

ФГБОУ ВО Брянский государственный аграрный университет

Институт ВМиБ

Крапивина Е.В.

**Методические рекомендации
по выполнению
самостоятельной работы**

по дисциплине «Лабораторная диагностика»
для подготовки специалистов по ФГОС ВПО 3 поколения
Специальность 36.05.01 «Ветеринария»
Квалификация выпускника «Специалист»

Брянская область, Кокино 2015

УДК619:616-07(07)

ББК 53.4

К 78

Крапивина Е.В. Методические рекомендации по выполнению самостоятельной работы студентами по дисциплине «Лабораторная диагностика» для подготовки специалистов по ФГОС ВПО 3 поколения, специальность 111801 «Ветеринария» составлены доктором биологических наук, профессором Крапивиной Е.В.. Брянск.: Изд-во Брянского ГАУ, 2015.- 62 с.

В Методических рекомендациях рассматриваются патологии, обусловленные нарушением функции щитовидной железы, клинико-диагностическое значение содержания в крови общего тироксина и общего трийодтиронина. Дана общая характеристика методов исследования функции щитовидной железы, используемых в клинической практике, в том числе методов измерения концентрации общих и свободных тиреоидных гормонов в сыворотке, определения общей и насыщенной емкости связывания тиреоидных гормонов, а также антител при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы. Представленный в учебном пособии материал способствует формированию у студентов следующих компетенций: ОК-1, ОК-3, ОПК-3, ПК - 2.

Рецензент: доктор биологических наук, профессор
кафедры нормальной и патологической морфологии
и физиологии животных Брянской ГСХА А.А. Менькова

Одобрено и рекомендовано к изданию методической комиссией института ветеринарной медицины и биотехнологии Брянского государственного аграрного университета, протокол №1, от 31.08.2015 г.

© Брянский ГАУ, 2015

© Крапивина Е.В., 2015

1. САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА ПАТОЛОГИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАРУШЕНИЕМ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гормоны щитовидной железы выполняют в организме ряд важных функций. В первую очередь, они регулируют основной обмен. Основным обменом называется ряд химических реакций, которые обеспечивают выработку энергии, необходимой для жизнедеятельности организма даже в отсутствие какой-либо механической работы. Даже простое поддержание температуры тела требует от организма затрат энергии на собственное "отопление". Также гормоны щитовидной железы участвуют в поддержании необходимой частоты сердечных сокращений, обеспечивают должную нервную возбудимость и т.д.

Основной функцией щитовидной железы является выработка гормонов: трийодтиронина (обычно обозначается как Т3) и тетраiodтиронина (он же тироксин - Т4). Трийодтиронин является более активным гормоном, в то время как тироксин служит в организме своеобразным "запасом". При необходимости, от Т4 отщепляется одна молекула йода, и он превращается в активный гормон Т3.

Выработка гормонов щитовидной железы регулируется в организме "вышестоящими" железами - гипоталамусом и гипофизом. Гипофиз вырабатывает тиреотропный гормон (ТТГ), который "заставляет" щитовидную железу увеличивать выработку трийодтиронина и тироксина, а также стимулирует рост самой железы. При нехватке гормонов щитовидной железы уровень ТТГ в крови повышается (организм как бы "заставляет" щитовидную железу вырабатывать больше гормонов), при избытке - уровень ТТГ снижается. **Обычно нормальными пределами уровня ТТГ в крови является 0,4-4,0 мкМЕ/мл**, однако различные анализаторы могут использовать нормы, отличающиеся от общепринятых. **Повышение уровня ТТГ свыше 4,0 мкМЕ/мл чаще связано с гипотиреозом** (нехваткой гормонов щитовидной железы), **а снижение ниже уровня 0,4 мкМЕ/мл –**

с гипертиреозом или тиреотоксикозом (избыток гормонов щитовидной железы).

Гормоны щитовидной железы образуются с участием йода - так, трийодтиронин содержит 3 атома йода, а тироксин - 4. Для того, чтобы щитовидная железа могла вырабатывать гормоны в необходимом для организма количестве, она должна получать этот важный микроэлемент в достаточном количестве. *(В сутки человек должен получать около 150-200 микрограммов йода с пищей для того, чтобы сохранить баланс гормонов в норме. При беременности это количество возрастает до 250 микрограммов в сутки. Высокая важность нормального снабжения организма человека йодом обусловила введение в нашей стране программы всеобщей массовой йодной профилактики. Законодательно установлено, что дополнительное снабжение жителей России йодом осуществляется путем йодирования поваренной соли. Йодированная соль не имеет особого вкуса и запаха, потребляется всеми примерно в одинаковых количествах и каждый грамм соли содержит в себе около 40 микрограммов йода. Таким образом, потребление около 3 граммов йодированной соли в сутки обеспечивает человеку нормальное снабжение организма йодом.)*

Нехватка йода в пище, равно как и его избыток, приводят к нарушениям в синтезе гормонов и могут стать причиной возникновения заболеваний щитовидной железы. Большая часть территории России является зоной йодного дефицита. Наши почвы содержат малое количество йода, поэтому выращенные на них растения также не содержат йода в достаточном количестве. Аналогичная ситуация и с продуктами животноводства - и мясо, и молоко йодом небогаты.

Недостаточное поступление в организм йода особенно опасно для молодняка (детей) - как в период внутриутробного развития, так и в последующие периоды. Йод необходим для нормального формирования центральной нервной системы.

Болезни щитовидной железы могут приводить как к повышенному, так и к пониженному синтезу гормонов. Например, пониженное содержание йода в пище приводит к раз-

виту эндемического зоба. Это не всегда приводит к нарушению функции щитовидной железы и представляет определённые трудности для лабораторной диагностики. Опухолевые заболевания щитовидной железы, за исключением С-клеточной карциномы, ведущей к повышенному синтезу кальцитонина, тоже не диагностируются лабораторными методами.

Среди болезней щитовидной железы, сопровождающихся повышенным синтезом гормонов, отличают болезнь Базедова, которая характеризуется повышенной функцией этой железы. Внешне она проявляется, обычно, такими характерными признаками как пучеглазие (экзофтальм) и увеличением щитовидной железы в размерах. На фоне общего истощения организма из-за повышенного обмена веществ, часто наблюдаются ещё и психические расстройства, снижение веса, тахикардия, боли в области сердца, потливость и диарея. Эта болезнь относится к аутоиммунным заболеваниям и вызвана выработкой антител, стимулирующих щитовидную железу к неконтролируемому синтезу гормонов. Эти антитела носят название антитела рецепторов щитовидной железы (ТРАК). Они имеют сродство к рецепторам тиреотропного гормона, повышающего выработку гормонов щитовидной железы. Таким образом, соединяясь с рецепторами щитовидной железы, эти антитела способствуют повышенному и неконтролируемому синтезу гормонов. **Диагностическими критериями болезни может служить повышенная концентрация антител против рецепторов щитовидной железы в сыворотке крови и пониженная концентрация гормона ТТГ.** Кроме того, у 30% больных базедовой болезнью обнаруживаются **антитела против тиреоглобулина.**

Ещё одной болезнью, ведущей к повышению синтеза гормонов щитовидной железы, является **тиреотоксикоз или доброкачественная опухоль** этой железы. Зачастую, она является следствием перенесённого вирусного или бактериального воспаления. Железа, в этом случае, содержит гипертрофированные островки, обладающие способностью к повышенному синтезу гормонов. При этом концентрация ТТГ в крови тоже пони-

жена, но антител против рецепторов щитовидной железы (TRAK) не обнаруживается.

Гиперфункция щитовидной железы может до поры до времени находиться в латентном состоянии и проявить себя серьёзно только тогда, когда в организм поступит избыточное количество йода (например, при введении контрастирующего вещества для рентгенологической диагностики). В этом случае, при попадании избыточного количества йода в организм, щитовидная железа реагирует повышенным синтезом гормонов, что может привести к тиреотоксическому кризу с риском для жизни больного. Поэтому перед каждым рентгенологическим обследованием с использованием контрастных веществ, следует проводить лабораторное исследование проверки функции щитовидной железы.

Другая группа болезней щитовидной железы характеризуется её гипофункцией. Причин недостаточно продуктивной работы щитовидной железы может быть несколько. Например, врождённая неспособность щитовидной железы к синтезу достаточного количества гормонов, ведущая к развитию кретинизма. Для того, чтобы вовремя диагностировать заболевание, у новорождённых детей определяют уровень тиреотропного гормона ТТГ и гормона щитовидной железы Т4. Очень важно правильно интерпретировать полученные результаты. Повышенная концентрация тиреотропного гормона при пониженной концентрации Т4 говорит о дисфункции щитовидной железы и о необходимости лечения гормонами щитовидной железы для избежания задержки умственного и физического развития ребёнка. Причиной пониженной концентрации Т4 при нормальной концентрации ТТГ может быть недостаточная концентрация тироксин-связывающего белка. Низкий уровень гормонов Т4 и ТТГ говорит о дисфункции гипофиза или гипоталамуса.

Причиной гипотиреоза у взрослых может быть хроническое воспаление щитовидной железы. Болезнь носит название синдрома Хашимото и относится к разряду аутоиммунных болезней. Внешним проявлением болезни Хашимото является микседема. У 70-80 % таких больных в крови обнаруживаются антитела против тиреоглобулина (anti-Tg). Лабораторная диа-

гностика и контроль за протеканием заболевания включают в себя также и определение **антител против рецепторов ТТГ (ТРАК) и антител против вырабатываемого щитовидной железой фермента пероксидазы (анти-ТПО).**

К болезням щитовидной железы относятся также и раковые заболевания. Медуллярная карцинома характеризуется повышением концентрации кальцитонина в крови. Рак щитовидной железы приводит к повышенной концентрации тиреоглобулина, белка, который вырабатывается только в щитовидной железе. Тиреоглобулин определяют также после резекции щитовидной железы, чтобы определить, насколько успешно прошла операция.

Диагностика заболеваний щитовидной железы

Диагностика болезней щитовидной железы включает в себя определение многих параметров и зависит, в первую очередь, от поставленных лечащим врачом задач. При симптомах, указывающих на гипер- или гипofункцию щитовидной железы, **в первую очередь следует проверить концентрацию тиреотропного гормона и Т4 (общий или свободный) в крови.** Впрочем, для больных, страдающих гипofизарной недостаточностью, определение тиреотропного гормона для проверки функции щитовидной железы не имеет смысла. При интерпретации результатов анализа не следует также забывать о том, что только свободная часть гормонов, не связанных с белковыми молекулами, обладает биологической активностью. Например, в период беременности повышается концентрация в крови тироксин-связывающего глобулина (ТВГ), что приводит к повышению концентрации в крови общего количества Т4. При этом свободная часть гормона остаётся неизменной.

Ещё одним аспектом, который не следует упускать из виду при интерпретации результатов, является то, что время полураспада гормона Т3 короче, чем Т4. Поэтому определение его имеет смысл при диагностике гиперфункции щитовидной железы. Концентрация Т3 возрастает заметнее, что даёт возможность более

ранней диагностики гиперфункции щитовидной железы. У некоторых больных концентрация гормона Т4 остаётся при этом в норме.

Кроме того, на концентрацию гормонов щитовидной железы могут влиять некоторые медикаменты. Аспирин, например, повышает концентрацию fT4. Гепарин и антиконвульсивные препараты (фенитоин, карбамацепин, фенобарбитал) повышают концентрацию fT3 и fT4. Препараты лития могут привести к развитию зоба и гипофункции щитовидной железы. Амиодарон может приводить как к увеличению, так и снижению уровня Т3 и Т4 в крови.

Лечение больных с гипофункцией щитовидной железы часто проводится при помощи препаратов гормона Т4. Доза вводимого гормона в процессе лечения меняется. При этом тиреотропному гормону требуется около 8 недель для того, чтобы приспособиться к новым показателям концентрации гормонов щитовидной железы. В это время гормональный статус больного можно определить только по концентрации Т4 в крови.

В крови большая часть гормонов щитовидной железы находится в связанном с белками состоянии и не является активной. Вся "работа" осуществляется только гормонами, не связанными с белками (так называемой свободной фракцией гормонов, обычно обозначаемой FT3 и FT4). Существующие в настоящее время клинические анализаторы определяют либо общее содержание гормонов Т3 и Т4 в крови (т.е. свободная фракция + связанные с белками гормоны), либо только содержание свободной фракции. Следует отметить, что определение свободной фракции гормонов в подавляющем большинстве случаев является более информативным, а в некоторых случаях (например, при беременности) является единственно надежным.

Цитологическая классификация поражений щитовидной железы

Цитологическая классификация поражений щитовидной железы основывается на гистологической и включает следующие поражения:

Доброкачественные неопухолевые поражения и опухолеподобные процессы

Зоб (цитологические заключения «зоб» и «аденома» обычно даются в предположительной форме, при этом, помимо цитологической картины, обязательно учитываются данные ультразвукового исследования).

Зоб, возможно (вероятнее всего), коллоидный.

Зоб с регрессивными изменениями (регрессивные изменения могут встречаться не только при зобе, но и при других поражениях щитовидной железы.)

Зоб, возможно (вероятнее всего), паренхиматозный (клеточный.)

Зоб, возможно (вероятнее всего), токсический.

Зоб с дисплазией эпителия.

Тиреоидит.

Тиреоидит Хасимото.

Тиреоидит гранулематозный.

Тиреоидит фиброзный.

Доброкачественные опухоли

Аденома (цитологические заключения «зоб» и «аденома» обычно даются в предположительной форме, при этом, помимо цитологической картины, обязательно учитываются данные ультразвукового исследования.).

Аденома фолликулярная.

Вариант - аденома эозинофильная (онкоцитарная, из клеток Ашкенази).

Злокачественные опухоли

Рак.

Фолликулярный рак (если цитолог уверен в том, что имеется опухоль, но сомневается в ее доброкачественном характере и не уверен в злокачественном, возможно заключение: «фолликулярная опухоль».).

Папиллярный рак.

Медуллярный рак (из С-клеток).

Анапластический рак.

Неэпителиальные опухоли.

Злокачественные лимфомы.

Редкие опухоли.

Вторичные опухоли.

Доброкачественные неопухолевые поражения и опухолеподобные процессы

Для суждения о доброкачественном характере поражения многие цитопатологи придерживаются правила Гамбергера:

- если диаметр узла составляет менее 1 см, для заключения о доброкачественном поражении необходимо обнаружить не менее 6 скоплений из 5-10 и более доброкачественных клеток щитовидной железы в одном пунктате как минимум на двух стеклах;
- если диаметр узла составляет более 1 см, для заключения о доброкачественном поражении необходимо выполнить не менее двух пункций и обнаружить более 6 скоплений из доброкачественных клеток щитовидной железы в каждом из двух пунктатов.

Зоб

Зоб - диффузное (диффузный зоб) или очаговое (очаговый зоб), в том числе и многоочаговое (многоузловой зоб) увеличение щитовидной железы. Эти поражения могут быть связаны с нарушением гормональной регуляции, недостаточным поступлением йода в пищу, что, в свою очередь, изменяет гормональный баланс в организме. При ультразвуковом исследовании в пользу зоба говорит наличие нескольких узлов, нечеткая капсула, неоднородная эхоструктура, регрессивные изменения.

Возможности цитологической диагностики в определении различных морфологических форм эутиреоидного зоба ограничены. В основном они могут быть представлены двумя нозологическими формами: коллоидный зоб, фолликулярный (паренхиматозный) клеточный зоб. Возможно также указание на регрессивные изменения в зобе.

Коллоидный зоб

Коллоидный зоб может быть диффузным или узловым, нередко развивается на фоне эндемического паренхиматозного (клеточного) зоба, когда чисто клеток в щитовидной железе уве-

лично, а на этом фоне увеличивается поступление в организм йода или уменьшается потребность в йоде. Цитологические признаки коллоидного зоба (узлового коллоидного зоба):

- обильный коллоид (плотные скопления, часто гомогенные, растрескивающиеся массы);
- фолликулярные клетки - обычно мелкие, расположенные в пластах, скоплениях в виде пчелиных сот, в фолликулярных структурах, много голых ядер;
 - макрофаги, макрофаги с гемосидерином;
 - дегенеративно измененные эритроциты;
 - бледно-розовые фрагменты гиалинизированной стромы.

В мазках при коллоидном зобе выявляют обильное количество диффузно рассеянного сине-фиолетового или розового коллоида, в котором расположены сравнительно мелкие мноморфные клетки фолликулярного эпителия, разрозненные или в виде небольших скоплений. Очень редко наблюдают шаровидные фолликулы и однослойные «сотоподобные» пласты. Ядра клеток пикнотичные, контуры цитоплазмы нечеткие, сливаются с окружающим фоном.

Зоб с регрессивными изменениями

Регрессивные изменения проявляются кистозной дегенерацией и/или другими признаками: дегенеративными изменениями ядер (вакуолизация, рыхлый хроматин, наличие обломков ядер). В отличие от клеток злокачественных поражений эти клетки характеризуются низким ядерно-цитоплазматическим соотношением.

Кистозная дегенерация нередко встречается при самых разных состояниях. При пункции участка кистозной дегенерации нередко получают коричневую жидкость. Клеточный состав представлен множеством пенистых макрофагов с фагированными частицами гемосидерина. Обычно в мазках обнаруживают клетки эпителия с дегенеративными изменениями. Клетки располагаются на фоне детрита, могут обнаруживаться кристаллы холестерина, гигантские многоядерные клетки типа «инородного тела».

Мелкие фокусы кистозных изменений обнаруживаются в 40% аспирационных диагностических пункций тонкой иг-

лой, достаточно часто встречаются крупные кисты, содержащие 3-4 мл жидкости и более. Большая часть из этих кист представляют собой, так называемые, простые кисты неясной этиологии.

Участки кистозной дегенерации могут встречаться при злокачественных опухолях. Кистозные изменения выявляют в 20% фолликулярных опухолей, 25% фолликулярных раков, 25% папиллярных раков. Около 23% злокачественных опухолей имеют участки кистозного превращения, около половины рецидивированных кист оказываются злокачественными. Таким образом, жидкость в пунктате не является верным показателем доброкачественного поражения. Наличие в узле кистозных изменений приводит к тому, что в материал попадает лишь небольшое число клеток тиреоидного эпителия, что снижает информативность исследования: при злокачественном поражении цитолог может дать ошибочное заключение о зобе с регрессивными изменениями. Для исключения подобной ошибки рекомендуют при получении жидкости после ее аспирации выполнить пункцию стенки кисты.

Наличие кистозных поражений является показанием для оперативного лечения:

- при рецидивирующих кистах;
- при кистозных образованиях, не полностью спавшихся после пункции;
- при кистах более 3 см в диаметре.

Паренхиматозный клеточный зоб

При паренхиматозном клеточном зобе, как правило, отмечают обильный клеточный состав, фолликулярные клетки располагаются в однослойных скоплениях, в фолликулярных структурах небольших размеров, реже в виде шаровидных фолликулов, могут встречаться единичные разрозненные фолликулярные клетки. Коллоид необильный, в виде участков сиреневого или синего цвета вне или в просвете фолликулов. Клетки средних размеров, ядра мелкие, гиперхромные или нормохромные, цитоплазма обильная.

Провести дифференциальную диагностику клеточного зоба и фолликулярной аденомы помогают данные ультразвукового исследования, в частности нечеткая капсула узла при зобе и четкая при аденоме. При высокой клеточности, отсутствии регрессивных изменений необходимо провести исследование в динамике. Увеличение узла, несмотря на лечение, является показанием к хирургическому вмешательству.

Токсический зоб

При диффузном токсическом зобе и отсутствии узловых образований цитологическое исследование, как правило, не проводится, диагноз устанавливается на основании клинических данных, результатов ультразвукового, скинтиграфического, гормонального исследования. При получении материала из узловых образований для токсического зоба характерны следующие *цитологические признаки*:

- мало коллоида, много крови;
- умеренное число или немного клеток;
- скопления и разрозненные клетки;
- крупные клетки с округлыми ядрами, обильной цитоплазмой;
- «кружевные» края цитоплазмы, краевые (маргинальные) вакуоли;
- коллоид в виде «язычков пламени».

В связи с обильным кровоснабжением пунктат при токсическом зобе обычно содержит много крови. Клетки расположены в рыхлых скоплениях, разрозненно, реже в виде сосочкоподобных структур. Ядра округлые или овальные, отмечается небольшое различие размеров и формы. Цитоплазма обильная, нежная, слегка зернистая, по периферии окрашивается в красные тона «пламенеющий вид», часто встречаются краевые (маргинальные) вакуоли в виде «мыльных пузырей». Иногда обнаруживаются оксифильные клетки, могут присутствовать эпителиоидные клетки.

Тиреоидит

Выделяют острый тиреоидит и хронические, в том числе аутоиммунный (тиреоидит Хасимото), гранулематоз-

ный, фиброзный. Наиболее частым среди хронических тиреоидитов является аутоиммунный тиреоидит.

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ)

Большинство лимфоцитарных тиреоидитов связано с аутоиммунным процессом. Отмечается лимфоидная инфильтрация, обычно очагового характера, деструкция фолликулов, оксифильная метаплазия фолликулярных клеток (клетки Ашкенази). Неспецифическая лимфоцитарная инфильтрация может встречаться при опухолях, иногда при токсическом зобе.

Цитологическая картина:

- реактивные лимфоидные клетки (лимфоциты, плазматические клетки, иммунобласты);
- оксифильные клетки (клетки Ашкенази-Гюртле);
- войлокоподобные структуры (фрагменты разрушенных клеток и ядер в виде волокнистых переплетающихся нитей);
- могут встречаться эпителиоидные и многоядерные клетки.

Оксифильные клетки при АИТ, как правило, располагаются группами, отмечается полиморфизм ядер, двухъядерность, могут быть дегенеративные изменения клеток.

Фолликулярный эпителий часто окружен лимфоцитами и плазматическими клетками. При иммуноцитохимическом исследовании можно установить, что мелкие зрелые лимфоциты представляют собой поликлональные Т- и В-лимфоциты.

Тиреоидит - гранулематозный вариант де Кервена

Редкое заболевание, связанное с вирусной инфекцией, у генетически предрасположенных особей. Классическая картина у взрослых характеризуется диффузным увеличением щитовидной железы после острого респираторного заболевания, протекающего с высокой температурой.

Цитологические признаки:

- многоядерные гистиоциты;
- элементы воспаления;
- эпителиоидные клетки;
- дегенеративные изменения фолликулярных клеток;
- элементы клеточного распада;
- коллоид.

Тиреоидит фиброзный (Риделя)

Крайне редкое заболевание неясной этиологии, связанное с фиброзом щитовидной железы и окружающих тканей шеи. Клинически проявляется очень плотной опухолью, связанной с окружающими тканями, что напоминает злокачественный процесс.

Цитологические признаки обычно мало специфичны:

- клеточный состав крайне скудный;
- единичные фибробласты;
- могут встречаться лимфоциты и другие элементы воспаления.

паления.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

1 Функция гормонов щитовидной железы.

2 Роль гипофиза и гипоталамуса в работе щитовидной железы.

3 Роль йода в синтезе тиреоидных гормонов.

4 Патологии, возникающие при снижении синтеза тиреоидных гормонов.

5 Патологии, возникающие при повышении синтеза тиреоидных гормонов.

6 Антитела против рецепторов щитовидной железы (ТРАК).

7 Опасность латентной гиперфункции щитовидной железы.

8 Врождённая недостаточность щитовидной железы.

9 Синдром Хаши(си)мото.

10 Общие положения диагностики патологий щитовидной железы.

11 Цитологическая классификация поражений щитовидной железы.

12 Доброкачественные неопухолевые поражения и опухолеподобные процессы (зоб, тиреоидит).

2 САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫЕ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Аденома

Фолликулярная аденома

Фолликулярная аденома - доброкачественная опухоль **из гормон-продуцирующих клеток**. Отличить по цитологическим препаратам аденому от узлового зоба бывает достаточно сложно, поэтому заключение об аденоме обычно устанавливается в предположительной форме.

Цитологические признаки фолликулярной аденомы:

- обильный клеточный состав;
- клетки кубические, большей частью расположены в группах и структурах;
 - фолликулоподобные структуры округлой формы;
 - структуры вытянутой формы;
 - нередко обнаруживают микроацинарные и розеткоподобные группы клеток;
 - клетки средних размеров, ядра укрупнены;
 - мембрана ядер четкая;
 - структура хроматина - мелкоглыбчатая или крупнозернистая, или петлистая;
 - в 75% клеток видны ядрышки (при зобе ядрышки встречаются редко);
 - коллоид, как правило, необильный - может быть в фолликуле и вне фолликула;
 - в связи с обильным кровоснабжением обычно много элементов крови;
 - иногда наблюдаются регрессивные изменения.

Эозинофильная аденома

Эозинофильная аденома - опухоль из оксифильных клеток (онкоцитов, клеток Ашкенази-Гюртле).

Пунктат клеточный, опухолевые клетки с обильной зернистой, серо-голубой или розовой цитоплазмой. Клетки расположены разрозненно, в рыхлых структурах или в сосочкоподобных образованиях. Характерны укрупненные ядра, умеренный клеточный полиморфизм, обнаруживаются двухъядерные, иногда многоядерные клетки, могут встречаться ядрышки. Дифференциальный диагноз аденомы и рака по пунктатам представляет сложности, для исключения рака необходимо гистологическое исследование операционного материала

Фолликулярная опухоль

Это понятие объединяет две нозологические формы: **фолликулярную аденому и фолликулярный рак**. Для гистологов безусловным критерием фолликулярного рака, позволяющим отличить его от аденомы, является **прорастание капсулы или инвазия опухолевых клеток в сосуды**. В связи с трудностями дифференциальной диагностики фолликулярные опухоли рассматриваются как потенциально злокачественные новообразования, требующие хирургического вмешательства, однако объем хирургического вмешательства желательно определить до операции.

Цитологическое заключение о фолликулярной опухоли дается в тех случаях, когда при ультразвуковом исследовании имеются данные за опухоль, а в цитологических мазках - обильный клеточный состав, характерный для аденомы, однако имеются признаки, не позволяющие исключить рак.

Цитологические признаки фолликулярной опухоли:

- высокая клеточность мазка;
- скудный коллоид или его отсутствие;
- фолликулярные структуры неправильной формы;
- небольшое наслоение клеток в фолликулярной структуре;
- увеличение размеров ядер;
- слабый или умеренный полиморфизм ядер;
- крупнозернистая структура хроматина;
- укрупненные ядрышки;
- нерезко выраженная потеря полярности расположения клеток в многослойных структурах.

Несмотря на трудности цитологической диагностики, в ряде наблюдений цитологу удается дать уверенное или предположительное заключение об аденоме или раке. В зависимости от того, в сторону какого диагноза склоняется цитопатолог, заключения даются следующим образом: «фолликулярная опухоль», «фолликулярная опухоль, возможно (вероятнее всего), аденома», «фолликулярная опухоль, возможно (вероятнее всего), рак».

Злокачественные опухоли щитовидной железы

Большинство узлов щитовидной железы доброкачественны, а рак этого органа при правильном лечении не укорачивает жизни больного.

Различают **4 основных типа рака щитовидной железы:**

- ✓ **папиллярный,**
- ✓ **фолликулярный,**
- ✓ **медулярный (солидный с амилоидной стромой) и**
- ✓ **анapластический или недифференцированный.**

Могут быть опухоли смешанного строения. Окончательный диагноз устанавливается только при гистологическом исследовании неопластической ткани.

Папиллярный рак

Папиллярный рак - опухоль папиллярного строения **из клеток фолликулярного эпителия**. Это самая частая злокачественная опухоль ЩЖ, она составляет около 70% клинически выявленных злокачественных опухолей. *Может встречаться в любом возрасте: у молодых, взрослых и детей, но наиболее часто - в возрасте 30-50 лет. Женщины болеют в 2-3 раза чаще, чем мужчины.* Отличается преимущественным лимфогенным метастазированием. Отмечена связь возникновения папиллярного рака с облучением, в частности значительное увеличение заболеваемости после 1986 года среди детей регионов, окружающих Чернобыль. Лечение хирургическое: экстирпация щитовидной железы и радиоiodотерапия.

Прогноз лучше, чем при фолликулярном раке, так как гематогенный путь метастазирования отмечается редко, особенно

при ранних формах рака. 30-летняя выживаемость составляет около 80%.

Цитологические особенности:

- обильный клеточный состав;
- папиллярные структуры, ветвящиеся структуры или однослойные пласты из клеток с плотной цитоплазмой, четкими границами;
- внутриядерные включения цитоплазмы;
- ядерные борозды;
- псаммомные тельца (Псаммомные тельца имеют слоистое концентрическое строение, часто в центре их отмечается та или иная степень обызвествления, иногда чрезвычайно резкая. В таких случаях псаммомные тельца при обычной окраске имеют вид гомогенных темно-синих образований);
- многоядерные гистиоциты.

В типичных случаях папиллярный рак - одна из наиболее легко диагностируемых опухолей щитовидной железы. Клеточный состав обильный, представлен папиллярными структурами - трехмерными образованиями с четко очерченными контурами. Часто имеются пальцевидные ветвящиеся структуры, палисадообразные, по периферии выраженное различие размеров клеток. Клетки располагаются плотно. Характерны бледные нормохромные ядра, реже встречаются гиперхромные ядра. Различие размеров ядер минимальное. Отмечаются неровные контуры ядерной мембраны, нечеткие ядрышки. Характерны внутриядерные включения (псевдовакуоли, внутриядерные вакуоли), их обнаруживают в отдельных клетках, но в 90% наблюдений папиллярного рака. Эти образования, как показали электронномикроскопические исследования, представляют собой инвагинации ядерной мембраны, содержащие цитоплазму. Ядерные борозды (предшественники внутриядерных включений) при окрашивании по Романовскому видны редко, что связано с «сухой» фиксацией мазков. В мазках, окрашенных по Папаниколу, они выявляются чаще. Могут встречаться псаммомные тельца (базофильные концентрические слоистые пластинчатые образования,

диаметром 30-100 мкм). Нередко обнаруживают многоядерные гистиоциты.

Фолликулярный рак

Фолликулярный рак ~ вторая по частоте злокачественная опухоль, составляет около 10-25%. Наиболее часто встречается в возрасте 40-60 лет. Чаше болеют женщины, соотношение женщины: мужчины - 2,5:1. **Опухоль отличается гематогенным метастазированием**, преимущественно в кости скелета и легкие, заболевание протекает более злокачественно, чем папиллярный рак. Лечение фолликулярного рака - тотальная тиреоидэктомия, использование радиоактивного йода и последующая заместительная терапия. Ограниченное удаление доли с перешейком, независимо от гистологического варианта для опухолей, проводят для опухолей размером <1 см. Лечение после операции проводится радиоактивным йодом с последующей заместительной терапией. Общая 30-летняя продолжительность жизни составляет более 50% и зависит от стадии процесса.

В этой опухоли в различной степени выражены признаки фолликулярной дифференцировки. Цитологическая картина при высокодифференцированных опухолях сходна с картиной аденомы, в ряде наблюдений признаки атипии при аденоме выражены больше, чем при раке. *Цитологические признаки:*

- обильный клеточный состав;
- скудный коллоид;
- фолликулярные структуры с атипией (нагромождение и атипия ядер);
- легкая ранимость клеток, присутствие «голых» ядер с атипией;
- увеличение ядерно-цитоплазменного соотношения;
- неровные контуры ядерной мембраны;
- грубозернистый или грубоглыбчатый хроматин;
- неравномерное распределение хроматина;
- укрупненные ядрышки.

Медуллярный рак (рак из С-клеток)

Медуллярный рак - злокачественная опухоль **из парафолликулярных клеток (С-клеток)**, которые продуцируют избыточное количество кальцитонина. Медуллярный рак составляет 5-10% злокачественных опухолей ЩЖ. **Опухоль характеризуется местным распространением, ранним поражением лимфатических узлов, может быть гематогенный путь диссеминации.** Лечение хирургическое, прогноз зависит от стадии и полноты удаления опухоли.

У молодых - нередко является проявлением синдрома множественной эндокринной неоплазии (МЭН – *multiple endocrine neoplasia*):

- МЭН, тип 2а (синдром Сиппла) - феохромоцитома, часто двухсторонняя, медуллярный рак, обычно двухсторонний, гиперплазия или аденома паращитовидных желез;
- МЭН, тип 2б - феохромоцитома, часто двухсторонняя, медуллярный рак, обычно двухсторонний, множественные невриномы слизистых оболочек, патология скелета.

Медуллярный рак щитовидной железы может четко проявляться биохимически в тех случаях, когда он сопровождается **эктопической продукцией** таких гормонов, как АКТГ, вазоинтестинальный полипептид, простагландины, калликреин (представитель группы ферментов, присутствующих в крови и других жидкостях организма, которые влияют на ряд глобулинов плазмы, приводя к образованию брадикинина и каллидина (оказывают выраженный сосудорасширяющий) и серотонин (при снижении серотонина повышается чувствительность болевой системы организма).

Наилучшим диагностическим показателем медуллярного рака является избыток кальцитонина, поскольку лишь в очень редких случаях не происходит увеличения этого гормона. Введение кальция (15 мг/кг в/в) или пентагастрина (0,5 мкг/кг в/в) провоцирует выброс аномально большого количества кальцитонина.

В опухоли имеются характерные отложения амилоида, окрашивающиеся конго красным.

Цитологические особенности:

- разрозненное расположение клеток;
- различие размеров и формы клеток;
- наличие двухъядерных клеток;
- мелкоглыбчатый, «пятнистый» хроматин;
- зернистость цитоплазмы;
- наличие амилоида;
- положительная иммуноцитохимическая реакция на кальцитонин в цитоплазме клеток.

Как правило, клеточность пунктата умеренно обильная или обильная в зависимости от выраженности фиброза стромы и отложения амилоида. Клетки располагаются преимущественно разрозненно, так как межклеточные связи ослаблены. Форма их варьирует: клетки могут быть округлыми, овальными, полигональными или веретенообразными. Иногда резко выражен полиморфизм клеток и ядер. Ядра овальные или полигональные, обычно расположены эксцентрически. Для медуллярного рака характерны патологические митозы, в связи с чем встречаются двухъядерные, иногда многоядерные клетки и даже гигантские клетки причудливой формы. Хроматин распределен равномерно, мелкоглыбчатый, «пятнистый». Иногда отмечается гиперхромия ядер. Ядрышки отсутствуют или выражены слабо. Ядерные борозды и внутриядерные включения цитоплазмы встречаются редко. Цитоплазма обильная, розовая или серо-голубая, в части клеток обнаруживается нежная розовая зернистость (эозинофильные гранулы). При иммуноцитохимическом исследовании установлено, что эти гранулы содержат кальцитонин. В редких наблюдениях, в которых реакция на кальцитонин отрицательная, диагноз подтверждается положительной реакцией на хромогранин А или электронной микроскопией, при которой в клетках выявляют нейросекреторные гранулы.

Анапластический рак

Анапластический рак - группа опухолей, полностью или частично состоящих из недифференцированных клеток рака. Эта форма рака составляет около 5% случаев рака щитовидной же-

лезы, встречается главным образом у старых. Проявляется как быстро растущая плотная опухоль щитовидной железы, часто при первичном осмотре отмечается охриплость голоса, стридор (это грубый различного тона звук, вызванный турбулентным воздушным потоком при прохождении через суженный участок дыхательных путей), дисфагия.

Эта крайне агрессивная опухоль характеризуется быстрым ростом, примерно 80% больных погибает в течение года после установления диагноза. Большинство больных на момент выявления опухоли оказывается неоперабельными, лучевая и химиотерапия часто неэффективны.

Цитологическое исследование имеет важное значение в связи с тем, что сходные клинические симптомы наблюдаются и при злокачественной лимфоме, однако лимфома является потенциально курабельным заболеванием и отличается лучшим прогнозом.

Цитологические признаки:

Цитологическое установление злокачественного характера опухоли при этой форме рака обычно не вызывает затруднений. Клеточный состав, как правило, обильный. Клетки крупные, полигональные, веретенообразные или причудливой формы, расположены преимущественно разрозненно или в небольших скоплениях. Часто встречаются многоядерные клетки. Хроматин грубозернистый или грубопетлистый, распределен неравномерно, с нагромождениями, обычно обнаруживают множественные крупные полиморфные ядрышки. В опухоли часто выражен некроз, в связи с чем в цитограммах встречается значительное число разрушенных клеток.

В щитовидной железе могут встречаться также различные неэпителиальные опухоли (лимфомы, саркомы), а также метастазы опухолей других локализаций. Следует также помнить о возможности попадания в пунктат материала из паращитовидных желез при их поражении.

Таким образом, цитологические признаки различных заболеваний щитовидной железы позволяют установить природу многих неопухолевых процессов, доброкачественных и злокаче-

ственных опухолей. Сложности диагностики могут быть связаны с сочетанием различных патологических состояний, например при развитии аденомы или рака на фоне зоба или тиреоидита. Трудности могут также возникать при кистозных поражениях, пограничных состояниях (дисплазиях), при обнаружении сосочкоподобных структур из клеток с мономорфными ядрами (некоторые доброкачественные состояния), при дифференциальной диагностике фолликулярной аденомы и рака («фолликулярная опухоль»). Поэтому при цитологическом исследовании нужно учитывать данные сканирования, ультразвуковой диагностики, результаты определения гормонов и антител к тиреоглобулину. В последние годы при установлении цитологического диагноза активно используются также иммуноцитохимические исследования.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

1 Доброкачественные опухоли щитовидной железы. Аденома (фолликулярная аденома, эозинофильная аденома, фолликулярная опухоль).

2 Злокачественные опухоли щитовидной железы.

2.1 Папиллярный рак

2.2 Фолликулярный рак

2.3 Медуллярный (солидный с амилоидной стромой) рак

2.4 Анапластический или недифференцированный рак

2.5 Смешанного строения рак

3 САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ В КРОВИ ОБЩЕГО ТИРОКСИНА

Со времени разработки в начале 70 годов Chopra и сотр. высокоспецифичных и чувствительных радиоиммунологических методов оценки уровня циркулирующего тироксина, радиоиммунный анализ остается стандартным методом измерения уровня общего сывороточного Т4, хотя неизотопные методы анализа также нередко используются.

Определение уровня общего сывороточного Т4 является одним из наиболее распространенных тестов и довольно часто используется для скрининга метаболического статуса, зависимо-го от функции тиреоидных гормонов. В норме концентрация общего тироксина (ОТ4) у взрослых находится в пределах 5-12 мкг/100 мл (64-154 нмоль/л). Хотя измерение ОТ4 отражает функциональный статус щитовидной железы, большое количество факторов может влиять на ОТ4 уровень без изменения уровня основного обмена. Наиболее часто встречающийся из них - это изменение концентрации тироксинсвязывающего глобулина (ТСГл). Высокие или низкие концентрации ТСГл с соответственным увеличением или снижением ОТ4 концентрации не влияют на уровень основного обмена.

Повышенная концентрация эстрогенов при беременности или применение препаратов эстрогенов - наиболее распространенные причины значительного повышения сывороточного ОТ4 при сохранении эутиреозидизма.

Сывороточный уровень ОТ4 фактически неопределим у плода до второй половины беременности. Затем его уровень быстро повышается, достигая верхних значений нормы взрослых людей в течение последнего триместра. Дальнейшее резкое, но преходящее повышение возникает в течение нескольких часов после родов. Уровень ОТ4 остается выше, чем у взрослых (у поросят до 2-месячного, у телят - до 4-6-месячного, у людей - до 6-летнего возраста), а последующие, связанные с возрастом, изменения минимальны и неоднозначны. В клинической практике

одинаковые нормальные уровни ОТ4 приложимы к животным обоего пола.

Описаны небольшие сезонные колебания и изменения, связанные с изменениями географической локализации места жительства (большая высота над уровнем моря), действием холода и тепла. Различают ритмические колебания уровня сывороточного ОТ4 2-х типов: колебания, связанные с изменениями положения тела и истинные циркадные колебания. Постуральные колебания концентрации тироксинсвязывающих белков не изменяют концентрацию свободного Т4.

Хотя низкие уровни сывороточного ОТ4 обычно связаны с гипотиреозом, а высокие - с тиреотоксикозом, необходимо помнить, что уровень ОТ4 не всегда соответствует концентрации свободного Т4, который представляет собой метаболически активную фракцию. Концентрация ОТ4 в сыворотке может изменяться посредством нескольких независимых механизмов:

1) увеличение или уменьшение поступления Т4, что наблюдается в большинстве случаев тиреотоксикоза и гипотиреоза, соответственно;

2) изменения, обусловленные изолированными нарушениями связывания Т4 с сывороточными белками; и

3) компенсаторные изменения концентрации сывороточного ОТ4, обусловленные высокими или низкими уровнями Т3.

Состояния, связанные с изменениями сывороточного ОТ4 и их влияние на метаболический статус пациента перечислены в табл. 1.

Болезнь Грейвса (диффузный токсический зоб), синонимы: болезнь Грейвса, Базедова болезнь, гипертиреоз, болезнь Перри, болезнь Флаяни) — аутоиммунное заболевание, обусловленное избыточной секрецией тиреоидных гормонов диффузной тканью щитовидной железы, которое приводит к отравлению этими гормонами — тиреотоксикозу.

Табл. 1. Состояния, связанные с изменениями сывороточной концентрации общего Т4 и их связь с метаболическим статусом

Метаболический статус	Сывороточная концентрация общего Т4		
	Высокая	Низкая	Нормальная
Тиреотоксический	Гипертиреозидизм (все причины, включая болезнь Грейвса, болезнь Пламмера, токсическую аденому щитовидной железы, раннюю стадию подострого тиреоидита) Повышенный выброс в кровь тиреоидных гормонов (ранняя стадия подострого тиреоидита, транзитный тиреотоксикоз) Избыток экзогенного или эктопически продуцируемого Т4 (истинный тиреотоксикоз, струма яичника) Преимущественно гипофизарная резистентность к тиреоидным гормонам	Большие количества Т3 (первичный тиреотоксикоз)	Низкий уровень ТСГл (врожденный или приобретенный) Т3-тиреотоксикоз (при отсутствии лечения или возобновляющийся); более часто встречающиеся в йоддефицитных областях Лекарства, конкурирующие с Т4 за связывание с сывороточными белками (сходное состояние наблюдается при эутиреозидизме с низким уровнем ОТ4)
Эутиреоидный	Высокая концентрация ТСГл (врожденная или приобретенная) Т4-связывающий аномальный альбумин Эндогенные антитела к Т4 Заместительная терапия только Т4. Лечение D-T4 Генерализованная резистентность к тиреоидным гормонам.	Низкая концентрация ТСГл (врожденная или приобретенная). Эндогенные антитела к Т4 Незначительно повышенный или нормальный уровень Т3. Заместительная терапия Т3 Дефицит йода Нерациональное лечение тиреотоксикоза Хронический тиреоидит Врожденный зоб Лекарства, конкурирующие с Т4 за связывание с сывороточными белками (см. Табл.6)	Нормальное состояние
Гипотиреоидный	Выраженная генерализованная резистентность к тиреоидным гормонам	Недостаточность щитовидной железы. Первичная (все причины, включающие разрушение железы, выраженную йодную недостаточность, врожденные дефекты гормонообразования) Вторичная (гипофизарная недостаточность) Третичная (гипоталамическая недостаточность)	Высокая концентрация ТСГл (врожденная или приобретенная) Изолированная периферическая тканевая резистентность к тиреоидным гормонам

Болезнь Пламмера (тиреотоксическая аденома) – доброкачественное опухолевое заболевание щитовидной железы, приводящее к повышению уровня тиреоидных гормонов. **Повышенный уровень сывороточного ОТ4** при эутиреозидизме наблюдается при семейной дисальбуминемической гипертироксинемии – аутосомно-доминантном заболевании, которое характеризуется предпочтительным связыванием Т4 патологической формой сывороточного альбумина. Сывороточный уровень ОТ3 при этом остается в пределах нормы и лица с этим заболеванием сохраняют эутиреозидное состояние, что подтверждается нормальным сывороточным уровнем свободного Т4 и уровнем ТТГ.

Повышенный уровень общего тироксина в сыворотке крови может также наблюдаться при выработке аутоантител к тироксину, что характерно для пациентов с тиреоидитом Хашимото или другими аутоиммунными заболеваниями, а также иногда для пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема, связанной с доброкачественной моноклональной гаммопатией.

Повышение уровня общего тироксина сыворотки происходит при наличии периферической резистентности тканей к действию тиреоидных гормонов, впервые описанной Refetoff и сотр. в 1967 году. У таких пациентов может быть увеличение щитовидной железы (зоб) и ряд неврологических нарушений, они могут также характеризоваться некоторым повышением подвижности поведенческих реакций (гиперреактивностью). Кроме того, при этой патологии, в отличие от других состояний или гипертироксинемии с нормальным метаболическим статусом, сывороточный уровень свободного тироксина также повышается. Тем не менее, пациенты с таким нарушением эутиреозидны. Ведение пациента с этим генетическим расстройством, хотя и редко, приводит к несоответствующему лечению гипертиреозидизма.

Нарушения функции других органов и систем (нетиреоидные расстройства) также могут сопровождаться **повышенным сывороточным уровнем общего тироксина сыворотки**. Например, неукротимая рвота беременных также часто связана с увеличенным уровнем общего сывороточного тироксина. При нетиреоидных расстройствах, сопровождающихся высокой концентрацией обще-

го тироксина сыворотки, уровень тироксина обычно возвращается к норме в течение нескольких дней или недель при соответствующей терапии основного заболевания.

Нетиреоидные расстройства могут быть также связаны с низкими уровнями общего сывороточного тироксина, особенно у пациентов с тяжелыми заболеваниями и выраженными нарушениями функций внутренних органов. При улучшении общего статуса и последующем выздоровлении обычно уровень сывороточного общего тироксина возвращается к норме. Таким образом, необходимо подчеркнуть, что уровень общего сывороточного тироксина не всегда отражает тиреоидный статус организма.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

1 Причины высокого содержания общего Т4 в крови при тиреотоксическом метаболическом статусе.

2 Причины низкого содержания общего Т4 в крови при тиреотоксическом метаболическом статусе.

3 Причины нормального содержания общего Т4 в крови при тиреотоксическом метаболическом статусе.

4 Причины высокого содержания общего Т4 в крови при эутиреоидном метаболическом статусе.

5 Причины низкого содержания общего Т4 в крови при эутиреоидном метаболическом статусе.

6 Причины высокого содержания общего Т4 в крови при гипотиреоидном метаболическом статусе.

7 Причины низкого содержания общего Т4 в крови при гипотиреоидном метаболическом статусе.

8 Причины нормального содержания общего Т4 в крови при гипотиреоидном метаболическом статусе.

4. САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ В КРОВИ ОБЩЕГО ТРИЙОДТИРОНИНА

Концентрация общего трийодтиронина в сыворотке крови определяется посредством использования методов радиоиммунного анализа. Нормальная сывороточная концентрация общего трийодтиронина у взрослых составляет 80-190 нг/100 мл (1,2-2,9 нмоль/л). Половые различия невелики, но различия, связанные с возрастом, более выражены. В отличие от уровня общего тироксина, концентрация общего Т3 в сыворотке у новорожденных низкая и составляет около 50% от нормального уровня взрослого. В течение 24 последующих часов концентрация общего трийодтиронина возрастает, достигая двукратного уровня взрослых и затем быстро снижается в течение последующих суток до уровня верхней границы нормы взрослого. В последующем, по данным ряда исследователей, с раннего возраста до поздней старости происходит постоянное снижение уровня общего Т3 сыворотки.

Возможно, это снижение связано скорее с превалированием нетиреоидных нарушений, чем с непосредственными возрастными изменениями функции тиреоидной системы. При интерпретации индивидуальных показателей относительно средне-статических границ нормы необходимо учитывать возраст пациента. Хотя ряд исследований показал наличие положительной корреляция между уровнем сывороточного общего Т3 и массой тела, это может быть также связано с избыточным питанием. Быстрое и значительное снижение сывороточного общего Т3 может наблюдаться в течение 24-48 ч при полном голодании или только при депривации глюкозы.

Как и Т4, в сыворотке крови Т3 связан с ТСГл, хотя с меньшей avidностью. Тем не менее, изменения уровня ТСГл приводят к изменениям концентрации общего Т3 (но не свободного Т3). Следовательно, как и с сывороточным Т4, индекс свободного Т3 может быть определен с использованием той же формулы, что и при расчете индекса свободного тироксина.

Большинство состояний, приводящих к увеличению сывороточного уровня общего Т4, как правило, также характеризуются высокими уровнями общего Т3. Так, сывороточные уровни общего Т3 обычно возрастают при тиреотоксикозе и уменьшаются при гипотиреозидизме. При обоих состояниях соотношение общий Т3/общий Т4 возрастает по отношению к нормальному эутиреоидному уровню. Это увеличение вызвано непропорциональным увеличением концентрации сывороточного общего Т3 при тиреотоксикозе и меньшим снижением при гипотиреозидизме относительно концентрации общего Т4. Соответственно, измерение сывороточного уровня общего Т3 является более чувствительным тестом в диагностике гипертиреозидизма, а измерение уровня общего Т4 более полезно в диагностике гипотиреозидизма.

При некоторых обстоятельствах разница между сывороточными уровнями общего Т3 и общего Т4 или непропорциональна или наоборот направлена. В таких условиях определение концентрации общего Т3 более предпочтительно. Это помогает также объяснить синдром тиреотоксикоза с нормальным уровнем общего сывороточного Т4 и свободного Т3 (Т3-тиреотоксикоз), при котором в некоторых случаях может наблюдаться увеличение концентрации только свободного Т3. У некоторых пациентов с болезнью Грейвса лечение тиреотоксикоза антитиреоидными препаратами может нормализовать сывороточный уровень общего Т4, но не уровень общего Т3, что приводит к увеличенному соотношению общий Т3/общий Т4. Такие пациенты с преимущественно Т3-предоминирующим типом болезни Грейвса и соотношением общий Т3/общий Т4 больше 20 (нг/мкг) менее склонны к ремиссиям. В областях со сниженным содержанием йода и пище и у пациентов со сниженной способностью щитовидной железы усваивать йод эутиреоидизм может поддерживаться при низком уровне сывороточных общего Т4 и свободного Т4 за счет увеличенной секреции Т3.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

- 1 Отличие динамики Т3 в крови от Т4 с возрастом.
- 2 Корреляция содержания Т3 в крови с массой тела.
- 3 Корреляция содержания ОТ3 и свободного Т3 с содержанием тиреосвязывающего глобулина.
- 4 Значение соотношения ОТ3/ОТ4 при гипо- и гипертиреозе.
- 5 Соотношение между ОТ4, свободного ОТ4 и ОТ3 при эутиреоидизме в условиях низкого содержания йода в среде.

5. САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ИСПОЛЪЗУЕМЫХ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Нарушение функции щитовидной железы является одной из наиболее распространенных форм патологии, встречающихся в клинической практике. В связи со стертостью клинических проявлений некоторых заболеваний щитовидной железы, клиницист должен уметь безошибочно выбрать, какое диагностическое исследование (или исследования) наиболее подходит для подтверждения, уточнения диагноза либо исключения заболевания. В настоящее время, в эру развития совершенных диагностических и лечебных средств, врач может быть в некотором затруднении при проведении рационального выбора среди арсенала доступных тестов.

Определение концентрации в крови тиреоидных гормонов и других йодированных соединений и оценка их транспорта

Определение общей концентрации Т4 и Т3 в сыворотке крови и оценка их свободных фракций уже довольно давно стали наиболее распространенными диагностическими методами в тиреологии, повсеместно используемыми для оценки тиреоид-зависимого (т.е. обусловленного влиянием тиреоидных гормонов) уровня активности метаболических процессов. Этот подход был разработан в результате использования простых, чувствительных и специфических методов измерения концентрации

йодтиронинов, а также в связи с отсутствием специальных методов определения *in vivo* непосредственных метаболических эффектов гормонов щитовидной железы. Его преимущества состоят в необходимости лишь небольшого количества пробы крови для проведения теста и большом числе измеряемых параметров, а также в доступности и легкости проведения, что позволяет выполнить исследование в лаборатории в обычный рабочий день. Щитовидная железа является основным источником всех йодсодержащих биологически активных соединений или их предшественников. Следует отметить, что концентрация каждого вещества зависит не только от синтезированного и секретированного щитовидной железой в системный кровоток количества, но также от специфического средства соединения к белкам-переносчикам, распределения в тканях, скорости деградации и, наконец, выделения.

Табл. 1. Наиболее часто используемые в клинической практике диагностические исследования щитовидной железы

Исследования <i>in vitro</i>	
Определение концентрации общего тироксина (Т4, ОТ4)	Иммунологические исследования при отдельных заболеваниях
Определение концентрации общего трийодтиронина (Т3, ОТ3)	Определение концентрации антител к микросомальному антигену
Определение концентрации свободного тироксина (СвТ4)	Определение концентрации аутоантител к тиреоглобулину (АТА)
Определение концентрации свободного трийодтиронина (СвТ3)	Определение концентрации тиреостимулирующих антител (ТsAb)
	Определение концентрации аутоантител к Т4 и Т3
Определение индекса свободного тироксина/трийодтиронина (СвТ4И, СвТ3И)	Определение концентрации тиреоглобулина
Определение концентрации реверсивного трийодтиронина (рТ3)	Определение концентрации кальцитонина
Определение концентрации тиреотропного гормона (ТТГ)	

Исследования in vivo	
Исследование поглощения радиоактивного йода	Конкурентный тест с перхлорат-2 ионом
Тест с тиротропин-рилизинг гормоном	Тест супрессии с трийодтиронином ²

Главные продукты, секретируемые щитовидной железой в системный кровоток, - тироксин (Т4), затем в убывающем количестве - трийодтиронин (Т3) и реверсивный трийодтиронин (рТ3). Тироксин и трийодтиронин в наибольшей степени проявляют биологическую активность in vivo, в том числе при экзогенном введении. Они синтезируются и депонируются в коллоиде фолликулов щитовидной железы как часть белковой молекулы тиреоглобулина, который затем гидролизуется с освобождением йодтиронинов (причем Т4 в 10-20 раз больше, чем Т3). При нормальных условиях только незначительные количества тиреоглобулина попадают в циркуляцию; в молярном отношении они составляют наименьшее количество йодсодержащих компонентов сыворотки крови. Исключая Т4, тиреоглобулин и небольшое количество дийодтирозина (ДИТ) и монойодтирозина (МИТ), абсолютное большинство всех других йодсодержащих компонентов сыворотки крови вырабатываются преимущественно экстратиреоидными тканями в процессе последовательного дейодирования Т4. Альтернативный путь метаболизма Т4, включающий дезаминирование и/или декарбоксилирование при сохранении в фенильных циклах атомов йода, приводит к образованию тетрайодтироуксусной кислоты (Тетрак или Т4К) и 3,5,3'-трийодтироуксусной кислоты (Триак или Т3К). Циркулирующий в крови йодированный альбумин образуется в результате неферментативного йодирования плазменного альбумина в щитовидной железе.

Табл. 2. Йодсодержащие компоненты сыворотки в норме

Название	Сокращение	Да	Нормальная концентрация в сыворотке крови I	
			нг/дл	пмоль/л
3,5,3',5'-тетрайодтиронин	T4	777	5,000-12,000	84,000-154,000
3,5,3'-трийодтиронин	T3	651	80-190	1,200-2,900
3,3',5'-трийодтиронин (обратный T3)	rT3	651	14-30	220-400
3,5-дийодтиронин	3,5-T2	525	0,20-0,752	3,8-14
3,3'-дийодтиронин	3,3'-T2	525	1-82	10-150
3'5'-дийодтиронин	3'5'-T2	525	1,5-9,0	30-170
3'-монойодтиронин	3'-T1	399	0,8-4,0	15-100
3-монойодтиронин	3-T1	399	<0,5-7,5	<13-190
3,5,3',5'-тетрайод тироксусная кислота	t4A	748	<8-80	<105-800
3,5,3'-трийодтироуксусная кислота	T3A	622	1,6-3	28-45
3,5-дийодтирозин	ДИТ	433	1-23	23-530
3-монойодтирозин	МИТ	307	90-390	2,900-12,700
Тиреоглобулин	Tg	660-103	<100-2,5003	1,5-38

Примечания: Концентрации йодтиронинов в сыворотке крови при эутиреоидном статусе отличаются значительной индивидуальной вариабельностью. Поэтому для стандартизации показателей применяется расчет доверительных границ

нормы при 95% достоверности Гауссовского распределения. Показатель характеризуется значительным снижением с возрастом. Возможна ошибка при определении концентрации (как правило, завышение истинных значений) вследствие перекрестного реагирования с родственными соединениями. Небольшие количества йодсодержащих белков могут образовываться в периферических тканях или сыворотке посредством ковалентного связывания Т4 или Т3 с растворимыми белками. Хотя физиологическая функция циркулирующих йодсодержащих соединений внетиреоидного происхождения (иных, нежели тиреоидные гормоны), остается неизвестной, определение изменений их концентраций иногда может иметь определенную диагностическую ценность.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

1 Зависимость концентрации йодсодержащего метаболита от синтезированного и секретированного щитовидной железой.

2 Зависимость концентрации йодсодержащего метаболита от специфического сродства соединения к белкам-переносчикам.

3 Зависимость концентрации йодсодержащего метаболита от распределения в тканях.

4 Зависимость концентрации йодсодержащего метаболита от скорости деградации.

5 Зависимость концентрации йодсодержащего метаболита от скорости выделения.

6 САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА ИЗМЕРЕНИЕ ОБЩЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ТИРЕОИД- НЫХ ГОРМОНОВ В СЫВОРОТКЕ ЙОДОМЕТРИЯ

Атомы йода являются интегральной частью молекул тиреоидных гормонов, составляя в них до 65% от общей массы, и поэтому не удивительно, что определение содержания йода в сыворотке крови было первым методом, применявшимся уже почти 50 лет назад для идентификации и количественного определения тиреоидных гормонов. Измерение содержания белок-связанного йода было самым ранним методом, использовавшимся для оценки концентрации тиреоидных гормонов в сыворотке. С помощью данного теста определяется общее количество йода, связанного с белковой фракцией плазмы, в которой до 90% приходится на долю Т4. Попытки определить уровень тиреоидных гормонов с большей точностью и с меньшим влиянием негормональных йодсодержащих веществ привели к разработке метода экстракции йода бутанолом и очистки Т4 методом колоночной хроматографии. При экстракции йода бутанолом последовательная экстракция подкисленным бутанолом и промывание щелочным раствором приводят к изоляции йодтиронинов. Измерение Т4 колоночным методом позволяет определить содержание йода в йодтиронидах после их экстракции из сыворотки посредством ионообменной колоночной хроматографии. Однако, в последующем все химические методы измерения концентрации тиреоидных гормонов в плазме были заменены радиоиммунными исследованиями, применение которых исключает влияние со стороны даже небольших количеств негормональных йодсодержащих веществ.

Йодометрия используется для измерения содержания йода в тиреоглобулине при отдельных клинических состояниях, таких как врожденные дефекты гормонообразования, когда предполагается патология процессов органификации йодида и, следовательно, продукции и секреции йодсодержащих гормонов.

Методы радиоиммунного анализа

Присутствующие в норме йодсодержащие компоненты сыворотки легко определяются методами радиоиммунного анализа (РИА). Его принцип состоит в оценке скорости реакции конкурентного взаимодействия измеряемого лиганда (S) и его меченого (обычно ^{131}I) изотопом аналога (S^*), которые выступают в качестве антигенов, со специфическими антителами - иммуноглобулинами класса G, присутствующими в антисыворотке (антитела - AT). Антисыворотка может быть поликлональной или содержать моноклональные IgG. Реакция подчиняется закону равновесия масс. Так, в состоянии равновесия, концентрация S^* , связанного с AT в форме комплекса AT- S^* , обратно пропорциональна концентрации S, формирующего комплекс AT-S при условии, что концентрации AT и S^* постоянны. $\text{AT-S}^* + (\text{S}) = \text{AT-S} + S^*$ Определение уровня радиоактивности проб AT- S^* или свободного (не связавшегося с антителами) S^* проводится после их разделения посредством преципитации комплекса антитело-антиген или адсорбции свободного лиганда на индифферентном носителе. Иногда РИА проводится с антителами, фиксированными на твердом носителе, реагирующими с S и S^* в растворе. Добавление известного количества S проводится для построения стандартной кривой, описывающей стехиометрическую взаимосвязь между концентрациями AT- S^* и S. Эта кривая может быть преобразована в прямую линию в результате математических операций. Отрицательные пробы содержат свободный S^* , но не содержат специфических антител к S^* или избыточного количества S. Чувствительность метода зависит от аффинности антител и специфических свойств S^* . При оптимальных условиях чувствительность метода позволяет определить концентрацию лиганда порядка 1 пг.

Эффективная продукция антител требует презентации антигенов - йодированных аминокислот, посредством конъюгации с альбумином или с какими-либо другими белковыми молекулами или частицами. При проведении определения концентрации йодированные аминокислоты должны быть освобождены от связи с сывороточными связывающими протеинами, главным обра-

зом тироксинсвязывающим глобулином (ТСГл), так как константы сродства к транспортным белкам часто эквивалентны константам связывания с иммуноглобулинами. Метод исследования включает экстракцию, конкурентное замещение определяемых аминокислот и инактивацию ТСГл. В идеальном случае, конкурирующие за места связывания соединения должны замещать йодированные аминокислоты в ТСГл, но незначительно или вообще не вмешиваться в протекание специфической иммунной реакции.

Метод радиоиммунного анализа позволяет проводить измерения в образцах цельной необработанной сыворотки. Хотя влияния негормональных йодсодержащих компонентов практически не наблюдается, определенное перекрестное реагирование между связанными, присутствующими в сыворотке в норме другими йодированными аминокислотами, все же существует. Таким образом, проведение валидного исследования требует отбора антител, которые обладают незначительной перекрестной реактивностью или вообще ее не имеют. Это особенно важно, когда концентрация измеряемого вещества ниже, чем концентрация перекрестно реагирующих синергистов. Связывание с иммуноглобулинами редко позволяет дифференцировать L- и D-изомеры йодтиронинов, но это не имеет существенного значения при клинической оценке. Иногда у некоторых пациентов в системной циркуляции присутствуют также антитела к йодтиронинам, что влияет на проводимый РИА в неэкстрагированных образцах сыворотки. В зависимости от метода, применяемого для разделения связанного и свободного лиганда, получаемые результаты могут быть либо заниженными либо завышенными в присутствии таких антител.

Широкий выбор коммерческих наборов для проведения подобных исследований доступен для большинства методов РИА, что делает его приемлемым для всех медицинских центров. Модификации методов РИА позволяют производить измерение содержания Т4 в небольших образцах сухих капель крови на фильтровальной бумаге, что нашло применение в скрининге неонатального гипотиреозидизма. Первые методы, разработанные

ные для измерения содержания йодированных аминокислот, использующие только что описанный принцип, не включали использование антител. Нативный сывороточный протеин, ТСГл, использовался вместо антител для измерения уровня Т4 в экстрагированной сыворотке. Этот метод оценки конкурентного связывания с белками был постепенно вытеснен методами РИА.

Другие методы

Другая группа методов базируется на принципе радио-конкурентного анализа, но не предусматривает использование радиоактивных соединений. Эти методы, основанные на использовании лиганда, связанного с ферментом, призваны заменить методы РИА. Лиганд, конъюгированный с ферментом, конкурирует с определяемым соединением за места связывания с антителом. Количественная оценка проводится спектрофотометрически посредством оценки оптической плотности растворов, которая изменяется после добавления субстрата ферментативной реакции. Разработаны как гомогенные (технология ферментативно усиленного иммуноанализа, ЕМІТ), так и гетерогенные (ферментативный анализ с использованием иммуносорбентов, ELISA) методы определения концентрации Т4. При методах гомогенного анализа не требуется разделения связанной и свободной фракций лиганда, так как оно обеспечивается автоматически. Один из подобных методов использует фермент малатдегидрогеназу, который неактивен в связанной с Т4 форме. Фермент активируется, при связывании комплекса Т4-фермент с Т4- специфическим антителом. Существуют другие модификации, в которых активный Т4 связывается с другими ферментами, такими как пероксидаза или щелочная фосфатаза. Другие нерадиоизотопные иммунные методы используют флюоресценцию для определения меченых лигандов и радиальную диффузию в агарозном геле для разделения антитела и лиганда на твердом носителе.

Несколько других методов, отличных от йодометрии, радиоконкурентного анализа и ферментативного иммунологиче-

ского анализа, разработано для измерения содержания Т4 и Т3 в сыворотке и других биологических материалах. Они включают газожидкостную хроматографию, нейтронную активацию и двойное изотопное определение производных тиреоидных гормонов. Однако, в настоящее время эта группа методов используется исключительно в исследовательских целях. Модифицированная версия жидкостной хроматографии позволяет различать D- и L-изомеры йодтиронинов.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

- 1 Самый ранний метод для оценки концентрации тиреоидных гормонов в сыворотке.
- 2 Метод экстракции йода бутанолом и очистки Т4 методом колоночной хроматографии.
- 3 Принцип радиоиммунного анализа (РИА).
- 4 Зависимость результатов РИА в неэкстрагированных образцах сыворотки от наличия антитела к йодтиронином.
- 5 Модификации методов РИА.
- 6 Другие методы для оценки концентрации тиреоидных гормонов в сыворотке.

7. САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СВОБОДНЫХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Незначительное количество тиреоидных гормонов циркулирует в крови в свободной форме, не связанной с сывороточными транспортными белками. Существует термодинамическое равновесие между связанным гормоном и диффузионной фракцией гормона, способной проникать через клеточные мембраны и оказывать влияние на функцию клеток периферических тканей. Хотя изменения уровней сывороточных гормонсвязывающих белков влияют как на общую концентрацию гормонов, так и на соответствующую фракцию свободно циркулирующих гормонов, при эутиреозе абсолютная концентрация свободных гормонов остается постоянной. Эти данные согласуются с теоретической концепцией переноса гормонов из крови в ткани. Концентрация свободного гормона в сыворотке коррелирует с тканевым уровнем гормона и с метаболическим статусом. Эта концентрация, возможно, является самым важным параметром в оценке тиреоидной функции, так как непосредственно связана с метаболическим статусом пациента.

За несколькими исключениями, концентрация свободных гормонов высока при тиреотоксикозе, низка при гипотиреозе и нормальна при эутиреозе даже при изменении концентрации ТСГл при условии, что пациент находится в компенсированном состоянии. Необходимо также отметить, что концентрация свободного Т4 может быть нормальной или даже низкой у пациентов с Т3-доминирующим токсикозом и у пациентов, принимающих Т3 в фармакологических дозах. Иногда концентрация свободного Т4 может быть за пределами нормы в отсутствие явных нарушений тиреоид-зависимого метаболического статуса. Это часто наблюдается при тяжелых нетиреоидных заболеваниях, при которых могут наблюдаться как высокие, так и низкие уровни свободного Т4. Когда эутиреоидное состояние поддерживается назначением Т3 или преваляющей секрецией Т3, уровень свободного Т4 также

снижается. Пациенты со многими нетиреоидными нарушениями имеют низкие уровни свободного Т3. Это снижение характерно для всех состояний, связанных с пониженной сывороточной концентрацией общего Т3, вызванной уменьшенной конверсией Т4 в Т3 в периферических тканях. Как уровень свободного Т4, так и свободного Т3 могут выходить за границы нормы у пациентов, получающих множество лекарственных средств. Выраженное увеличение концентраций как свободного Т4, так и свободного Т3 при отсутствии гиперметаболизма типично для пациентов с генерализованной резистентностью к действию тиреоидных гормонов. Концентрация свободного Т3 обычно нормальна или даже повышена у гипотиреоидных особей, живущих в областях, эндемичных по дефициту йода. У них уровни свободного Т4, однако, нормальны или низки.

Прямое измерение концентраций свободных Т4 и Т3

Точное измерение абсолютных концентраций свободного Т4 и свободного Т3 технически сложно и до недавнего времени исследования были ограничены. Для минимизации нарушений связи между уровнем свободных и связанных гормонов эти фракции должны быть разделены посредством ультрафильтрации или диализа при минимальном разведении и небольшом изменении рН или электролитного состава среды. Разделенные свободные гормоны затем измеряются непосредственно методами РИА. Этот метод, вероятно, самый точный из доступных, но небольшие количества слабо связанных диализируемых веществ или лекарственных средств могут удаляться из связи с транспортными белками и измеренная концентрация свободных гормонов в их присутствии может не полностью отражать свободную концентрацию *in vivo*. Границы нормы различны в зависимости от конкретных используемых методик в различных лабораториях и находятся в пределах между 0,8 и 2,7 нг/дл (10-35 пмоль/л).

Изотопный равновесный диализ (ИРД)

Метод ИРД один из лучших для оценки концентраций свободного Т4 или свободного Т3 более 30 лет. Он базируется

на определении содержания Т4 или Т3, которые не связаны и способны диффундировать через диализирующую мембрану (диализируемая фракция - ДФ). Для проведения этого теста образец сыворотки инкубируется со следовыми количествами меченого (обычно по I) Т4 или Т3. Меченые следовые количества быстро уравниваются с соответствующим количеством связанных и свободных эндогенных гормонов. Образец затем диализируется с использованием буфера при постоянной температуре, пока концентрации свободного гормона по обе стороны диализирующей мембраны не уравниваются. ДФ рассчитывается исходя из содержания меченого гормона в диализате. Влияние радиоактивного йода, присутствующего в качестве загрязнителя в меченом следовыми количествами гормоне, должно быть элиминировано посредством тщательной очистки и различными методами преципитации диализируемого гормона. Уровни свободного Т4 и свободного Т3 могут быть измерены одновременно посредством добавления к образцам Т4 и Т3, меченых 2-мя разными изотопами йода. Ультрафильтрация представляет собой модификацию диализа. Результаты выражаются в виде фракции (ДФТ4 или ДФТ3) или в процентах (% свободного Т4 или % свободного Т3) соответствующих диализируемых гормонов, а абсолютные концентрации свободного Т4 и свободного Т3 рассчитываются из общей концентрации гормона в сыворотке и его соответствующей ДФ. Типичные нормальные уровни свободного Т4 у взрослых 1-3 нг/дл (13-39 пмоль/л) и свободного Т3 - 0,25-0,65 нг/дл (3,8-10 нмоль/л).

Результаты, полученные с использованием данных методов, сравнимы с результатами определения прямыми методами, но данная методика более приемлива для более четкого различения очень низких или очень высоких концентраций ТСГл и применима в присутствии циркулирующих ингибиторов связывания белка. На измеряемую ДФ может влиять температура, при которой проводится оценка, степень разведения, период времени для наступления равновесия и состав разводящей жидкости. Рассчитываемый объем зависит от точности измерения общего Т4 или Т3 и может быть некорректным у пациентов с антителами к Т4 или Т3.

Двухступенчатый иммуноанализ

При этой оценке свободный гормон сначала экстрагируется посредством связи со специфическими антителами (первая ступень); антитела часто фиксированы на полимерном носителе. После промывания добавляются меченые следовые количества гормонов, которые связываются с незанятыми участками. Концентрация свободного гормона будет обратно пропорционально связана с следовыми количествами гормонов, связавшихся с антителами, и его уровни определяются посредством сравнения со стандартной кривой. Величины, полученные с применением данной методики, сравнимы с величинами, полученными с использованием прямых методов. Данный метод наиболее показателен в присутствии циркулирующих ингибиторов связывающих белков и в сыворотках пациентов с нетиреодными заболеваниями.

Измерение и оценка свободного Т4

Лучший метод для измерения тиреод-зависимого метаболического статуса - это измерение свободного сывороточного Т4 посредством равновесного диализа. При этом методе на уровень свободного Т4 не влияют изменения концентрации связывающих белков или нетиреодные расстройства. К сожалению, метод равновесного диализа достаточно дорогой и громоздкий и поэтому не используется в качестве рутинного. Коммерческие наборы для определения уровня свободного Т4 обычно используют иммунологические методики, но их надежность меньше оптимальной, так как они могут изменяться при заболеваниях или значительных изменениях концентраций связывающих белков. Таким образом, клиническое использование измерений свободного Т4 посредством любых методов может быть ограничено.

Хотя тиреод-зависимый метаболический статус лучше всего отражается уровнем свободного Т4, с клинической точки зрения адекватной является оценка (или индекс) свободного Т4 (ИСТ4). Индекс свободного Т4 получают посредством экстраполирования уровня общего сывороточного Т4 к определенному непрямому методом уровню ТСГл. Сывороточный уровень ТСГл определяется одним из двух методов, один из которых называется тест связыва-

ния тиреоидных гормонов (ТС), а другой - тест связывания Т3 (ТЗТС). Индекс свободного Т4 (ИСТ4) рассчитывается из коэффициента общего Т4 и ТС или из расчета Т4 и ТЗТС. Значение ТС прямо пропорционально уровню ТСГл в сыворотке, тогда как значение ТЗТС обратно пропорционально уровню ТСГл. Результаты, полученные с использованием этих методов, ценны тем, что различия в уровнях сывороточного ТСГл элиминируются и рассчитанный ИСТ4 точно отражает действительный уровень свободного Т4. **Например, если проводится ТЗТС, то ИСТ4 может быть рассчитан следующим образом: $ИСТ4 = \frac{T4}{TЗТС}$ (ИСТ4 средний нормальный).**

Нормальные пределы ТЗТС могут колебаться на уровне 25-35%; составляя в среднем 30%. Необходимо отметить, что значительные изменения уровней ТСГл или наличие тяжелых нетиреоидных расстройств могут приводить к несоответствию между рассчитанными и измеренными уровнями свободного Т4.

8 САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

ИЗМЕРЕНИЕ ОБЩЕЙ И НЕНАСЫЩЕННОЙ ЕМКОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ – СУММАРНАЯ СВЯЗЫВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ

Поскольку концентрация тиреоидных гормонов в сыворотке зависит от их поступления в той же степени, как и от содержания гормон-связывающих сывороточных белков, оценка последних удобна при интерпретации уровней, полученных в результате измерений общей концентрации гормона. Эти результаты могут быть использованы для оценки концентрации свободного гормона, которая важна для дифференцирования изменений общей сывороточной концентрации гормона, обусловленной изменениями концентрации связывающих белков у эутиреоидных пациентов, от изменений, вызванных нарушениями активности щитовидной железы, приводящих к гиперметаболизму или гипометаболизму.

Измерение уровня ТСГл

Концентрация ТСГл в сыворотке может быть измерена либо посредством оценки их общей способности связывания Т4 при насыщении, либо измерены непосредственно иммунологическими методиками. Хотя методы насыщения обеспечивают точную информацию об общей связывающей способности отдельных белков, они являются весьма громоздкими, а их использование утомительным. Суть методов заключается в разделении меченых радиоактивным йодом Т4 среди транспортных белков сыворотки (ТСГл, транстиреин и альбумин), разделяемых затем электрофоретически и определяемых по конкурентному замещению немеченым тирокином. Величины могут варьировать в соответствии с условиями электрофореза, в частности, с типом используемого буфера и рН. Принятые нормы содержания ТСГл для взрослых составляют 14-27 мкг/100 мл сыворотки (180-350 нмоль/л). Метод простого насыщения, использующий ионнообменные носители, по сравнению с электрофорезом, доступен для рутинного исследования в клинических лабораториях. Иммунологические методы для прямого измерения содержания белков также доступны. Концентрация ТСГл в сыворотке может быть определена методами РИА и посредством метода «ракетного» иммуноэлектрофореза по Лоури, радиальной иммунодиффузией или ферментным иммуноанализом. Еще один метод комбинирует связывание гормона с ТСГл и иммунологические методики. Методы, используемые в коммерческих наборах, доступны для количественного определения сывороточного ТСГл и используют с различными модификациями технические принципы, описанные выше. Некоторые используют конкурентное разделение меченого радиоактивным йодом гормона между эндогенным ТСГл и добавленной антисывороткой к гормону; другие используют специфическую ТСГл сыворотку и Т4 или связанный ТСГл меченый гормон в качестве метки. Абсолютная концентрация в сыворотке взрослого человека в норме варьирует в соответствии с чистотой используемых стандартов. Истинный средний уровень ТСГл - 1,8 мг/100 мл (260 нмоль/л) с пределами 1,1-2,2 мг/100 мл (180-350 нмоль/л) сыворотки.

Концентрация ТСГл в сыворотке варьирует в зависимости от возраста, пола, беременности и постурального статуса (postural — система опоры тела). Определение концентрации этих белков в сыворотке частично помогает в оценке значительных отклонений от нормы, также как и при врожденных нарушениях ТСГл. В большинстве случаев тест связывания тиреоидных гормонов *in vitro* вместе с определением уровня сывороточного ОТ4 позволяет оценить концентрацию ТСГл. Данные могут быть получены из коэффициента теста ТЗТС, выраженные как процент нормального контроля и уровня сывороточного ОТ4, образуя ТСГл-индекс.

Определение концентрации тиреотропного гормона в сыворотке крови

Первое определение концентрации сывороточного тиреотропного гормона (ТТГ), проведенное Odell и сопр. в 1965 году, было большим шагом в оценке функции щитовидной железы, так как в результате было показано, что пациенты с первичным гипотиреозом имели повышенный сывороточный уровень ТТГ. Возможность измерения ТТГ привела к фактическому преодолению громоздкости и часто болезненности теста стимуляции ТТГ, который использовался ранее для диагностики гипотиреоза. Хотя ранние способы определения ТТГ радиоиммунологическими методиками позволяли определить повышенный сывороточный уровень ТТГ у пациентов с первичным гипотиреозом, они были зачастую неудобны для точного измерения ТТГ у эутиреоидных и гипертиреоидных людей. В течение нескольких лет были разработаны более чувствительные методы оценки ТТГ и большинство эутиреоидных людей имели определяемый уровень ТТГ, так что к началу 70-х годов сывороточный ТТГ стал стандартом для дифференцирования гипотиреоидных от эутиреоидных пациентов. Функциональная чувствительность таких ранних оценок, однако, не позволяла дифференцировать гипер- и эутиреоидизм. Последующие методы, получившие развитие в 70-х годах, однако, были более чувствительны; эутиреоидные люди редко имели уровень ТТГ ниже нормального и фак-

тически все гипертиреодные пациенты имели пониженную концентрацию ТТГ. Несмотря на эти достижения в оценке уровня ТТГ, их клиническая значимость была ограничена, так как они были очень сложны и требовали больших временных затрат. Будучи относительно чувствительными, они не были общедоступны для клиницистов. В последние годы разработаны неизотопные иммунометрические методы оценки ТТГ, использующие хемилюминесцентные метки. Эти новые методы имеют функциональную чувствительность 0,01 мЕд/л, что в 10 раз выше, чем предыдущие самые чувствительные методы определения ТТГ и в 100 раз выше, чем методы РИА. Методы определения ТТГ с чувствительностью 0,01 мЕд/л называются методами третьего поколения и все большее количество коммерческих наборов и клинических лабораторий использует этот метод.

Клиническое использование определения ТТГ. Диагностика первичного гипотиреоза

Наличие повышенного уровня ТТГ является подтверждением диагноза первичного гипотиреоза. Степень гипотиреоза оценивается по сывороточному уровню Т4. Уровни ТТГ также повышены у пациентов с субклиническими формами гипотиреоза, при котором сывороточный уровень общего Т4 нормален или погранично низок.

Оценка рациональности проведения заместительной терапии тиреоидными средствами.

Целью лечения первичного гипотиреоза левотироксином является нормализация сывороточных уровней Т4 и ТТГ. С помощью существующих методов оценки уровня ТТГ возможно определять передозировку левотироксина, поскольку концентрация ТТГ при этом будет низка. Это имеет клиническое приложение, так как установлено, что у пациентов с пониженным сывороточным ТТГ даже в присутствии нормального сывороточного уровня Т4 может наблюдаться деминерализация костей. (Этому особенно подвержены женщины в постменопаузе). Хроническая передозировка левотироксина может сопровож-

даться сердечными расстройствами, включая суправентрикулярные аритмии и вентрикулярную септальную гипертрофию.

Оценка супрессии уровня ТТГ при раке щитовидной железы

Тиреодид-супрессивная терапия является частью рутинного лечения пациентов с высокодифференцированной (папиллярной или фолликулярной) карциномой щитовидной железы, так как рост таких опухолей может быть ТТГ-зависимым. Лечение левотироксином снижает уровень ТТГ и в то же время позволяет избежать развития клинического гипертиреоза. Использование методов определения уровня ТТГ третьего поколения сделало эту задачу более простой, чем раньше, так как до этого супрессия ТТГ могла быть подтверждена только отсутствием сывороточной ТТГ-реакции на назначение экзогенного тиротропин-релизинг гормона (ТРГ). За некоторыми исключениями, пониженные уровни ТТГ при использовании методов третьего поколения коррелируют с отсутствием реакций на действие ТТГ.

Оценка супрессивной терапии узлового зоба

Измерение уровней ТТГ продуктивно у пациентов с солитарным или мультинодулярным зобом, у которых иногда применяется гормональная терапия тиреоидными средствами. Несмотря на то, что эффективность левотироксиновой супрессии доброкачественного зоба не является общепризнанной, она еще широко применяется. Следовательно, необходимо иметь точную оценку уровней ТТГ для избежания передозировки.

Диагностика субклинического гипертиреоза

Пациенты с малочисленными или стертыми симптомами гипертиреоза, с нормальными или погранично повышенными уровнями общего Т4 и общего Т3 и с пониженными уровнями сывороточного ТТГ имеют субклинический гипертиреоз. До развития чувствительных методов оценки ТТГ такие случаи не диагностировались. Такие люди, особенно после 60-летнего возраста, имеют в 4 раза больший риск развития сердечных аритмий, особенно фибрилляции предсердий.

Тиреоглобулин

Радиоиммунные методы исследования в настоящее время являются рутинными и общепринятыми при определении концентрации тиреоглобулина в сыворотке крови. Используемые методы являются высоко специфичными и в зависимости от чувствительности позволяют определить наличие тиреоглобулина в сыворотке крови у 90% особей в состоянии эутиреоидизма. При использовании антисыворотки в высоких разведениях практически не наблюдается перекрестного реагирования с йодтиронидами или йодтирозидами. Однако, результаты, получаемые при анализе сыворотки, содержащей аутоантитела к тиреоглобулину, неточны и использование данного метода в этих случаях ограничено. Таким образом, интерпретация результатов исследования требует предварительного скрининга присутствия аутоантител к тиреоглобулину. Наличие антител к тиреопероксидазе не влияет на определение уровней тиреоглобулина методами радиоиммунного анализа. Концентрация тиреоглобулина в сыворотке в норме составляет от менее чем 1 до 25 нг/мл (менее 1,5-38 пмоль/л) и в среднем 5-10 нг/мл. Уровень тиреоглобулина повышается в сыворотке пациентов практически со всеми типами нарушений функции щитовидной железы, лимитируя таким образом его использование в качестве дифференциального диагностического теста. Его наибольшая клиническая значимость проявляется при обследовании пациентов с высокодифференцированной (папиллярной или фолликулярной) карциномой щитовидной железы. Повышенный или прогрессивно нарастающий сывороточный уровень тиреоглобулина (особенно после хирургического лечения) наводит на мысль о персистенции опухоли или возобновлении ее роста. Концентрация тиреоглобулина может быть определена посредством радиоиммунных методов или иммунометрически. Хотя антитиреоидные антитела могут влиять на точность оценки концентрации тиреоглобулина у 10% пациентов, у таких особей измерение как уровня тиреоглобулина, так и антител к нему, может быть использовано для получения информации о течении опухолевого процесса.

Сывороточный кальцитонин

Кальцитонин представляет собой полипептид, секретируемый парафолликулярными (С) клетками щитовидной железы. Сывороточный уровень кальцитонина повышается у пациентов с медуллярной карциномой щитовидной железы (МКЩ). Уровень кальцитонина определяется у пациентов с диагностированной МКЩ и служит как вспомогательный метод для скринингового исследования наследуемости заболевания.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

- 1 Способы оценки содержания ТСГл в сыворотке крови.
- 2 Оценка содержания ТСГл в сыворотке крови методом насыщения.
- 3 Оценка содержания ТСГл в сыворотке крови иммунологическими методами.
- 4 Зависимость концентрации ТСГл в сыворотке в зависимости от возраста, пола, беременности.
- 5 Уровень сывороточного ТТГ - стандарт для дифференцирования гипотиреоидных состояний от эутиреоидных.
- 6 Преимущества неизотопных иммунометрических методов оценки ТТГс хемилюминесцентными метками.
- 7 Значение непосредственного определения ТТГ в сыворотке крови при тиреоид-супрессивной терапии рака щитовидной железы, узлового зоба и субклинического гипертиреозидизма.
- 8 Необходимость предварительного скрининга присутствия аутоантител к тиреоглобулину при радиоиммунном методе определения содержания тиреоглобулина.
- 9 Необходимость исследования уровня кальцитонина в сыворотке крови.

9 САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА АНТИТЕЛА ПРИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ АНТИТЕЛА К СТРУКТУРАМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Циркулирующие антитиреоидные антитела, особенно к микросомальной фракции (антимикросомальные, АМА) и к тиреоглобулину (АТГА), обычно присутствуют у пациентов с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. До недавнего времени для измерения уровня антител использовалась методика гемагглютинации, однако сейчас используются намного более чувствительные иммунологические методики. С появлением иммунологических методов термин антитела к тиреопероксидазе (анти-ТПО) был заменен на АМА. АМА определяются более чем у 90% пациентов с хроническими аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы и почти у 100% пациентов с тиреоидитом Хашимото, более 80% пациентов с болезнью Грейвса имеют положительные титры. Хотя АТГА более специфичны, чем АМА, их определение менее чувствительно и, следовательно, не так значимо в диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Повышенные уровни АМА также часто положительны при множестве других органоспецифических аутоиммунных заболеваний, например, таких как системная красная волчанка, ревматоидный артрит, аутоиммунная пернициозная анемия, синдром Шегрена, инсулинзависимый сахарный диабет и болезнь Аддисона. Кроме того, повышенные уровни АМА могут быть генетически обусловлены. Положительные титры антител наблюдаются при постнатальном тиреоидите. Низкие титры антител возникают транзиторно у некоторых пациентов после подострого тиреоидита. Не наблюдается увеличения тиреоидных аутоантител у пациентов с мультинодулярным зобом, аденомой щитовидной железы или вторичным гипотиреоидизмом. Показано, что у некоторых пациентов с тиреоидитом Хашимото и неопределяемыми тиреоидными антителами в сыворотке лимфоциты **внутриорганный локализации** продуцируют антитела к тиреопероксидазе.

Тиреостимулирующие антитела

Аутоиммунный патогенез болезни Грейвса был впервые заподозрен в середине 50-х годов, когда введение сыворотки пациентов с болезнью Грейвса крысам приводило к увеличению поглощения радиоактивного йода щитовидной железой крыс. С тех пор применяется термин «длительно действующий стимулятор щитовидной железы», ДДСЩ. Позднее ДДСЩ был охарактеризован как иммуноглобулин с константой седиментации 7S, а в последние годы разработано несколько методов определения ДДСЩ или тиреостимулирующих антител. Широко используются 2 типа методов - зависимый от продукции цАМФ и другой - радиоизотопный метод, основывающийся на ингибиторных свойствах иммуноглобулина в отношении связывания ТТГ. Оценка продукции цАМФ опосредуется тиреостимулирующим иммуноглобулином, и он определяем у 90-95% гипертиреоидных пациентов с болезнью Грейвса. С помощью другого метода (зависимого от ингибирования ТТГ-связывания) определяются как стимулирующие, так и блокирующие антитела. Они определяются у 85% пациентов с болезнью Грейвса.

Определение концентрации иммуноглобулинов, связывающих ТТГ-рецепторы тиреоцитов

Самые ранние методики использовали различные модификации биологической пробы на мышах по Маккензи. Патологический гамма-глобулин с биологическими свойствами ТТГ имеет относительно длительную активность *in vivo*, поэтому получил название ДДСЩ. Метод позволяет оценить ДДСЩ-индуцированное освобождение тиреоидных гормонов из щитовидной железы мыши, предварительно меченых радиоактивным йодом. Присутствие ДДСЩ в сыворотке крови является патогномоничным признаком для болезни Грейвса. Однако, в зависимости от чувствительности метода, различный процент пациентов а priori имеет положительную реакцию на ДДСЩ. ДДСЩ может быть обнаружен в сыворотке пациентов с болезнью Грейвса даже при отсутствии тиреотоксикоза. Хотя это более характерно для пациентов с аутоиммунной офтальмопатией,

особенно сопровождающейся претибиальной микседемой, ДДСЩ не вызывает этих осложнений и его уровень не коррелирует с их тяжестью или длительностью. ДДСЩ проходит через плаценту и может быть обнаружен транзиторно у новорожденных от матерей, имеющих патологический гамма-глобулин. Попытки улучшить методы определения тиреостимулирующих антител (ТСА) при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы привели к развитию нескольких методов *in vitro*, использующих ткани щитовидной железы животных и человека. При цитологическом анализе способность сыворотки крови стимулировать эндоцитоз в свежей тиреоидной ткани человека измеряется прямым подсчетом сформированных внутриклеточных капель коллоида. С использованием такой техники была продемонстрирована стимуляция активности щитовидной железы человека на образцах сыворотки пациентов с болезнью Грейвса, у которых не было выявлено активности ДДСЩ с использованием стандартного биологического теста на мышах. ТСА могут быть определены посредством измерения накопления цАМФ или стимуляции аденилатциклазной активности в клетках культуры ткани щитовидной железы человека и плазматических тиреоидных мембранах, соответственно. Накопление цАМФ в культуре клеток щитовидной железы линии FRTL5 крыс также используется в качестве оценки ТСА. Стимуляция освобождения Т3 из срезов ткани щитовидной железы человека и свиньи - еще одна форма оценки ТСА *in vitro*. *In vitro* оценка, использующая цитохимические методы, зависит от способности тиреостимулирующего агента увеличивать проницаемость лизосомальных мембран для хромогенного вещества, лейцил-р-нафтиламида, который затем реагирует с ферментом нафтиламидазой. Количественное определение производится методом сканирующей интегральной микроденситометрии. Недавно проведенное клонирование ТТГ-рецептора способствовало развитию метода определения ТСА *in vitro* с использованием клеточных линий, экспрессирующих рекомбинантный ТТГ-рецептор. Этот метод, основывающийся на выработке цАМФ, специфичен при измерении антител к ТТГ-рецептору человека, которые обладают ти-

реостимулирующей активностью, и, таким образом, отличается от методов, основанных на связывании ТТГ-рецептора, которые не могут дифференцировать антитела с тиреостимулирующей и ТТГ-блокирующей активностью. Соответственно, посредством использования определения рекомбинантного человеческого ТТГ-рецептора измеряется концентрация антител, играющих роль в патогенезе аутоиммунных тиреоидных расстройств и этот метод более чувствителен, чем использовавшееся ранее определение ТСА. Например, 94% образцов сыворотки были позитивны в отношении ТСА по сравнению с такими же образцами, оцененными с использованием клеток FRTL5.

Определение концентрации антител, ингибирующих связывание ТТГ

Разработка методов определения концентрации антител, ингибирующих связывание ТТГ, совпадает с датой открытия еще одного класса патологических иммуноглобулинов у пациентов с болезнью Грейвса - иммуноглобулинов, которые обладают протективной активностью в экстракте щитовидной железы человека от нейтрализующей биологической активности ДДСЦ, протестированного на мышцах. Этот агент, известный как ДДСЦ-протектор, является видоспецифичным, не обладающим биологическим влиянием на щитовидную железу мыши, но способен стимулировать человеческую щитовидную железу. Оригинальный метод определения его концентрации был весьма громоздким, что ограничивало его клиническое использование. Методы, использовавшиеся в последнее время, которые могут быть названы радиорецепторными методами, основываются на конкуренции патологических иммуноглобулинов и ТТГ за общие места связывания рецептора на тиреоцитах. Тест близок по принципу к радиоизотопным методам, с той лишь разницей, что нативный мембранный рецептор заменяет связывающие белки или антитела. Используются различные источники рецепторов ТТГ, включающие человеческие тироциты, их нативные или солюбилизированные мембраносвязанные формы и клеточные мембраны щитовидных желез свиней или жировых клеток мор-

ской свинки. Так как методы не измеряют прямо тиреостимулирующую активность, определяемые патологические иммуноглобулины имеют различные названия, например, антитела, ингибирующие связывание ТТГ или тиротропин-замещающие иммуноглобулины.

Исследование функции щитовидной железы in vivo

Исследование поглощения радиоактивного йода

Исследование поглощения радиоактивного йода проводится посредством орального приема препаратов изотопа йода (обычно ^{123}I) с последующим измерением процента изотопа, захваченного щитовидной железой. Тест проводится через 24 часа после приема изотопа, хотя может быть выполнен раньше. До развития чувствительных и специфичных методов определения тиреоидных гормонов этот тест использовался в качестве дополнительного для дифференцирования гипер- и гипотиреоидных состояний с повышенным или пониженным поглощением радиоактивного йода, соответствующих. В настоящее время использование данного теста находит применение в дифференцировании гипертиреозидизма при состояниях повышенного или пониженного поглощения радиоактивного йода.

Тест с использованием тиротропин-релизинг гормона

Внутривенное введение синтетического ТРГ приводит к повышению сывороточной концентрации ТТГ у здоровых особей. При избытке тиреоидных гормонов экзогенный ТРГ не увеличивает продукцию ТТГ. Основное использование ТРГ-теста состоит в оценке степени супрессии ТТГ и в дифференциальной диагностике вторичного (гипофизарного) и третичного (гипоталамического) гипотиреоидизма. Доступность методов определения ТТГ третьего поколения сильно снизила использование теста с использованием ТРГ, так как пациенты со сниженным уровнем ТТГ не отвечают на экзогенное введение ТРГ. У таких пациентов, однако, ТРГ-тест проводится посредством определения базального уровня ТТГ и затем определения уровней ТТГ на 30 и 60 минутах после внутривенного введения 200-500 мкг син-

тетического ТРГ (препарат Протирелин). Реакция ТТГ на введение ТРГ может отсутствовать или ослабляться у пациентов с тяжелыми заболеваниями и у старшего возраста (особенно самцов), при назначении кортикостероидов или внутривенном введении допамина, или при угнетении.

Тест супрессии функции щитовидной железы трийодтиронином

Этот метод исследования функции щитовидной железы традиционно использовался в диагностике расстройств, связанных с нарушением контроля продукции гормонов щитовидной железы, таких как, например, болезнь Грейвса или гиперсекретирующая аденома щитовидной железы. В настоящее время используется довольно редко, хотя его проведение могло бы быть актуально у пациентов с подозрением нарушения механизмов саморегуляции функции щитовидной железы. Исследование заключается в определении базального уровня поглощения щитовидной железой препаратов радиоактивного йода, и повторяется после 1-недельного орального приема 75-100 мкг Т3. При состоянии эутиреозидизма наблюдается угнетение (супрессия) процессов поглощения радиоактивного йода с показателями менее чем 50 процентов от базального уровня, в то время как нарушенная функция щитовидной железы проявляется недостаточной супрессией. Это исследование не следует применять у пожилых пациентов или с подозрением на болезни сердца, чтобы не допустить развития приступа стенокардии или сердечной аритмии.

Повышенного внимания требуют нижеследующие положения

1 Методика гемагглютинации и иммунологические методы для выявления циркулирующих антитиреоидных антител (к микросомальной фракции (антимикросомальные, АМА) и к тиреоглобулину (АТГА)).

2 Патологии, при которых повышается уровень антител к микросомальной фракции (антимикросомальные, АМА, антитела к тиреопероксидазе).

3 Длительно действующий стимулятор щитовидной железы», ДДСЦ.

4 Цитологический анализ определения тиреостимулирующих антител (ТСА) в сыворотке крови.

5 Стимуляция освобождения ТЗ из срезов ткани щитовидной железы человека и свиньи - одна форма оценки ТСА *in vitro* цитохимическим методом.

6 Радиорецепторные методы определения концентрации антител, ингибирующих связывание ТТГ.

7 Исследование функции щитовидной железы *in vivo* (Исследование поглощения радиоактивного йода. Тест с использованием тиротропин-рилизинг гормона. Тест супрессии функции щитовидной железы триодтиронином.).

Использованная литература

1 Долгов В.В., Шабалова И.П., Гитель Е.П., Шилин Д. Е. Лабораторная диагностика заболеваний щитовидной железы. - Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2002. – 98 с.

2 Жаров А.В., Адамушкина Л.Н. и др. Патологическая физиология и патологическая анатомия животных. Из-во Лань, 2-е издание., перераб. и доп., 2014. – 416 с.

3 Зеленецкий Н.В., Зеленецкий К.Н. Анатомия животных. Из-во Лань, 1-е изд., 2014. – 848 с.

5 Донкова Н.В., Савельева А.Ю. Цитология, гистология и эмбриология. Из-во Лань, 1-е изд., 2014. – 144 с.

6 Иванов А.А., Войнова О.А., Ксенофонтов Д.А., Полякова Е.П., Скоблин В.Г., Маннапов А.Г. Сравнительная физиология животных. Из-во Лань, 2-е издание., 2015. – 416 с.

7 Жук Д.С, Крапивина Е.В. Влияние выпаивания кормовой добавки «ЭМ-ВИТА» на гемограмму телят черно-пестрой породы. Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества. Материалы XXXI научно-практической конференции студентов и аспирантов. - Брянск.: Издательство Брянский ГАУ, 2015. – С. 23-27.

8 Лифанова Я.В., Крапивина Е.В. Влияние пробиотика «Тетралактобактерин» на морфобиохимические показатели крови телят на территории с повышенной плотностью загрязнения почвы ¹³⁷Cs. Вестник ФГБОУ ВПО «Брянская государственная сельскохозяйственная академия» № 2, апрель 2013. – С. – 24-28.

Содержание

Патологии, обусловленные нарушением функции щитовидной железы.....	3
Доброкачественные и злокачественные опухоли щитовидной железы.....	16
Клинико-диагностическое значение содержания в крови общего тироксина.....	25
Клинико-диагностическое значение содержания в крови общего трийодтиронина.....	30
Общая характеристика методов исследования функции щитовидной железы, используемых в клинической практике.....	32
Измерение общей концентрации тиреоидных гормонов в сыворотке.....	37
Определение концентрации свободных тиреоидных гормонов.....	42
Измерение общей и ненасыщенной емкости связывания тиреоидных гормонов - суммарная связывающая способность транспортных белков сыворотки	46
Антитела при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.....	53
Содержание.....	61

Учебное издание

Крапивина Елена Владимировна

**Методические рекомендации
по выполнению
самостоятельной работы**

по дисциплине «Лабораторная диагностика»
для подготовки специалистов по ФГОС ВПО 3 поколения
Специальность 36.05.01 «Ветеринария»
Квалификация выпускника «Специалист»

Редактор Павлютина И.П.

Подписано к печати 11.11.2015 г. Формат 60x84^{1/16}
Бумага писчая. Усл. п.л. 3,60. Тираж 100 экз. Изд. № 3822.

Издательство Брянского государственного аграрного университета
243465, Брянская обл., Выгоничской р-он, с. Кокино, Брянский ГАУ