаком формирования органотипических структур является дифференцировка органного сосудистого русла. На рисунке 3 между долями железы определяются артериола (диаметр 22 мкм) и венула (диаметр 35 мкм), обеспечивающие нутритивные процессы во вновь образованных фолликулах и целых долях железы.

При гормональных исследованиях (табл. 4) наблюдалось резкое увеличение концентрации гормонов в первые 30 суток, однако в дальнейшем про-

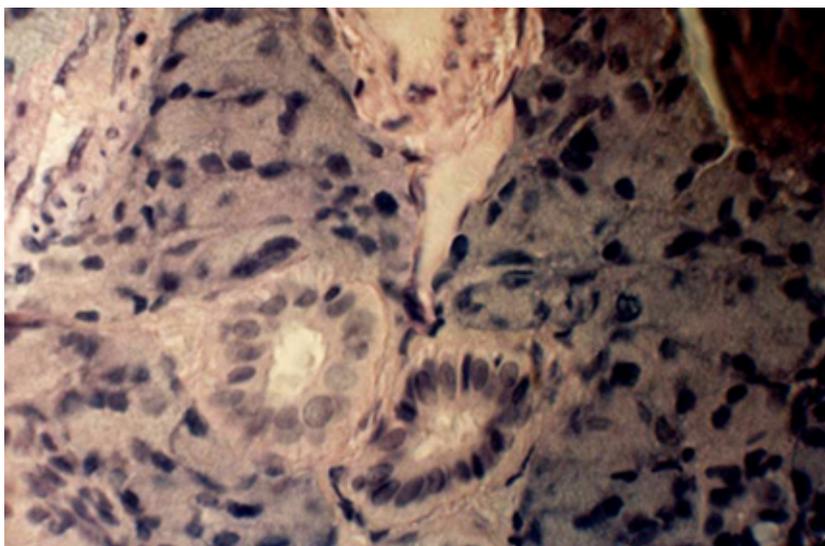


Рис 3. Аллотрансплантация ткани щитовидной железы в брыжейку, 90 суток. Фолликулы щитовидной железы, органное сосудистое русло. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение X180.

исходило плавное, но статистически достоверное увеличение содержания гормонов в плазме крови, что свидетельствовало о благоприятных условиях тканевого ложа для функционирования трансплантата.

Таблица 4. Концентрация гормонов в плазме крыс на разных сроках после аллотрансплантации измельченной ткани щитовидной железы в брыжейку

Гормоны	Интактные крысы	Крысы с послеоперационным гипотиреозом	Трансплантация в межлопаточную жировую клетчатку		
			30 сут.	60 сут.	90 сут.
T ₃ , нмоль/л	1,9±0,18	1,2±0,2	1,4±0,16	1,6±0,21	1,9±0,12*
T ₄ , нмоль/л	69,3±8,4	12,8±2,1	38,3±3,6*	59,2±3,1*	65,1±4,5*
ТТГ, мМЕ/л	0,85±0,12	14,6±2,6	3,6±1,2*	1,6±0,8*	0,81±0,17*

Примечание: * - достоверность различия показателей по сравнению со значениями на 21 сут. после тиреоидэктомии $p < 0.05$.

Таким образом, на основе анализа морфологических и гормональных исследований представляется возможным сделать следующие выводы:

– измельченная паренхима ЩЖ содержит клеточные элементы, способные к пролиферации и функционированию в организме реципиента. Выраженность репаративных процессов в трансплантированном материале зависит от характера тканевого ложа.

– наиболее реактивным ложем является подкожная жировая клетчатка. Функция трансплантата носит затухающий характер. При морфологическом исследовании на 90 сутки здесь полностью отсутствуют органоспецифичес-

кие структуры ЩЖ.

– трансплантация в мышечное ложе сопровождается локальным формированием фолликулоподобных структур, не имеющих непрерывного клеточного слоя. Однако гормонопродуцирующая функция носит стабильный характер.

– трансплантация измельченной ткани ЩЖ в жировую клетчатку брыжейки создает оптимальные условия для формирования таких органотипических структур ЩЖ, как фолликулы и дольки с собственной соединительнотканной стромой и органом сосудистым руслом, а также для адекватного функционирования трансплантата.

– аллотрансплантация ткани ЩЖ может быть методом выбора для лечения послеоперационного гипотиреоза.

Целью экспериментов во второй группе животных было изучение и сравнение особенностей регенерации остаточной тиреоидной ткани после субтотальной резекции ЩЖ с применением аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы» (основная группа) и без него (контрольная группа). Для создания модели экспериментального гипотиреоза производили субтотальную резекцию 3/4 обеих долей ЩЖ с оставлением паратрахеальных отделов ткани железы, после перевязки магистральных сосудов ЩЖ на протяжении. После чего интраоперационно проводилась инфльтрация культы каждой доли щитовидной железы аллогенным биоматериалом «Стимулятор регенерации щитовидной железы», разработанным в ФГУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» (г. Уфа) под руководством профессора Э.Р. Мулдашева и изготовленным в соответствии с требованиями ТУ 42-2-537 2002.

При интраоперационном применении аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы», через 90 суток макроскопически наблюдалось увеличение культы ЩЖ в 2-2,5 раза, в то время как при отсутствии стимуляции – лишь в 1,5 раза. Как показали гормональные исследования (табл. 5), статистически достоверные отличия в концентрации гормонов

у основной и контрольной групп наблюдаются с 30 суток, а эутиреоидное состояние у животных со стимуляцией регенерации развивалось на 60 сутки, в то время как в контрольной группе – на 90 сутки.

Таблица 5. Концентрация гормонов в плазме крыс в различные сроки после субтотальной резекции щитовидной железы.

Группа	Гормоны	Интактные крысы	Срок после субтотальной резекции ЩЖ				
			10 суток	20 суток	30 суток	60 суток	90 суток
Контрольная	T ₃ , нмоль/л	1,9±0,08	1,3±0,24	1,6±0,32	1,6±0,21	1,7±0,18	1,8±0,29
	T ₄ , нмоль/л	69,3±8,4	43,8±2,9	45,3±2,8	48,6±3,2	56,1±4,2	66,8±4,2
	ТТГ, мМЕ/л	0,85±0,12	2,8±0,68	2,5±0,6	2,1±0,7	1,65±0,34	1,2±0,28
Основная	T ₃ , нмоль/л	1,9±0,08	1,5±0,2	1,6±0,22	1,7±0,14	2,0±0,16	1,9±0,24
	T ₄ , нмоль/л	69,3±8,4	46,4±3,5	52,0±3,2	58,3±2,7	67,3±2,8*	68,4±2,7
	ТТГ, мМЕ/л	0,85±0,12	2,6±0,84	3,1±0,8	1,2±0,23	0,86±0,16*	0,74±0,28

Примечание: * - достоверность различия показателей после субтотальной струмэктомии в основной и контрольной группах $p < 0.05$.

Через 3 суток в обеих группах после резекции ЩЖ в ее тканях обнаруживалась слабая клеточная инфильтрация с преобладанием полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов, сосудистый стаз и незначительный отек, что позволяет расценивать указанные явления как реакцию на операционную травму. В основной группе на 3 сутки отмечалась более выраженная дисконплексація фолликулов, сравнительно большая активность клеток макрофагального дифферона, что свидетельствует о резорбции «Стимулятора регенерации щитовидной железы» и коллоида фолликулов ЩЖ. На 7 сутки наблюдалось новообразование фолликулов из клеток интерфолликулярного эпителия и дедифференцированных тиреоцитов, происходило бурное разрастание рыхлой соединительной ткани на месте резорбирующегося аллогенного биоматериала. Одновременно наблюдался рост и

новообразование капилляров, формирование мелких фолликулов и начало накопления ими коллоида, отмечалось значительное увеличение количества и диаметра сосудов микроциркуляторного русла. Наибольшая суммарная площадь сосудов наблюдалась на 10-е сутки после субтотальной резекции ЩЖ как в основной, так и в контрольной группах, однако в основной группе суммарная площадь просвета капилляров была в 1,5 раза больше, чем в контрольной. При рассмотрении морфометрических показателей ЩЖ установлено, что после уменьшения диаметра фолликулов в первые 7 суток вследствие резорбции коллоида, наблюдался рост фолликулов с восстановлением нормального диаметра в основной группе к 30 суткам, в контрольной – к 90 суткам. При гистологическом исследовании на 30 суток образцов остаточной ткани щитовидной железы в основной группе (с интраоперационным введением «Стимулятора регенерации щитовидной железы» в культуру

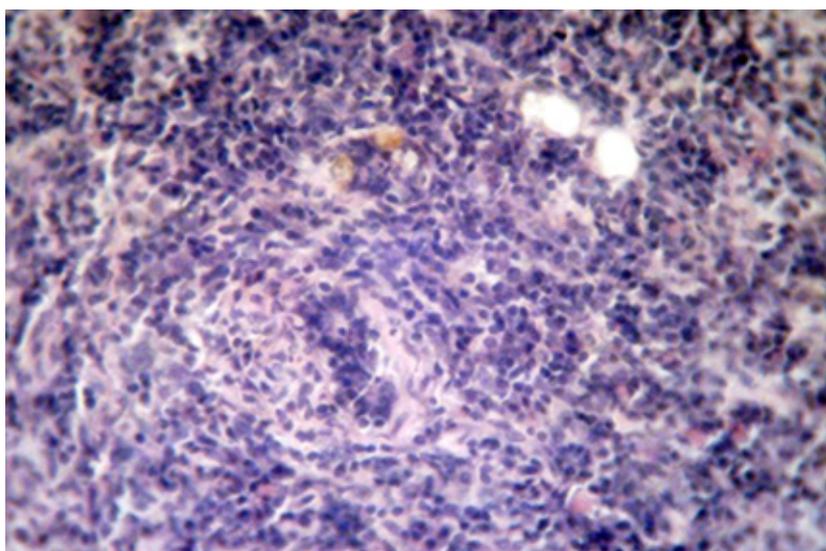


Рис. 4. Массивная лимфоплазмоцитарная инфильтрация в строме остаточной ткани щитовидной железы с лимфоэпителиальным поражением. Контрольная группа, 30 суток. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X100.

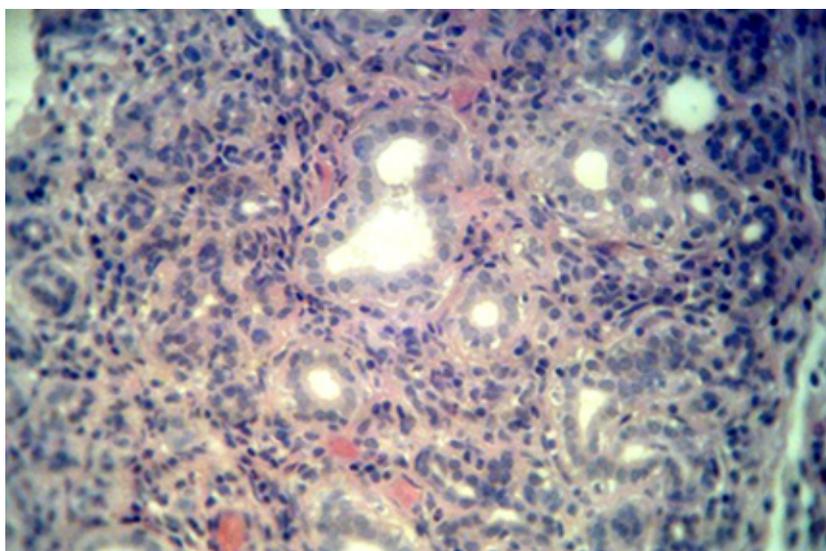


Рис. 5. Диффузная лимфоплазмоцитарная инфильтрация слабой степени выраженности в строме остаточной ткани щитовидной железы. Основная группа, 30 суток. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение X100.

ЩЖ) (рис.5) по сравнению с контрольной группой (рис.4), была установлена более низкая аутоиммунная активность.

В контрольной группе в строме долек щитовидной железы наблюдали густую лимфоплазмочитарную инфильтрацию с наличием лимфоэпителиальных поражений. В некоторых участках отмечались выраженные стромальные повреждения в форме фибриноидного набухания, фибриноидного некроза, гиалиноза и склероза, которые сочетались с дистрофическими изменениями тиреоцитов. Кроме признаков аутоиммунизации, подобных аутоиммунному тиреоидиту, на разных участках остаточной ткани щитовидной железы имелись признаки и других патологических состояний. Например, часто встречалась картина гигантоклеточного фиброзирующего тиреоидита, причем в зонах, удаленных от шовного материала, или гистологическая картина атрофии долек щитовидной железы с липоматозом стромы. Помимо вышеуказанного, обращала на себя внимание и гистологическая картина регионарных лимфатических узлов, в которых отмечалось заселение синусоидов мозгового слоя лимфоидными клетками, соответствующими на светооптическом уровне клеткам мантийной зоны лимфоидных фолликул, что является признаком иммунного ответа высокой степени активности.

В основной группе на 30 сутки в строме долек щитовидной железы, также как и в контрольной группе, наблюдали диффузную лимфоплазмочитарную инфильтрацию. Однако она имела слабую степень выраженности с единичными проявлениями лимфоэпителиального поражения. Кроме этого, отсутствовали признаки стромальных повреждений. В регионарных лимфатических узлах не была отмечена лимфоидная гиперплазия. В участках тиреоидной ткани, куда вводился «Стимулятор регенерации щитовидной железы», на 7-10 сутки наблюдались очажки гиперплазии интрафолликулярного тиреоидного эпителия на фоне монотонной макрофагально-гистиоцитарной инфильтрации стромы, которая значительно уменьшалась к 30 суткам после трансплантации.

Через 90 суток в основной группе клетки, формирующие фолликулы, сохраняют правильное строение, имеют кубическую форму, размеры соответствуют клеткам интактной ЩЖ. Остаточная ткань щитовидной железы имела типичное

гистологическое строение, характеризующееся дольчатостью с рыхлыми тонковолокнистыми септами. Фолликулы были мономорфными, средних размеров, представлены кубическим эпителием со слабо-базофильной цитоплазмой и округлыми ядрами. Имеющаяся динамика изменений морфометрических показателей, прежде всего, может быть связана со степенью активности аутоиммунного ответа на остаточную ткань щитовидной железы в послеоперационном периоде.

Таким образом, на основании проведенного раздела исследования представляется возможным сделать следующие выводы:

– «Стимулятор регенерации щитовидной железы» вызывает быстро наступающую реваскуляризацию культи ЩЖ, что в свою очередь приводит к ранней активизации пролиферации эпителия и соединительно-тканых элементов.

– регенерация при применении «Стимулятора регенерации щитовидной железы» протекает без признаков патологической гиперпролиферации и нарушения стромально-клеточного соотношения и не приводит к злообразованию.

– эндокриноциты сохраняют структуру, подобную клеткам интактной ЩЖ, без атипии.

– основным механизмом действия «Стимулятора регенерации щитовидной железы» следует считать – подавление аутоиммунной активности на остаточную ткань щитовидной железы в послеоперационном периоде за счет формирования выраженной макрофагально-гистиоцитарной инфильтрации тиреоидной паренхимы. Макрофаги, подавляя активность цитотоксических Т-лимфоцитов в отношении тиреоидного эпителия, способствуют полному репаративному процессу с блокированием гиперфункции иммунного компонента.

– регенерация ЩЖ подтверждается не только морфологическими критериями, но и более ранней компенсацией послеоперационной тиреоидной недостаточности.

Клинические исследования. Материалы и методы

За период с января 1997 по январь 2004 года в отделении сосудисто-эндокринной хирургии РКБ им. Г.Г. Куватова оперативному лечению подвергну-

то 798 больных ДТЗ. Все больные на оперативное лечение поступали в плановом порядке, переводом из отделения эндокринологии, где проходили курс предоперационной подготовки до состояния медикаментозного эутиреоза. Предоперационная подготовка включала в себя назначение тиреостатической терапии в общепринятых дозах и коррекцию общесоматического статуса.

Для диагностики ДТЗ и послеоперационного гипотиреоза использовались клинично-инструментальные методы исследования включающие в себя: клинический метод; определение уровня ТТГ, Т4 и Т3 методом иммуноферментного анализа («Алкор Био» г. Санкт-Петербург); определение концентрации антител к тиреопероксидазе (ТПО) и тиреоглобулину (ТГ) («Алкор Био» г. Санкт-Петербург); УЗИ ЩЖ на аппарате «HDJ 5000 Sono CT X Res» (Phillips) широкополосным линейным датчиком с частотой сканирования 12-5 МГц; гистологическое исследование послеоперационного материала; иммунологическое исследование; цитологическое исследование материала, полученного при пункционной тонкоигольной аспирационной биопсии (ПТАБ); сцинтиграфия и тест поглощения радифармпрепарата (^{99m}Tc -пертехнетат (70 МБк)) на аппарате “Millenium VG” через 20 мин после внутривенного введения радиофармпрепарата; иммуногистохимическое исследование.

Для иммуногистохимического исследования (ИГХ) митотической активности тиреоидного эпителия были использованы реактивы концерна DakoCytomation. Антитела: Monoclonal Mouse Anti-Human Topoisomerase II α (Clone SWT3D1), афинно связывающиеся с ферментом топоизомеразой-II α . Топоизомераза-II α – основной фермент, участвующий в разделении цепей ДНК при подготовке к репликации и транскрипции.

В качестве системы детекции применялась полимеризованная система EnVision+ System-HRP (DAB – диаминобензидин, хромоген, восстанавливающийся пероксидазой), для использования с мышинными первичными антителами. Буферные растворы для демаскировки: Tris-HCl pH 6,0.

В иммуногистохимической практике выявления молекулярного маркера применяли два показателя:

1. W% (или $\text{Sotn. } \%$) – удельная доля позитивных клеток (имеющих метку DAB), соответственно равна от 0 до 100. Незначительная удельная доля «-/» (до 10%), низкая удельная доля «+» (10-30%), средняя удельная доля «++» (30%-70%), высокая удельная доля «+++» (70%-100%).

2. ИГХЧ (иммуногистохимическое число) – мера интенсивности экспрессии искомого антигена, имеет значение от 0 до 300. Получается в результате суммы множеств между интенсивностью окраски маркера DAB и W%. Интенсивность окраски: 0 – нет окраски, 1 – светло-коричневая окраска, 2 – коричневая окраска, 3 – темно-коричневая.

Незначительная интенсивность экспрессии топоизомеразы-II α – до 50, низкая интенсивность экспрессии – от 50 до 100, умеренная интенсивность экспрессии от 100 до 200, высокая интенсивность экспрессии от 200 до 300.

Анализ половозрастной структуры показал, что лиц женского пола, поступивших на оперативное лечение, было 724 (90,73%), мужского – 74 (9,27%). Приведенные в таблице 6 данные отражают значительно большую частоту ДТЗ у женщин (10:1), чем у мужчин.

Таблица 6. Распределение больных ДТЗ по возрасту и полу к началу наблюдения.

Возраст, лет	Женщины		Мужчины		Всего	
	n	%	n	%	n	%
16-19	54	6,7	5	0,6	59	7,3
20-29	143	17,9	14	1,8	157	19,7
30-39	217	27,2	17	2,1	234	29,3
40-49	176	22,1	21	2,6	197	24,7
50-59	96	12,0	11	1,4	107	13,4
60-69	31	3,9	4	0,5	35	4,4
70 и старше	7	0,9	2	0,3	9	1,2
Итого	724	90,7	74	9,3	798	100,0

Давность заболевания до исследования в клинике (см. табл. 7) у 285 (35,7%) пациентов не превышала 6 месяцев, у 137 (17,1%) она была более 2 лет. Средняя длительность заболевания составила $1,32 \pm 0,84$ года. Каждый третий

пациент имел более 2-х рецидивов после лечения тиреостатиками.

Таблица 7. Распределение больных ДТЗ по длительности заболевания до исследования.

Длительность заболевания	Женщины		Мужчины		Всего	
	п	%	п	%	п	%
До 6 мес.	259	32,4	26	3,3	285	35,7
От 6 мес. до 2 лет	338	42,4	38	4,8	376	47,2
Свыше 2 лет	127	15,9	10	1,2	137	17,1
Итого	724	90,7	74	9,3	798	100,0

Показаниями к операции являлись: тяжелое либо рецидивирующее течение тиреотоксикоза; неэффективность консервативной терапии; непереносимость анти tireоидных препаратов; лица, планирующие беременность на ближайший срок; подозрение на неопластический процесс на фоне ДТЗ; большие размеры зоба (механический фактор). Практически у всех оперированных больных имелись 2 и более показаний к операции. Распределение больных по тяжести тиреотоксикоза и степени увеличения щитовидной железы представлено в таблице 8.

Таблица 8. Распределение больных ДТЗ в зависимости от степени тяжести тиреотоксикоза и увеличения ЩЖ (в скобках указано число больных с развившимся гипотиреозом).

Степень увел-я ЩЖ по О.В. Николаеву	Тяжесть тиреотоксикоза						Всего	
	Легкая		Средняя		Тяжелая			
Пол	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж
I	-	-	-	-	-	-	-	-
II	-	-	5(1)	16(5)	2(1)	49(19)	7(2)	65(24)
III	-	-	27(7)	285(74)	12(5)	119(38)	39(12)	404(112)
IV	-	-	18(5)	157(39)	7(2)	69(21)	25(7)	226(50)
V	-	-	1(0)	17(5)	2(1)	12(3)	3(1)	29(8)
Итого	-	-	51(13)	525(136)	23(9)	199(64)	74(22)	724(204)

Все оперированные нами больные ставились на диспансерный учет в Республиканской консультативной поликлинике. Спустя 1, 3, 6 месяцев и через 1 год после оперативного лечения ДТЗ больных обследовали амбулатор-

но. Обследовали также больных, перенесших операцию 2-5 лет назад.

В отдаленном послеоперационном периоде на диспансерном учете по поводу развившегося послеоперационного гипотиреоза в поликлинике РКБ состояло 226 (28,3%) больных от общего числа нами обследованных, получивших оперативное лечение по поводу ДТЗ.

Половозрастная структура пациентов с послеоперационным гипотиреозом представлена в таблице 9. Степень тяжести послеоперационного гипотиреоза приведена в таблице 10.

Таблица 9. Половозрастная структура больных и частота развития послеоперационного гипотиреоза.

Возраст, лет	Женщины		Мужчины		Всего	
	Количество больных	Частота развития, %	Количество больных	Частота развития, %	Количество больных	Частота развития, %
16-19	4	7,4	0	0	4	6,8
20-29	10	7,0	2	14,3	12	7,6
30-39	51	23,5	4	23,5	55	23,5
40-49	84	47,7	10	47,6	94	47,7
50-59	36	37,5	4	36,3	40	37,4
60-69	16	51,6	1	25	17	48,6
70 и старше	3	42,9	1	50	4	44,4
Итого	204	28,2	22	29,7	226	28,3

Таблица 10. Распределение больных послеоперационным гипотиреозом по степени тяжести.

	Степень тяжести ПОГ				Всего
	Субклинический	Легкий	Среднетяжелый	Тяжелый	
Мужчины	2 (0,9%)	6 (2,7%)	7 (3,1%)	7 (3,1%)	22 (9,7%)
Женщины	22 (9,7%)	81 (35,8%)	75 (33,2%)	26 (11,5%)	204 (90,3%)
Итого		87 (38,5%)	82 (36,3%)	33 (14,6%)	226 (100%)

В процессе ретроспективного изучения отдаленных результатов хирургического лечения ДТЗ нами определены факторы риска развития ПОГ и про-

анализирована частота развития ПОГ в зависимости от метода оперативного лечения ДТЗ. На основании проведенного исследования разработан алгоритм выбора метода хирургического лечения.

В основную группу исследования вошли 270 пациентов, прооперированных с учетом разработанного алгоритма. Остальные 528 пациентов составили контрольную группу (см. табл. 11).

Таблица 11. Распределение больных ДТЗ по группам исследования.

Метод операции		I группа (основная)	II группа (контрольная)	Всего
Без сохранения магистрального кровотока	по О.В. Николаеву	86 (11)	223	309
	по модифицированной методике О.В. Николаева	112 (17)	202	314
С сохранением магистрального кровотока	по Е.С. Драчинской	16 (92)	82	98
	субтотальная резекция ЩЖ с оставлением нижнего полюса и питающей его НЩА по оригинальной методике	56 (17)	21	77
Итого		270 (47)	528	798

Примечание: в скобках указано количество больных, которым произведена стимуляция регенерации культи ЩЖ аллогенным биоматериалом «Стимулятор регенерации щитовидной железы».

С 2004 года в комплексное хирургическое лечение 47 больных ДТЗ основной группы (при концентрации антител к ТПО более 300 ЕД/мл или выраженной лимфоидной инфильтрации по данным цитологического исследования) было включено интраоперационное применение аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы» (приоритетная справка по заявке на изобретение РФ № 2006106062).

«Стимулятор регенерации щитовидной железы» является препаратом, раз-

работанным в соответствии с требованиями ТУ 42-2-537-2002 на базе тканевого банка «Всероссийского центра глазной и пластической хирургии» (г. Уфа).

Сырье для производства аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы» заготавливалось в соответствии с Законом РФ №4180-1 от 22.12.92 «О трансплантации органов и (или) тканей человека» (в ред. Федерального закона от 20.06.2000 N 91-ФЗ), «Инструкцией по забору, хранению и транспортировке тканей донора-трупа» и приказов МЗ РФ №189 от 10.08.93 и № 470 от 10.12.96, прошедшее полную механическую и химическую обработку согласно внутреннего производственного регламента Всероссийского центра глазной и пластической хирургии. До поступления в производство биоматериал подвергался обязательному тестированию на ВИЧ, гепатит В и С, сифилис. Стерилизацию конечного продукта осуществляли ионизирующим излучением дозой 2,5 Мрад (25 кГр) на гамма-установке «Ротор» (НПФ «Атомбиотех», г. Москва).

Показаниями к применению аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы» явились:

- концентрация антител к тиреоидной пероксидазе более 300 ЕД/мл;
- выраженная лимфоидная инфильтрация по данным цитологического исследования.

«Стимулятор регенерации щитовидной железы» применялся следующим образом: аллогенный биоматериал разводили в физиологическом растворе в соотношении: 50 мг биоматериала на 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия и интраоперационно инфильтрировали при помощи иглы диаметром 0,7 мм по 1 мл культу каждой доли ЩЖ. Осложнений процедуры: аллергических реакций, нагноений, кровотечений – не наблюдалось.

Аллогенный биоматериал «Стимулятор регенерации щитовидной железы» для лечения послеоперационного гипотиреоза был применен 32 больным с манифестным гипотиреозом легкой (17 пациентов) и средней тяжести (15 пациентов) и 5 больным с субклиническим гипотиреозом в сроки от 1 до 5 лет после субтотальной резекции щитовидной железы по поводу диффуз-

ного токсического зоба. Все пациенты получали заместительную терапию L-тироксина, больные субклиническим гипотиреозом – в дозе 25 мкг/сут, легким гипотиреозом в дозе 50-75 мкг/сут, средней тяжести – 100-150 мкг/сут. Больные с тяжелым гипотиреозом не вошли в исследование, поскольку у них практически отсутствовала тиреоидная ткань. Аллогенный биоматериал «Стимулятор регенерации щитовидной железы» разводился 50 мг препарата к 1 мл физиологического раствора и вводился иглой диаметром 0,7 мм инъекционно чрезкожно в толщу культи щитовидной железы прицельно под контролем УЗИ в количестве 1 мл в одну из долей ЩЖ. Осложнений процедуры: аллергических реакций, нагноений, кровотечений – не наблюдалось. Для усиления эффекта воздействия на остаточную ткань щитовидной железы тиреотропного гормона, после введения аллогенного биоматериала, терапевтическую дозу L-тироксина на 2 недели уменьшали в 2 раза.

Результаты клинических исследований

Сравнительная оценка частоты развития ПОГ выявила его преобладание у пациентов с тяжелым тиреотоксикозом. Вероятно, одной из причин этому явился излишний радикализм хирургов, вызванный стремлением недопущения рецидивов заболевания. Объем остаточной ткани щитовидной железы у больных с тяжелыми степенями тиреотоксикоза по данным ультразвукового исследования был меньше в среднем в 1,5-2 раза, чем у пациентов с тиреотоксикозом средней степени тяжести.

Для систематизации гистологических особенностей ДТЗ нами использована классификация Бронштейна М.Э. (1991). Наблюдения операционного материала были нами разделены на три гистологических варианта: классический, паренхиматозный и коллоидный пролиферирующий.

Для уточнения регенераторных возможностей щитовидной железы (степени пролиферативной активности) тиреоидного эпителия и степени аутоиммунной активности нами применено иммуногистохимическое (ИГХ) определение экспрессии топоизомеразы- β .

В основе разных гистологических вариантов диффузного токсического зоба лежит патоморфоз, заключающийся в изменении митотической активности тиреоидного эпителия (рисунок 6). То есть, гистологическая трансформация может идти в направлении от паренхиматозного варианта к классическому, и далее, от классического варианта к коллоидному пролиферативному, в результате снижения митотической активности в тиреоидном эпителии. Так, при паренхиматозном варианте удельная доля позитивных клеток (имеющих метку DAB) - $W\%(\text{топоизомераза-II}\alpha)=21,1\pm 0,60$, при классическом варианте $W\%(\text{топоизомераза-II}\alpha)=12,3\pm 0,55$, а при коллоидном пролиферативном $W\%(\text{топоизомераза-II}\alpha)=5,1\pm 0,35$.

Тем не менее, данная морфологическая характеристика являлась крайне вариабельной в пределах одной зубноизмененной щитовидной железы,

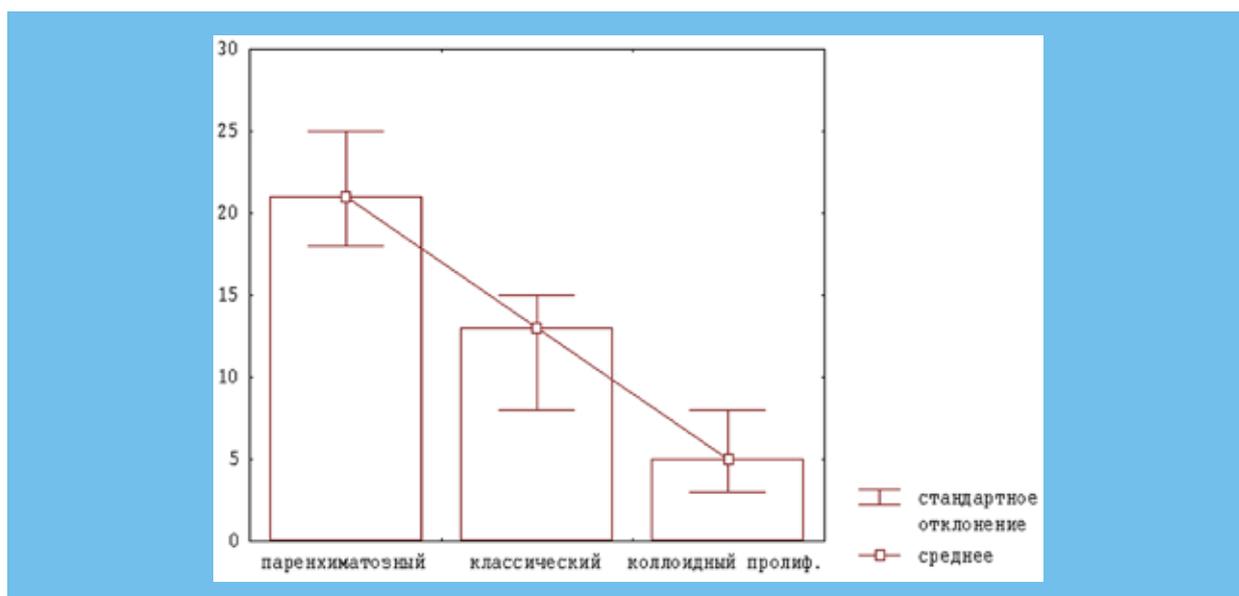


Рис. 6. Средние значения митотической активности тиреоидного эпителия.

так как при исследовании удаленной части щитовидной железы можно говорить только о преобладании того или иного гистологического варианта, где $W\%(\text{топоизомераза-II}\alpha)$ может являться объективным показателем для более точной верификации гистологического варианта в каждом конкретном случае.

При гистологическом исследовании была выявлена зависимость лечебного патоморфоза ДТЗ от длительности применения тиреостатических пре-

паратов (мерказолила) (рисунок 7). По нашим данным, с учетом определения митотической активности, лечебный патоморфоз ДТЗ связан с уменьшением митотической активности тиреоцитов ($r=-0,3649$, $p=0,013$).

При исследовании объема и степени интенсивности экспрессии топоизомеразы в центрах размножения лимфоидных фолликулов была установлена

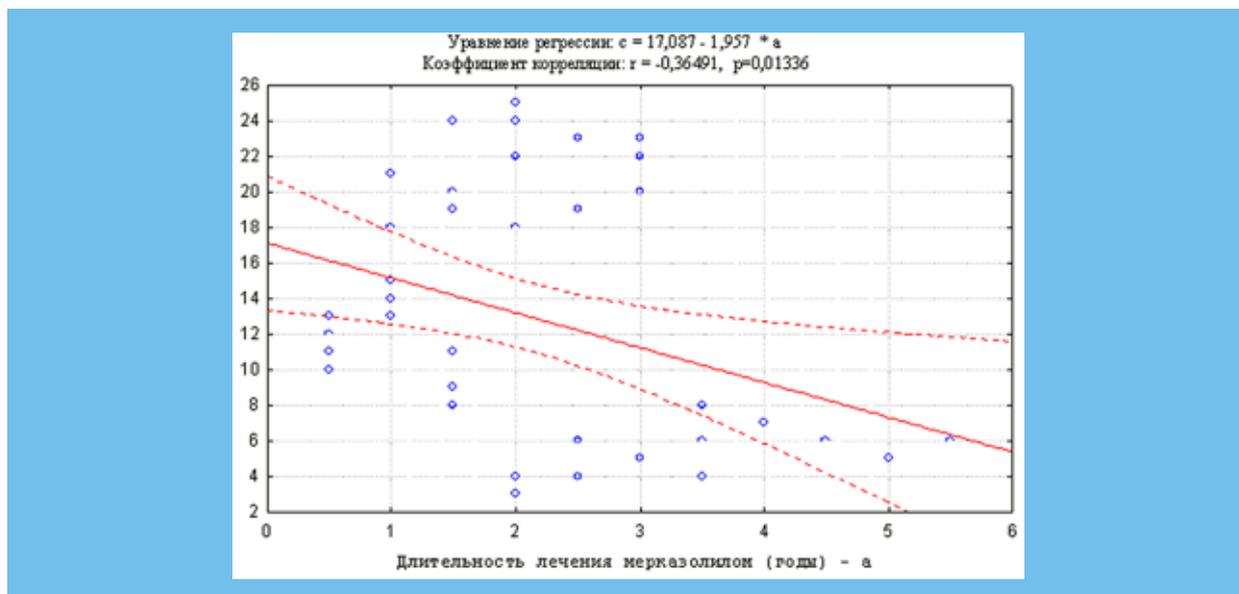


Рис. 7. Влияние длительности лечения мерказолилом на митотическую активность тиреоцитов.

сильная прямая корреляционная зависимость от диаметра центра размножения ($r=0,97$, $p=0,01$), что может служить объективным критерием выраженности аутоиммунных процессов.

Изучение гистологических препаратов и сопоставление полученных данных с отдаленными результатами субтотальной резекции щитовидной железы показало, что имеется четкая корреляционная зависимость ($p<0,05$) между гистологической структурой ЩЖ у больных ДТЗ с одной стороны, и возрастом пациента, длительностью заболевания и приемом тиреостатиков (мерказолил и др.) - с другой. С увеличением возраста пациентов отмечается неуклонное увеличение относительного содержания стромы (степени выраженности склеротических изменений), и уменьшение митотической активности тиреоидного эпителия (рисунок 8).

У молодых больных, длительно (более 2 лет) и бесконтрольно принимавших тиреостатические препараты, выраженность лимфоидной инфильтрации

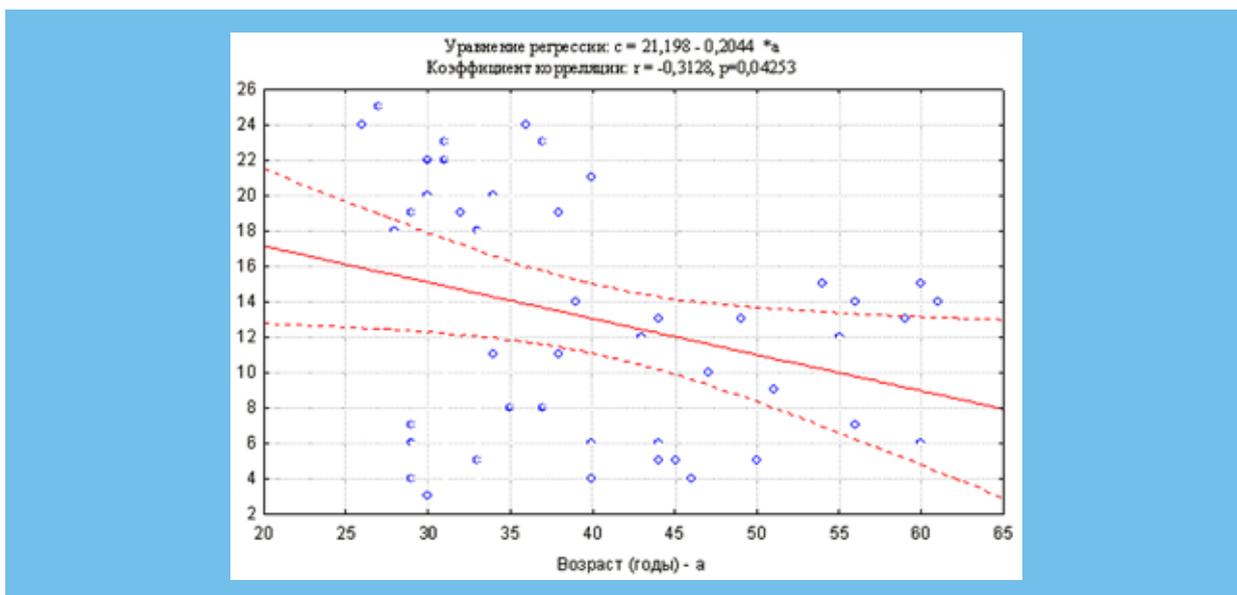


Рис. 8. Влияние возраста на митотическую активность тиреоцитов при ДТЗ.

и содержание коллагеновых и ретикулиновых волокон было сопоставимо с пациентами значительно старшего возраста, но принимавшими антигипертиреозные препараты кратковременно. При нарастании относительного объема лимфоплазмозитарной инфильтрации установлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение степени выраженности склеротических изменений. Однако эта закономерность в большей степени отмечена у пациентов старше 40-50 лет. Статистически значимая обратная корреляционная взаимосвязь средней силы ($r = -0,3022$, $p = 0,0294$) обнаружена между возрастом пациентов и степенью васкуляризации щитовидной железы при ДТЗ. Учитывая статистически значимую взаимосвязь возраста, длительности антигипертиреозной терапии со степенью выраженности склеротических изменений, васкуляризации и митотической активности тиреоидного эпителия – возраст пациента следует считать фактором снижения регенераторной способности щитовидной железы. Следовательно, возраст пациента старше 40 лет необходимо рассматривать как критерий выбора для проведения субтотальной резекции щитовидной железы с сохранением магистрального кровотока.

Динамика изменений митотической активности тиреоидного эпителия в зависимости от степени лимфоидной инфильтрации, возраста и приема антигипертиреозных препаратов, длительности заболевания позволяет оценить

регенераторный потенциал и характер структурных изменений ЩЖ, и по данным изучения гистологических препаратов прогнозировать развитие послеоперационного гипотиреоза.

Цитологическое заключение, полученное при исследовании пунктата ЩЖ, являлось одним из критериев в выборе объема и метода хирургического вмешательства при ДТЗ. В послеоперационном периоде метод использовался для динамического наблюдения за состоянием культи ЩЖ. Тонкоигольная пункционная аспирационная биопсия щитовидной железы позволяла дать оценку структурных изменений в тиреоидной ткани. С помощью этого метода возможно подтверждение активности аутоиммунного процесса в ЩЖ и степени воздействия антитиреоидных препаратов.

Нами не обнаружено зависимости между морфологической картиной и степенью выраженности тиреотоксикоза. Также не найдено достоверных различий в цитологической картине ДТЗ у больных различного пола и возраста. Важно подчеркнуть, что в 14% случаев определяется непрезентативность аспирата при ПТАБ, поэтому данный метод должен дополняться другими способами оценки активности аутоиммунного процесса.

Проведенный комплексный анализ иммунограммы и морфологического исследования у больных ДТЗ в до- и послеоперационном периодах показал, что, несмотря на выраженные сдвиги в органоспецифическом иммунитете, статистически значимых изменений общего иммунного гомеостаза не наблюдается. Операционная травма стимулирует развитие гуморально-опосредованных аутоиммунных реакций, которые, тем не менее, не играют решающей роли в развитии послеоперационного гипотиреоза в отсутствие активности клеточного звена иммунитета. Наибольшей информативностью в прогнозировании послеоперационного гипотиреоза обладает степень лимфоплазмоцитарной инфильтрации ткани щитовидной железы, а также содержание антител к тиреоидной пероксидазе.

Анализ выраженности лимфоидной инфильтрации по данным гистологии и концентрации антител к тиреоидной пероксидазе в предоперацион-

– степень выраженности лимфоидной инфильтрации по данным цитологического исследования материала, полученного при ПТАБ.

Статистически достоверные отличия степени выраженности склеротических процессов, васкуляризации, митотической активности тиреоидного эпителия в разных возрастных группах и при различной длительности антитиреоидной терапии показали, что возраст и длительность антитиреоидной терапии являются основными факторами, определяющими исходный уровень регенерации ЩЖ.

Сила аутоиммунной агрессии в послеоперационном периоде, вследствие операционной травмы, зависит от исходных показателей гуморального и клеточного иммунитета. Проведенные нами исследования позволили определить статистически достоверные значения, при которых независимо от исходного регенераторного потенциала происходит развитие ПОГ, вследствие аутоиммунной деструкции: концентрация антител к тиреоидной пероксидазе более 300 ЕД/мл и (или) выраженная лимфоидная инфильтрация по данным цитологического исследования.

На основании проведенных исследований нами разработан алгоритм обследования больных с диффузным токсическим зобом до операции для определения факторов риска развития послеоперационного гипотиреоза (рисунок 10).

Проведенные клинико-морфологические исследования и анализ частоты развития послеоперационных осложнений в зависимости от метода СРЩЖ



Рис. 10. Алгоритм обследования больных ДТЗ в предоперационном периоде для выявления факторов риска развития послеоперационного гипотиреоза.

позволили разработать алгоритм тактики комплексного хирургического лечения больных с диффузным токсическим зобом (рис. 11).

Предоперационная подготовка и анестезиологическое пособие больных основной группы, а также методы субтотальной резекции щитовидной железы принципиально не отличались от пациентов контрольной группы.

Количество оставляемой ткани при резекции щитовидной железы определено на основании анализа отдаленных результатов хирургического ле-

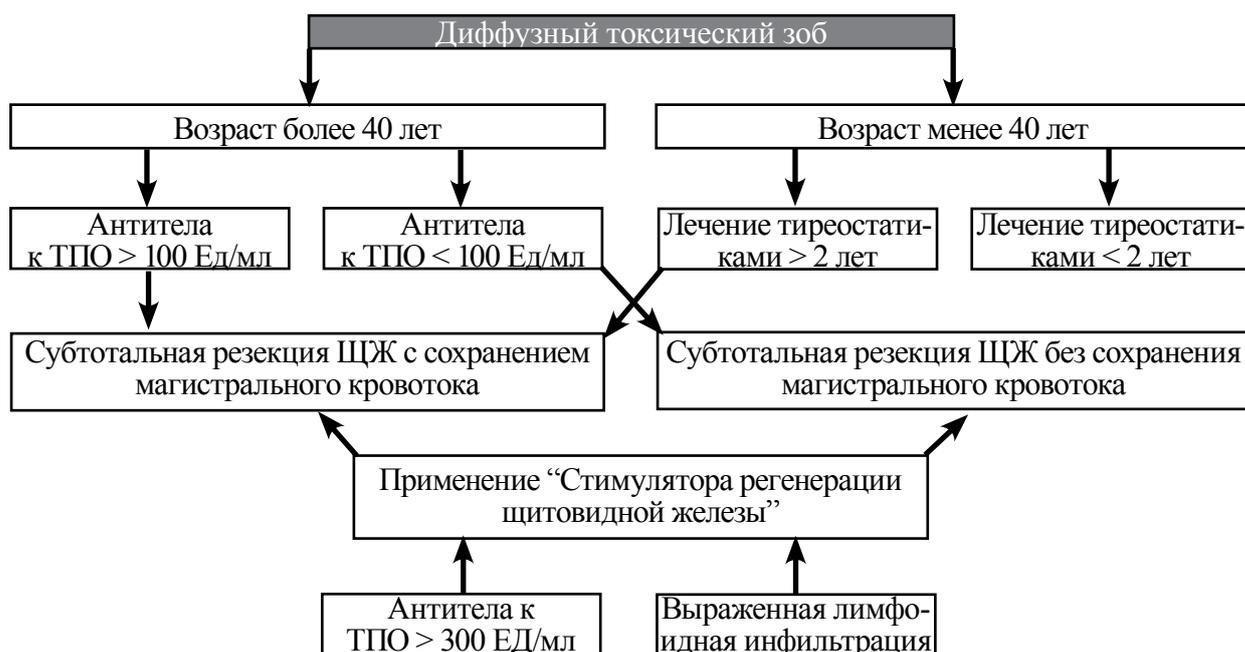


Рис. 11. Алгоритм тактики комплексного хирургического лечения при диффузном токсическом зобе.

чения больных контрольной группы. Больным до операции и в ближайшем послеоперационном периоде (через 1 неделю после операции) эхографически определялся объем тиреоидной паренхимы. Влияние объема оставленной ткани на результат хирургического лечения при методиках с сохранением и без сохранения магистрального кровотока отражен на графике 5 и 6. Как видно из графиков, при операциях без сохранения магистрального кровотока частота эутиреоза наибольшая при оставлении 1/6-1/8 от исходного объема каждой доли щитовидной железы, а при операциях с сохранением магистрального кровотока наибольшая частота эутиреоза наблюдается при сохранении 1/8 объема железы, а поскольку практически весь объем при данных

методах операции приходится на одну долю, то необходимое количество остаточной ткани ЩЖ составляет приблизительно $\frac{1}{4}$ часть доли. В основной группе объем оставляемой ткани щитовидной железы при различных методах субтотальной резекции определяли согласно проведенным расчетам.

В результате дифференцированного отбора пациентов для комплексного хирургического лечения ДТЗ удалось значительно снизить частоту специфических осложнений после резекции щитовидной железы (табл. 12, 13).

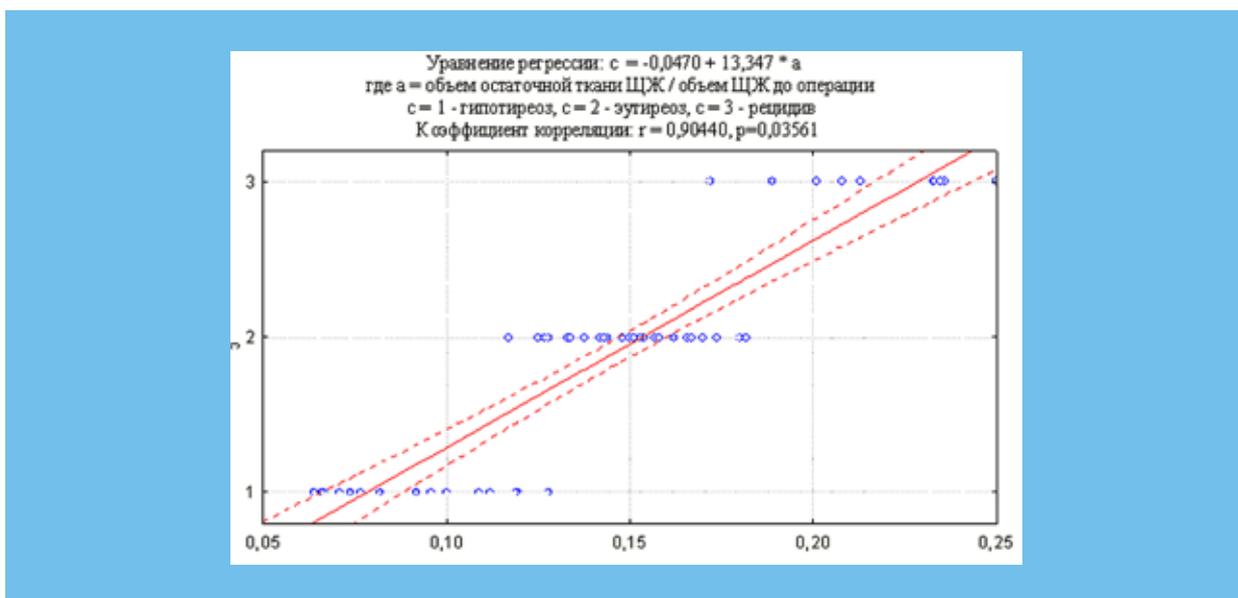


Рис. 12. Влияние степени выраженности лимфоидной инфильтрации на концентрацию антител к тиреопероксидазе.

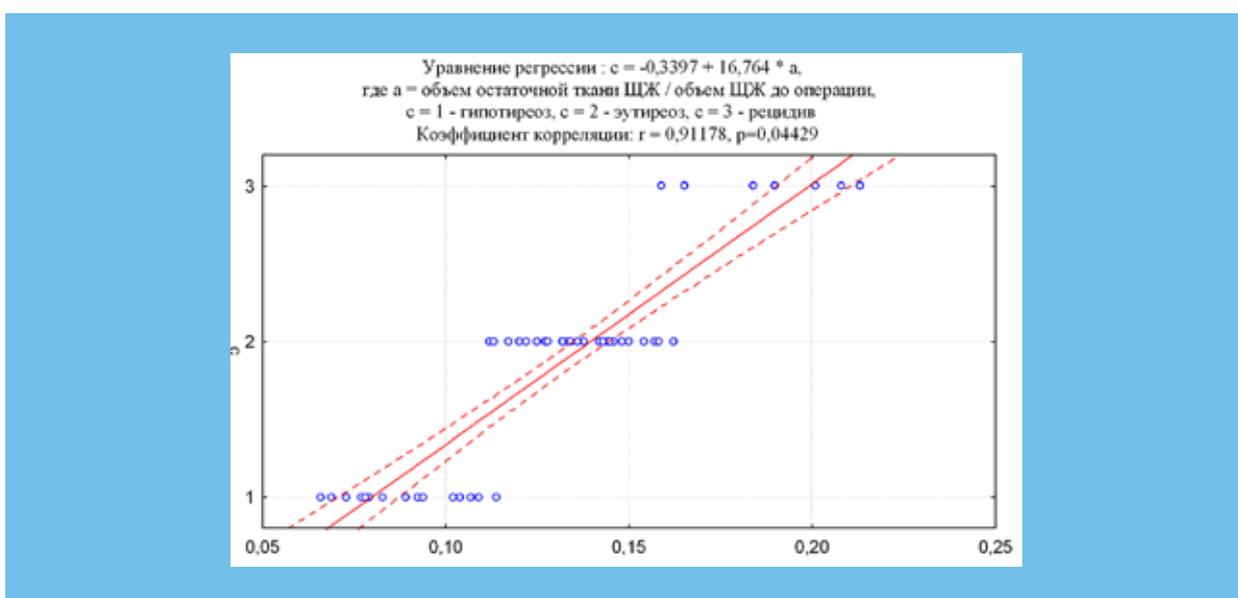


Рис. 13. Влияние степени выраженности лимфоидной инфильтрации на концентрацию антител к тиреопероксидазе.

Таблица 12. Специфические послеоперационные осложнения при различных методиках резекции щитовидной железы в контрольной группе.

Осложнение	Резекция щитовидной железы				Всего (n=528)
	По О.В. Николаеву (n=223)	По О.В. Николаеву в модификации клинки (n=202)	По Е.С. Драчинской(n=82)	С оставлением нижнего полюса доли и НЩА (n=21)	
Повреждения возвратных нервов -одностороннее -двустороннее	7 (3,1%) 3(1,3%)	4 (2,0%) 2 (2,0%)	4 (4,9%) 3 (3,7%)	1 (4,8%) 0	16 (3,0%) 5 (1,5%)
Стойкий гипопаратиреоз	2 (0,9%)	0	3 (3,7%)	0	5 (0,9%)
Стойкий гипотиреоз	84 (37,7%)	74 (36,6%)	17 (20,7%)	4 (19,0%)	179 (33,9%)
Рецидив зоба	9 (4,0%)	7 (3,5%)	6 (7,3%)	1 (4,8%)	23 (4,4%)

Примечание: в скобках указана частота осложнений при данной методике резекции щитовидной железы.

Таблица 13. Специфические послеоперационные осложнения при различных методиках резекции щитовидной железы в основной группе.

Осложнение	Резекция щитовидной железы				Всего (n=270)
	По О.В. Николаеву (n=86)	По О.В. Николаеву в модификации клинки (n=112)	По Е.С. Драчинской(n=16)	С оставлением нижнего полюса доли и НЩА (n=56)	
Повреждения возвратных нервов-одностороннее-двустороннее	2 (2,3%) 1(1,2%)	2 (1,8%) 1 (0,9%)	1 (6,2%) 0	1 (1,8%) 0	6 (2,2%) (0,7%)
Стойкий гипопаратиреоз	1 (1,1%)	0	0	0	1(0,3%)
Стойкий гипотиреоз	16 (18,6%)	21 (18,8%)	2 (12,5%)	8 (14,3%)	47 (17,4%)
Рецидив зоба	3 (3,5%)	2 (1,8%)	1(6,3%)	0	6 (2,2%)

Примечание: в скобках указана частота осложнений при данной методике резекции щитовидной железы.

Внутригрупповой анализ результатов хирургического лечения 149 больных ДТЗ, имевших показания к применению аллогенного биоматериала в основной группе, обнаружил, что при стимуляции регенерации у 47 больных

частота ПОГ составила 17,0%, в то время как у 102 пациентов без стимуляции – 25,5% (см. табл. 14). Таким образом, частота ПОГ снизилась почти в 1,5 раза.

Таблица 14. Частота гипотиреоза у больных основной группы, имевших показания к применению аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы».

Пациенты, имевшие показания к стимуляции регенерации	Частота гипотиреоза
Без стимуляции регенерации (n=102)	26 (25,5%)
Со стимуляцией регенерации (n=47)	8 (17,0%)
Всего (n=149)	34 (22,8%)

В послеоперационном периоде имелось статистически достоверное раннее (к 6 месяцу) восстановление эутиреоидного состояния у лиц, которым применен аллогенный биоматериал «Стимулятор регенерации щитовидной железы» (табл. 15). Также при применении аллогенного биоматериала имело место статистически достоверное снижение концентрации антител к тиреопероксидазе на 6 – 12 месяцах наблюдения по сравнению с дооперационными значениями, что свидетельствует об имеющемся выраженном иммуномодулирующем влиянии биоматериала на состояние антитиреоидного иммунитета.

Таблица 15. Динамика гормонов и антител в до- и послеоперационном периодах при применении аллогенного биоматериала «Стимулятор регенерации щитовидной железы».

Показатель	Здоровые лица	До операции					
			Через 1мес	Через 3мес	Через	Через	
Без стимуляции	Т4 своб, пмоль/л	1,9±0,08	1,3±0,24	1,6±0,32	1,6±0,21	1,7±0,18	1,8±0,29
	ТТГ, мМЕ/л	69,3±8,4	43,8±2,9	45,3±2,8	48,6±3,2	56,1±4,2	66,8±4,2
	антитела к тиреопероксидазе, Ед/мл	0,85±0,12г	2,8±0,68	2,5±0,6	2,1±0,7	1,65±0,34	1,2±0,28
Со стимуляцией	Т3, нмоль/л	1,9±0,08	1,5±0,2	1,6±0,22	1,7±0,14	2,0±0,16	1,9±0,24
	Т4, нмоль/л	69,3±8,4	46,4±3,5	52,0±3,2	58,3±2,7	67,3±2,8*	68,4±2,7
	ТТГ, мМЕ/л	0,85±0,12	2,6±0,84	3,1±0,8	1,2±0,23	0,86±0,16*	0,74±0,28

Заключение

Применение полимерных пленок, покрытых углеродсодержащими покрытиями с НСП, имеющих заданные физико-химические свойства, позволяет пролонгировать жизнеспособность консервируемых донорских материалов при сохранении их биопластических свойств.

Обоснованы оптимальные параметры асептических биосовместимых углеродсодержащих покрытий при создании специальных контейнеров и упаковочных пленок для хранения донорских материалов:

Разработанные покрытия с НСП могут быть использованы для обработки поверхности специальных контейнеров и упаковочных пленок для консервации донорских материалов.

НСП углеродсодержащих покрытий обладают антибактериальными свойствами. НСП специального контейнера, создавая в физиологическом буферном растворе слабую катионическую среду, исключает существование каких-либо контаминаций в ней; способствует поляризации клеточных структур, восстанавливая потенциалы клеточных мембран, тем самым сохраняет форму и структуру донорской ткани.

Адгезивные свойства этих покрытий определяются электростатическими свойствами НСП и могут способствовать либо адгезии на поверхности химических соединений, белковых структур, клеток, клеточных структур, либо НСП может проявлять себя как интактная в отношении определенных соединений.

Применение асептических специальных контейнеров и упаковочных пленок с биосовместимой поверхностью позволяет увеличивать сроки консервации донорских материалов и иметь запасы донорского материала. Использование для трансплантации сохранившего жизнеспособность качественного донорского материала обеспечивает благополучный исход операции, уменьшает риск послеоперационных осложнений.

Создание биологически активной системы с помощью формирования наноструктурированной поверхности - это решение проблемы длительного хранения жизнеспособных донорских тканей.

Для асептического хранения и транспортировки донорского материала используемого в общей хирургии впервые разработан специальный контейнер и упаковочные пленки с биосовместимой асептической НСП. Разработанные для обработки поверхности контейнеров и пленок углеродсодержащие покрытия с НСП способствуют поддержанию метаболических процессов донорских тканей, обеспечивая тем самым увеличение сроков их жизнеспособности во время консервации. Изготовленные таким образом контейнеры и пленки могут быть использованы для длительного хранения жизнеспособных донорских тканей в условиях многопрофильных тканевых банков, а также, при необходимости, для безопасной транспортировки донорского материала.

Для консервации донорской роговицы предлагаемый способ консервации обеспечивает:

1. Бандажную функцию для донорской роговицы, защищая ее от деформации и возможных механических повреждений.
2. Физико-химические свойства НСП обеспечивают асептическое хранение донорской роговицы, поляризацию клеточных мембран, также способствуют поддержанию метаболических процессов.
3. Хранение донорской роговицы в специальном контейнере не требует периодической замены питательной среды, тем самым избавляет клетки донорской роговицы от возможных стрессов и исключает возможность инфицирования питательной среды.
4. Увеличение срока хранения донорской роговицы до 30 дней и более.
5. Возможность транспортировки донорских роговиц в контейнерах.
6. Многократное использование контейнеров.

Список использованных сокращений

ПЭТФ - полиэтилентерефталат

ПТФЭ - политетрафторэтилен

ПВДФ – поливинилиденфлюорид

НПС- наноструктурированная поверхность

УП-углеродсодержащая пленка

ИК-спектроскопия – спектроскопия в инфракрасном спектре

ЭСХА- электронная спектроскопия для химического анализа

АСМ - атомно-силовой микроскоп

ВЧ- высокочастотное

Staphylococcus aureus ATCC 29213- музейный штамм грамположительного микроорганизма

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853- музейный штамм грамотрицательного микроорганизма

УП – углеродное покрытие

нм- нанометр

r- горизонтальный размер

L -периметр

V -объем особенностей рельефа поверхности, шероховатость поверхности

Rq -среднеквадратичное отклонение

S- площадь

DF - фрактальная размерность.

θ -контактный угол смачивания

γ - величина полной поверхностной энергии

γ^P - полярная компонента γ

γ^d дисперсионная компонента γ

ЭК- эндотелиальная клетка

Литература

1. V. V. Sleptsov, V. M. Elinson, N. V. Simakina, A. N. Laymin, I. V. Tsygankov, A. A. Kivaev, A. D. Moussina “Ophthalmologic application of contact lenses modified by means of ionassisted carbon films”. *Diamond and Related Materials*; 5 (1996); 483-485; USA.
2. Moussina Alvina D. “The improvement in contact lens quality with contact lens cases surface modified by diamond-like and carbyne films covering” *Advance. Science. Technology. Italy*; 1999, XXI; 425-432.
3. V. M. Elinson, V. V. Sleptsov, A. N. Laymin, V. V. Potrasay, L. N. Kostuychenko, A. D. Moussina “Barrier properties of carbon films deposited on polymer-based devices in aggressive environments”. *Diamond and Related Materials*; 8; (1999); 2103-2109; USA.
4. В. М. Елинсон, В. В. Слепцов, А. Н. Лямин, В. В. Потрясай, А. Д. Мусина “Модификация поверхности офтальмологических жестких контактных линз с помощью углеродсодержащих пленок, нанесенных ионно-плазменными методами”. *Инженерный журнал*; №11 (32); 59-60; 1999.
5. В. М. Елинсон, В. В. Слепцов, А. Н. Лямин, В. В. Потрясай, Л. Н. Костюченко, А. Д. Мусина. “Барьерные свойства углеродных пленок, нанесенных на полимерную основу, в условиях агрессивной окружающей среды”. *Инженерный журнал*; №11 (32); 61-64; 1999.
6. А. Д. Мусина, В. М. Елинсон, В. В. Потрясай, А. Н. Лямин, Р. И. Кузнецов “Формирование контейнеров для контактных линз с бактериостатической поверхностью”. *Материалы международной научно-технической конференции “Вакуумная наука и техника”*; 275-281; 2002; МИЭМ.
7. A. D. Moussina “Artificial Iris Surface Modification By Means Of Carbon Film Deposition For Providing The Eye Diaphragm Loss Compensation”, *The First UAE International Conference on Biological and Medical Physics; Conference Proceedings*; 2005; Al Ain, UAE.
8. Moussina Alvina D., Egorov Eugene A., Galimova Venera U., Nigmatullin Rafic T. “New Method of Donor Cornea Storage and Transportation Providing Donor Tissue Quality and Biocompatibility.” *WOC, Brasil, ; Conference Proceedings*, 2006.
9. Moussina Alvina D. “L’application Des Nanotechnologies Pour Une Conservacion De La Cornee Du Donneur.”, *Le 112 Congres De La SFO, Paris, ; Conference Proceedings* 2006.
10. Moussina Alvina D. “The Application of Nanostructured Surface for the Recovering of the Cornea”, *1st International Conference for Ocular Cell Biology, 6-10 September, Homerton College, Cambridge, UK, 2006.*