

Міністерство освіти і науки України
Національний університет «Києво-Могилянська академія»
Факультет природничих наук
Кафедра лабораторної діагностики біологічних систем

Магістерська робота

освітній ступінь – магістр

на тему «**ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ЦИТОЛОГІЧНИХ
ТА ГІСТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ПРИ РІЗНИХ
ЗАХВОРЮВАННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ**»

Виконала: студентка 2-го року навчання
Галузь знань: 09 Біологія
Спеціальність: 091 Біологія
Освітньо-наукова програма:
Лабораторна діагностика біологічних систем
Стебліна Ольга Андріївна

Керівники:
Антонюк Н. Г.,
кандидат хімічних наук, доцент НаУКМА

Сулаєва О.М.
лікар-патологоанатом, доктор медичних наук, професор

Рецензент
Стародуб М.Ф.
зав.кафедри молекулярної біології,
мікробіології і біобезпеки НУБІП України,
професор, докт.біол.наук

Магістерська робота захищена
з оцінкою _____

Секретар ЕК Пахаренко М. В.
«07» червня 2021 року

Київ – 2021

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Щитоподібна залоза	7
1.1.1. Загальна характеристика щитоподібної залози.	7
1.1.2. Щитоподібна залоза в нормі.....	9
1.2. Цитологічна діагностика патологічних змін щитоподібної залози	11
1.2.1. Тонкоголкові аспіраційні біопсії.	11
1.2.2. Оцінка діагностичної інформативності матеріалу, отриманого методом ТАБ щитоподібної залози.....	14
1.3. Захворювання щитоподібної залози	16
1.3.1. Тиреоїдит Хашимото.....	16
1.3.2. Хвороба Грейвса.....	18
1.3.3. Дифузний нетоксичний зоб.....	20
1.3.4. Багатовузловий зоб.....	21
1.3.5. Аденома щитоподібної залози.....	22
1.3.6. Папілярна карцинома.....	23
1.3.7. Фолікулярна карцинома.....	24
1.3.8. Медулярна карцинома.....	26
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	28
2.1. Матеріали дослідження.....	28
2.2. Первинне макроскопічне дослідження щитоподібної залози	28
2.3. Фіксація та зневоднення матеріалу	28
2.4. Ущільнення об'єкта та виготовлення парафінових блоків.....	29
2.5. Виготовлення гістологічних зрізів	29
2.6. Забарвлення гістологічних зрізів гематоксиліном та еозином	30
2.7. Перевірка та порівняння цитологічних та гістологічних досліджень щитоподібної залози	31
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	32

3.1. Пошук випадків щитоподібної залози на предмет цитологічних та гістологічних досліджень одного пацієнта	32
3.2. Створення вибірки з пацієнтів та порівняльний аналіз між цитологічними та гістологічними заключеннями	32
3.3. Макроскопічна оцінка щитоподібної залози	36
3.4. Підготовка зразків щитоподібної залози до мікроскопічного аналізу	38
3.5. Проведення оцінки цитологічних та гістологічних мікропрепаратів.....	40
УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	48
ВИСНОВКИ	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	51

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

TSH – тиреотропний гормон (thyroid-stimulating hormone)

цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат

T3 – трийодтиронін

T4 – тироксин

ТАБ – Тонкоголкова аспіраційна біопсія

РТС – папілярний рак щитоподібної залози (Papillary thyroid carcinoma)

AUS – атипія невизначеного значення (atypia of undetermined significance)

FLUS – фолікулярне ураження невизначеного значення (follicular lesion of undetermined significance)

УЗД – ультразвукове дослідження

ЯЦВ – ядерно-цитоплазматичне співвідношення

CTLA4 – глікопротеїн цитотоксичних Т-лімфоцитів 4

PTPN22 – білок тирозин фосфатаза, нерцепторний тип 22

CD8 – кластер диференціювання 8

HLA – лейкоцитарні антигени людини

АКТГ – адренкортикотропний гормон

ВІП – вазоактивний інтестинальний пептид

MEN – множинна ендокринна неоплазія

RET – прото-онкоген

ВСТУП

Щитоподібна залоза – ендокринний орган, виробляє тиреоїдні гормони - тироксин і трийодтиронін, які, виділяючись в кров, впливають на всі клітини і тканини організму, регулюють швидкість різних процесів обміну речовин. Ці гормони відповідають за безліч життєво важливих функцій: регулюють діяльність головного мозку, нервової та серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, впливають на репродуктивну функцію, роботу молочних і статевих залоз.

Для якісного та доцільного лікування захворювань щитоподібної залози потрібно правильно підбирати види діагностики та коректно інтерпретувати їх результати.

Першим етапом в контролі пацієнтів з вогнищевими змінами щитоподібної залози є ультразвукове дослідження з урахуванням повного анамнезу пацієнта (на предмет ознак підвищеного ризику злоякісних новоутворень). Такий підхід дозволяє правильно вибрати вогнищеві зміни, що вимагають додаткової цитологічної діагностики та відбору для хірургічного втручання для тих пацієнтів, у яких ризик раку найбільш високий. Оскільки більшість утворень є доброякісними, пацієнти не повинні піддаватися обтяжливим повторним біопсіям, які можуть призводити до серйозних ускладнень (гематоми, інфекційні ураження), і тим більше необґрунтованому хірургічному лікуванню. Проте, слід звертати особливу увагу на пацієнтів у яких ризик раку щитоподібної залози є високим для застосування додаткових або більш чутливих методів дослідження.

Об'єкт дослідження – порівняльний аналіз цитологічних та гістологічних заключень щитоподібної залози та їх інтерпретація.

Предмет дослідження – патологічні зміни щитоподібної залози, які детектуються у цитологічних та гістологічних мікропрепаратах.

Метою даної роботи є доведення недоцільності хірургічного лікування для певних груп пацієнтів із захворюваннями щитоподібної залози на основі даних цитологічних та гістологічних досліджень.

Відповідно до мети були поставлені такі завдання:

1. Провести пошук випадків на предмет цитологічних та гістологічних досліджень щитоподібної залози на основі історій хвороб пацієнтів;
2. Створити вибірку з груп пацієнтів та виконати порівняльний аналіз між цитологічними та гістологічними заключеннями щитоподібної залози;
3. Макроскопічно дослідити препарат щитоподібної залози;
4. Підготувати зразки щитоподібної залози до мікроскопічного аналізу;
5. Провести оцінку цитологічних та гістологічних мікропрепаратів щитоподібної залози.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Щитоподібна залоза

1.1.1. Загальна характеристика щитоподібної залози.

Щитоподібна залоза складається з двох великих часток, з'єднаних відносно тонким перешийком, і розташована зазвичай нижче і спереду від гортані. Тонкі фіброзні перегородки ділять щитоподібну залозу на часточки з 20-40 рівномірно розподілених фолікулів, вистланих кубічним або низьким циліндричним епітелієм. Просвіт фолікулів заповнений PAS-позитивним тиреоглобуліном. У відповідь на дію гіпоталамічних факторів з тиреотропних клітин передньої долі гіпофіза в системну циркуляцію виділяється TSH. Зв'язування TSH з його рецептором на фолікулярному епітелії щитоподібної залози призводить до зміни структури рецептора і його активації, сприяючи його зв'язування з Gs-білком. Активація Gs-білка в кінцевому підсумку призводить до збільшення рівня внутрішньоклітинного цАМФ, що стимулює ріст щитоподібної залози, а також синтез гормонів і їх вивільнення з допомогою цАМФ-залежних протеїназ. Вихід процесів синтезу і виділення гормонів щитоподібної залози з-під контролю сигнального шляху TSH призводить до так званої автономності щитоподібної залози та її гіперфункції [1].

Фолікулярний епітелій щитоподібної залози перетворює тиреоглобулін в тироксин (T4) і в меншій кількості - в трийодтиронін (T3). T4 і T3 виділяються в системну циркуляцію, де більшість з них оборотно зв'язуються з циркулюючими білками плазми, такими як тироксинзв'язуючі глобулін та транстиретин, для транспортування до периферичних тканин. Зв'язуючі глобулін і транстиретин підтримують концентрації незв'язаних (вільних) T3 і T4 в сироватці крові в досить вузькому діапазоні, щоб ці гормони були легкодоступні для тканин. У периферичних тканинах більшість вільного T4 дейдується до T3. T3, володіючи в 10 разів більшою зв'язуючою здатністю і

активністю в порівнянні з T4, зв'язується в клітинах-мішенях з ядерними рецепторами тиреоїдних гормонів. Взаємодія тиреоїдних гормонів зі своїми ядерними рецепторами призводить до утворення мультибілкового комплексу гормон-рецептор, який зв'язується з тиреоїдчутливими ділянками цільових генів, що регулюють транскрипцію. Тиреоїдні гормони володіють різними ефектами, включаючи посилення катаболізму вуглеводів і ліпідів, а також стимуляцію синтезу білків в різних типах клітин. Кінцевий результат цих процесів – підвищення інтенсивності основного обміну. Одна з найважливіших функцій гормонів щитоподібної залози – участь в розвитку головного мозку у плода та новонародженого [2].

Функцію щитоподібної залози можуть пригнічувати різні хімічні речовини, які називаються зобогенними. Вони пригнічують синтез T3 і T4, в результаті підвищується рівень TSH, а в подальшому відбувається гіперплазія залози (зоб). Антитиреоїдний препарат пропілтиоурацил пригнічує окислення йодиду і таким чином блокує синтез тиреоїдних гормонів. Одночасно пропілтиоурацил пригнічує дейодування циркулюючого T4 до T3 в периферичних тканинах, зменшуючи таким чином симптоми, викликані надмірною концентрацією гормонів щитоподібної залози. Йодид (сіль йодної кислоти), який призначають особам з гіперфункцією щитоподібної залози, також блокує вивільнення тиреоїдних гормонів, але за рахунок інших механізмів. Йодид у великих дозах пригнічує протеоліз тиреоглобуліну. Таким чином, тиреоїдні гормони синтезуються і накопичуються в наростаючому об'ємі колоїду, але не надходять в кровотік. Фолікули щитоподібної залози також містять групу парафолікулярних клітин, або С-клітин, які синтезують і секретують гормон кальцитонін. Цей гормон стимулює зв'язування кальцію в кістках і пригнічує резорбцію кістки остеокластами [3].

1.1.2. Щитоподібна залоза в нормі.

В нормі щитоподібна залоза у дорослої людини має масу 16-25 г та складається з двох часток та перешийка. Розвиток щитоподібної залози в ембріональному періоді пов'язано з появою інвагінації в основі язика та послідувочої міграції тканевого зачатку у напрямку передньої поверхні шиї. В процесі міграції зазвичай залишається тканина у вигляді частки пірамідальної форми, яка відходить від верхнього краю перешийка. В кожній частці нормальної зрілої залози виокремлюють два полюси – загострений верхній, та заокруглений – нижній. Верхньо-нижній розмір (довжина) кожної частки складає близько 4 см, медіально-латеральний (ширина) – 2,5 см; передньо-задній (товщина) – 2 см. Перешийок має більш варіабельні розміри (ширина – 1-2 см, довжина – від 0,5 см до 2 см). Навколо перешийка зазвичай знаходяться декілька лімфатичних вузлів. Основним з них є так званий “дельфійський лімфатичний вузол”, який має прогностичне значення у хворих раком щитоподібної залози [4].

Частки тиреоїдної паренхіми складаються з фолікулів. Часточковість виражена слабо, однак присутність волокнистої сполучної тканини, яка відокремлює частки одна від одної, має велике значення, оскільки в пухлинних проліфератах вона втрачається, а при запальних процесах – стає більш вираженою [5].

Фолікули нормальної щитоподібної залози вистлані гетерогенними клітинами фолікулярного епітелію. В основному це клітини кубічного епітелію. Найбільш активні – циліндричні клітини з базально розташованими ядрами [6]. В деяких фолікулах наявні ділянки сплющеного епітелію. Фолікулярні клітини, оточуючи фолікули, зберігають щільний контакт з базальною мембраною. В фолікулах міститься тиреоглобулін, який зазвичай має вигляд однорідної колоїдної прозорої речовини. Нерідко в результаті фіксації біопсійного матеріалу спостерігається ретракція колоїду. В період активного синтезу тиреоїдних гормонів та резорбції колоїду спостерігається

своєрідна складчастість контурів колоїду, внаслідок протеолітичного розщеплення колоїду резорбуючими клітинами [7].

В паренхімі щитоподібної залози на границі верхньої та нижньої двох третинах кожної частки виявляють розрізнені С-клітини, які продукують кальцитонін. Ці клітини вперше були описані Карлом Гюртле в 1904 р., хоча його ім'ям називають не С-клітини, а онкоцити, які мають фолікулярно-клітинне походження. Назва С-клітин пов'язана з їх оптично прозорою цитоплазмою та кальцитоніном, який вони виробляють. Це нейроендокринні клітини, які важко виявити в стандартних гістологічних препаратах, зафарбованих гематоксиліном та еозином, проте вони добре виявляються за допомогою імуногістохімічної реакції з антитілами до кальцитоніну. С-клітини розташовуються ізольовано на базальній мембрані фолікула. Іноді вони утворюють кластери з двох або трьох клітин. В перешийку або нижніх відділах часток щитоподібної залози вони, як правило, не зустрічаються [8].

На границі верхньої та нижньої двох третин кожної частки розташовуються інші рудиментарні елементи – ультимобранхіальні тілця, відомі як “солідні клітинні гнізда” або “залишки ультимобранхіальних тілець”. Солідні клітинні гнізда або тяжі складаються з полігональних, епідермоїдних або перехідних клітин з вогнищевими кістозними ділянками, в яких може міститись еозинофільний матеріал, а іноді й муцин. Ці утворення можна помилково прийняти за папілярну мікрокарциному [9]. Їх значимість у тому, щоб уникнути хибної діагностики злоякісної пухлини. Серед інших структур, які можна виявити в щитоподібній залозі, слід назвати паращитоподібні залози або тканину паращитоподібної залози, ектоповані частки тимуса, залишки тканини слинної залози, а іноді тератоїдні елементи, наприклад, хрящ. Щитоподібна залоза відрізняється багатою васкуляризацією, проте слабкою інервацією за винятком іннервації задньої поверхні залози гілками зворотного гортанного нерва. Важливу роль грає поняття “капсула щитоподібної залози”, якому рідко приділяють увагу. Хірурги зазвичай згадують цей термін, акцентуючи увагу на проростанні в капсулу злоякісної пухлини. Разом з цим

в організмі людини немає окремої анатомічної структури – “капсула щитоподібної залози” [10].

1.2. Цитологічна діагностика патологічних змін щитоподібної залози

1.2.1. Тонкоголкова аспіраційна біопсія.

Тонкоголкова аспіраційна біопсія технічно є дуже простою процедурою. Однією рукою фіксують досліджуване утворення. Іншою рукою, зазвичай за допомогою біопсійного пістолету, в це утворення через шкіру вводять голку. Виконують аспірацію, відтягуючи поршень шприцю та здійснюючи голкою зворотно-поступові рухи в межах утворення. Після декількох таких рухів голкою аспірацію закінчують, голку дістають та розподіляють відібраний матеріал для подальшого дослідження. Недивлячись на простоту методу, однією з найбільших проблем тонкоголкової аспіраційної біопсії (ТАБ) залишається отримання діагностично неінформативного матеріалу. Основні причини отримання неінформативного матеріалу пов'язані з самою щитоподібною залозою як з органом з хорошою васкуляризацією, нерідко з кістозними змінами, а також технологією ТАБ, що базується на створенні негативного тиску, застосування товстих голок та неможливості забезпечити гемостаз [11].

Багате кровопостачання щитоподібної залози ускладнює отримання повноцінного матеріалу через можливе його розбавлення кров'ю під час процедури. Більшість утворень щитоподібної залози мають кістозний характер. Кістозна рідина сама по собі діагностично немає значення, а також може розбавити матеріал, внаслідок чого він може втратити свою значимість. Для покращення процедури ТАБ виконують під ультразвуковим контролем, що забезпечує кращу візуалізацію та більш точне введення голки в менші утворення та оточуючі структури. Крім того, ультразвукові характеристики утворення іноді допомагають вибрати ціль для аспірації [12].

Тонкоголкова аспіраційна біопсія вузлів щитоподібної залози залишається оптимальним діагностичним інструментом для визначення

потенційного ризику злоякісної пухлини (1). У 2009 році для стандартизації термінології та повідомлення про ризики злоякісних утворень було введено систему Bethesda для звітування про цитопатологію щитоподібної залози, яка розділила цитологічні діагнози на шість категорій. Навіть після впровадження системи Bethesda ризик злоякісності невизначених вузлів щитоподібної залози (Bethesda III [B3]: атипія невизначеного значення / фолікулярне ураження невизначеного значення [AUS / FLUS]; та Bethesda IV [B4]: фолікулярне новоутворення / підозріле на фолікулярне новоутворення [FN / SFN]) залишалося важко передбачуваним, зі значною міжінституційною варіабельністю повідомлених ризиків злоякісних новоутворень [13].

У 2017 році були внесені зміни до класифікаційної системи Bethesda, особливо щодо ризику злоякісних утворень у вузлах B3 (atypia of undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance) та B4 (follicular neoplasm/suspicious for follicular neoplasm) та через впровадження неінвазивного фолікулярного новоутворення щитоподібної залози з папілярно-подібними ядерними ознаками (NIFTP) як інкапсульований фолікулярний варіант папілярного раку щитоподібної залози. Також були зроблені рекомендації повідомляти про ураження B3 на основі наявності або відсутності ядерної та/або архітектурної атипії. Отже, метою цього дослідження було порівняти показники злоякісності вузлів щитоподібної залози з діагнозом B3 та B4 у високо спеціалізованих установах та дослідити наслідки підкласифікації при виявленні вузлів щитоподібної залози з високим ризиком злоякісної пухлини [14].

У цьому дослідженні інституційні показники злоякісності вузлів щитоподібної залози B3 та B4 були на 27% та 35,2% відповідно вищими, ніж спочатку повідомлялося для системи Bethesda 2009 року, а також 2017. У порівнянні з ультрасонографічними особливостями груп B3 та B4 автори відзначили, що в групі B4 були тверді та ізоехогенні вузлики, і наявність мікрокальцинатів була вищою у групі B3, що узгоджується з більшою ймовірністю розвитку РТС. Результати також узгоджуються з

підкласифікацією фолікулярних новоутворень, запропонованою Японською асоціацією щитоподібної залози, в якій ураження В4 класифікуються як А-1, доброякісні; А-2, прикордонні; та А-3, сприяють злякисним. Автори роблять висновок, що систему Бетесди слід переглянути, щоб зробити більший акцент на наявність ядерної атипії у невизначених вузликах, і що управлінські рішення повинні базуватися на високоризикових цитологічних особливостях, а не на суворому дотриманні ризику малігнізації на основі лише класифікації Бетесди [15].

Це дослідження підкреслює важливість кількох факторів в алгоритмі ведення пацієнтів з невизначеними вузлами щитоподібної залози, включаючи: (а) ретельну оцінку сонографічних особливостей вузлика; (б) знання про інституційний ризик злякисної пухлини для кожної з категорій Bethesda; та (с) подальше вдосконалення інституційного використання системи Bethesda для повідомлення вузликів Bethesda III як AUS або FLUS та повідомлення особливостей ядерної та/або архітектурної атипії. Автори також обговорюють цікавий момент щодо додаткової потреби в підкласифікації вузлів Bethesda IV, засновані на сучасних визначеннях Японської асоціації щитоподібної залози, які можуть краще стратифікувати ризик злякисного утворення цих вузликів [13].

Обмеження цього дослідження включають його ретроспективний характер, той факт, що були включені лише вузли щитоподібної залози, які перенесли хірургічну резекцію, і що відсутні дані про подальші спостереження щодо невизначених вузлів щитоподібної залози, які не були резектовані. Нарешті, автори роблять акцент на важливості ядерної атипії у визначенні ризику злякисних утворень у цих вузлах щитоподібної залози. Слід зазначити, що період дослідження передував впровадженню переглянутої системи Бетесди, і що в цьому аналізі не були розглянуті всі цитологічні зразки, лише ті, що мають несуперечливі звіти або ті, що були до Бетесди (2009). Перспективний повторний огляд та аналіз слайдів FNA, можливо, суттєво

вплинув на цитологічний діагноз вузлів щитоподібної залози, а отже, на ризик злоякісного утворення невизначених вузлів щитоподібної залози [14].

1.2.2. Оцінка діагностичної інформативності матеріалу, отриманого методом ТАБ щитоподібної залози.

Адекватність зразка. У зразку має бути достатня кількість клітин для мікроопису та постановки діагнозу. Нерідко в цитологічних препаратах матеріалу не достатньо, або багато неінформативного матеріалу.

Інтерпретація епітеліальних структур. Показанням до аспіраційної біопсії щитоподібної залози слугує присутність одного або декількох вузлів, які пальпуються, або які виявляються тільки при УЗД. По статистиці більшість таких вузлів має епітеліальне походження. Виділяють п'ять варіантів архітекτονіки епітелію в аспіраті ТАБ:

- 1) Моношарові пласти.
- 2) Синтиціальні скупчення епітелію.
- 3) Скупчення епітелію з кровоносними судинами, які проходять через них.
- 4) Мікрофолікулярні структури.
- 5) Папілярні структури [16].

Зазвичай зустрічаються одношарові пласти. Нормальна щитоподібна залоза утворена фолікулами різних розмірів, в тому числі великі. Ці макрофолікули вистлані одношаровим фолікулярним епітелієм та заповнені колоїдом. Ці фолікули настільки великі, що їх неможливо аспірувати в інтактному вигляді. Розрив макрофолікула під час аспірації призводять до виділення колоїду з появою озер білковоподібної рідини, яка є фоном цитологічного препарату для присутніх пластів епітеліальних клітин, які розташовуються в один шар. Оскільки фолікули бувають різного розміру, а при виконанні ТАБ утворюються неоднакові епітеліальні фрагменти, такі моношарові пласти мають різний розмір та можуть бути великими, до кількох тисяч клітин, проте частіше представлені десятками та сотнями клітин [17].

Моношарові пласти в цитологічних препаратах слід розглядати як пряв макрофолікулярної будови тканини щитоподібної залози. На жаль моношарові пласти також зустрічаються й при пухлинному рості, тому тільки його присутності недостатньо – слід шукати інші архітектурні особливості. При ретельному дослідженні в моношарових пластах нерідко виокремлюють розташування клітин у вигляді “медових сот”, причому границі між клітинами часто розмиті. Збереження границь клітин має велике значення, оскільки вони дозволяють встановити клітини з низьким ядерно-цитоплазматичним відношенням та розпізнати упорядковане розташування епітелію – всі ці ознаки вказують, хоч і не завжди на відсутність неопластичних змін [18]. Ядра в пластах клітин макрофолікулів округлі, достатньо правильної форми та розташовані рівномірно, тобто цитоплазма відділяє кожне ядро одне від одного, що також вказує на низьке ЯЦВ. Хроматин в цих клітинах дрібнодисперсний з дрібними майже невиразними ядерцями.

Синтиціальні скупчення являють собою об’ємні структури з епітеліальних клітин, в яких ядра розташовані невпорядковано, а границі між клітинами майже невиразні. Ядра в цих епітеліальних фрагментах зазвичай збільшені, накладаються одне на одне, виглядають скупченими. Між ними відсутня цитоплазма, як в звичайних моношарових пластах. Така картина росту вважається патологічною та характерна для пухлинних утворень [19].

Також патологічним варіантом росту є мікрофолікулярні структури. Мікрофолікулярні структури мають ацинарну організацію, які складаються з 6-15 епітеліальних клітин та мають або центральний просвіт, або частіше – центрально розташоване невелике скупчення колоїду. Мікрофолікули стають діагностично значущою ознакою, тільки якщо в отриманому матеріалі це переважна форма архітектурного диференціювання [20].

Зміни ядер. При будь-якому цитологічному дослідженні розпізнавання неопластичного процесу базується на виявленні характерних змін в ядрах. Більшість пухлин щитоподібної залози відноситься до високодиференційованих, в яких зміни в ядрах виражені слабо [21].

1.3. Захворювання щитоподібної залози

1.3.1. Тиреоїдит Хашимото.

Тиреоїдит Хашимото є найчастішою причиною гіпотиреозу в неендемичних по дефіциту йоду регіонах світу. Назва захворювання походить від імені вченого, який описав в 1912 р. пацієнтів з зобом і вираженою лімфоцитарною інфільтрацією щитоподібної залози (лімфоматозний струм). Тиреоїдит Хашимото і хвороба Грейвса являють собою два найбільш поширених аутоімунних захворювання щитоподібної залози [22].

Тиреоїдит Хашимото характеризується поступовим розвитком недостатності функції щитоподібної залози внаслідок її аутоімунного руйнування. Це захворювання частіше спостерігається у віці 45-65 років. Співвідношення жінок і чоловіків становить 10-20:1. Для тиреоїдиту Хашимото характерні чіткі генетичні порушення, що підтверджується високою (~ 40%) конкордантністю захворювання у монозиготних близнюків, а також наявністю циркулюючих антитиреоїдних антитіл в крові ~ 50% безсимптомних сібсів пацієнтів з тиреоїдитом Хашимото [23].

Підвищена схильність до тиреоїдиту Хашимото пов'язана з поліморфізмом численних генів, що регулюють імунну відповідь. Найбільш значущим є поліморфізм гена CTLA4, асоційованого з Т-лімфоцитами цитотоксичного антигену 4. Білок CTLA4 є негативним регулятором Т-клітинної відповіді, тому не дивно, що поліморфізм гена CTLA4, що призводять до зниження рівня білка або порушення його функції, асоціюються зі схильністю до аутоімунних захворювань. Іншим генетичним фактором, який визначає схильність до розвитку тиреоїдиту Хашимото, є функціональний поліморфізм гена RPTN22 (білка тирозинфосфатаза-22), кодує синтез лімфоїдної тирозинфосфатази, яка, ймовірно, теж пригнічує функцію Т-клітин. Схильність до інших аутоімунних захворювань, наприклад СД типу I, також пов'язана з поліморфізмом CTLA4 і RPTN22 [22].

Патогенез. Тиреоїдит Хашимото виникає в результаті порушення толерантності до аутоантигенів щитоподібної залози. У більшості пацієнтів з цим тиреоїдитом в крові присутні циркулюючі аутоантитіла до тиреоглобуліну і тиреоїдпероксидази. Початкові події, що призводять до порушення імунної толерантності у пацієнтів з тиреоїдитом Хашимото, не цілком ясні, припускають, що це можуть бути порушення роботи регуляторних Т-клітин або контакт з зазвичай ізольованими антигенами щитоподібної залози. Запуск аутоімунного процесу в щитоподібній залозі супроводжується прогресуючим зменшенням кількості тиреоцитів внаслідок апоптозу, а також заміщенням паренхіми щитоподібної залози інфільтратом з моноклеарних клітин і фіброзною тканиною. До загибелі клітин щитоподібної залози призводить:

- вплив цитотоксичних Т-клітин CD8 + на тиреоцити;
- вплив цитокінів. Надмірна активація Т-клітин стає причиною вироблення в щитоподібній залозі TH1 клітин – прозапальних цитокінів, наприклад інтерферону (INF), що призводить до активації макрофагів і пошкодження фолікулів;
- антитіло-залежна клітинно-опосередкована цитотоксичність, яка супроводжується зв'язуванням антитиреоїдних антитіл (антитиреоглобулінів та антитиреоїдпероксидаз) [24].

Морфологія. Щитоподібна залоза часто дифузно збільшена, хоча в деяких спостереженнях збільшення може бути вогнищевим. Капсула щитоподібної залози в процес незалучена, і залоза чітко відмежована від прилеглих структур. Поверхня розрізу бліда, жовто-коричневого кольору, щільна і вузлувата. При мікроскопічному дослідженні в паренхімі залози виявляються численні великі моноклеарні запальні інфільтрати з малих лімфоцитів і плазматичних клітин і добре сформовані гермінативні центри. Фолікули щитоподібної залози атрофічні, а в багатьох ділянках вистелені епітеліальними клітинами з добре вираженою еозинофільною зернистою цитоплазмою – клітини Гюртле [25]. Ці клітини з'являються в результаті

метаплазії кубічного фолікулярного епітелію у відповідь на пошкодження. У препаратах, отриманих тонкоголковою аспіраційною біопсією, наявність клітин Гюртле в поєднанні з гетерогенною популяцією лімфоцитів є характерною ознакою тиреоїдиту Хашимото. При класичному тиреоїдиті Хашимото відзначається збільшення обсягу інтерстиціальної сполучної тканини, фіброзний варіант цього захворювання характеризується вираженою атрофією фолікулів щитоподібної залози і наявністю щільної келоїдоподібної фіброзної тканини з великих пучків колагенових волокон без клітин. На відміну від тиреоїдиту Ріделя фіброз не поширюється за межі капсули щитоподібної залози. У збереженій паренхімі щитоподібної залози визначаються ознаки хронічного лімфоцитарного тиреоїдиту [26].

1.3.2. Хвороба Грейвса.

У 1835 р Грейвс вперше описав захворювання, яке проявляється «вираженим і тривалим серцебиттям у жінок» і супроводжується збільшенням щитоподібної залози. Хвороба Грейвса – найчастіша причина ендогенного гіпертиреозу і характеризується тріадою симптомів:

- гіпертиреоз внаслідок дифузного гіперфункціонального збільшення щитоподібної залози;
- інфільтративна офтальмопатія з розвитком екзофтальму;
- опосередкована інфільтративна дерматопатія, яку іноді називають претибіальною мікседемою і спостерігають у невеликій кількості пацієнтів [27].

Як і при тиреоїдиті Хашимото, генетичні фактори відіграють важливу роль у розвитку хвороби Грейвса: конкордантність серед монозиготних близнюків досягає 30-40%, тоді як у дизиготних близнюків вона не перевищує 5%. Як і при тиреоїдиті Хашимото, генетична схильність до хвороби Грейвса обумовлена поліморфізмом в імунофункціональних генах, подібно генам CTLA4 і PTPN22, і пов'язана з аллелем HLA-DR3 [28].

Патогенез. Хвороба Грейвса характеризується порушенням толерантності до тиреоїдних аутоантигенів, перш за все до рецептора TSH. В результаті виробляються такі аутоантитіла:

- Тиреоїдстимулюючий імуноглобулін. Ці антитіла класу G зв'язуються з рецептором TSH і імітують його ефекти, стимулюючи аденілатциклазу і збільшуючи синтез і виділення тиреоїдних гормонів. Практично всі пацієнти з хворобою Грейвса мають значно підвищений титр цих аутоантитіл. Тиреоїдстимулюючий Ig відносно специфічний для хвороби Грейвса, на відміну від антитіл до тиреоглобуліну і тиреоїдпероксидази [29];
- Імуноглобулін, що стимулює ріст щитоподібної залози. Цей Ig, також діє на рецептор TSH, стимулює ріст щитоподібної залози і впливає на проліферацію фолікулярного епітелію щитоподібної залози;
- Інгібуючі TSH-зв'язуючі імуноглобуліни. Ці антитіла, спрямовані проти рецептора TSH, перешкоджають нормальному зв'язуванню TSH з рецептором в епітеліальних клітинах щитоподібної залози [28]. Деякі форми інгібуючих TSH-зв'язуючих Ig імітують ефекти TSH, що стимулює активність епітеліальних клітин щитоподібної залози, тоді як інші форми інгібуючих TSH-зв'язуючих Ig можуть дійсно пригнічувати функцію тиреоцитів. Нерідко в сироватці крові у одного і того ж пацієнта виявляються і стимулюючі, і інгібуючі Ig, що пояснює епізоди гіпотиреозу у деяких пацієнтів з хворобою Грейвса [30].

Морфологія. Щитоподібна залоза зазвичай симетрично збільшена внаслідок дифузної гіпертрофії і гіперплазії фолікулярного епітелію. Нерідко маса залози перевищує 80г. На розрізі паренхіма щитоподібної залози м'яка, м'ясиста і нагадує м'язову тканину. За відсутності лікування фолікулярні клітини при гістологічному дослідженні високі і розташовані тісніше, ніж

зазвичай [31]. Таке тісне розташування клітин часто призводить до формування невеликих сосочків, які виступають в просвіт фолікула і відтісняють колоїд, а іноді заповнюють собою просвіт фолікула. Колоїд в просвіті фолікулів блідий, з фестончатим рисунком по периферії. У цих сосочках відсутній фіброваскулярний стержень, на відміну від сосочків при папілярній карциномі. В інтерстиції визначаються лімфоїдні інфільтрати, які містять в основному Т-лімфоцити, невелику кількість В-лімфоцитів і зрілі плазматичні клітини; часто спостерігаються гермінативні центри [30].

Доопераційна терапія хвороби Грейвса змінює морфологію щитоподібної залози. Доопераційне введення йоду призводить до інволюції епітелію і накопиченні колоїду внаслідок придушення секреції Ig [32].

Зміни відбуваються і в інших органах і тканинах, зокрема спостерігається генералізована гіперплазія лімфоїдної тканини. Можлива гіпертрофія серця, а в міокарді можуть бути ознаки ішемічного ушкодження, особливо у пацієнтів з попереднім ураженням коронарних артерій. У пацієнтів з офтальмопатією тканини очниці набрякають через наявність в них гідрофільних мукополісахаридів. Крім того, відзначається лімфоцитарна інфільтрація і фіброз [33].

1.3.3. Дифузний нетоксичний зоб.

Дифузний нетоксичний (простий) зоб супроводжується збільшенням всієї залози без формування вузлів. Оскільки збільшені фолікули заповнені колоїдом, для позначення цього стану також використовують термін «колоїдний зоб». Захворювання буває ендемічним і спорадичним [34].

Ендемічний зоб розвивається у жителів тих регіонів, де сіль, вода і продукти містять недостатньо йоду. Термін «ендемічний зоб» використовують в ситуації, коли зоб виявляється більш ніж у 10% жителів конкретного регіону. Дефіцит йоду призводить до зниження синтезу тиреоїдних гормонів і компенсаторного збільшення рівня TSH, що сприяє гіпертрофії і гіперплазії фолікулярних клітин і збільшення щитоподібної залози. [35].

Спорадичний зоб спостерігається рідше, ніж ендемічний, значно переважає серед жінок, а пік захворюваності припадає на період статевого дозрівання або молодий вік. Причиною спорадичного зоба можуть бути спадкові порушення ферментних систем, що передаються по аутосомно-рецесивному шляху і також порушують метаболізм щитоподібної залози. Однак в більшості випадків причина спорадичного зоба залишається невідомою [36].

1.3.4. Багатовузловий зоб.

Повторні епізоди гіперплазії і інволюції згодом призводять до нерівномірного збільшення щитоподібної залози – багатовузлового зобу. Фактично будь-який існуючий впродовж довготривалого терміну дифузний зоб трансформується в багатовузловий зоб [37]. При багатовузловому зобі збільшення щитоподібної залози більш виражено, і такий зоб частіше помилково приймають за пухлину. Вважається, що багатовузловий зоб формується через те, що фолікулярні клітини по-різному відповідають на зовнішні подразники, зокрема потрійні гормони. Якщо деякі фолікулярні клітини у відповідь на стимуляцію починають активно рости то формується клон проліферуючих клітин. Це може привести до утворення автономних вузлів, тобто які продовжують рости автономно, без зовнішніх впливів. Згідно з цією гіпотезою, в межах одного багатовузлового зоба співіснують як поліклональні, так і моноклональні вузли, при цьому причиною такого зоба служать імовірно набуті генетичні порушення, що впливають на ріст залози [38]. Не дивно що в деяких автономних вузлах щитоподібної залози виявляються мутації генів, що кодують білки сигнального шляху TSH, що призводять до його нерегульованої активації. Нерівномірна гіперплазія фолікулів, утворення нових фолікулів і нерівномірне накопичення колоїду призводять до розтягнення тканини залози з розривом фолікулів і судин, крововиливами, рубцюванням і іноді з відкладенням солей кальцію [39].

Морфологія. Багатовузловий зоб проявляється часточковим і асиметричним збільшенням щитоподібної залози, маса якої може досягати 2000 г. Іноді одна частка щитоподібної залози збільшується більше іншої, тоді відбувається бічне здавлення серединних структур ший (трахеї і стравоходу). В інших випадках залоза росте за грудиною і ключиці, причому більша частина залози може розташовуватися за трахеєю або стравоходом. Є спостереження, коли один вузол настільки великий, що створюється враження солітарного вузла [40]. На розрізі вузли мають різний розмір і містять різну кількість коричневого густого колоїду. У старих утвореннях є крововиливи, фіброз, кальцифікати та кістозні зміни. Мікроскопічні ознаки: багаті колоїдом фолікули, вистелені сплосченим неактивним епітелієм, ділянки фолікулярної гіперплазії, а також дегенеративні зміни. На відміну від фолікулярних пухлин між гіперпластичними вузлами і здавленої залишкової паренхіми щитоподібної залози виражена капсула відсутня [41].

1.3.5. Аденома щитоподібної залози.

Аденоми щитоподібної залози – окремі поодинокі утворення з фолікулярного епітелію, тому їх називають фолікулярними аденомами. Клінічно фолікулярні аденоми важко відрізнити від домінантних вузлів при фолікулярній гіперплазії або від рідкісних фолікулярних карцином. Фолікулярні аденоми не є попередниками карцином. Проте загальні генетичні порушення свідчать про можливість розвитку фолікулярних карцином на фоні попередніх аденом [42]. Більшість аденом є нефункціонуючими, але деякі аденоми виробляють тиреоїдні гормони, що викликає клінічно значимий тиреотоксикоз. Продукція гормонів функціонуючими аденомами (так званими токсичними аденомами) не залежить від стимуляції TSH. Це ще один приклад автономності щитоподібної залози, як і при токсичному багатовузловому зобі. Функціонуючі аденоми і токсичний багатовузловий – результат генетичних порушень [43].

При мікроскопічному дослідженні пухлинні клітини часто формують мономорфні фолікули, що містять колоїд. Епітеліальні клітини фолікулярної аденоми характеризуються мінімальними змінами клітинної та ядерної морфології, а фігури мітозу в їх ядрах виявляються рідко. При вираженій мітотичній активності, некрозі або високої клітинності потрібно ретельно дослідити капсулу з метою виключення фолікулярної карциноми [44]. При змінах ядер необхідно виключити фолікулярний тип папілярної карциноми. Іноді в пухлинних клітинах спостерігається виражена еозинофільна цитоплазма (оксифільні зміни, або зміни по типу клітин Гюртле). Характерним для всіх фолікулярних аденом є наявність інтактної, добре вираженої капсули, що оточує пухлину. У зв'язку з цим ретельне дослідження цілісності капсули дуже важливе при диференціальній діагностиці фолікулярної аденоми і фолікулярної карциноми, яка характеризується інвазією в капсулу і/або в судини [45].

1.3.6. Папілярна карцинома.

Папілярна карцинома – найчастіша форма раку щитоподібної залози. Найчастіше вона спостерігається у віці 25-50 років. В більшості спостережень причиною карциноми щитоподібної залози є вплив іонізуючого випромінювання. Захворюваність папілярною карциномою помітно збільшилася в останні 30 років, частково в зв'язку з виділенням фолікулярного типу папілярної карциноми, яку в минулому помилково діагностували як фолікулярну карциному [46].

Морфологія. Папілярна карцинома може бути одиночною або множинною. Деякі пухлини можуть бути чітко відмежовані і навіть інкапсульовані, границі інших погано помітні через інфільтративний ріст в навколишню паренхіму залози. Утворення можуть містити зони фіброзу і звапнення, а також кісти. На поверхні розрізу іноді визначаються папілярні структури, які допомагають в постановці діагнозу [47]. Мікроскопічні ознаки папілярної карциноми наступні:

- наявність розгалужених сосочків, що представляють собою фіброеудинні стержні, вкриті одним або декількома шарами кубічних епітеліальних клітин. У більшості пухлин епітелій, що покриває сосочки, представлений високодефіренційованими мономорфними кубічними клітинами. Сосочки папілярної карциноми відрізняються від сосочків в ділянках гіперплазії більш складною будовою і наявністю щільного фіброеудинного стержня [48];

- ядра клітин папілярної карциноми містять тонкодисперсний хроматин, який надає їм оптично чистий, або порожній, вид. У зв'язку з цим їх називають матово-скловидними ядрами або образно «очима сирітки Енні». Інвагінації цитоплазми на поперечних зрізах можуть створювати помилкову картину внутрішньоядерних включень (псевдовключення) або внутрішньоядерних перемичок. Діагноз «папілярна карцинома» засновують на наявності цих характеристик ядер навіть при відсутності папілярних структур [49];

- часто відзначаються концентричні кальцифікати - псамомні тілця (зазвичай в стрижнях сосочків). Ці структури практично ніколи не виявляють в фолікулярній і медулярній карциномах. Таким чином, присутність псамомних тілець в матеріалі, отриманому при тонкогілковій аспіраційній біопсії, вказує на папілярну карциному [50];

- часто визначаються ознаки лімфатичної дисемінації, а інвазія в кровоносні судини зустрічається відносно рідко, особливо в невеликих утвореннях. У 50% спостережень присутні метастази в лімфатичних вузлах шиї.

Існує мінімум 12 гістологічних типів папілярної карциноми, які нагадують інші утворення щитоподібної залози, але мають різне прогностичне значення [49].

1.3.7. Фолікулярна карцинома.

Фолікулярна карцинома становить 5-15% всіх первинних злоякісних пухлин щитоподібної залози. Цей тип раку частіше спостерігається у жінок,

ніж у чоловіків (3:1), з піком захворюваності між 40 і 60 роками. Фолікулярна карцинома зазвичай розвивається в місцевостях з дефіцитом йоду (25-40%) [51].

Морфологія. Фолікулярна карцинома має вигляд солітарного вузла (чітко відокремленого або з інфільтративним ростом). При макроскопічному дослідженні чітко відмежовані утворення іноді дуже важко відрізнити від фолікулярних аденом. Великі утворення можуть проростати у власну капсулу і капсулу щитоподібної залози. Колір пухлини на розрізі варіює від сірого до рожевого і коричневого. Іноді пухлина має напівпрозорий вигляд через наявність великих, заповнених колоїдом фолікулів. Можуть спостерігатися дегенеративні зміни - центральний фіброз і осередки звапнення [52].

При мікроскопічному дослідженні більшість фолікулярних карцином складається з досить мономорфних клітин, що формують дрібні фолікули, що містять колоїд, що нагадує тканину нормальної щитоподібної залози. В інших випадках фолікулярне диференціювання може бути менш вираженим, тоді в пухлині визначаються гнізда або пласти клітин без колоїду. Рідко в пухлинах переважають клітини з багатою еозинофільною зернистою цитоплазмою (клітини Гюртле) – онкоцитарний тип фолікулярної карциноми. Незалежно від гістологічного типу ядра клітин не мають псамомних тілець і типових ознак папілярної карциноми. При мікроскопічному дослідженні дуже важливо відмітити відсутність цих ознак, оскільки деякі папілярні карциноми схожі з фолікулярними. Фолікулярні утворення зі змінами ядер, типовими для папілярної карциноми, слід розцінювати як папілярну карциному [53]. Зміни ядер допомагають відрізнити папілярні пухлини від фолікулярних, але мають малу цінність при диференціальній діагностиці фолікулярних аденом і мінімально інвазивних фолікулярних карцином. Для диференціальної діагностики цих утворень необхідно ретельно досліджувати всю зону контакту між пухлиною, її капсулою і щитоподібної залозою для виключення інвазії в капсулу і/або в судини [54]. Критерії судинної інвазії використовують тільки стосовно судин капсули і судин за її межами. Наявність пухлинних мас в

просвіті кровоносних судин всередині пухлини має мінімальне прогностичне значення. Для фолікулярних карцином на відміну від папілярного раку лімфогенне поширення нехарактерно [55].

1.3.8. Медулярна карцинома.

Медулярна карцинома щитоподібної залози складає ~ 5% всіх пухлин щитоподібної залози. Медулярна карцинома - це нейроендокринна пухлина з парафолікулярних клітин (або С-клітин) щитоподібної залози, які секретують кальцитонін. Вимірювання рівня кальцитоніну грає важливу роль в постановці діагнозу і прогнозуванні рецидивів захворювання. У деяких випадках пухлинні клітини виробляють і інші гормони: серотонін, АКТГ і ВІП [56].

В ~ 70% спостережень пухлина виникає спорадично, а в інших випадках є компонентом синдрому MEN-2А або MEN-2В або спадкової, не пов'язаної з синдромом MEN (спадкова медулярна карцинома щитоподібної залози). Активуючі точкові мутації протоонкогена RET грають важливу роль в розвитку як спадкової, так і спорадичної медулярної карциноми. Пухлини, пов'язані з синдромом MEN-2А або MEN-2В, спостерігаються у молодих людей, іноді навіть у дітей. Спорадична і спадкова мозкові карциноми розвиваються у дорослих, пік захворюваності припадає на вік 40-60 років [57].

Морфологія. Спорадична медулярна карцинома щитоподібної залози представляє собою солітарний вузол. Для спадкової медулярної карциноми характерне двостороннє і мультицентричне ураження. У великих утвореннях часто визначаються зони некрозу і крововиливу, які можуть поширюватися за межі капсули щитоподібної залози. Пухлина щільна, блідо-сірого або коричневого кольору та інфільтрує навколишні тканини [58].

При мікроскопічному дослідженні медулярна карцинома складається з полігональних або веретеноподібних клітин, які можуть формувати гнізда, трабекули і навіть фолікули. У деяких пухлинах присутні дрібні анапластичні клітини, які іноді переважають. У багатьох спостереженнях в навколишній стромі виявляються скупчення амілоїду, що утворюється із зруйнованих

молекул кальцитоніну. Наявність кальцитоніну в цитоплазмі пухлинних клітин і в амілоїді стромі легко виявити за допомогою імуногістохімічного дослідження. При електронній мікроскопії в цитоплазмі клітин медулярної карциноми, як і у всіх нейроендокринних пухлинах, виявляють пов'язані з мембранами електронно-щільні секреторні гранули [59].

Однією із специфічних ознак спадкової медулярної карциноми є наявність мультицентричної С-клітинної гіперплазії в паренхімі щитоподібної залози (ця ознака зазвичай відсутня в спорадичних випадках захворювання). Оскільки точні критерії С-клітинної гіперплазії відсутні, наявність множинних великих скупчень С-клітин, розсіяних в паренхімі щитоподібної залози, слід розцінювати як спадкову пухлину, навіть якщо в анамнезі немає відповідних вказівок. Вважається, що осередки С-клітинної гіперплазії - утворення, з яких в подальшому розвивається медулярна карцинома [60].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали дослідження

У роботі були використані наступні матеріали та реагенти:

Первинні макропрепарати щитоподібної залози, готові цитологічні та гістологічні мікропрепарати.

Реагенти: формалін (10%), етанол 96%, ізопропанол, парафін, гематоксилін Майєра, дистильована вода, еозин, бальзам, гістологічні скельця, покривні скельця.

2.2. Первинне макроскопічне дослідження щитоподібної залози

Зорієнтувавши макропрепарат провели маркування поверхні препарату трьома фарбами (відповідно до протоколу розбору матеріалу). Надалі виконуючи послідовні зрізи кроком у 2-3 мм проводили оцінку препарату на предмет атипових структур, вузлів, новоутворень та підозрілих ділянок на патологічні зміни. Провівши огляд препарату та описавши особливості згідно з протоколом, вибрали зрізи з нетиповою для щитоподібної залози тканиною, які мають пройти патогістологічне дослідження. Обрані зрізи помістили у спеціальні касети, на яких попередньо надрукували номер пацієнта та послідовну нумерацію.

2.3. Фіксація та зневоднення матеріалу

Для збереження тканинної та цитологічної будови зрізів щитоподібної залози їх зафіксували. Фіксацію проводили шляхом занурення взятих зрізів та проведення матеріалу у фіксуючих рідинах (формалін 10%). Наступним етапом є зневоднення, яке забезпечує видалення води з матеріалу та підготовлює матеріал до просочування парафіном. Для зневоднення матеріал проводили в спиртах висхідної концентрації (етанол 96%, ізопропанол). Для

того щоб видалити надлишки спиртів з матеріалу, фрагменти щитоподібної залози проводили через ксилол. Даний метод відтворювали за допомогою приладу Milestone LOGOS Microwave Hybrid Tissue Processor.

2.4. Ущільнення об'єкта та виготовлення парафінових блоків

Приготування високоякісних гістологічних препаратів вимагає наявності рівномірно тонких зрізів з досліджуваного об'єкта. Для того щоб їх отримати, шматочки тканин потрібно просочити і залити таким середовищем, яка перетворила б їх в добре ріжучі маси.

Даний етап проводили за допомогою приладу Thermo Shandon Histocentre 3. Це робоче місце включає в себе 3 ємності з розігрітим парафіном. В першу ємність укладали матеріал після проводки, в другу – пластикові форми для заливки, які обирали по розміру видаленого шматочка, в третю – чистий парафін безпосередньо для заливки, який подається в кран з регульованим потоком. На охолоджуючу панель перекладали зразок для правильної орієнтації матеріалу і швидкого охолодження парафіну та блоку. Поверх пластикової форми укладається гістологічна касета з маркуванням (номером пацієнта, QR-кодом та почерговою нумерацією) на охолоджуючу панель. Виготовлений блок направили на наступний етап виготовлення гістологічних зрізів.

2.5. Виготовлення гістологічних зрізів

Виготовлений парафіновий блок помістили та закріпили в зажимі для блоків на мікротомі Histion EPM 3100. Потім, встановивши необхідний кут різання і правильний кут нахилу ножа, його міцно закріпили гвинтами-зажимами і розташували під блоком. Після цього, регулюючи гвинтами механізм подачі, блок встановили таким чином, щоб верхня його площина була до леза ножа на 0,5-1 мм. Коли попередню підгонку блоку до ножа

закінчили, встановили мікрометричну шкалу на отримання товстих (25-30 мкм) зрізів і рухом ножових санчат почали подавати блок вгору до отримання з нього перших повних зрізів. Потім провели моделювання блоку: зрізали скальпелем надлишковий парафін, залишаючи навколо залитого об'єкта шар не більше 2-3 мм, і надали блоку прямокутну форму. Після цього встановили мікрометричну шкалу на потрібну товщину зрізу і приступили до остаточної порізки матеріалу. Товщина парафінових зрізів коливається від 3-5 до 15 мкм. Готовий зріз обережно зняли з ножа вологим пензликом (в напрямку від спинки до леза) і помістили у ємність з теплою (35°-40°C) водою (протягом 2-3 с). Надалі зріз перенесли на скло так щоб між зрізом та склом не було ділянок з повітрям.

2.6. Забарвлення гістологічних зрізів гематоксиліном та еозином

Готові зрізи перенесли в дистильовану воду. Надалі забарвили гематоксиліном Майєра 2-5 хв. При зануренні препарату в барвник комплекси гематеїну зв'язуються з базофільними структурами в складі тканини і фарбують їх у червоний колір. Щоб барвник прийняв звичне фіолетове забарвлення, препарат необхідно додатково обробили слабколужним розчином. Надалі промили препарат в дистильованій воді та у водопровідній воді 3-5 хв. Провели диференціювання 1% розчином соляної кислоти в 70 °спирті 1-2 с та швидко перенесли зрізи в водопровідну воду на 30 хв; у водопровідній воді червоне забарвлення ядер змінюється синім. Після цього препарат помістили у водний розчин еозину 0,5-1 хв, промили в дистильованій воді. Препарат зневоднили, освітлили в ксилолі та уклали в бальзам. Надалі препарат покривається покривним скельцем. Даний метод відтворили за допомогою приладу Dako CoverStainer.

2.7. Перевірка та порівняння цитологічних та гістологічних досліджень щитоподібної залози

Провели обробку та пошук у базі даних лабораторії на предмет випадків з цитологічними та гістологічними заключеннями. Після чого створили власну вибірку цитологічних та гістологічних заключень, які надалі порівнювали враховуючи The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology та WHO classification of thyroid pathology.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Пошук випадків щитоподібної залози на предмет цитологічних та гістологічних досліджень одного пацієнта

Провели пошук по діагнозу у базі даних установи (ТОВ "СІ ЕС ДІ ЛАБ"), в якій виконувалась робота. З 2548 пацієнтів із захворюваннями щитоподібної залози, обрали 174 пацієнтів за 2020-2021 роки, у яких було виявлено як цитологічне так і гістологічне заключення. Дані обраних пацієнтів внесли у попередньо створену таблицю для покращення подальшого аналізу.

3.2. Створення вибірки з пацієнтів та порівняльний аналіз між цитологічними та гістологічними заключеннями

Попередньо створену таблицю з обраними даними пацієнтів було проаналізовано з урахуваннями як цитологічної (The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology) так і гістологічної (WHO classification of thyroid pathology) класифікацій.

Підрахувавши кількісно випадки, де спостерігається повне співпадіння та неспівпадіння між цитологічними та гістологічними заключеннями виокремили наступне:

- група пацієнтів з діагнозами (цитологічними та гістологічними) - злоякісне новоутворення (Malignant): 61 випадок (34,48%);
- група пацієнтів з діагнозами (цитологічними та гістологічними) - доброякісне новоутворення (Benign): 24 випадки (13,95%);
- група пацієнтів з діагнозами злоякісними (цитологічними) та доброякісними (гістологічними): 5 випадків (2,89%);
- група пацієнтів з діагнозами доброякісними (цитологічними) та злоякісними (гістологічними): 9 випадків (5,21%);
- група пацієнтів з діагнозами Фолікулярна неоплазія (цитологічними) та злоякісними (гістологічними): 25 випадків (14,45%);

- група пацієнтів з діагнозами Фолікулярна неоплазія (цитологічними) та доброякісними (гістологічними): 24 випадки (13,95%);
- група пацієнтів з діагнозами Атипія невизначеного значення (цитологічними) та злоякісними (гістологічними): 13 випадків (7,58%);
- група пацієнтів з діагнозами Атипія невизначеного значення (цитологічними) та доброякісними (гістологічними): 5 випадків (2,89%);
- група пацієнтів з цитологічним діагнозом Недіагностична біопсія: 8 випадків (4,60%).

Порівняльний аналіз досліджуваних груп пацієнтів

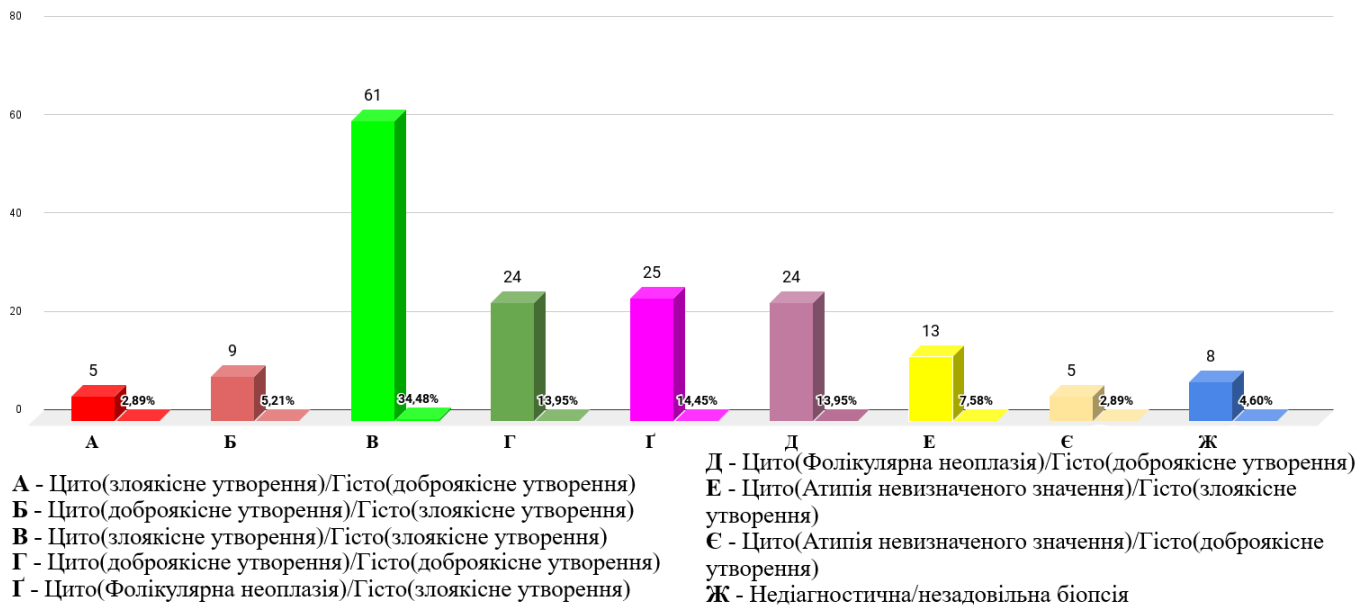


Рис.3.1. Порівняльний аналіз досліджуваних груп з наведеним кількісним та відсотковим співвідношенням.

Порівняльний аналіз досліджуваних груп пацієнтів, в яких виявлено співпадіння/неспівпадіння цитологічних та гістологічних діагнозів

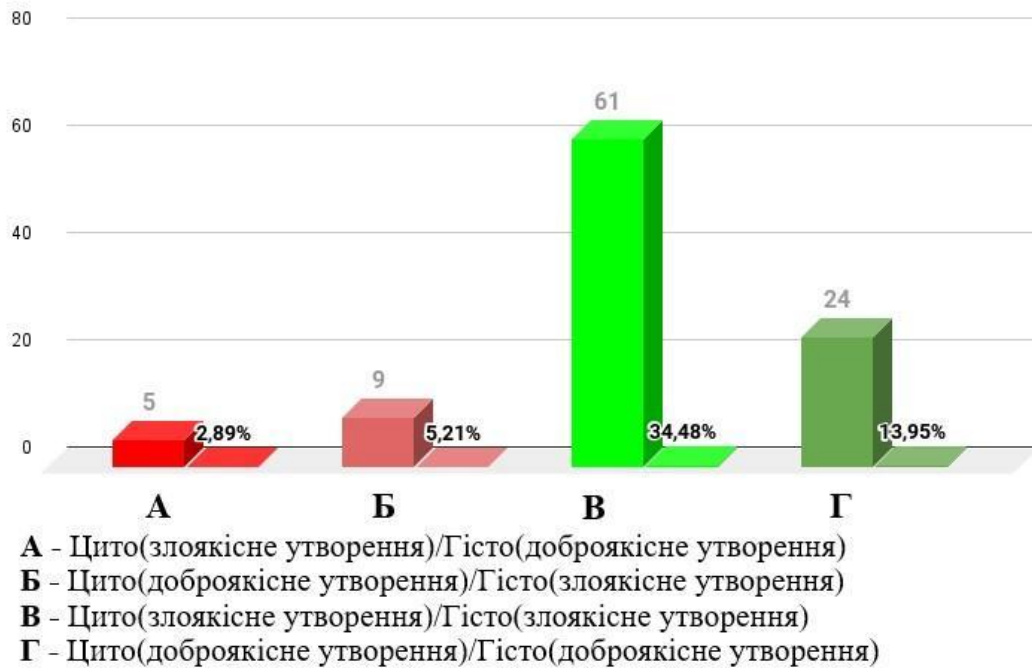


Рис.3.2. Порівняльний аналіз досліджуваних груп, в яких прослідковуються співпадіння (В,Г) та неспівпадіння (А,Б) між цитологічними та гістологічними заключеннями з наведеним кількісним та відсотковим співвідношенням.

З результату наведеного вище, а саме з групи пацієнтів з доброякісними заключеннями цитологічних та гістологічних досліджень (24 випадки), можна вказати на те, що даним пацієнтам не обов'язково було виконувати субтотальну тиреоїдектомію або інші хірургічні втручання. Однак потрібно враховувати розміри щитоподібної залози при доброякісних утвореннях та анамнез пацієнта на предмет ознак ризику зляокісних утворень (мутації в певних генах, підвищений рівень кальцитоніну, тироксину та трийодтироніну, позитивний сімейний анамнез на рак щитоподібної залози). Якщо було обстежено солідну вогнищеву зміну, то воно вимагає клінічного моніторингу (фізикальне обстеження або УЗД) кожні 6-18 місяців. Повторення ПТАБ в ході подальшого спостереження не потрібно, якщо немає клінічних сумнівів і якість першої ПТАБ хороша. Поява нових УЗД-ознак високого ризику зляокісності в такій вогнищевій зміні є однозначним показанням для повторної

ПТАБ. Якщо немає ознак клінічного ризику, збільшення вузла або появи нових УЗД-ознак ризику, повторна ПТАБ може бути необхідна не раніше, ніж через 6-12 місяців [61].

Згідно з результатом порівняльного аналізу, при якому було виявлено 49 випадків з цитологічним заключенням Фолікулярна неоплазія, можна зазначити, що таке цитологічне заключення потрібно інтерпретувати з обережністю та з урахуванням багатьох факторів. Ця категорія може відповідати остаточним гістопатологічним даним фолікулярної аденоми, гіперпластичному вузлу або лімфоцитарному тиреоїдиті (при яких часто зустрічаються ознаки порушеної клітинної структури) – (24 випадки), фолікулярного раку і фолікулярного різновиду папілярної карциноми (25 випадків). При підозрі на фолікулярну пухлину при цитологічному дослідженні (включаючи пухлину з клітин Гюртле) немає можливості подальшого передопераційного цитологічного диференціювання доброякісної і злоякісної пухлини. Отже, хірургічне втручання повинно розглядатися для усунення діагностичних сумнівів, особливо коли співіснують клінічні та/або УЗД-ознаки ризику [62].

Хірургічне лікування особливо показано в разі постановки діагнозу «підозра на пухлину з клітин Гюртля» через ризик виявлення раку $\geq 15\%$. При невеликих вузлах (≤ 1 см) без клінічних та УЗД-ознак ризику дозволяється відмовитися від хірургічного втручання і застосувати консервативний підхід за умови ретельного клінічного та УЗД контролю. Також при невеликих вузлах (діаметр < 2 см), які добре контролюються постійним наглядом і, при необхідності, повторною біопсією, допускається відмова від хірургічного втручання через низький клінічний ризик [63].

При аналізі досліджуваних груп було визначено, що 18 пацієнтів мали категорію 3 класифікації Бетезда - Атипія невизначеного значення (Atypia of US). Як правило, в разі діагностики при цитологічному дослідженні фолікулярної зміни невизначеного значення хірургічне лікування не є обов'язковим, але воно повинно враховуватися при наступних показаннях:

- 1) розмір вузла щитоподібної залози > 4 см;
- 2) при менших вогнищевих змінах - виявлення їх значного збільшення, появи інших виражених ознак клінічного ризику або якщо при повторній ПТАБ цитологічний діагноз вказує на більш високий ризик раку;
- 3) наявність у вогнищі виражених УЗД-ознак ризику або ознак інвазивності, а також інформації про порушення клітинної структури, які вказують на ймовірність злоякісності [64].

Відповідно до результатів проведеного порівняльного аналізу також було виявлено 8 випадків з цитологічним заключенням – Nondiagnostic (недіагностична або незадовільна біопсія). У 6 пацієнтів з даним діагнозом було виявлено післяопераційно – фолікулярну аденому або тиреоїдит, що є доброякісними утвореннями. Якщо досліджувана зміна являє собою просту кісту без солідної частини, повторна ПТАБ може бути виконана через 6-18 місяців; ризик розвитку раку дуже низький, але його не можна повністю виключити. Якщо була досліджена солідна осередкова зміна без клінічних ознак злоякісності, тоді вона вимагає клінічного моніторингу, УЗД і подальшої ПТАБ в залежності від ступеня ризику, як правило, через 3-12 місяців. У солідному вузлі з кістозною дегенерацією слід прагнути виконати ПТАБ солідної частини. Інтервал між недіагностичною і повторною ПТАБ повинен складати ≥ 3 місяці, якщо тільки клінічні ознаки не вказують на особливо високий ризик злоякісності (підозра на недиференційований, або анапластичний рак, або лімфому), що вимагає подальшої екстреної діагностики [65].

3.3. Макроскопічна оцінка щитоподібної залози

Макроскопічна оцінка препаратів є дуже важливим етапом у патогістологічному дослідженні. Операційний матеріал досліджують з ціллю підтвердження та уточнення вже встановленого діагнозу, обґрунтувань дій хірурга та визначення розповсюдженості патологічного процесу.

Провели оцінку щитоподібної залози (Рис.3.3.) надісланої у повному обсязі (ліва та права частки, перешийок з пірамідальною часткою, а також фрагмент жирової тканини з лімфатичними вузлами). Промаркувавши та описавши розміри матеріалу провели розбір матеріалу виконуючи зрізи кроком в 2-3 мм. Провівши оцінку кожного зрізу, виявили, що у лівій частці наявні поодинокі колоїдні вузли та у нижній третині частки – пухлиноподібне утворення солідної будови, з чіткими межами, 0,8 см у найбільшому розмірі (Рис.3.4.). Права частка, перешийок та пірамідальна частка на розрізі – макроскопічно без патологічних змін.

Зрізи для мікроскопічного дослідження вирізали так щоб не порушити анатомічну цілісність матеріалу, щоб в мікроскопічному зрізі зберігались топографічні співвідношення, характерні для досліджуваного матеріалу.

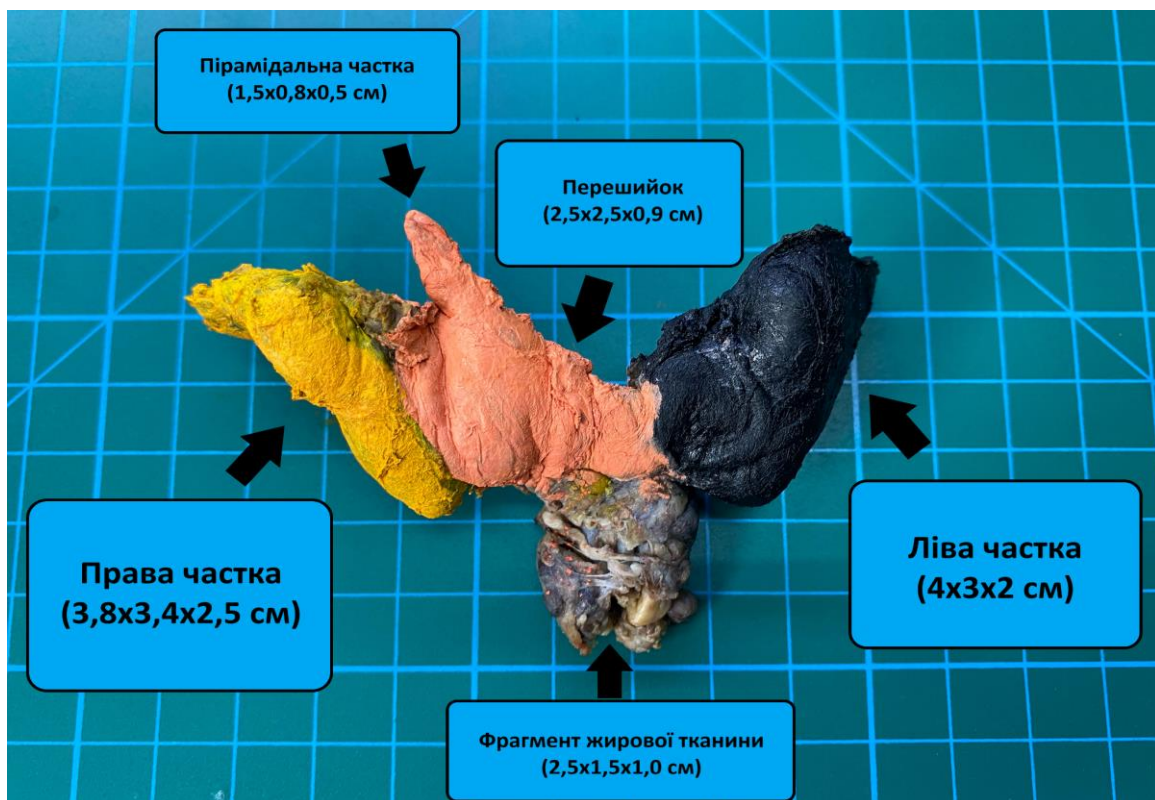


Рис.3.3. Маркований макропрепарат щитоподібної залози



Рис.3.4. Макроскопічні зрізи лівої частки щитоподібної залози.

Отже, за результатом макроскопічної оцінки було виявлено, що у лівій частці щитоподібної залози наявне пухлиноподібне утворення солідної будови, що свідчить про великий ризик злоякісного процесу. Проте, утворення не розповсюджується на краї резекції та поза межами країв резекції, що може свідчити про не інвазивний ріст пухлини, однак, при мікроскопічному дослідженні буде чітко встановлено чи наявна інвазія у кровоносні чи лімфатичні судини.

3.4. Підготовка зразків щитоподібної залози до мікроскопічного аналізу

Правильна обробка та підготовка макроскопічних зрізів до подальшого мікроскопічного аналізу є наступним важливим етапом у патогістологічному дослідженні.

Спершу, провели фіксацію та зневоднення гістологічних зразків, для того щоб припинити ферментативні процеси у клітинах та зберегти гістологічні та цитологічні структури такими, які вони є в даний момент. Надалі провели зневоднення тканин чітко дотримуючись правил поступового

впливу застосовуваних речовин на досліджувані тканини. Після чого, перейшли до ущільнення матеріалу за допомогою парафіну та виготовлення парафінового блоку. При заливці матеріалу забезпечили правильну орієнтацію та рівномірну заливку зразків у форми. Виготовивши блоки зробили зрізи на мікротомі, забезпечуючи кожному зрізу цілісність та нерозривність між тканинами та структурами після переносу на гістологічні скельця.

Надалі гістологічні зрізи забарвили з урахуванням усіх норм та правил, для того щоб не перебарвити та недобарвити зрізи. Після чого гістологічні зрізи на скельцях уклали в бальзам – постійний мікропрепарат (Рис.3.5.). При забарвленні гематоксиліном та еозином чітко відокремлюються структури такі як ядра та цитоплазма, для того щоб коректно оцінювати патологічні зміни, які відбуваються у досліджуваних зразках.



Рис.3.5. Гістологічні постійні мікропрепарати щитоподібної залози.

3.5. Проведення оцінки цитологічних та гістологічних мікропрепаратів

Попередньо виготовлені гістологічні мікропрепарати були переглянуті та оцінені за допомогою мікроскопа Leica DM500 LED.

Провели гістологічну та цитологічну характеристику препаратів пацієнтів, у яких за попереднім порівняльним аналізом було виявлено співпадіння між цитологічними та гістологічними заключеннями, такими як:

- 1) Папілярна карцинома лівої частки щитоподібної залози.
- 2) Медулярна карцинома з мультифокальним ураженням обох часток щитоподібної залози.
- 3) Високодиференційована (фолікулярна) пухлина правої частки щитоподібної залози.
- 4) Вузловий зоб.

Підтвердили цитологічний діагноз папілярної карциноми щитоподібної залози, провівши патогістологічне дослідження (Рис.3.6.).

У цитологічному мікропрепараті виявлено клітини з атипією в ядрах. Ядра клітин поліморфні та гіперхромні, з чіткими борознами та псевдовключеннями. Виявлено атипію в розташуванні клітин одна до одної, нашарування та скупчення клітин.

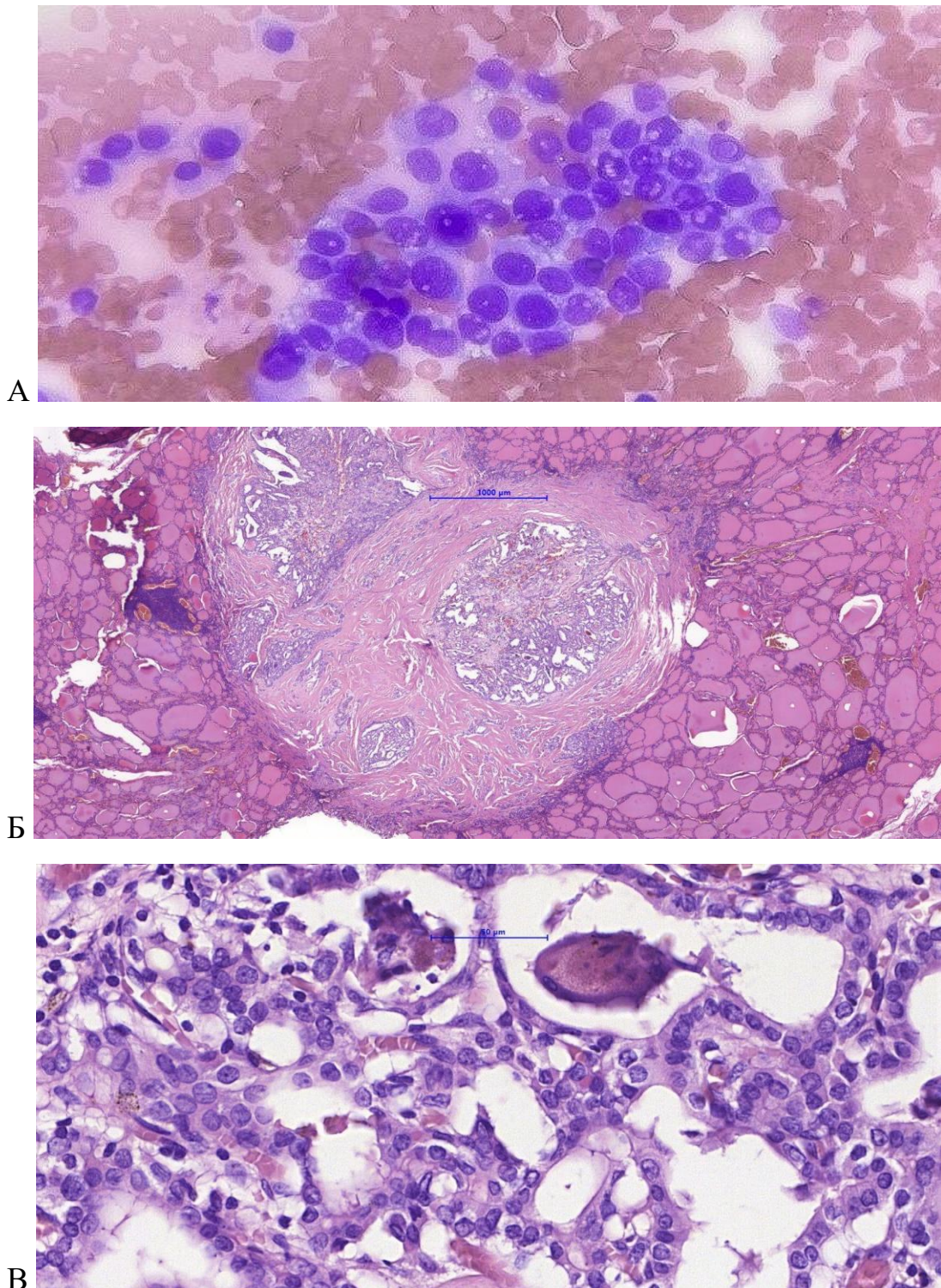


Рис.3.6. Мікропрепарати папілярної карциноми лівої частки щитоподібної залози А – цитологічна картина (Об. 40х, Ок. х10), гістологічна картин: Б – (Об. 2х, Ок. х10), В – (Об. 40х, Ок. х10).

Найбільший розмір пухлини у гістологічному мікропрепараті становить 0,4 см, що при макрописі було описано, як солідне утворення 0,8 см у найбільшому розмірі. Відстань від пухлини до найближчого краю резекції

складає більше 1 мм. Інвазія у кровоносні та лімфатичні судини не спостерігається, однак визначили метастатично уражений лімфатичний вузол (6 групи), який був відібраний на дослідження при макроскопічній оцінці препарату (Рис.3.7.).

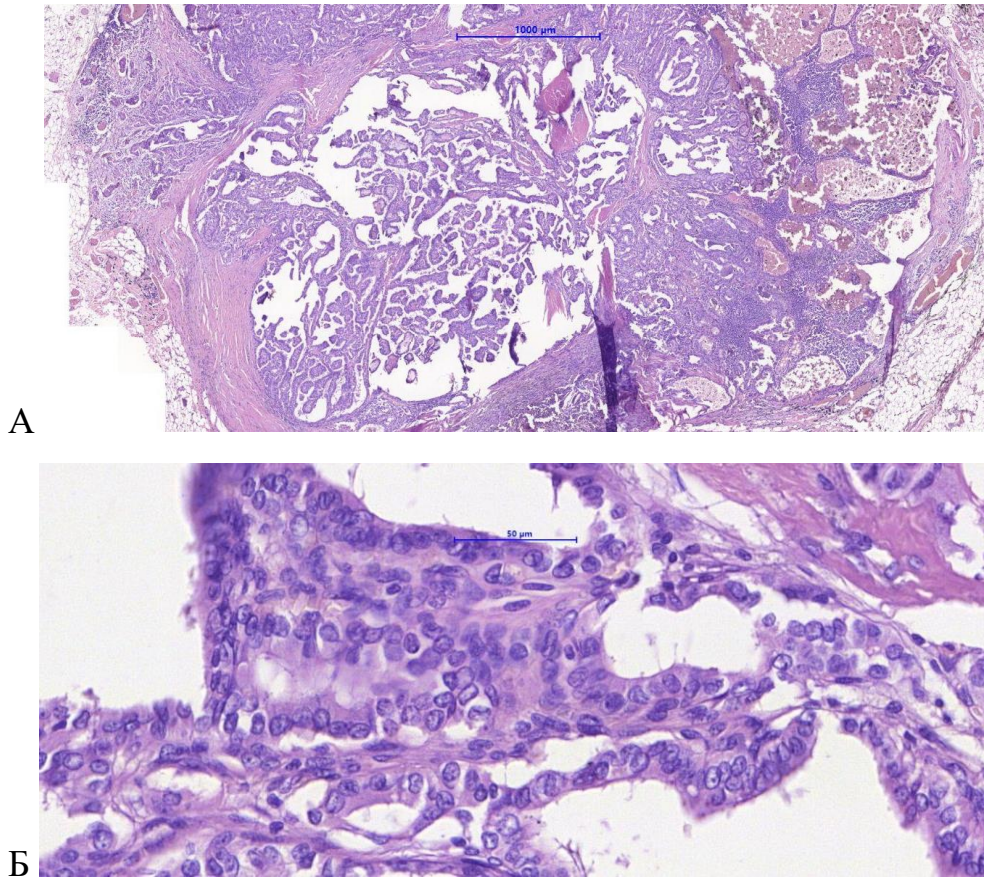


Рис.3.7. Мікропрепарат лімфатичного вузла з метастатичним ураженням папілярної карциноми щитоподібної залози А – (Об. 2х, Ок. x10), Б – (Об. 40х, Ок. x10).

Надалі дослідили цитологічні та гістологічні препарати пацієнта з діагнозом медулярна карцинома щитоподібної залози (Рис.3.8.).

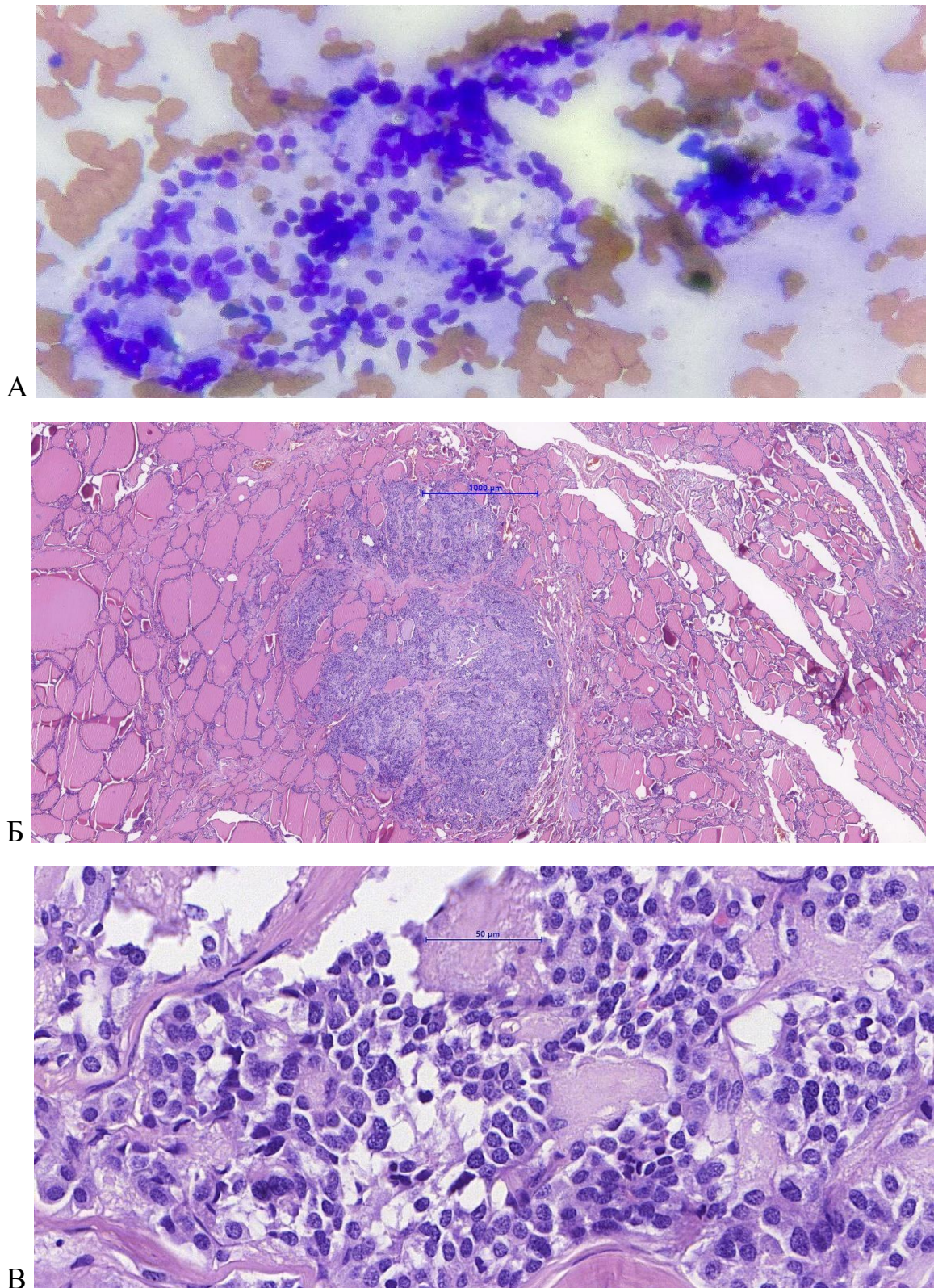


Рис.3.8. Мікропрепарат медулярної карциноми щитоподібної залози а) цитологічна картина А – (Об. 40х, Ок. х10), гістологічна картина: Б – (Об. 2х, Ок. х10), В – (Об. 40х, Ок. х10).

При дослідженні цитологічного препарату медулярної карциноми щитоподібної залози виявили атипію у розташуванні клітин відносно одна одної, також чітко визначається поліморфізм клітин з комбінацією малих, крупних полігональних та веретеноподібних клітин. Цитоплазма з еозинофільними гранулами.

Гістологічна картина медулярної карциноми показала пухлину, яка складається з полей («гнізд») округлих, полігональних та веретеноподібних клітин. Також визначаються псевдофолікулярні структури та «розетки». Ядра клітин із дрібнозернистим хроматином та розташованими по периферії ядерцями, деякі клітини мають борозди ядер та псевдовключення.

Провели оцінку мікропрепаратів високодиференційованого фолікулярного раку щитоподібної залози (Рис.3.9.).

В правій частці щитоподібної залози вузол пухлини, який обмежений фіброзною капсулою нерівномірної товщини з ділянками гіалінозу. Вузол переважно мікрофолікулярної будови, в окремих фолікулах наявний колоїд. Клітини пухлини мономорфні, з округлими, гіперхромними, місцями дещо просвітленими ядрами, в частині ядер визначаються ядерця, цитоплазма незначно виражена, блідо-еозинофільна, з чіткими межами. В одному із зрізів наявний інвазивний комплекс клітин пухлини, що пов'язаний з основним вузлом пухлини, у товщі капсули, проте відсутній інвазивний ріст через усю товщу капсули. Інвазії в судини у матеріалі не виявлено.

В цитологічних препаратах визначаються ознаки фолікулярно-клітинного диференціювання у вигляді, переважно мікрофолікулярних структур, скудний колоїд всередині фолікулів. Фон препарату чистий.

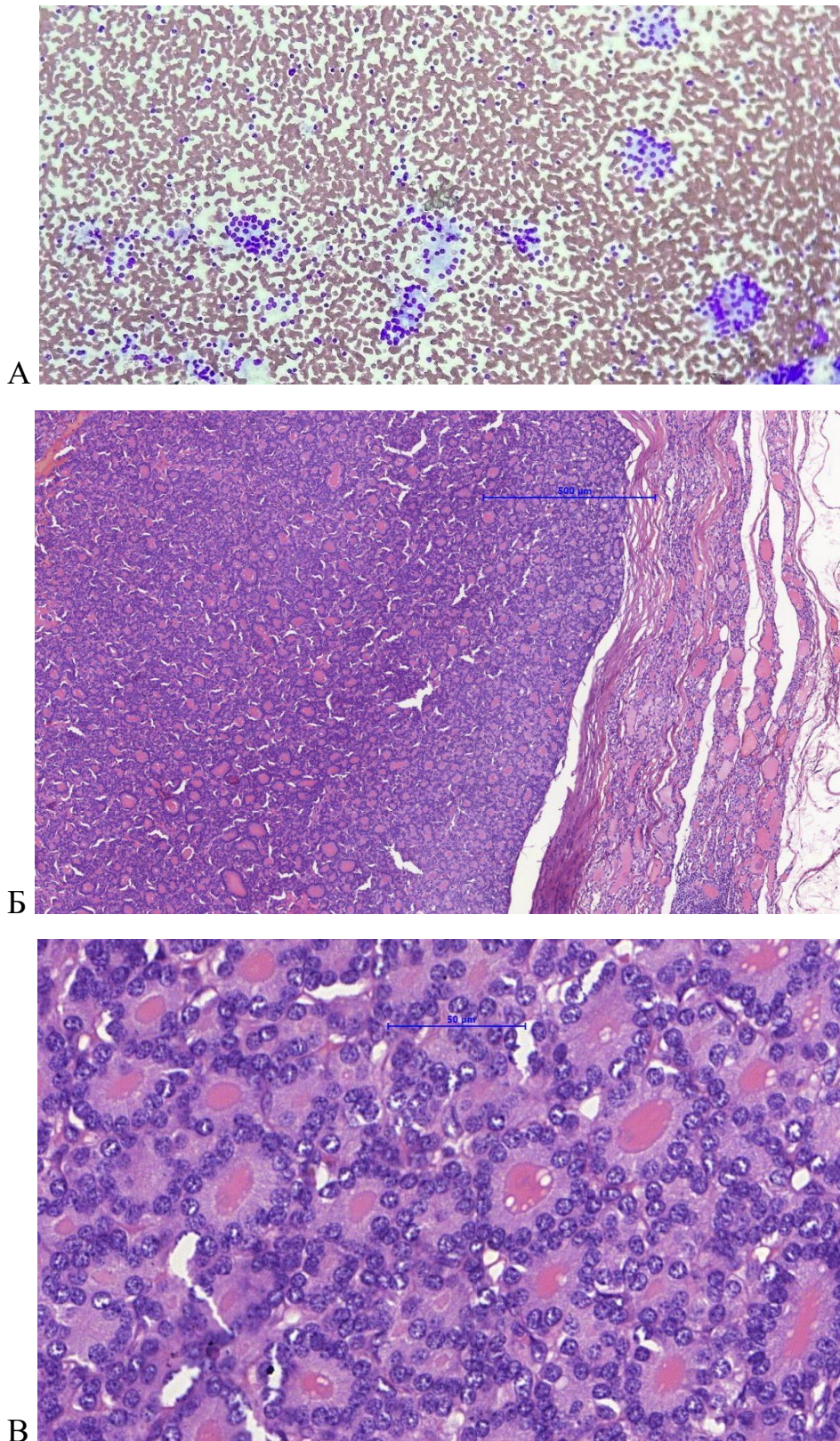


Рис.3.9. Мікропрепарати високодиференційованого (фолікулярного) раку щитоподібної залози А – цитологічна картина (Об. 10х, Ок. х10), гістологічна картина: Б – (Об. 5х, Ок. х10), В – (Об. 40х, Ок. х10).

Також провели оцінку мікропрепаратів вузлового зобу – доброякісного утворення, проаналізувавши цитологічну та гістологічну картини даного захворювання (Рис.3.10.)

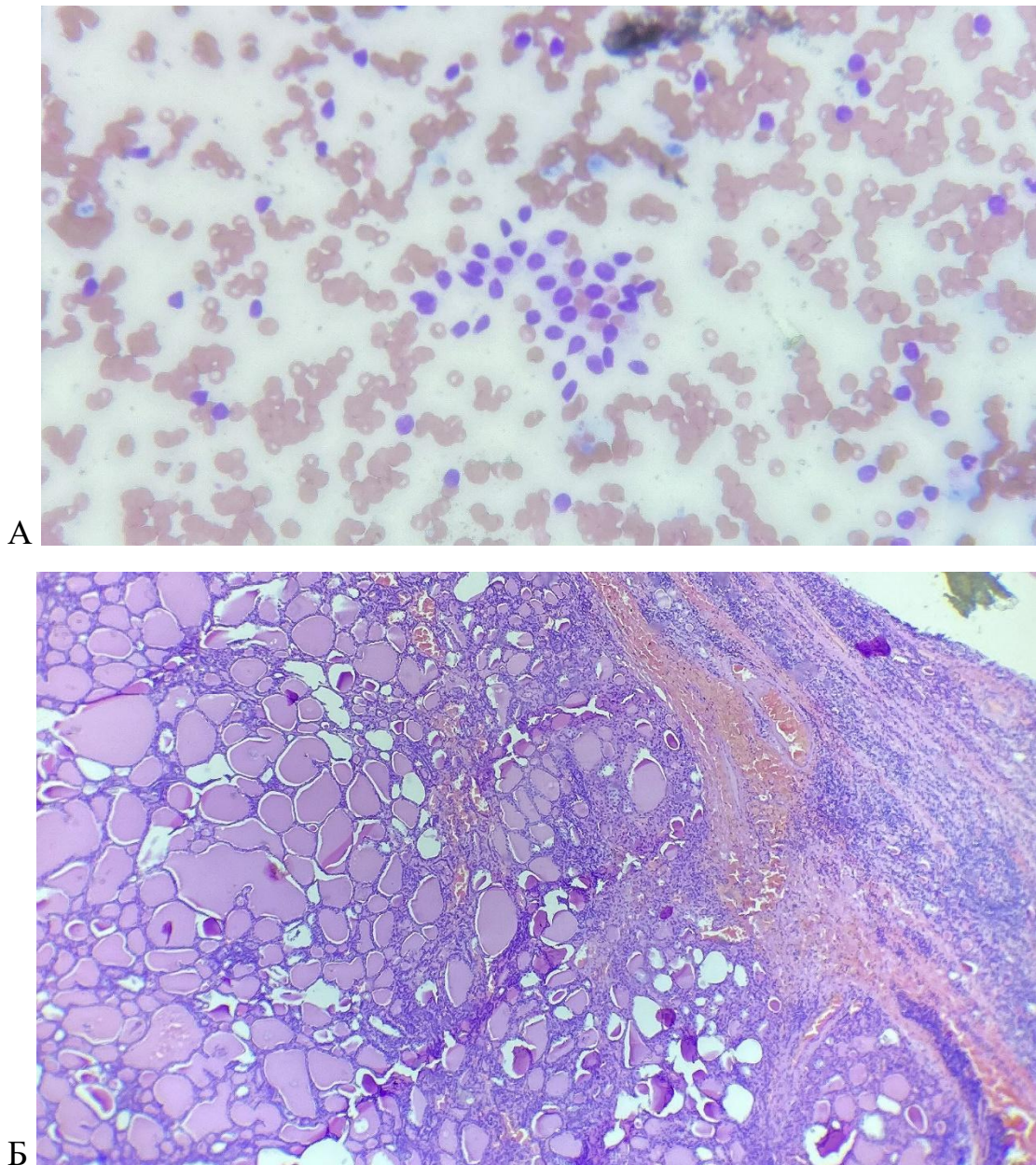


Рис.3.10. Мікропрепарати вузлового зобу щитоподібної залози А – цитологічна картина (Об. 40х, Ок. x10), Б – гістологічна картина (Об. 4х, Ок. x10).

Цитологічна картина відповідає I класу (Benign) за класифікацією Батезди, за рахунок монотипних клітин, які мають поодинокі розташування у препараті, а також не визначаються чіткі, явні атипові зміни в ядрах.

У гістологічному мікропрепараті виявлені багаті на колоїд фолікули, вистелені сплосченим неактивним епітелієм, фолікули мають різну кількість колоїду, чітко визначаються ділянки фолікулярної гіперплазії, а також дегенеративні зміни.

Отже, за результатами оцінки цитологічних та гістологічних мікропрепаратів в межах одного випадку, виявили чітку відповідність між цитологічною та гістологічною картиною наведених вище захворювань. За результатами цитологічних та гістологічних досліджень визначили, що за морфологією обрані випадки щитоподібної залози відповідають загальним характеристикам та класифікаціям захворювань.

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

За результатами проведеного дослідження було визначено та доведено, що пацієнтам з доброякісними утвореннями щитоподібної залози недоцільно проводити хірургічне лікування. Дослідження показує, що варто збирати повний анамнез хворого, проводити повторні біопсії та проходити обстеження та ультразвукове дослідження кожні 6-18 місяців, задля контролю та характеру розвитку даних доброякісних утворень (вузловий зоб, аденома).

При порівняльному аналізі досліджуваних груп пацієнтів зазначили, що у 49 випадках цитопатологи виявили фолікулярну неоплазію, у 25 випадках – гістологія вказала на злоякісне захворювання, а у 24 випадках – доброякісне утворення. Фолікулярна неоплазія може відповідати остаточним патогістологічним заключенням як фолікулярної аденоми, гіперпластичному вузлу (дані патології є доброякісними), так і фолікулярному раку або фолікулярному різновиду папілярного раку (дані патології є злоякісними). Тобто проведений аналіз вказує на те, що пацієнтам слід було провести повторну прицільну біопсію, з метою отримання більш інформативного матеріалу, а також ультразвукове дослідження, яке має чітко вказати за ознаками ехогенності, яке за своєю будовою дане утворення.

Виявили 8 пацієнтів, у яких цитологічне дослідження вказало на те, що матеріал діагностично неінформативний (внаслідок низької клітинності та високою розбавленістю клітинами крові), за таким заключенням потрібно надавати рекомендацію про повторну тонкогolkову аспіраційну біопсію з використанням ультразвукового дослідження для того щоб виконати прицільну біопсію.

За результатами проведення якісної макроскопічної оцінки препарату щитоподібної залози було показано, що правильний макроскопічний опис є дуже вагомим етапом у патогістологічному дослідженні. Візуальна оцінка фіксованого препарату з виявленням усіх нетипових змін у тканинах, наявність інвазії у прилеглі органи та структури, а також, правильний забір

зразків для подальшої обробки дозволяє якісніше та чіткіше інтерпретувати результати при мікроскопічному дослідженні.

У подальшій мікроскопічній оцінці як цитологічних, так і гістологічних мікропрепаратів щитоподібної залози було доведено, що наявна чітка відповідність між цитологією та гістологією певних захворювань щитоподібної залози. Відхилення від норми у структурі клітин та тканин (атипія в ядрах клітин, нетипова архітектоніка епітеліальних клітин та їх взаєморозташування з іншими структурами), які мають характерні ознаки певних патологій – мають чітку лінійну кореляцію.

Отже, порівняльний аналіз результатів цитологічних та гістологічних досліджень при різних захворюваннях щитоподібної залози надав результати, за якими можна сформулювати певні висновки. Проте варто продовжити дане дослідження та доповнити його клінічними даними та результатами додаткових методів обстеження пацієнтів, задля коректнішої оцінки та інтерпретації отриманих результатів.

ВИСНОВКИ

1. Виявлено, що серед 2548 пацієнтів із захворюваннями щитоподібної залози, що пройшли хірургічне лікування, 174 – було проведено цитологічне та гістологічне дослідження.

2. При перегляді історій хвороб окремих груп пацієнтів із захворюваннями щитоподібної залози на основі цитологічних та гістологічних досліджень виявлено:

- у 24 випадках, пацієнтам недоцільно було проводити хірургічне лікування;
- у 8 випадках з цитологічним заключенням недіагностичної біопсії варто було провести повторну ТАБ;
- групі пацієнтів з цитологічним заключенням – фолікулярна неоплазія (49 випадків), доцільно було б провести повторне цитологічне дослідження та УЗД;
- пацієнтам з цитологічним заключенням атипія невизначеного значення варто було провести додаткове УЗД, якщо розмір вузла складав <4 см.

3. Показано, що макроскопічне дослідження щитоподібної залози дозволяє візуально оцінити та виявити наявність солідних, кістозних утворень, підозрілі ділянки ущільнення, а також метастатичні ураження вторинних органів для кращого проведення патогістологічного дослідження.

4. Підтверджено на основі мікроскопічних досліджень чітку відповідність між цитологічною та гістологічною картинами захворювань щитоподібної залози (діагноз папілярної карциноми щитоподібної залози, та виявлено метастази карциноми у лімфатичні вузли).

5. Підтвердження діагнозу декількома методами має велике значення у лабораторній діагностиці. Тому в результаті проведеної роботи можна стверджувати, що повна та доскональна діагностика захворювання дає можливість запобігти непотрібному хірургічному втручанню в організм хворого.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Nikiforov, Yuri E., Paul W. Biddinger, and Lester DR Thompson, eds. Diagnostic pathology and molecular genetics of the thyroid: a comprehensive guide for practicing thyroid pathology. Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
2. Mazzaferri, Ernest L., and Robert J. Amdur, eds. Essentials of thyroid cancer management. Vol. 129. Springer Science & Business Media, 2006.
3. Fagin, James A., and Nicholas Mitsiades. "Molecular pathology of thyroid cancer: diagnostic and clinical implications." *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism* 22.6 (2008): 955-969.
4. Stathatos, Nikolaos. "Anatomy and physiology of the thyroid gland." *The Thyroid and Its Diseases*. Springer, Cham, 2019. 3-12.
5. Kirsten, Denise. "The thyroid gland: physiology and pathophysiology." *Neonatal Network* 19.8 (2000): 11-26.
6. Benvenga, Salvatore, et al. "Thyroid gland: anatomy and physiology." *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier, Amsterdam.
7. McMullen, Todd PW, and Leigh W. Delbridge. "Thyroid Embryology, Anatomy, and Physiology: A Review for the Surgeon." *Endocrine Surgery* (2009): 3-16.
8. Oertel, Yolanda C., and James E. Oertel. "Thyroid cytology and histology." *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 14.4 (2000): 541-557.
9. Hoda, Syed A., and Rana S. Hoda. "Thyroid cytopathology. Essentials in cytopathology: Authors: Douglas P. Clark and William C. Faquin, Springer, New York, 2005." (2006): 511-511.
10. Ali, Syed Z., and Edmund S. Cibas. *The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology*. Vol. 11. New York: Springer, 2017.
11. Wang, Tracy S. "Risk of Malignancy of Indeterminate Thyroid Nodules Needs Stratification by Subclassification of the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology." *Clinical Thyroidology* 30.6 (2018): 277-279.

12. Haugen, Bryan R., et al. "2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer." *Thyroid* 26.1 (2016): 1-133.
13. Nikiforov, Yuri E., et al. "Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors." *JAMA oncology* 2.8 (2016): 1023-1029.
14. Lim, Joel Xue Yi, et al. "Subclassification of Bethesda atypical and follicular neoplasm categories according to nuclear and architectural atypia improves discrimination of thyroid malignancy risk." *Thyroid* 28.4 (2018): 511-521.
15. Gan, Tiffany Rui Xuan, et al. "Thyroid cytology—nuclear versus architectural atypia within the “Atypia of undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance” Bethesda category have significantly different rates of malignancy." *Cancer cytopathology* 125.4 (2017): 245-256.
16. BALOCH, ZUBAIR W., et al. "Fine-needle aspiration of thyroid: an institutional experience." *Thyroid* 8.7 (1998): 565-569.
17. Amrikachi, Mojghan, et al. "Accuracy of fine-needle aspiration of thyroid: a review of 6226 cases and correlation with surgical or clinical outcome." *Archives of pathology & laboratory medicine* 125.4 (2001): 484-488.
18. Baloch, Zubair W., and Virginia A. LiVolsi. "Fine-needle aspiration of thyroid nodules: past, present, and future." *Endocrine Practice* 10.3 (2004): 234-241.
19. Zhan, J., et al. "Fine-Needle Aspiration (FNA) Biopsy For Thyroid Nodules: Double-Edged Sword in Thyroid Cancer Treatment in China." (2021).
20. Kasina, Siva Kumar, et al. "Toxic Thyroid Nodule: To FNA or Not?." *Journal of the Endocrine Society* 5.Suppl 1 (2021): A903.
21. Nishino, Michiya, et al. "Repeat Fine Needle Aspiration Cytology Refines the Selection of Thyroid Nodules for Afirma Gene Expression Classifier Testing." *Thyroid* ja (2021).

22. Prasad, M. L., et al. "Hashimoto's thyroiditis with papillary thyroid carcinoma (PTC)-like nuclear alterations express molecular markers of PTC." *Histopathology* 45.1 (2004): 39-46.
23. Gasbarri, A., et al. "Detection and molecular characterisation of thyroid cancer precursor lesions in a specific subset of Hashimoto's thyroiditis." *British journal of cancer* 91.6 (2004): 1096-1104.
24. Ishaq, Hafiz Muhammad, et al. "Molecular estimation of alteration in intestinal microbial composition in Hashimoto's thyroiditis patients." *Biomedicine & Pharmacotherapy* 95 (2017): 865-874.
25. Zeppa, Pio, et al. "Cytologic, flow cytometry, and molecular assessment of lymphoid infiltrate in fine-needle cytology samples of Hashimoto thyroiditis." *Cancer Cytopathology* 117.3 (2009): 174-184.
26. Molnár, Csaba, et al. "Thyroid carcinoma coexisting with Hashimoto's thyroiditis: clinicopathological and molecular characteristics clue up pathogenesis." *Pathology & Oncology Research* 25.3 (2019): 1191-1197.
27. Brent, Gregory A. "Graves' disease." *New England Journal of Medicine* 358.24 (2008): 2594-2605.
28. Girgis, Christian M., Bernard L. Champion, and Jack R. Wall. "Current concepts in Graves' disease." *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism* 2.3 (2011): 135-144.
29. Albasri, Abdulkader, et al. "Histopathological patterns of thyroid disease in Al-Madinah region of Saudi Arabia." *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15.14 (2014): 5565-5570.
30. Buzdugă, CĂTĂLIN MIHAI, et al. "Cytological, histopathological and immunological aspects of autoimmune thyroiditis: a review." *Rom J Morphol Embryol* 58.3 (2017): 731-738.
31. Rho, Myung Ho, et al. "Diagnostic value of antithyroid peroxidase antibody for incidental autoimmune thyroiditis based on histopathologic results." *Endocrine* 42.3 (2012): 647-652.

32. Solomon, Raphael, Yawale Iliyasu, and A. Z. Mohammed. "Histopathological pattern of thyroid lesions in Kano, Nigeria: A 10-year retrospective review (2002-2011)." *Nigerian Journal of Basic and Clinical Sciences* 12.1 (2015): 55.
33. Ionel, Anca, et al. "Histopathological and clinical expression of periodontal disease related to the systemic inflammatory response." *Histol Histopathol* 32.4 (2017): 379-384.
34. Santaniello, B., et al. "Non toxic goiter in the adult population of Genoa: 10 years of experience." *J prev med hyg* 53.1 (2012): 5-7.
35. Al-Saig, T. H., Modhar S. Al-Omary, and Muna Zuhair. "Non toxic goiter: Cytology, Histological Analysis: a study in Mosul." *Iraqi J. Comm. Med* 24.4 (2011): 325-0.
36. Cirocchi, Roberto, et al. "Total or near-total thyroidectomy versus subtotal thyroidectomy for multinodular non-toxic goitre in adults." *Cochrane database of systematic reviews* 8 (2015).
37. Chen, Amy Y., et al. "American Thyroid Association statement on optimal surgical management of goiter." *Thyroid* 24.2 (2014): 181-189.
38. Cossu, Antonio, et al. "Epidemiology of thyroid cancer in an area of epidemic thyroid goiter." *Journal of cancer epidemiology* 2013 (2013).
39. Iqbal, Mazhar, et al. "Carcinoma thyroid in multi and uninodular goiter." *Journal of the College of Physicians and Surgeons--pakistan: JCPSP* 20.5 (2010): 310-312.
40. Paschke, Ralf. "Molecular pathogenesis of nodular goiter." *Langenbeck's archives of surgery* 396.8 (2011): 1127-1136.
41. Verburg, FA1, and C. Reiners. "The association between multinodular goiter and thyroid cancer." *Minerva endocrinologica* 35.3 (2010): 187-192.
42. Seningen, Justin L., Aziza Nassar, and Michael R. Henry. "Correlation of thyroid nodule fine-needle aspiration cytology with corresponding histology at Mayo Clinic, 2001–2007: An institutional experience of 1,945 cases." *Diagnostic cytopathology* 40.S1 (2012): E27-E32.

43. Liu, Feng-Hsuan, et al. "Thyroid follicular neoplasm: analysis by fine needle aspiration cytology, frozen section, and histopathology." *Diagnostic cytopathology* 38.11 (2010): 801-805.
44. Solcia, Enrico, Günter Klöppel, and Leslie H. Sobin. *Histological typing of endocrine tumours*. Springer Science & Business Media, 2012.
45. Bhatia, K. S. S., et al. "Cystic change in thyroid nodules: a confounding factor for real-time qualitative thyroid ultrasound elastography." *Clinical radiology* 66.9 (2011): 799-807.
46. Baloch, Zubair W., and Virginia A. LiVolsi. "Special types of thyroid carcinoma." *Histopathology* 72.1 (2018): 40-52.
47. Nath, Meryl C., and Lori A. Erickson. "Aggressive variants of papillary thyroid carcinoma: hobnail, tall cell, columnar, and solid." *Advances in anatomic pathology* 25.3 (2018): 172-179.
48. Kim, Min Joo, et al. "Clinical characteristics of subtypes of follicular variant papillary thyroid carcinoma." *Thyroid* 28.3 (2018): 311-318.
49. Bergdorf, Kensey, et al. "Papillary thyroid carcinoma behavior: clues in the tumor microenvironment." *Endocrine-related cancer* 26.6 (2019): 601-614.
50. Wong, Kristine S., et al. "Papillary Thyroid Carcinoma with High-Grade Features Versus Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma: An Analysis of Clinicopathologic and Molecular Features and Outcome." *Thyroid* (2021).
51. Daniels, Gilbert H. "Follicular thyroid carcinoma: a perspective." *Thyroid* 28.10 (2018): 1229-1242.
52. Nicolson, Norman G., et al. "Comprehensive genetic analysis of follicular thyroid carcinoma predicts prognosis independent of histology." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 103.7 (2018): 2640-2650.
53. Kim, Hankyul, et al. "Prediction of follicular thyroid carcinoma associated with distant metastasis in the preoperative and postoperative model." *Head & neck* 41.8 (2019): 2507-2513.

54. Kim, Mijin, et al. "Tumour growth rate of follicular thyroid carcinoma is not different from that of follicular adenoma." *Clinical endocrinology* 88.6 (2018): 936-942.
55. Grani, Giorgio, et al. "Follicular thyroid cancer and Hürthle cell carcinoma: challenges in diagnosis, treatment, and clinical management." *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 6.6 (2018): 500-514.
56. Kushchayev, Sergiy V., et al. "Medullary thyroid carcinoma: an update on imaging." *Journal of thyroid research* 2019 (2019).
57. Ceolin, Lucieli, et al. "Medullary thyroid carcinoma beyond surgery: advances, challenges, and perspectives." *Endocrine-related cancer* 26.9 (2019): R499-R518.
58. Fussey, Jonathan Mark, et al. "The role of molecular genetics in the clinical management of sporadic medullary thyroid carcinoma: A systematic review." *Clinical endocrinology* 91.6 (2019): 697-707.
59. Alzumaili, Bayan, et al. "Grading of medullary thyroid carcinoma on the basis of tumor necrosis and high mitotic rate is an independent predictor of poor outcome." *Modern Pathology* 33.9 (2020): 1690-1701.
60. Kuo, Eric J., et al. "Risk factors associated with reoperation and disease-specific mortality in patients with medullary thyroid carcinoma." *JAMA surgery* 153.1 (2018): 52-59.
61. Jarząb, Barbara, et al. "Guidelines of Polish National Societies diagnostics and treatment of thyroid carcinoma. 2018 update." *Endokrynologia Polska* 69.1 (2018): 34-74.
62. Wells Jr, Samuel A., et al. "Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma: the American Thyroid Association Guidelines Task Force on medullary thyroid carcinoma." *Thyroid* 25.6 (2015): 567-610.
63. Jarząb B., Płaczkiwicz-Jankowska E.: *Zasady diagnostyki zmian ogniskowych tarczycy i ich kwalifikacji do leczenia operacyjnego zgodnie z*

rekomendacjami polskich towarzystw naukowych „Diagnostyka i leczenie raka tarczycy” 2018. Med. Prakt., 2018; 10: 69–81

64. Haberal, A. N., et al. "Diagnostic pitfalls in the evaluation of fine needle aspiration cytology of the thyroid: correlation with histopathology in 260 cases." *Cytopathology* 20.2 (2009): 103-108.

65. Sukumaran, Renu, et al. "Fine needle aspiration cytology of thyroid lesions and its correlation with histopathology in a series of 248 patients." *Indian journal of surgical oncology* 5.3 (2014): 237-241.