

Патологическая анатомия тиреотоксической печени

Н. Ю. Орлинская, д. м. н., доцент¹

А. Б. Эльканова, к. м. н.²

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, г. Нижний Новгород

²ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ставрополь

Pathological anatomy of thyrotoxic liver

N. Yu. Orlynskaya, A. B. Elkanova

Privolzhsy Research Medical University, Nizhny Novgorod; Stavropol State Medical University, Stavropol; Russia

Резюме

Работа выполнена на экспериментальном материале. Получена экспериментальная модель тиреотоксикоза на лабораторных животных – белых крысах-самцах путем ежедневного введения L-тироксина в дозе 1,6 мг на 1 кг массы тела. Продолжительность опыта составила 45 дней. Для опыта отобраны 67 половозрелых крыс массой тела 250–300 г. Крыс выводили из эксперимента через 7, 14, 21, 28, 35 и 45 суток. В качестве контроля использовали 22 крысы, которым L-тироксин не вводили. Уровень тиреоидных гормонов в крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа. Проводили макроскопическое исследование и определяли размеры и массу печени крыс. Для гистологического исследования брали кусочки ткани печени, их фиксировали в 10%-ном забуференном формалине в течение 10 дней. Гистологические препараты готовили стандартным методом, использовали гистологические, гистохимические и иммуногистохимические методы исследования. Результаты исследования показали, что при экспериментальном тиреотоксикозе уровень тиреоидных гормонов повышается и составляет: T3 (трийодтиронин) – $21,37 \pm 0,03$ м/ммоль, в контроле – $4,75 \pm 0,02$ ммоль/л; T4 (тироксин) – $2,55 \pm 0,03$ ммоль/л, в контроле – $1,80 \pm 0,03$ ммоль/л. При макроскопическом исследовании обнаружено увеличение размеров и массы печени в 2,0 раза. При гистологическом исследовании выявлены распространенный интерстициальный отек стромы печени, дистрофические и деструктивные изменения, некроз гепатоцитов, образование полостей, истончение и атрофия печеночных балок, лимфоцитарная инфильтрация. При иммуногистохимическом исследовании определяется снижение уровня экспрессии Ki-67 до 1,8% по сравнению с контролем (5,0%), что свидетельствует о снижении репаративных процессов в печени.

Ключевые слова: тиреотоксикоз, печень, гепатоциты, дистрофия, отек, плазмолиз.

Summary

The work was performed on experimental material. An experimental model of thyrotoxicosis in laboratory animals, white male rats, was obtained by daily administration of l-thyroxine at a dose of 1.6 mg per 1 kg of body weight. The duration of the experiment was 45 days. 67 mature rats weighing 250–300 g were selected for the experiment. Rats were removed from the experiment after 7, 14, 21, 28, 35 and 45 days. As a control, we used 22 rats that were not injected with L-thyroxine. The level of thyroid hormones in the blood of rats was determined by enzyme immunoassay. A macroscopic study was performed and the size and mass of the rat liver were determined. For histological examination, pieces of liver tissue were taken, and they were fixed in 10% buffered formalin for 10 days. Histological preparations were prepared by the standard method, using histological, histochemical and immunohistochemical studies. The results of the study showed that in experimental thyrotoxicosis, the level of thyroid hormones increases: T3 (triiodothyronine) equals 21.37 ± 0.03 mmol/l, 4.75 ± 0.02 mmol/l in the control; T4 (thyroxine) equals 2.55 ± 0.03 mmol/l, 1.80 ± 0.03 mmol/l in the control. Macroscopic examination revealed a 2-fold increase in the size and weight of the liver. Histological examination revealed widespread interstitial edema of the liver stroma, dystrophic and destructive changes, necrosis of hepatocytes, formation of cavities, thinning and atrophy of the liver beams, lymphocytic infiltration. The immunohistochemical study shows a decrease in Ki-67 expression level to 1.8% compared to the control (5.0%), which indicates a decrease in reparative processes in the liver.

Key words: thyrotoxicosis, liver, hepatocytes, dystrophy, edema, plasmolysis.

Актуальность темы

В структуре эндокринных заболеваний патология щитовидной железы занимает второе место после сахарного диабета. Тиреоидная патология встречается у 20% взрослого населения земного шара, а в эндемических регионах этот показатель составляет 50% [1, 2, 3]. Тиреотоксикоз – это клинический синдром, обусловленный длительным и стойким повышением уровня тиреоидных гормонов в крови. Распространенность тиреотоксикоза в России составляет 18,4 случая на 100 тысяч человек [4, 5, 6]. Тиреотоксикоз встречается при различных заболеваниях щитовидной железы (диффузный токсический зоб, функцио-

нальная автономия щитовидной железы, токсическая аденома, аутоиммунный тиреоидит и др.), а также при избыточном поступлении тиреоидных гормонов извне.

При тиреотоксикозе поражаются все органы и системы: сердечно-сосудистая и нервная, глазное яблоко, желудочно-кишечный тракт. Поражение печени характеризуется развитием тиреотоксического гепатоза, хронического гепатита и цирроза печени, изменением биохимических показателей функции печени [7, 8, 9, 10].

Тиреотоксикоз чаще встречается у женщин. При тиреотоксикозе выражен кatabолический синдром, для которого характерны прогрессирующее похуда-

ние, слабость, повышение аппетита. Избыток тиреоидных гормонов приводит к усилению кatabолических процессов, нарушению обмена белков, активации гликогенолиза и липолиза. При этом повышается температура тела, снижается минеральная плотность костной ткани, возникают слабость и атрофия мышц.

Цель исследования: изучить структурные изменения в печени при тиреотоксикозе.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на экспериментальном материале. Эксперимент проведен на белых крысах-самцах линии

Таблица 1

Результаты исследования уровня тиреоидных гормонов в крови крыс при экспериментальном тиреотоксикозе в динамике

Виды гормонов, моль/л	Контроль	Сроки эксперимента (сутки)					
		7-е	14-е	21-е	28-е	35-е	45-е
Трийодтиронин (Т3)	4,75 ± 0,02	4,80 ± 0,03	5,25 ± 0,02	7,46 ± 0,02*	9,53 ± 0,03*	15,14 ± 0,02*	21,37 ± 0,03*
Тироксин (Т4)	1,80 ± 0,03	1,80 ± 0,03	1,80 ± 0,03	1,93 ± 0,02*	2,23 ± 0,03*	2,35 ± 0,02*	2,55 ± 0,03*
Тиреотропный гормон (ТТГ)	2,80 ± 0,01	2,70 ± 0,02	2,30 ± 0,03	1,70 ± 0,02*	1,50 ± 0,03*	1,30 ± 0,02*	1,20 ± 0,01*

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

Таблица 2

Показатели размеров и массы печени при экспериментальном тиреотоксикозе в динамике

Параметры	Контроль	Сроки эксперимента (сутки)					
		7-е	7-е	7-е	7-е	7-е	7-е
Длина	4,00 ± 0,03	4,30 ± 0,02	4,50 ± 0,03	5,00 ± 0,02*	6,00 ± 0,03*	6,50 ± 0,04*	7,80 ± 0,04*
Ширина	3,00 ± 0,03	3,00 ± 0,03	3,30 ± 0,02	3,50 ± 0,03*	3,70 ± 0,02*	4,00 ± 0,03*	4,50 ± 0,03*
Толщина	0,35 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,37 ± 0,02	0,40 ± 0,03*	0,52 ± 0,03*	0,63 ± 0,02*	0,70 ± 0,02*
Параметры массы печени (г)	5,50 ± 0,04	5,50 ± 0,03	5,60 ± 0,02	6,00 ± 0,04*	8,20 ± 0,02*	9,00 ± 0,04*	10,50 ± 0,03*

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

«Вистар». Для опыта отбирали здоровых крыс в возрасте 8–9 месяцев и массой тела 250–300 г. На 67 белых крысах-самцах получили экспериментальную модель тиреотоксикоза путем ежедневного введения L-тироксина в дозе 1,6 мг на 1 кг массы тела. Продолжительность опыта составила 45 дней.

Методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических тестов Т3, Т4, ТТГ определяли уровень тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс: ОТ3 (общий трийодтиронин), ОТ4 (общий тироксин) и ТТГ (тиреотропный гормон).

В качестве контроля использовали 22 крысы, которым L-тироксин не вводили. Лабораторных животных опытной и контрольной групп выводили из эксперимента через 7, 14, 21, 28, 35 и 45 суток. Для гистологического исследования брали кусочки печени и фиксировали их в 10%-ном забуференном формалине в течение 10 суток, затем промывали в проточной воде, проводили через спирты возрастающей крепости и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 6 мкм. Готовые срезы окрашивали гематоксилином-эозином, пикрофуксином по ван Гизону, толуидиновым синим, по Маллори в модификации Гейденгайна, проводили ШИК-реакцию.

Для иммуногистохимического исследования использовали пероксидазно-антипероксидазный метод на основании стандартных диагностических протоколов. Материал фиксировали в 10%-ном растворе забуференного формалина в течение 10 суток, в дальнейшем проводили

стандартную гистологическую проводку и заливали в парафин. Готовые парафиновые срезы подвергали депарафинизации и обезвоживанию по стандартной гистологической методике. Демаскировку антигенных детерминант проводили нагреванием в водяной бане при 98 °С в течение 30 минут. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием маркеров – моноклональных антител против Ki-67. Способ демаскировки антигенов, время инкубации первичных антител осуществляли в соответствии с рекомендуемым протоколом фирмы-производителя. Оценивали удельное количество иммунопозитивных клеток в процентах.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2017 (Microsoft, США) и Statistica 6 (StatSoft, США). В зависимости от характера данных использовали ранговый однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса.

Результаты исследования

Анализ результатов исследования уровня тиреоидных гормонов в крови крыс представлен в табл. 1.

Анализ данных таблицы показал, что при экспериментальном тиреотоксикозе происходит повышение уровня трийодтиронина от 4,75 ммоль/л (контроль) до 21,37 ± 0,03 ммоль/л на 45-й день эксперимента.

Уровень тироксина (Т4) повышается от 1,80 ± 0,03 ммоль/л (контроль) до 2,55 ± 0,03 ммоль/л (45-е сутки).

Уровень тиреотропного гормона по-

нижается от 2,80 ± 0,01 ммоль/л (контроль) до 1,20 ± 0,01 ммоль/л (45-е сутки). Повышение уровня тиреоидных гормонов начинается с 21-х суток и постепенно нарастает к концу эксперимента.

При макроскопическом исследовании определены следующие параметры печени – длина, ширина, толщина и масса, которые представлены в табл. 2.

При экспериментальном тиреотоксикозе длина печени увеличивается в 2,0 раза, значительное увеличение начинается с 22-х суток. Ширина печени увеличивается в 1,5 раза. Толщина печени увеличивается в 2,0 раза. Масса печени увеличивается в 2,0 раза. Таким образом, при экспериментальном тиреотоксикозе размеры и массы печени увеличиваются в 2,0 раза.

При гистологическом исследовании на 7-е сутки эксперимента структурные изменения в печени не обнаружены. Отмечаются сосудистые нарушения: неравномерное полнокровие центральных вен, синусоидных капилляров. Вены расширены, в них отмечаются стазы и сладжирование эритроцитов. В эти сроки в строме печени вокруг центральных вен и перипортальных зонах определяются очаги начинающегося отека.

При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркера Ki-67 оценивали пролиферативную активность гепатоцитов. Ki-67 является маркером клеточной пролиферации на любой стадии митоза и окрашивает ядра делящихся клеток в коричневый цвет. На 7-е сутки экспрессия Ki-67 составила 5,0%, что ничем не отличается от контрольной группы (5,0%).

На 14-е сутки отмечается усиление отека, отечная жидкость накапливается в перисинусоидальных пространствах, в портальных и перипортальных зонах. В местах отека наблюдается набухание основного вещества соединительной ткани и коллагеновых волокон. Однако при окраске толуидиновым синим метакромазия не наблюдается.

В эти сроки нарастают сосудистые нарушения, которые приобретают распространённый характер. Наблюдаются набухание и плазматическое пропитывание стенок артерий, эндотелиоциты с дистрофическими изменениями. На 14-е сутки в гепатоцитах обнаружены вакуоли, заполненные тканевой жидкостью, то есть развивается гидропическая дистрофия. Она носит очаговый характер и наблюдается в гепатоцитах III зоны.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия Ki-67 составляет 4,8%, что незначительно отличается от контрольной группы (5,0%) и статистически недостоверно.

На 21-е сутки в печени усилился отек, который носил диффузный характер. Сохраняются сосудистые нарушения. В строме печени определяются лимфоцитарные инфильтраты. Инфильтраты располагаются вокруг сосудов. Отечная жидкость накапливается в перивенулярных и перисинусоидальных пространствах. В участках отека отмечаются набухание и распад основного вещества с накоплением гликозамингликанов. Видна метакромазия при окраске толуидиновым синим.

В гепатоцитах гидропическая дистрофия приобретает диффузный характер и распространяется на III, II и частично I зону ацинуса. В отдельных гепатоцитах развивается баллонная дистрофия, что означает колликвационный некроз клеток. На периферии долек в I зоне ацинуса уменьшается количество пролиферирующих гепатоцитов. Это двоядерные гепатоциты или крупные гепатоциты с большими ядрами.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия Ki-67 составляет 4,5%. Отмечается снижение экспрессии Ki-67 на 0,5% по сравнению с контрольной группой (5,0%).

На 28-е сутки отек становится очень интенсивным и распространяется

на всю печень. Отек наиболее выражен в перисинусоидальных пространствах, вокруг центральной вены и в области триад. Нарастает степень деструктивных изменений. Цитоплазма гепатоцитов подвергается цитолизу. Очаги плазмолитиза многочисленные. Увеличивается количество лимфоцитарных инфильтратов. Лимфоциты располагаются не только в строме, но и в просветах синусоидальных капилляров.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия Ki-67 составила 4,0%. Отмечается снижение экспрессии Ki-67 на 1,0% по сравнению с контрольной группой (5,0%).

На 35-е сутки интенсивность отека усилилась. Перисинусоидальные пространства резко расширены, печеночные балки истончены и атрофированы. Нарастает интенсивность сосудистых нарушений. Паренхима печени – с тяжелыми дистрофическими и деструктивными изменениями, увеличилось количество очагов цитолиза, появились полости на месте колликвационного некроза. Полости заполнены отечной жидкостью. Между полостями в паренхиме печени обнаружены гепатоциты округлой формы, увеличенные в объеме со светлой цитоплазмой. Ядра этих гепатоцитов пикнотичные. Гепатоциты со светлой цитоплазмой встречаются преимущественно в III зоне ацинуса.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия Ki-67 составила 2,7%. Отмечается снижение экспрессии Ki-67 на 2,3% по сравнению с контрольной группой (5,0%).

На 45-е сутки печень состоит из множества полостей разной величины округлой формы. Между полостями располагаются гепатоциты со светлой цитоплазмой, а также с признаками некробиоза и некроза.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия Ki-67 составила 1,8%. Отмечается снижение экспрессии Ki-67 на 3,2%, что статистически достоверно по сравнению с контрольной группой (5,0%).

На фоне отека и тяжелых деструктивных изменений печени отмечается диффузная инфильтрация стромы лимфоцитами. Вокруг очагов некроза отмечается пролиферация гепатоцитов.

Заключение

При экспериментальном тиреотоксикозе отмечается повышение уровня тиреоидных гормонов: Т4 – в 4,0, Т3 – в 1,5 раза.

При макроскопическом исследовании выявлено увеличение длины печени в 2,0, ширины печени – в 1,5, толщины печени – в 2,0 раза. Масса печени увеличивается в 2,0 раза. Увеличение размеров и массы печени обусловлено развитием диффузного интерстициального отека печени.

При гистологическом исследовании выявлены выраженный диффузный интерстициальный отек, сосудистые нарушения, тяжелые дистрофические и деструктивные изменения – гидропическая и баллонная дистрофия гепатоцитов, колликвационный некроз, плазмолитиз, образование полостей, лимфоцитарная инфильтрация.

Дистрофические и деструктивные изменения в печени развиваются вследствие тяжелой интоксикации и метаболических нарушений.

При иммуногистохимическом исследовании выявлено значительное снижение экспрессии Ki-67 на 3,2% сравнению с контролем. Снижение экспрессии Ki-67 свидетельствует о понижении репаративной функции печени.

Список литературы

1. Андросова Д. С. Патоморфологический и иммуногистохимический анализ аутоиммунных процессов в щитовидной железе. Д. С. Андросова, М. Ю. Баракат, Ю. В. Пругло. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007. Т. 143, № 6. С. 704–708.
2. Боташева В. С. Морфофункциональная характеристика тиреоидной гепатопатии/ В. С. Боташева, Н. А. Стадник. *Фундаментальные исследования в биологии и медицине*. 2013. С. 33–37.
3. Мухина Т. С. Органометрическое исследование щитовидной железы в связи с полом, возрастом и соматической патологией. Т. С. Мухина, В. В. Харченко, А. А. Должиков. *Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и здоровье»*. 2007. № 4. С. 62–67.
4. Стрелин А. Г., Корнева К. Г., Петров А. В. и др. Развитие диффузного токсического зоба на фоне предшествующего гипотиреоза. *Пробл. эндокринологии*. 2007. № 3. С. 38–41.
5. Харнас С. С. Отдаленные результаты хирургического лечения диффузного токсического зоба. С. С. Харнас, Л. И. Ипполитов, С. К. Мамаева. *Анналы хирургии*. 2007. № 3. С. 15–19.
6. Ванушко В. Э., Фадеев В. В., Латкина Н. В. и др. Хирургическое лечение диффузного токсического зоба. *Пробл. эндокринологии*. 2006. № 3. С. 50–56.
7. Iglesias P. Severe hyperthyroidism: Aetiology, clinical features and treatment outcome. P. Iglesias., O. Devora, I. Garcia et al. *Clin. Endocrinol.* 2010. Vol. 72, N4. P. 551–557.
8. Koike E. Expression of new human inorganic pyrophosphatases in thyroid diseases: its intimate association with hyperthyroidism. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 341, N3. P. 691–696.
9. Noto H. Hyperthyroidism presenting as dysphagia/ H. Noto, T. Mitsuhashi, S. Ishibashi. *Intern Med.* 2000. Vol. 39. P. 472–473.
10. Oner J., Ozan E. Effects of melatonin on liver of rats with experimental hyperthyroid. *Acta vet.* 2005. 55, N1.– P. 31–39.

