

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ В.И. РАЗУМОВСКОГО»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



Мудрак Дмитрий Андреевич

**Морфология вилочковой железы при гиперплазии у плодов и
новорожденных, умерших в перинатальном периоде**

3.3.2. Патологическая анатомия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Маслякова Галина Никифоровна

Саратов – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. История открытия и изучения вилочковой железы.....	15
1.2. Анатомо-гистологическое строение и функция вилочковой железы.....	18
1.3. Тимомегалия и гиперплазия тимуса: причины, клинические и морфологические критерии диагностики.....	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
2.1. Материалы.....	41
2.2. Методы исследования.....	43
2.2.1. Морфологические и морфометрические методы исследования.....	43
2.2.2. Иммуногистохимические методы.....	44
2.2.3. Статистические методы анализа.....	46
2.3. Дизайн исследования.....	47
ГЛАВА 3. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ МАССЫ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ, ПОГИБШИХ В АНТЕ-, ИНТРА- И РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДАХ.....	51
3.1. Динамика изменений массы вилочковой железы плодов и новорожденных в зависимости от сроков гестации и продолжительности жизни.....	51
3.2. Характеристика массы вилочковой железы у плодов и новорожденных, погибших в раннем неонатальном периоде от заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза.....	55
ГЛАВА 4. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ГИПЕРПЛАЗИЕЙ.....	62

ГЛАВА 5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕЛЕЦ ГАССАЛЯ В ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЕ С ГИПЕРПЛАЗИЕЙ.....	78
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	89
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	99
ВЫВОДЫ.....	103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	105
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	106
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	107
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	108
Приложение А.....	128
Приложение Б.....	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Вилочковая железа (тимус) – центральный орган иммуногенеза, одной из важнейших функций которого является антиген-независимая дифференцировка Т-лимфоцитов. Нарушения функционирования вилочковой железы имеют наибольшее значение в детском возрасте, особенно в период младенчества, так как в это время ребенок более подвержен воздействию неблагоприятных факторов ввиду функциональной незрелости ряда органов и систем [53, 54, 55, 56, 65].

Являясь органом иммуногенеза, вилочковая железа реагирует на все патологические процессы, развивающиеся в организме человека, и во многом определяет тяжесть течения многочисленных заболеваний. Так, например, при синдроме внезапной детской смерти в 67,4% случаев единственным патологическим процессом, выявляемым при вскрытии, является увеличение вилочковой железы [9].

В практической патологической анатомии до настоящего времени используется таблица масс органов за авторством А.И. Абрикосова (1948). В вышедших в последние годы изданиях (Автандилов Г.Г., 2002; Пальцев М.А., 2002) [3, 5, 88], приводятся данные А.И. Абрикосова 1948 года с ссылкой на автора. Следует отметить, что все указанные таблицы представляют массу вилочковой железы в возрастном аспекте: новорожденные, а далее с интервалом данных от 1 года до 5 лет.

С появлением в практике секционной работы новых категорий вскрытий: плодов и новорожденных с массой от 500 г, появилась необходимость в разработке актуальных показателей массы вилочковой железы для этой категории трупов. Массе вилочковой железы у плодов и маловесных детей посвящены лишь единичные работы А.П. Милованова (2006), Перетятко Л.П. и соавт., (2005) [24, 89], где авторы приводят массу тимуса плодов при сроке гестации 8-28 недель. Во всех

указанных источниках масса вилочковой железы приводится в зависимости от сроков гестации или возраста. Однако в литературе имеются сведения, что масса органов имеет большую корреляцию с массой тела [140].

В настоящее время морфометрические таблицы с современными данными зависимости массы вилочковой железы от массы тела отсутствуют.

Анализ публикаций, представленный в Научной электронной библиотеке (Elibrary) за последние 47 лет показал наличие 120 работ, посвященных вилочковой железе, из них только 11 освещают вопросы морфологии тимуса у человека.

В литературных источниках данные о морфологии вилочковой железы с увеличенной массой практически отсутствуют, так же, как и публикации по изучению клеточного состава долек вилочковой железы с увеличенной массой с применением иммуногистохимических методов исследования.

Степень разработанности темы исследования

Работы последних лет, посвященные вопросу диагностики гиперплазии вилочковой железы, прежде всего, основаны на данных, полученных в ходе ультразвукового исследования. Сами авторы отмечают, что при переходе на фактические величины возможны некоторые погрешности. Кроме того, в доступной литературе освещено недостаточно случаев, чтобы сформировать представление об условной норме и патологии вилочковой железы [52, 53, 54, 55, 73]. Морфологических работ, посвященных гиперплазии тимуса у детей в последнее время публикуется мало и посвящены они освещению гистологических изменений вилочковой железы при различных конкретных нозологических формах [57, 112, 143, 169]. Нельзя исключить, что сам вопрос постановки диагноза гиперплазии вилочковой железы имеет большие трудности. В практической патологической анатомии практически отсутствуют данные о критериях постановки данного диагноза. Патологоанатомы в своей практической деятельности используют таблицы масс органов за авторством А.И. Абрикосова

(1948), Л.К. Жолобова (1959), Grandmaison G.L. и соавт. (2001), Г.Г. Автандилова (2002), М.А. Пальцева (2002) [3, 5, 83, 139]. Следует отметить, что данные о массе вилочковой железы в упомянутых работах либо вообще отсутствуют, либо делаются ссылки на данные сороковых годов прошлого века. Массе вилочковой железы у плодов и маловесных детей посвящены лишь единичные работы А.П. Милованова (2006), Л.Л. Панкратьевой (2014), Перетятко Л.П. и соавт., (2005) [23, 24, 89].

Положения, изложенные выше определили актуальность данного исследования и позволили сформулировать следующие цель и задачи диссертации.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: Установить морфологические критерии увеличения вилочковой железы при патологических состояниях в перинатальном периоде.

Задачи исследования

1. Изучить морфометрические параметры вилочковой железы плодов и новорожденных, умерших в перинатальном периоде и выполнить корреляционный анализ между массой органа и следующими параметрами: сроком гестации плодов, продолжительностью жизни новорожденных, причиной смерти, массой и длиной тела.
2. Сопоставить данные морфометрических параметров вилочковой железы у плодов и новорожденных, умерших в перинатальном периоде, с различной массой тела и оформить результат анализа в виде оценочной таблицы.
3. Провести сравнительный анализ морфометрических показателей вилочковой железы с увеличенной массой и без ее увеличения у плодов и новорожденных, умерших в перинатальном периоде.
4. Выявить гистологические маркеры увеличенной вилочковой железы у новорожденных, умерших в раннем неонатальном периоде.

5. Охарактеризовать с помощью иммуногистохимических маркеров CD1a, CD3, CD68, CD163, CK19, Pan-CK, клеточный состав вилочковой железы с гиперплазией у новорожденных, умерших в раннем неонатальном периоде.

6. Провести сравнительный анализ морфологического строения телец Гассалья в вилочковой железе с гиперплазией вилочковой железы у новорожденных, умерших в раннем неонатальном периоде.

Научная новизна

Составленная таблица соответствия массы вилочковой железы массе тела плодов и новорожденных от 300 г до 5500 г позволяет оптимизировать посмертную диагностику гиперплазии вилочковой железы (ретроспективный анализ материала позволил выявить гиперплазию вилочковой железы в 27% случаев). Объективность и правомочность данных, приведенных в таблице, доказана высокими значениями коэффициента корреляции ($R_{\text{Спирмена}} = 0,71$; $p < 0,001$), совпадением значений коэффициентов линейной регрессии, а также объемом выборки (922 случая).

Доказано, что для расчета «эталонных» значений соотношений массы тела и массы вилочковой железы могут применяться только показатели масс от 25 до 75 перцентилля, которые исключают их искажения, вызванные воздействием неких внешних факторов, как например, характер заболевания, его длительность, срок гестации плодов и продолжительность жизни новорожденных, что подтверждается наложением графиков полиномиальной регрессии, описывающих зависимость массы тимуса от массы тела при инфекционных ($y=16,65x^2-93,487x+133,56$) и неинфекционных заболеваниях ($y=13,937x^2-75,662x+104,47$).

Установлено, что динамика изменения массы вилочковой железы по отношению к массе тела между группой плодов и группой новорожденных не имеет существенных отличий ($k_1=1,45$; $k_2=1,38$; $p>0,05$).

Показано, что площадь долек в увеличенной по массе вилочковой железе уменьшается на 15%. На основании этого предложен новый гистологический критерий – индекс граничащих долек тимуса (ИГДТ), позволяющий выявлять степень увеличения вилочковой железы и диагностировать ее увеличение при описании гистологического препарата. Так, нормальной массе тимуса соответствует значение индекса в диапазоне от 0,960 до 1,855; 1-й степени – 1,856 - 1,886; 2-й степени – 1,887 - 2,142; 3-й степени – более 2,143.

Установлено, что общее количество клеток в поле зрения коркового слоя вилочковой железы с гиперплазией повышается на 25,6% ($p < 0,001$) и составляет более 170 клеток в поле зрения. Увеличение количества клеток происходит за счет лимфоцитов, моноцитов, базофилов, тучных клеток и В-клеток. Доля макрофагов в корковом слое вилочковой железы с гиперплазией уменьшается по сравнению с аналогичным показателем в тимусах с нормальной массой (Me – 15,5, и Me – 25,9 соответственно, $p=0,005$).

Выявлено, что в мозговом слое вилочковых желез с увеличенной массой происходит образование фолликулярных структур, сформированных CD1a-положительными клетками, т.е. незрелыми лимфоцитами.

Установлено, что доля прогрессивных и зрелых телец Гассалья в вилочковой железе с гиперплазией уменьшается по сравнению с вилочковой железой, имеющей нормальную массу, в 2,3 и 1,6 раз соответственно, при этом доля регрессивных телец увеличивается практически в 2 раза.

Определено, что в корковом слое вилочковой железы с снижается количество цитокератин-19 положительных клеток на 91%, тогда как доля цитокератин-19 положительных клеток в микроокружении телец Гассалья, расположенных в мозговом слое, достоверно не изменяется и составляет 7,8% ($p>0,05$).

Теоретическая и практическая значимость работы

Получены данные о частоте встречаемости гиперплазии вилочковой железы. Расширены представления о возможных патологических процессах, лежащих в основе увеличения вилочковой железы: выявлены особенности гистологической структуры и клеточного состава органа, сопряженные с его увеличением. Установлен факт наличия сильной прямой корреляции массы тела и массы вилочковой железы.

Для применения в практической патологической анатомии разработана таблица распределения масс вилочковой железы в зависимости от массы тела для плодов и новорожденных раннего неонатального периода, применяемая в секционном разделе работы врача-патологоанатома (акты внедрения результатов НИР в практику лечебной работы №№ 14-17 от 21.11.2024 г.) и учебном процессе при освоении программы по специальности патологическая анатомия для ординаторов и студентов (акт внедрения результатов НИР в учебную работу кафедры патологической анатомии №1252 от 15.11.2024 г.).

Для определения факта увеличения массы вилочковой железы только по гистологическим срезам разработана формула вычисления индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ). Полученные показатели значений ИГДТ, дающие представление о степени увеличения вилочковой железы, позволили вычислить референсные значения каждой из трех степеней ее увеличения и применять их в патологоанатомической практике.

Установлено, что тимический индекс может быть использован для оценки состояния вилочковой железы, но неудобен для применения в практике врача-патологоанатома.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты внедрены в учебный процесс кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, практическую секционную работу патологоанатомического отделения КБ

№1 им. С.Р. Миротворцева СГМУ, патологоанатомическое отделение ГУЗ «Областная детская клиническая больница» г. Саратова, объединенной детской прозекутуры на базе ГУЗ ГKB №8 г. Саратова, ГУЗ «Перинатальный клинический центр Саратовской области», ГАУЗ «Энгельсская клиническая городская больница №1, г. Энгельс».

Методология и методы исследования

Методология работы построена на основе применения совокупности аналитических методов и использования системного и комплексного подхода для анализа полученных морфометрических, гистологических данных и результатов иммуногистохимического исследования увеличенной вилочковой железы.

Объектом исследования явились кусочки вилочковой железы плодов и новорожденных раннего неонатального периода, фиксированные в 10% растворе забуференного нейтрального раствора формалина, и залитые в парафиновые блоки.

Методы, использованные в работе: классические морфологические, морфометрические, иммуногистохимические с использованием коммерческих маркеров: CD1a, CD3, CD68 CD163, CK19, Pan-CK, статистические.

Личный вклад автора

Автор лично участвовал во всех этапах исследования: от постановки задач, разработки дизайна исследования, набора секционного материала и его гистологической обработки, гистологического исследования (включая морфометрию), формирования базы данных, статистической обработки полученных результатов, их обсуждения, формулировки выводов и практических рекомендаций, написания текста диссертации.

Автором освоены и самостоятельно проведены гистологические методы обработки материала и иммуногистохимические реакции; выполнен комплексный

анализ полученных результатов гистологического, морфометрического и иммуногистохимического методов исследования, выполнен аналитический и статистический анализ полученных результатов; сформулированы научное обоснование и выводы. Автором лично были написаны и оформлены тезисы, статьи к публикации, подготовлены и сделаны доклады на конференциях, подготовлена база данных и получено государственное свидетельство о ее регистрации.

Положения, выносимые на защиту

1. Масса вилочковой железы имеет сильную прямую корреляцию с массой тела и менее выраженную зависимость от срока гестации плодов и продолжительности жизни новорожденных раннего неонатального периода.

Разработанный алгоритм выявления гиперплазии вилочковой железы у плодов и новорожденных, умерших в перинатальном периоде, оптимизирует процесс посмертной диагностики и может рекомендоваться к применению в практике врачей-патологоанатомов.

2. Достоверными гистологическими признаками гиперплазии вилочковой железы являются: увеличение количества долек с уменьшением их площади, а также увеличение количества клеток в корковом слое, в основе которого лежит гиперплазия CD3 и CD68 положительных клеток, а также расчет индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ), позволяющего диагностировать степень ее увеличения.

3. Гиперплазия вилочковой железы независимо от причины гибели плода и новорожденного сопровождается реакцией со стороны телец Гассалья и проявляется снижением количества прогрессивных и зрелых телец и повышением числа телец регрессивного типа.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.3.2. Патологическая анатомия, следующим областям исследований: пункт 1. Распознавание и характеристика этиологических факторов, определяющих возникновение и развитие конкретных заболеваний (нозологических форм), на основании прижизненных и постмортальных патологоанатомических исследований клеток, тканей, органов и организма при использовании современных методических и технологических возможностей морфологии в сочетании с молекулярной биологией, молекулярной генетикой и эпигенетикой; пункт 3. Исследование структурных, молекулярно-клеточных и молекулярно-генетических механизмов развития заболеваний в целом и отдельных их проявлений (симптомы, синдромы), создание основ персонализированной патогенетической терапии и профилактики; пункт 4. Исследование морфо- и танатогенеза заболеваний, роли различных органных, тканевых систем в становлении основного заболевания (полиорганность патологии) и его исходах; пункт 5. Совершенствование клинико-морфологических классификаций болезней с их симптомами и синдромами, определяемыми спецификой этиологических факторов. Разработка теории диагноза.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность описанных результатов в диссертационном исследовании, сделанных выводов, обсуждений и заключения подтверждается:

– объемом использованного в работе материала: 922 протокола патологоанатомических исследований трупов плодов и новорожденных, 414 гистологических блоков, 774 гистологических микропрепарата, 587 микрофотографий гистологических препаратов;

– высоким научно-методическим уровнем методов исследования с применением традиционных и современных гистологических, морфометрических и иммуногистохимических методов, а также использованием сертифицированного оборудования, коммерческих красителей и наборов с действующим сроком годности и применением адекватных в каждом случае статистических методов (параметрических и непараметрических).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 10 публикаций, в том числе 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 статья в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 5 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций, 1 свидетельство о регистрации базы данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация написана в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, приложения. Материал изложен на 133 страницах печатного текста, содержит 19 таблиц и иллюстрирован 24 рисунками, содержащими 44 микрофотографий, 11 графиков и 1 алгоритм. Список литературы содержит 174 источника, из них 119 отечественных и 55 зарубежных публикаций.

Внедрение результатов диссертационного исследования в практику

Полученные в ходе диссертационной работы результаты внедрены в учебный процесс кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет» Минздрава России, практическую секционную работу патологоанатомического отделения КБ №1 им. С.Р. Миротворцева СГМУ, патологоанатомическое отделение ГУЗ «Областная детская клиническая больница» г. Саратова, объединенной детской прозектуры на базе ГУЗ ГKB №8 г. Саратова, ГУЗ «Перинатальный клинический центр Саратовской области», ГАУЗ «Энгельсская клиническая городская больница №1, г. Энгельс» (акты внедрения результатов НИР в практику лечебной работы №№ 14-16 от 21.11.2024 г.). Результаты исследования внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО Саратовский Государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России при освоении программы по специальности патологическая анатомия для ординаторов и студентов (акт внедрения результатов НИР в учебную работу кафедры патологической анатомии №1252 от 15.11.2024 г.).

Апробация материалов диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно-практической конференции «Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты» с международным участием, посвященной 90-летию Клиник СамГМУ (Самара, 2020); IX всероссийской неделе науки с международным участием, посвященной 75-летию победы в Великой Отечественной войне (Саратов, 2020); VII всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» (Челябинск, 2023); XIII юбилейном пленуме Российского общества патологоанатомов (Саратов, 2023); Всероссийской научной конференции с международным участием YSRP (Саратов, 2024).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. История открытия и изучения вилочковой железы

О существовании вилочковой железы (тимуса) человечеству известно как минимум около двух тысячелетий. Знания об иммунологической роли вилочковой железы в области медицины и биологии развивались медленно.

Первое упоминание о вилочковой железе связано с именами древнегреческих врача и анатома Руфуса Эфесского и ученого Галена. Руфус Эфесский в I веке н.э. охарактеризовал ее как вместилище души или жизнестойкой индивидуальности. Он назвал ее "тимос", от греческого слова, означающего "душу" или "энтузиазм". Гален во 2 веке н.э. обосновал значение вилочковой железы, описывая ее как железу, обеспечивающую защиту между грудиной и верхней поллой веной [116, 163].

Андрис Ван Везель, фламандский врач и анатом, поддержал концепцию Галена о защитной роли тимуса. Он описал тимус как небольшой многолопастной орган, расположенный чуть ниже грудины, и интерпретировал его функцию как защитную подушку для васкуляризации верхнего средостения.

Феликс Платер, швейцарский врач 16 века, сообщил о случае смерти младенца от удушья, которое было приписано сдавлению трахеи внутренней массой, образовавшейся из тимуса. Это, вероятно, был один из редких случаев развития опухоли тимуса, которая привела к проблемам с дыханием и, в конечном итоге, к смерти младенца [138].

Уильям Хьюсом, считающийся отцом гематологии, в 18 веке впервые описал вилочковую железу как орган лимфатической системы и изучил эволюцию размеров тимуса в период внутриутробного и младенческого развития [133].

В XIX веке существенный вклад в изучение морфологии вилочковой железы внес Артур Хилл Гассаль: он сравнил гистологическое строение вилочковой железы с другими лимфатическими органами и описал пластинчатые тельца в

мозговом веществе, которые впоследствии получили его имя [142]. В 1832 году Эстли Пастон Купер опубликовал свою работу "Анатомия вилочковой железы", в которой он подробно описал ее анатомическое строение. Его труд был богато иллюстрирован и содержал точные изображения тимуса. В то время ученые задавались вопросом о происхождении лимфоцитов в вилочковой железе, и эта проблема стала горячей темой среди выдающихся ученых, таких как Дж. А. Хаммар и А. А. Максимов. Они предложили теорию иммиграции лимфоцитов в вилочковую железу [141]. Другой ученый, шотландский эмбриолог Джон Берд, считал, что вилочковая железа может быть источником всех лимфоцитарных клеток в организме [152, 153]. Эти различные точки зрения способствовали дальнейшему исследованию и пониманию роли вилочковой железы и лимфоцитов в иммунной системе.

Функция вилочковой железы как центрального органа иммунной системы стала известна только после экспериментов Жака Миллера в конце пятидесятых - начале шестидесятых годов XX века. Жак Миллер разработал новый метод экстирпации вилочковой железы, который позволил животным выживать после операции. В Лондонском национальном институте медицинских исследований, где проводились эксперименты, Ж. Миллер и его коллеги обнаружили, что удаление вилочковой железы у новорожденных мышей приводило к патологическим состояниям, которые включали истощение лимфоидных клеток в крови и органах (вастинг-синдром), а также склонность к развитию опухолей [63], что существенно отличалось от результатов у взрослых мышей без тимэктомии. Ж. Миллер пришел к выводу, что вилочковая железа является органом, ответственным за развитие иммунологически компетентных лимфоцитов, которые он назвал Т-лимфоцитами. Более того, Миллер впервые продемонстрировал, что вилочковая железа является основным органом, производящим Т-клетки, которые затем расселяются в другие органы иммунной системы, кроме того, он выдвинул идею об одном или нескольких растворимых тимических факторах, ответственных за дифференцировку Т-лимфоцитов [63, 152, 153]. Ключевая роль вилочковой железы

в развитии Т-клеток была дополнительно подтверждена описанием синдрома Ди Джорджи [141].

Существенный вклад в изучение морфологии вилочковой железы внесли отечественные авторы. Так, еще в 70-х годах прошлого века Т.Е. Ивановская (1970) выделила 4 основные структурно-функциональные зоны вилочковой железы. Интересно отметить, что до настоящего времени данное деление тимуса на зоны остается актуальным [9]. В.П. Анисимовой (1983) были описаны результаты влияния антенатальной патологии на состояние вилочковой железы [8]. В данном исследовании было отмечено, что при различных заболеваниях макроскопически вилочковая железа может иметь различную форму. Данный факт автор связывала с пролиферацией различных зон органа при различных заболеваниях.

Особое внимание стоит уделить серии работ Т.Е. Ивановской, О.В. Зайратьянца, Л.В. Леоновой и соавторов, посвященных изучению увеличенной вилочковой железы при таких состояниях, как аутоиммунные заболевания, синдром внезапной детской смерти, при некоторых инфекционных заболеваниях. Суммарным результатом этих публикаций стал выпущенный в 1996 году труд «Патология тимуса у детей». В данном материале авторы приводят средние значения возрастной нормы массы тимуса у детей, которые и в настоящее время используются в практике врачей-патологоанатомов [88].

С начала XXI века в исследовании вилочковой железы отечественные морфологи очень часто взаимодействуют с врачами ультразвуковой диагностики, разрабатываются ультразвуковые критерии условной нормы размеров и массы тимуса. Однако, в УЗИ- данных многое зависит от сторонних факторов, что, например, подтверждает З.И. Эсмурзиева (2010) на основании сравнения рассчитанной и фактической масс вилочковой железы. С другой стороны, все больше исследований проводится с применением малоинвазивных методов [60, 65, 66, 73, 101].

1.2. Анатомо-гистологическое строение и функция вилочковой железы

На четвёртой неделе внутриутробного развития начинает формироваться тимус, опережая в своём развитии другие органы, связанные с иммунной и эндокринной системами. Тимус образуется из двух слоёв эпителия, которые происходят из третьей и четвёртой пары жаберных карманов, расположенных в верхней части головной кишки [95].

Тимус, или вилочковая железа, находится в верхней части грудной клетки, за грудиной. Анатомически, чаще всего, она состоит из двух долей. Это паренхиматозный орган, в котором выделяют паренхиму и строму, включающую в себя капсулу и септы. Капсула, которая покрывает вилочковую железу снаружи, состоит из плотной неоформленной соединительной ткани. Септы – корково-соединительные перегородки – делят орган на дольки [40, 41].

Кровоснабжение органа осуществляется из тимических артерий внутренней грудной артерии, тимических ветвей дуги аорты и плечеголового ствола и ветвей верхней и нижней щитовидных артерий. Внутри органа артерии ветвятся на междольковые и внутридольковые, которые образуют дуговые ветви, от них отходят кровеносные капилляры, образующие густую сеть, особенно в корковой зоне. Капилляры коркового вещества окружены базальной мембраной и слоем эпителиоцитов, которые отграничивают перикапиллярное пространство. Большая часть капилляров, расположенных в корковом слое, соединяется с венулами, находящимися под капсулой. Меньшая их часть проникает в мозговое вещество. [10, 17]. Венозный отток осуществляется по ветвям внутренних и плечеголовых вен [47, 98]. Лимфа от органа оттекает в трахеобронхиальные и парастернальные лимфатические узлы [86, 87].

Иннервация вилочковой железы осуществляется ветвями блуждающих нервов, спинномозговыми нервами С4-С7, а также симпатическими нервами. [95, 98].

Состояние и функционирование вилочковой железы имеют особое значение в детском возрасте, особенно для недоношенных детей, поскольку она играет важную роль в развитии и поддержании иммунной системы организма. Оценка состояния вилочковой железы начинается с определения ее размеров и массы и, к сожалению, однозначных подходов к определению данных параметров у детей до настоящего времени нет [23]. В клинической практике педиатры пользуются параметрами, определяемыми с помощью ультразвуковых исследований.

З.И. Эсмурзиева и соавторы в 2015 году провели исследование плодов различного гестационного возраста, начиная с 22-й недели беременности. Сведения о параметрах и весе тимуса были получены с применением ультразвукового исследования и сопоставлены с результатами, полученными после вскрытия плодов. Также было проведено сравнение массы тимуса и массы тела у доношенных мёртвых плодов и здоровых новорождённых [73]. Безусловно, это исследование играет важную роль в педиатрии. Однако при проведении ультразвукового исследования тимуса у плода учёные обнаруживают, что его масса значительно меньше, чем у новорождённых детей того же возраста. Исследователи связывают это с тем, что на размер и вес тимуса у плода влияют дополнительные условия окружающей среды. Эти факторы могут включать мышечный и подкожный жировой слой беременной женщины, мышечную массу матки и околоплодные воды [66, 73].

В патологоанатомической практике широко распространена таблица с массой вилочковой железы за авторством А.И. Абрикосова 1947 года. В дальнейшем во всех практикумах по патологической анатомии (Дергачев И.С., 1964; Автандилов Г.Г., 2002; Пальцев М.А., 2002) приводились те же сведения с ссылкой на А.И. Абрикосова. В основе данной таблице лежит принцип распределения средней массы вилочковой железы в разные возрастные периоды [3, 5, 34, 87].

В зарубежной литературе для оценки масс органов в перинатальном периоде широко распространены результаты исследования J. G. Archie, J. S. Collins и R. R.

Lebel, которое является результатом мета-анализа 17 публикаций из США, Индии, Австралии и стран Европы, посвященным изучению масс различных органов у детей в перинатальном периоде [160]. Однако, в руководстве по аутопсиям для студентов медицинских университетов в США, кроме упомянутого исследования приводятся еще несколько таблиц со значениями массы тимуса. Авторы отмечают разногласия в приведенных таблицах и ссылаются на высокую изменчивость массы вилочковой железы [123]. С другой стороны, в работе G.L. Grandmaison и соавторов (2001) и соавторов было отмечено, что корреляция между массой органов и массой тела выражена сильнее, чем между массой органов и возрастом [140]. Использование данного подхода в патологоанатомической практике используется реже и в литературе приводятся разрозненные данные по этому вопросу.

В исследовании В.Б. Гринберга и соавт. в 2020 году были изучены и проанализированы протоколы патологоанатомических исследований плодов (погибших анте- и интранатально) и новорождённых с крайней незрелостью (масса тела 500-999 г, срок гестации 22-27 недель. Авторы оценивали массу вилочковой железы и коэффициент массы вилочковой железы по ценителям [64].

В литературе имеются публикации, посвященные определению величины вилочковой железы и ее зависимости от внутриутробного инфицирования и сопутствующих врожденных пороков развития. Л.Г. Кузьменко и соавт. (2015) проводили анализ протоколов патологоанатомического вскрытия плодов разных сроков гестации и новорожденных детей, проживших не более 48 часов. В этой работе авторы классифицируют состояние вилочковой железы как: средней величины, гипоплазии и тимомегалии, основываясь на соотношении «масса вилочковой железы / масса тела» [54].

Вилочковая железа является органом, который подвергается возрастной инволюции. Во время развития ребенка орган быстро растет, достигает максимального размера в подростковом возрасте и с возрастом начинает уменьшаться. Эта регрессия вилочковой железы включает уменьшение ее массы, потерю структуры и дезорганизацию архитектуры вилочковой железы,

постепенном замещении паренхимы жировой тканью и, как следствие, приводит к уменьшению количества тимоцитов и снижению продукции «наивных» Т-клеток [39, 40, 41, 42, 161].

В процессе возрастной инволюции тимуса выделяют несколько этапов, каждый из которых характеризуется своими особенностями. На первом этапе, который длится с рождения до 10 лет, происходит постепенное уменьшение размеров органа, при этом уровень продукции тимических гормонов и Т-лимфоцитов остаётся высоким. На втором этапе, охватывающем период от 10 до 25 лет, атрофия паренхимы усиливается, а также продолжается склероз и липоматоз междольковых септ и внутридольковых периваскулярных пространств. Продукция гормонов и Т-лимфоцитов начинает снижаться. В период от 25 до 40 лет, на третьей стадии, происходит значительное ускорение атрофии паренхимы — до 5% в год. Также усиливаются процессы склероза и липоматоза. Участки склероза в строме и атрофия некоторых долек говорят о том, что в жизни человека были сложные периоды, в том числе связанные с болезнями. На четвёртой стадии, которая начинается после сорока лет, наблюдается постепенное уменьшение объёма паренхимы со скоростью 0,1% в год [9, 19, 89].

Несомненно, что такое сложное разнонаправленное развитие данного органа вносит свои сложности в изучение вопроса о массе вилочковой железы и критериях определения ее нормы. Данная проблема и в настоящее время крайне актуальна, особенно в раннем детском возрасте, когда вилочковая железа является основным органом, ответственным за состояние иммунитета.

Общеизвестным является факт того, что находящиеся в вилочковой железе соединительно-тканые перегородки делят орган на дольки [39]. Однако при анализе работ, посвященных изучению гистологического строения вилочковой железы, становится очевидно, что определение четких границ дольки не всегда является тривиальным вопросом, и до настоящего времени не разработан единый подход к решению данного вопроса [32, 38, 45, 112].

В каждой дольке можно выделить как корковое, так и мозговое вещество. Корковое вещество находится под капсулой дольки и имеет более тёмный цвет. Оно состоит в основном из зрелых и незрелых тимоцитов — клеток-предшественников Т-лимфоцитов, а также из эпителиоретикулоцитов — клеток эпителиального происхождения, которые формируют сеть внутри дольки [6, 164].

В корковом веществе располагается небольшое количество макрофагов, которые играют роль в удалении тимоцитов, прошедших запрограммированную гибель (апоптоз) в процессе их развития. Это важная функция, которая позволяет отбирать тимоциты с правильными рецепторами на поверхности, которые способны распознавать определенные антигены [87].

Мозговое вещество располагается в центре каждой дольки и имеет более светлую окраску. Оно содержит меньшее количество тимоцитов по сравнению с корковым веществом. Здесь также присутствуют макрофаги и дендритные клетки. Макрофаги выполняют задачу фагоцитоза и удаления старых или поврежденных клеток, а дендритные клетки играют роль в презентации антигенов и активации иммунной ответной реакции [26, 152].

В целом, структура вилочковой железы позволяет оптимизировать процессы развития и отбора иммунных клеток, что является необходимым условием для осуществления эффективного иммунного ответа организма.

Отдельные авторы [6, 48, 132] в дольке вилочковой железы выделяют четыре зоны:

1. Субкапсулярная зона, которая расположена под капсулой железы.
2. Внутренняя кортикальная зона, образующая кору вилочковой железы.
3. Медуллярная зона, также известная как мозговое вещество вилочковой железы.
4. Внутримальное периваскулярное пространство.

Однако, более поздние [12, 89, 97, 101] исследования привели к изменению этой классификации, и теперь принято выделять пять зон вилочковой железы:

1. Подкапсулярная зона, расположенная под капсулой.

2. Центральная зона коры, которая представляет собой основную часть коркового вещества. Здесь находятся главные клетки вилочковой железы – эпителиоциты.
3. Пограничная зона коры, которая находится в контакте с мозговым веществом вилочковой железы.
4. Зона, пограничная с корой, находится между мозговым веществом и корой и выполняет важные функции в развитии Т-лимфоцитов, ключевых клеток иммунной системы.
5. Центральная зона, расположенная внутри мозгового вещества вилочковой железы.

Этот новый подход был предложен на основе более современных исследований и обнаружения более детальных структурных и функциональных особенностей строения вилочковой железы. Понимание этих зон и их роли в иммунной системе может способствовать более точному изучению и пониманию работы этого органа [99].

Эпителиальные клетки вилочковой железы по своей структуре неоднородны в различных зонах. Кортиковые эпителиальные клетки имеют звездчатую форму, обусловленную длинными цитоплазматическими отростками, которые соединяются между собой десмосомами и образуют своеобразную сеть [110].

В цитоплазме кортикальных ретикуло-эпителиальных клеток (РЭК) вилочковой железы находятся округлые или овальные секреторные вакуоли, которые являются одной из характерных особенностей корковых РЭК. Эти вакуоли содержат различные секреторные продукты, такие как кератин, гликозаминогликаны и тимусный гормон, которые играют важную роль в развитии и функционировании вилочковой железы [27, 97, 108, 110].

Кроме того, в наружных и средних частях коркового вещества вилочковой железы обнаружены особые клетки, называемые тимусными "клетками-няньками" (ТКН). Они обычно локализуются в субкапсульной и наружной корковой зоне вилочковой железы. Предполагается, что эти клетки выполняют роль поддержки и

контроля созревания тимоцитов – клеток, из которых формируются Т- лимфоциты [108, 134, 164].

Тимоциты, проходя через корковую зону тимуса, подвергаются различным морфологическим и функциональным изменениям, таким как дифференциация, селекция и отбор клеток с конкретными специализациями. ТКН считаются одним из факторов, способствующих правильному созреванию тимоцитов путем обеспечения оптимальной среды и поддержки для этих процессов [130].

Исследования в этой области все еще продолжаются, и многое еще нужно выяснить о точных механизмах, связанных с ролью ТКН в созревании тимоцитов. Однако, предположение о том, что ТКН играют важную роль в этом процессе, является одной из гипотез, подтверждающих важность РЭК и корковой зоны вилочковой железы в иммунологической регуляции организма [130, 151, 158].

Субкапсулярная зона коры представляет собой сложную сеть эпителиальных ретикулоцитов, в ячейках которой находятся претимоциты, лимфобласты и небольшое количество макрофагов. В этой сети в условиях специфического микроокружения, происходят пролиферация претимоцитов, мигрировавших из костного мозга, а также начальные этапы их дифференцировки [89, 99].

Миоидные или миоэпителиальные клетки, наряду с типичными звездчатыми клетками, являются специализированными ретикулярными клетками кортико-медуллярной зоны (РЭКм). Миоидные клетки обычно имеют овальную или неправильную форму, характеризуются слабо-ацидофильной цитоплазмой и большим светлым ядром. В их цитоплазме присутствуют миофибриллы, аналогичные тем, которые обнаруживаются в мышечных клетках. При использовании метода иммунофлуоресценции было обнаружено, что миоидные клетки содержат белки, характерные для скелетных мышц, кардиомиоцитов миокарда и гладких мышечных клеток. Эти белки также обнаруживаются вокруг миоидных клеток, что указывает на их секрецию в межклеточную среду [99].

Ретикуло-эпителиальные клетки мозговой зоны (РЭКм) представлены в основном "гипертрофированными" РЭК. Эти клетки имеют широкую цитоплазму,

богатую органеллами, содержащую значительное число толстых тонофибрилл, а также единичные электронно-плотные гранулы. РЭКм имеют широкие и короткие отростки, которые на значительном расстоянии контактируют с отростками соседних клеток с помощью десмосом. Клетки на всем протяжении окружены базальной мембраной [93, 99, 110].

В корковом веществе выделяют субкапсулярные эпителио-ретикулоциты, периваскулярные эпителио-ретикулоциты, участвующие в формировании гемато-тимического барьера. Эпителио-ретикулоциты мозгового вещества вместе с дендритными клетками костномозгового происхождения участвуют в отрицательной селекции тимоцитов. Эпителио-ретикулоциты образуют слоистые тельца Гассалья, локализованные в мозговом веществе [1, 87], в них могут обнаруживаться зерна гиалина, а в цитоплазме – дистрофически измененные ядра, состоящие из концентрически организованных кератиновых пластин [11, 99, 110].

Изучение структуры и состава телец Гассалья в вилочковой железе является важной областью исследований, поскольку эти формирования играют значительную роль в развитии и функционировании иммунной системы.

Исследования, проведенные по взаимодействию кровеносных сосудов с тельцами Гассалья вилочковой железы, свидетельствуют о том, что источником формирования телец Гассалья служат клетки периваскулярного эпителия, которые преимущественно находятся в посткапиллярных венулах мозгового вещества. Более того, было продемонстрировано, что тельца Гассалья сохраняют контакт с посткапиллярными венулами в процессе их развития. Эпителиальные клетки, расположенные на периферии телец Гассалья, образуют тесный контакт с кровеносными сосудами мозгового вещества и создают кондуиты в вилочковой железе [13, 41].

Кератиновое ядро является характерной особенностью зрелых телец Гассалья. Оно образуется в результате терминальной дифференцировки эпителиальных клеток, которые экспрессируют белок СК14⁺. При этом клетки формируют сферическую структуру в полости тельца [15, 97].

Кератиновое ядро телец Гассалья выделяется благодаря плотно упакованным тонофиламентам. Тонофиламенты представляют собой структурные компоненты цитоскелета, состоящие главным образом из интермедиатных филаментов кератинового типа. Они характеризуются высокой долей прочности и устойчивостью к различным воздействиям [42].

К стареющим тельцам (или тельцам регрессивного типа) относятся тельца с признаками разрушения ядра или стенки. В процессе старения клеток происходит последовательное разрушение, которое можно разделить на три основных этапа. На первом этапе наблюдается увеличение количества эозинофилов в полости клетки и между слоями кератина. Затем начинается процесс разрушения ядра кератина и высвобождения содержимого эозинофилов, что приводит к значительным изменениям в структуре клетки. [15].

Вторая стадия разрушения характеризуется растущим числом макрофагов в полости тельца и их взаимодействием с эозинофилами. В процессе макрофаги повреждают мембрану внутреннего слоя тельца Гассалья, проникают в эпителиальные клетки и вызывают их разрушение.

На третьей стадии разрушения наблюдается полное истончение и разрыв стенки тельца вследствие разрушительных процессов. Эта стадия является крайне редким явлением. В тех случаях, когда третья стадия развивается, она происходит очень быстро и приводит к быстрому исчезновению обломков тельца. Иногда в таких случаях могут быть обнаружены многоядерные гигантские клетки, которые фагоцитируют обломки разрушенного тельца.

Исследование системной организации телец Гассалья привело к интересным результатам, указывающим на присутствие разнообразных вспомогательных клеток, связанных с этими тельцами. Эти клетки характеризуются различным происхождением, строением и функциями, однако они тесно связаны с тельцами Гассалья как структурно, так и функционально [2].

Важно отметить, что состав вспомогательных клеток изменяется как по качественному, так и по количественному показателям в зависимости от стадии

развития телец. В настоящее время к вспомогательным клеткам телец Гассалья относят: незрелые и созревающие дендритные клетки, интрамедуллярные В-лимфоциты, миоидные клетки, эозинофилы, макрофаги, многоядерные гигантские клетки и нейроэндокринные клетки [11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 99, 123].

Интересно, что другие клетки медулярного вещества, такие как нейтрофилы, базофилы, плазматические клетки, эндотелиальные клетки и гладкомышечные клетки, не вовлечены в формирование телец и не взаимодействуют с ними [13, 14].

Мозговой слой вилочковой железы также содержит лимфобласты, но их количество обычно меньше, чем в корковом слое [1, 6, 15, 19, 109].

Согласно последним исследованиям морфогенеза телец Гассалья, обнаружена значимая роль эозинофилов, которые выполняют специфические функции в дифференцировке тимоцитов. Сопоставление гистологических способов окрашивания, включая гематоксилин-эозин с вариациями и метод Романовского-Гимза, с результатами иммуногистохимической реакции на миелопероксидазу продемонстрировало, что большинство клеток, вырабатывающих миелопероксидазу в тимусе, являются эозинофилами. В ходе исследования была обнаружена связь между этапом развития тельца и локализацией эозинофилов. На каждой стадии развития тельца наблюдаются специфические особенности взаимодействия с эозинофилами. Например, эозинофилы отсутствуют как внутри молодых телец, так и на их периферии. Проникая в полость зрелых телец Гассалья, эозинофилы вызывают разрушение кератинового ядра, активно выделяя литические ферменты. В стареющих тельцах эозинофилы отсутствуют [16, 30, 99, 118, 144].

Исследование системной организации телец Гассалья, проведенное А. Г. Беловешкиным и соавт. (2013), связано с изучением дендритных клеток с использованием маркеров S-100 и CD1a. S-100 является маркером, характерным для дендритных клеток, а CD1a – созревающих дендритных клеток и незрелых лимфоцитов [11, 12].

Дендритные клетки в тимусе имеют специфический паттерн распределения в разных областях и на разных стадиях развития. Незрелые дендритные клетки, которые проявляют положительную реакцию на маркер S-100 и отрицательную реакцию на маркер CD1a, скапливаются на кортико-медуллярной границе, а также мигрируют вглубь мозгового вещества и скапливаются возле телец Гассалья [62, 136, 162].

Тельца Гассалья играют важную роль в процессе обработки антигенов дендритными клетками. Они содержат антигенный материал, который захватывается и обрабатывается незрелыми дендритными клетками. После обработки антигенов дендритные клетки могут представить их тимоцитам, что является важным шагом в развитии противоопухолевого иммунитета [30, 108, 113].

Иммуногистохимическое исследование локализации карциоэмбрионального антигена (CEA) в тимусе человека также подтверждает интенсивную иммунореактивность данного антигена именно внутри телец Гассалья. Это указывает на важную роль телец Гассалья в иммунном процессе и формировании противоопухолевого иммунитета [61].

Исследование с применением методов иммуногистохимии продемонстрировало, что значительная часть клеток, экспрессирующих CD1a, интегрированы непосредственно в структуру телец Гассалья. Эти клетки локализуются между эпителиальными клетками во всех слоях тельца, преимущественно во внутреннем слое, и имеют уплощённую форму. Подобная структура дендритных клеток наблюдается исключительно в тельцах Гассалья тимуса [11, 12, 13, 14, 15, 16, 61, 149].

В результате проведения иммуногистохимического и электронно-микроскопического анализов было выявлено, что макрофаги, экспрессирующие CD68 и ассоциированные с тельцами Гассалья, отличаются по своему строению и выполняют различные задачи. Возможная функция макрофагов, находящихся рядом с внешней оболочкой телец, — поглощение апоптотических тимоцитов. В цитоплазме и на поверхности телец всех стадий развития часто можно найти

апоптотические тельца. Макрофаги, которые находятся в составе тельца, имеют важное значение для разрушения его оболочки. Данные, полученные на ультраструктурном уровне, указывают на интенсивное апоптотическое разрушение тимоцитов в области телец Гассалья и на последующее поглощение апоптотических телец макрофагами [15, 75, 76, 77].

Анализ литературных данных показал, что морфология телец Гассалья довольно-таки полно описана, однако данных о морфофункциональном соотношении телец в условиях увеличенной массы вилочковой железы недостаточно. Кроме того, нет сведений о том, как меняется состав вспомогательных клеток в условиях патологии.

Как мы уже писали выше, вилочковая железа – это орган, который подвергается возрастной инволюции. В молодом возрасте вилочковая железа содержит большую популяцию развивающихся лимфоидных клеток-предшественников. По мере старения вилочковая железа обычно уменьшается в размерах и снижается ее активность, что, по мнению некоторых авторов, может приводить к снижению функции иммунной системы и возрастному иммунодефициту [25, 136].

Во время развития Т-клеток ранние клетки-предшественники сначала попадают в вилочковую железу, где они получают сигналы от кортикальных эпителиоцитов тимуса и начинают дифференцировку по Т-линии. Ранние клетки-предшественники Т-клеток, известные как тимоциты, гематогенно мигрируют в тимус из костного мозга и оседают в кортикальной зоне органа. В процессе взаимодействия с кортикальными эпителиоцитами тимоциты проходят через несколько этапов дифференциации, в результате которых они приобретают свойства и функции Т-клеток. Важной особенностью этого процесса является положительный и отрицательный отбор тимоцитов. Во время положительного отбора тимоциты, которые могут связываться с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) на кортикальных эпителиоцитах, выживают и продолжают свое развитие. В ходе отрицательного отбора тимоциты, которые

распознают свои собственные молекулы МНС слишком сильно, получают сигналы на самоуничтожение путем апоптоза, чтобы избежать развития аутоиммунных реакций [50].

По мере прохождения через разные зоны вилочковой железы и взаимодействия с различными клетками, тимоциты дифференцируются в различные субпопуляции Т-клеток, такие как Т-хелперы (CD4-положительные) и цитотоксические Т-лимфоциты (CD8-положительные).

После того как Т-клетки в тимусе полностью сформировались и разделились на разные типы, они покидают этот орган и отправляются в разные части тела. Там они помогают организму бороться с болезнями и следят за тем, чтобы иммунная система работала правильно.

В костном мозге находятся уникальные клетки, которые способны трансформироваться в различные типы клеток. Эти клетки можно разделить на группы по наличию определённых белков на их поверхности. Попадая в тимус, они становятся предшественниками Т-лимфоцитов, которые, в свою очередь, подразделяются на два типа: CD4⁺ и CD8⁺. На этом этапе предшественники тимоцитов принято обозначать как DN-клетки (дважды негативные клетки Т-линии или CD4⁻CD8⁻). В последующем в тимусе данные клетки дифференцируются в CD4⁺CD8⁺, то есть в дважды положительные (DP) клетки [136, 158, 159].

Выделяют четыре этапа дифференцировки Т-клеток, которые обозначают как DN1, DN2, DN3 и DN4. В научных трудах есть информация о том, что DN-клетки представляют собой неоднородную группу. Они проходят через несколько стадий развития, которые можно описать как фенотипическую прогрессию. Сначала это клетки CD44⁺CD25⁻ (DN1), затем CD44⁺CD25⁺ (DN2), после чего появляются CD44⁻CD25⁺ (DN3), и, наконец, CD25⁻CD44⁻ (DN4). Эти стадии являются частью процесса дифференцировки Т-клеток [115, 128]. На этапе DN1 предшественники лимфоцитов имеют иммунофенотип CD4⁻CD8⁻CD3⁻CD44⁺. Эти клетки хорошо пролиферируют и дают субпопуляции αβ и γδТ-лимфоцитов [121, 134]. Из числа этих клеток особенно интересна малочисленная (около 0,01%) группа ранних

тимических предшественников (ETP), имеющая иммунофенотип $CD4^+CD8^-CD3^-CD25^-CD44^{+}lin^{low}CD117^{high}$ [129, 131, 142, 143, 164, 169].

В работах разных исследователей было установлено, что DN1-клетки — это мультипотентные клетки, которые могут стать основой для развития не только Т-клеток, но и В-лимфоцитов, а также клеток миелоидного ряда [145, 150, 164]. На этапе DN2, когда на поверхности клетки появляется рецептор CD7, эта способность постепенно утрачивается [142, 144, 145]. На этом этапе происходит реорганизация генов Т-клеточного рецептора (TCR), что приводит к образованию популяций $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов. На стадии DN3 на мембране Т-клетки возникает либо $\gamma\delta$ TCR, либо β -цепь TCR в сочетании с $\rho\alpha$. Клетки на этой стадии обладают фенотипом $CD25^-CD44^-$.

Т-лимфоциты, несущие на своей поверхности маркеры CD4 и CD8, переходят в стадию DP, где начинают взаимодействовать с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС), которые экспрессируются клетками стромы тимуса. Это взаимодействие запускает процесс позитивной селекции, в ходе которого отбираются только те клетки, которые обладают оптимальным уровнем аффинности TCR к комплексу «антиген-МНС». Клетки с высоким или низким уровнем аффинности подвергаются апоптозу [171]. После того как клетки проходят через сито положительного отбора, они перемещаются в мозговую зону тимуса и подвергаются отрицательному отбору в отношении сильных взаимодействий TCR-МНС. Этот процесс, который помогает обеспечить самотолерантность, осуществляется медуллярными эпителиоцитами тимуса (МТЕС), которые под контролем аутоиммунного регулятора (AIRE) экспрессируют широкий спектр аутоантигенов, а также с помощью других антиген-представляющих клеток тимуса (APC), таких как дендритные клетки [121, 164].

Отбор и развитие Т-клеток в тимусе способствуют формированию популяции Т-клеток с разнообразным набором TCR, готовых к активации в ответ на специфические антигены. Это важный механизм, обеспечивающий защиту организма от инфекций и развитие иммунного ответа [76, 165, 174].

1.3. Тимомегалия и гиперплазия тимуса: причины, клинические и морфологические критерии диагностики

В настоящее время различий между анатомическими особенностями вилочковой железы, обусловленными полом, весом, возрастом, не существует, так как по данным некоторых авторов ее масса и размеры отличаются большой вариабельностью не только у разных индивидуумов, но и у одного и того же лица. Последнее объясняется подверженностью органа как акцидентальной инволюции, так и случайной причине, которая может вызвать его патологию [50, 52, 53, 54, 55].

Увеличение вилочковой железы у детей представляет собой одну из актуальных проблем современной педиатрии в связи с высокой частотой встречаемости и значимого влияния на танатогенез. Однако в литературе до настоящего времени дискутируется вопрос о терминологии данного процесса и имеется недостаточное количество данных о его морфологических особенностях.

В литературе для обозначения увеличения массы тимуса наиболее широко используют термины «тимомегалия», «гипертрофия тимуса», «гиперплазия вилочковой железы», «синдром увеличенной вилочковой железы», «персистирующий тимус», «тимико-лимфатический диатез», «тимико-лимфатический статус» [37, 49, 52, 53, 104, 106, 107]. В.Б. Гузаревич и соавт. (2005) описывают тимомегалию как состояние, при котором отмечается значительное увеличение размеров центрального органа иммунной системы – вилочковой железы. Дж. Кован (Cowan J.E.) дает следующее определение данному патологическому состоянию: тимомегалия – это увеличение вилочковой железы, характеризующееся увеличением массы и объема паренхимы вилочковой железы выше возрастной нормы при сохранении ее нормального строения и снижении продукции тимических гормонов [106, 159].

По мнению других авторов, тимомегалия – это состояние, при котором увеличивается масса вилочковой железы, но сохраняется ее гистоархитектоника [6,

19, 34, 88, 89]. Однако ни в одной из этих работ не указаны четкие критерии, при которых увеличение массы можно принять за «тимомегалию».

Под термином «гиперплазия тимуса» понимают неопластическое состояние тимуса, характеризующееся увеличением числа составляющих его клеток. Эта концепция была первоначально введена Кастлеманом (Castleman) для определения изменений вилочковой железы при миастении гравис [126].

Многие авторы сходятся во мнении, что увеличение вилочковой железы – патологический процесс, отражающий нарушение функционирования иммунной и нейроэндокринной систем [31, 55, 67, 156].

Л.Г. Кузьменко и соавт. (2016) считают, что большая часть детей и плодов, погибших в перинатальном периоде, имели избыточную массу вилочковой железы. По их данным патогистологические особенности тимомегалии заключались в явлениях гиперплазии лимфоидной составляющей и гипоплазии ретикулоэпителиальной составляющей долек вилочковой железы. При гистологическом исследовании она имела многодольчатое строение с преобладанием корковой зоны, богатой тимоцитами, а также крупными очагами скопления компактно расположенных лимфоцитов. В мозговом слое органа определялись мелкие и редкие тельца Гассалья с сохранными ретикулоэпителиальными клетками, расположенными преимущественно по периферии [55].

Сходные изменения описаны Т.М. Бутко и соавт. (1999) [22], которые отмечали, что тимомегалия связана с изменениями в гистологической структуре вилочковой железы, так, при патогистологическом исследовании увеличенной вилочковой железы авторы наблюдали следующие особенности:

- Гиперплазия лимфоидной составляющей в виде увеличения количества лимфоцитов в органе и повышенной концентрации тимоцитов в корковой зоне.
- Гипоплазия ретикулоэпителиальной составляющей: в случае тимомегалии выявляются ретикулоэпителиальные клетки пониженной активности, или их количество может быть уменьшено.

- Многодольчатое строение с преобладанием корковой зоны: в гистологическом образце вилочковой железы можно наблюдать наличие многочисленных долек, представляющих собой несколько закрытых полостей.
- Крупные очаги скопления компактно расположенных лимфоцитов.
- Мелкие и редкие тельца Гассалья.

Все эти патогистологические особенности свидетельствуют о нарушениях в структуре и составе клеток тимуса при тимомегалии. Авторы считают, что для более точного диагноза и оценки степени изменений требуется комплексный анализ, включающий клинические данные и дополнительные иммуногистохимические и молекулярные исследования [22].

Изучение телец Гассалья привлекало внимание большого количества исследователей. Так, по результатам клинко-морфологического анализа, основанного на изучении результатов 40 аутопсий детей с гиперплазией тимуса в возрасте от 1 года до 5 лет, проведенного на базе Курского патологоанатомического бюро, было установлено, что во всех случаях у умерших детей с гиперплазией вилочковой железы в увеличенной железе содержались тельца Гассалья с признаками некроза и кистозной трансформации. Авторы считают, что данный признак может быть рассмотрен как морфологическая особенность тимомегалии. Кроме того, более чем в 70% случаев в мозговом веществе тимуса было обнаружено обызвествление детрита тимических телец. Кальцинаты, свободно лежащие в паренхиме тимуса, напротив, встречались значительно реже [84, 85].

По мнению некоторых авторов [16], формирование кальцинатов может быть следствием некоторых физиологических процессов, таких как повышенный уровень клеточной гибели в тельцах Гассалья. Данные процессы могут происходить в разные периоды жизни человека, включая первый месяц после рождения.

По другим данным, транзиторная инволюция телец Гассалья, которая наблюдается у людей в течение неонатального периода, также может быть связана с адаптацией иммунной системы. В этот период происходят активные изменения в

системе иммунитета, и механизмы инволюции телец могут быть вовлечены в этот процесс [169].

В исследовании Л.В. Волковой и соавт. (2014) был проведен клинко-морфологический анализ летальных исходов и морфологическое исследование парафиновых срезов увеличенной вилочковой железы при окраске гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, иммуногистохимическом окрашивании с применением антител к панцитокератину [100]. Авторы оценивали выраженность стромального компонента вилочковой железы, подсчитывали тельца Гассала на различных стадиях их развития – от укрупнения ретикулоэпителиальных клеток до формирования кистозно-измененных телец с некрозом и обызвествлением. Установлено, что в значительной доле аутопсий детей, умерших в перинатальный период и на первом году жизни, отмечались изменения стромального компонента с тенденцией к склерозу междольковых перегородок. В ряде случаев обнаруживались группы жировых клеток, увеличение числа телец Гассала с признаками кистозной трансформации и формированием кальцификатов [84, 100].

Признаки снижения функции Т-клеточного звена иммунной системы при тимомегалии многие авторы объясняют влиянием увеличенной вилочковой железы на клеточную и эндокринную функции органа. При увеличенной вилочковой железе наблюдаются снижение численности Т-лимфоцитов и изменение их субпопуляционного состава, что является результатом дисбаланса в клеточной дифференцировке и миграции Т-клеток. Имеются данные о том, что ослабление функциональной активности Т-лимфоцитов может быть связано с изменениями в их рецепторном аппарате или с дефектами в механизмах активации и пролиферации клеток. Кроме того, снижение сывороточного уровня гормонов тимуса, таких как тимозин и тимопоэтин, отражает эндокринную активность тимуса [31].

Факторы, способствующие возникновению тимомегалии, могут быть связаны с неблагоприятными воздействиями в первом триместре беременности, а также в процессе внутриутробного развития плода. Однако конкретные

механизмы, по которым эти воздействия могут привести к увеличению вилочковой железы, не всегда ясны. Так, ряд авторов отмечают, что некоторые из возможных этиологических факторов тимомегалии могут включать: генетические факторы, инфекции, аутоиммунные заболевания, общие факторы риска (курение, употребление алкоголя, нарушения в питании или экологические факторы) [6, 49, 89].

Другие исследователи [82] отмечают, что тимомегалия чаще встречается у детей раннего возраста с отягощённой наследственностью с аллергическими, аутоиммунными заболеваниями, а также отягощённым акушерским анамнезом. Увеличение вилочковой железы наблюдается у детей от матерей с изменённой реактивностью, имевших в анамнезе проявления пищевой или лекарственной аллергии, угрозу выкидыша, токсикоз беременности, заболевания во время беременности, различные профессиональные вредности, а также аллергические, аутоиммунные заболевания или различные иммунодефицитные состояния. Нередко при этом присоединяется наследственная отягощённость по эндокринным, онкологическим, грибковым заболеваниям. Большое значение в этиологии синдрома увеличения вилочковой железы у детей придается внутриутробному инфицированию [49].

Тимомегалия может быть врожденной и приобретенной, транзиторной и стойкой. Л.П. Андриеш и соавт. (2018) [36] отмечают, что в период младенчества тимомегалия, как правило, носит первичный (врожденный) характер и нередко сопряжена с такими стигмами дизэмбриогенеза, как: грыжи, гипертелоризм глаз и сосков, толстые губы, широкие ладони и стопы, короткие пальцы [106, 107]. По мнению Ю.И. Ровды и соавторов (2020), Врождённая гиперплазия тимуса приводит к уменьшению выработки гормонов из-за нарушений в работе нейроэндокринной системы. Также наблюдается разрастание лимфоидной ткани, нарушение обмена веществ и врождённые патологии развития различных органов и систем [9].

У детей с тимомегалией выявляются особенности нервной системы. В работе Л.Г. Кузьменко (2012) после проведенного анализа протоколов вскрытия детей,

умерших в антенатальный и интранатальный периоды, была установлена большая частота микроцефалии, асимметрии развития мозга, аплазии и гипоплазии разных отделов головного мозга, внутренней гидроцефалии. Также у детей с тимомегалией с большей частотой выявлялись врожденные пороки сердца и легких, снижение функции паращитовидных желез на первом году жизни [52, 53].

По результатам исследования размеров тимуса, внутриутробной инфицированности и врожденных пороков развития, у плодов разных сроков гестации и новорожденных детей, проживших не более 48 часов, было установлено, что врожденные пороки развития и фетодисплазии статистически достоверно чаще выявлялись у плодов с тимомегалией. Частота выявления пороков развития и фетодисплазий у плодов с тимомегалией допускает возможность того, что внутриутробно сформированная тимомегалия является вариантом порока развития. Л.Г. Кузьменко и соавторы (2015) в своем исследовании заключают, что риск перинатальных потерь согласуется с величиной тимуса: он наименьший у индивидов со средней величиной тимуса и наибольший – у плодов с тимомегалией [53, 54].

Исследования, направленные на изучение клинических и клинико-лабораторных признаков тимомегалии у детей, продемонстрировали, что у этой категории пациентов могут возникать симптомы, связанные со сдавлением органов средостения. Среди таких симптомов можно выделить сухой кашель, шумное дыхание и набухание шейных вен. Также у детей с тимомегалией наблюдается гиперплазия лимфоидного аппарата, увеличение количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови. Кроме того, у таких детей могут наблюдаться нарушения в работе надпочечников и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [9].

В другом исследовании было показано, что у детей с тимомегалией наблюдается снижение количества Т-клеток в периферической крови, особенно CD4+ хелперов. Последнее происходит при увеличенном поступлении незрелых лимфоцитов в тимус, но в связи с нарушением их дифференцировки большая часть

этих клеток подвергается апоптозу [57, 60]. Исследование иммунного статуса у детей с тимомегалией на фоне простого и острого обструктивного бронхитов выявило снижение уровней Ig A, Ig M, Ig G, более того, эти показатели после иммунокоррекции не достигли контрольных значений [109]. Это дает основание предполагать восприимчивость детей с тимомегалией к инфекциям разной этиологии. У детей с увеличенной вилочковой железой наблюдается более высокий уровень Ig E и В-лимфоцитов, а содержание Т-супрессоров может быть ниже нормы. Дефицит Т-супрессоров может быть как пороком развития вилочковой железы, так и может возникнуть под влиянием различных причин, в том числе вирусных инфекций. При этом ряд исследований показывает, что дети с тимомегалией чаще подвержены инфицированию вирусными агентами [105, 106].

Существует мнение, согласно которому тимомегалия является патологическим состоянием, сопровождающимся иммунодефицитом и нарушением функции нейроэндокринной системы [9]. В одном из исследований клинических, лабораторных и функциональных особенностей детей раннего возраста с синдромом увеличения вилочковой железы, исходя из анализа гемограмм, было отмечено отличие показателя содержания Ca^{++} от нормативных значений. Фенотипический анализ лимфоцитов показал статистически значимое уменьшение относительного количества $CD3^+$ и $CD4^+$ лимфоцитов у всех детей с тимомегалией, особенно на фоне острого обструктивного синдрома. Также был обнаружен повышенный уровень $CD16^+$ (у 60% детей) и $CD19^+$ (у 70%) по сравнению с показателями практически здоровых детей. У детей с острой бронхолегочной патологией без тимомегалии было выявлено значительное увеличение количества $CD3^+$ и $CD4^+$ лимфоцитов. В ходе данного исследования под наблюдением находились 168 детей с острой пневмонией, ассоциированной со стойкой тимомегалией разной степени выраженности. Авторы пришли к выводу, что тимомегалия у детей раннего возраста, страдающих острой бронхолегочной патологией, обуславливает ее тяжелое течение [36].

Yang M. и соавт. (2021) описали клинический случай 3-х месячного пациента с синдромом тахипноэ. При ультразвуковом исследовании органов грудной клетки у него было выявлено увеличение вилочковой железы. При проведении чрескожной тонкоигольной биопсии и дальнейшем гистологическом и цитологическом исследовании биоптата были обнаружены пролиферирующие лимфоциты и тельца Гассалья с положительной экспрессией на CD3, CD19, CD20, CD99 [151].

Существует предположение, что у некоторых детей с увеличенной тимусом по прошествии определённого времени (3–5 лет) часто наблюдается исчезновение симптомов увеличения лимфатических узлов, нормализация размеров тимуса, снижение заболеваемости респираторными инфекциями до уровня, характерного для общей популяции, а также восстановление «иммунного профиля» крови. Тимус, по-видимому, «дозревает» и позже выходит на оптимальный уровень функционирования, после чего происходит его возрастная инволюция. Возможно, существуют определённые причины, которые обуславливают эту временную задержку в развитии морфофункционального статуса тимуса, например, связанные с внутриутробным развитием или генетические факторы. [10].

Синдром внезапной смерти детей грудного возраста, или синдром внезапной детской смертности (СВДС) – это внезапная смерть ребенка в возрасте от 7 дней до одного года жизни, которая остается необъяснимой после проведения полного посмертного исследования, включающего вскрытие, исследование места смерти и анализ медицинской документации. По мнению исследователей Оксфордского университета, СВДС входит в тройку основных причин смерти детей в первый год жизни (наряду с врожденными аномалиями и перинатальными состояниями), на его долю в разных странах приходится до 30% в структуре младенческой смертности. СВДС составляет 1 случай на 2000 новорожденных, 90% приходится на возраст между 1-м и 6-м месяцем жизни ребенка, приблизительно 60% погибших – мальчики [111, 173].

Некоторые авторы рассматривают тимомегалию как один из диагностических признаков, обнаруженных при аутопсии детей, умерших от СВДС [35, 64, 104, 105, 111].

Гистологическое исследование вилочковой железы детей, умерших от СВДС, показывает особенности в ее строении. Она может иметь многодольчатое строение с преимущественным увеличением корковой зоны, содержащей много тимоцитов, а также очагами скопления компактно расположенных лимфоцитов. Помимо этого, в мозговом слое вилочковой железы наблюдаются мелкие и редкие тельца Гассала [29].

Б.Н. Цибель и А.К. Бочкарева (1998) считали, что СВДС может быть связан с гипоплазией надпочечников. В результате недостаточности коры надпочечников развивается кортикальная недостаточность, что влечёт за собой вторичную гиперплазию вилочковой железы. Это может привести к нарушению гормонального гомеостаза, увеличению числа незрелых лимфоцитов и дефициту элементов клеточного иммунитета, что может способствовать формированию жизнеугрожающих состояний [111].

Из проведенного анализа литературных данных видно, что исследователи уделяют большое внимание морфофункциональной оценке увеличенной вилочковой железы, однако, до сих пор нет единого подхода к определению критериев гиперплазии и тимомегалии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы

В работе проанализированы данные 922 протоколов вскрытия трупов плодов и новорожденных раннего неонатального периода в стационарах города Саратова с 2017 по 2021 годы. Из 922 случаев 508 составили плоды, погибшие в анте- и интранатальном периодах (282 мужского пола и 226 женского) и 414 новорожденных, умерших в раннем неонатальном периоде (230 мужского пола и 184 женского) (Рисунок 1, Таблица 1). При формировании когорты исследования были выделены следующие критерии включения в исследование: срок гестации свыше 18 недель, отсутствие признаков аутолиза у плодов, продолжительность жизни до 168 часов у живорожденных, наличие в протоколе патологоанатомического вскрытия данных о массе вилочковой железы и массе тела на момент смерти. Критерии исключения: аномалии закладки тимуса: агенезия, атипичная локализация, добавочные доли вилочковой железы, опухолевая трансформация тимуса, отсутствие в протоколе патологоанатомического вскрытия данных о массе вилочковой железы или о массе тела. Исследование является выборочным из генеральной совокупности плодов и детей, умерших в анте-, интра- и раннем неонатальном периодах, предварительный расчет размера выборки не производился.



Рисунок 1 – Структура секционного материала

Таблица 1 – Основные причины смерти плодов и новорожденных

Причины смерти по классам МКБ	Количество случаев	
	Анте-интранатальный периоды	и Ранний неонатальный период
P20-P29 Дыхательные и сердечно-сосудистые нарушения, характерные для перинатального периода	365	187
P35-P39 Инфекционные болезни, специфичные для перинатального периода	18	49
P50-P61 Геморрагические и гематологические нарушения у плода и новорожденного	-	70
P75-P78 Расстройства системы пищеварения у плода и новорожденного		7
Q00-Q99 Врожденные пороки развития: Q00-Q07 Врожденные аномалии нервной системы Q20-Q28 Врожденные аномалии системы кровообращения Q30-Q34 Врожденные аномалии органов дыхания Q38-Q45 Врожденные аномалии органов пищеварения Q00-Q07 Хромосомные нарушения	121	74
Другие единичные случаи	4	27

2.2. Методы исследования

2.2.1. Морфологические и морфометрические методы исследования

Для установления соответствия массы вилочковой железы возрасту и массе тела ребенка рассчитывали тимический индекс (ТИ%), как отношение массы вилочковой железы к массе тела в граммах, выраженное в процентах.

$$\text{ТИ}\% = \frac{\text{масса тимуса, в граммах}}{\text{масса тела, в граммах}} \times 100\%$$

Для гистологического исследования сырой материал изымался во время аутопсий и помещался в забуференный 10%-й раствор формалина. Через 24 часа материал подвергали стандартной спиртовой проводке с использованием изопропилового спирта и последующим изготовлением парафиновых блоков. Микротомию проводили на ротационном микротоме Sakura Accu-Cut SRM 200 при толщине среза 5 мкм. Обзорное микроскопическое исследование проводили на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином.

Морфометрические измерения и микрофотографирование производили не менее чем в 10 полях зрения каждого микропрепарата при помощи микровизора mVizo-103. В каждом случае оценивали толщину капсулы вилочковой железы, площадь долек, площадь мозгового вещества, площадь коркового вещества, количество долек, граничащих в поле зрения (при увеличении 64,6x), количество телец Гассалья в поле зрения (при увеличении 246,4x), площадь телец Гассалья. Кроме того, высчитывали индексы мозгового (ИМВ%) и коркового вещества (ИКВ%), как отношение соответствующей площади к площади дольки, выраженное в процентах по формулам:

$$\text{ИМВ}\% = \frac{\text{площадь мозгового вещества}}{\text{площадь дольки}} \times 100\%$$

$$\text{ИКВ}\% = \frac{\text{площадь коркового вещества}}{\text{площадь дольки}} \times 100\%$$

Для оценки морфофункционального состояния телец Гассалья в 10 случайных полях мозгового вещества долек вилочковой железы подсчитывали их количество

и определяли степень их зрелости (при увеличении 774,0x) с применением классификации, предложенной А. Г. Беловешкиным (2013) [12].

Для выявления гистологических признаков увеличения вилочковой железы из всех случаев, попавших в исследование, были взяты случаи смерти детей в раннем неонатальном периоде (n= 414). Для установления соответствия массы вилочковой железы возрасту и массе тела ребенка рассчитывали тимический индекс. Морфометрическое исследование выполняли при помощи микровизора mVizo-103.

2.2.2. Иммуногистохимические методы

60 образцов секционного материала вилочковой железы новорожденных, умерших в раннем неонатальном периоде, были исследованы с применением иммуногистохимических (ИГХ) методов для оценки клеточной популяции вилочковой железы и структуры телец Гассала.

В работе использовали коммерческие антитела CD1a, CD3, CD68, CD163, СК19, Pan-СК (Таблица 2). ИГХ- окраску выполняли при помощи мульти-мерной безбиотиновой системы детекции Reveal – Biotin-Free Polyvalent DAB (Spring Bioscience Corp., США). При проведении иммуногистохимических реакций в обязательном порядке были поставлены положительные и негативные внешние контроли.

Таблица 2 – Иммуногистохимические маркеры, применявшиеся в исследовании

Антитела (клон)	Клональность/ источник (Разведение)	Производитель, страна	Цель
CD1a	Моноклональные/ кроличьи (1:1000)	Abcam, Великобритания	Незрелые тимоциты
CD3 (SP7)	Моноклональные/ кроличьи (1:1000)	Abcam, Великобритания	Зрелые тимоциты
CD68 (E19194)	Поликлональные/ кроличьи (1:1000)	Spring Bioscience, США	Макрофаги (M1), В-лимфоциты, плазматические

Продолжение Таблицы 2

			клетки, тучные клетки, базофилы.
CD163 (E18684)	Поликлональные/ кроличьи (1:200)	Spring Bioscience, США	Макрофаги (M2), моноциты
СК-19 (RCK108)	Моноклональные/ мышинные (1:50)	ДАКО, США	Эпителиальные клетки тимуса
Pan-СК (AE1/AE3)	Моноклональные/ мышинные (1:500)	Cell Marque "Sigma-Alorich", США	Эпителиальные клетки тимуса

1. **CD1a** – антигенпрезентирующий белок, который связывает собственные и чужеродные липидные и гликолипидные антигены и представляет их Т-клеточным рецепторам естественных киллеров, выявляется в незрелых тимоцитах.
2. **CD3** – антиген представляет собой белковый комплекс и Т-клеточный корцептор, который участвует в активации как цитотоксических Т-клеток, так и Т-хелперных клеток. Используется для выявления зрелых Т-лимфоцитов.
3. **CD68** – гликопротеин из семейства лизосомально-ассоциированных мембранных белков (LAMP - Lysosomal-associated membrane protein). Экспрессируется на поверхности макрофагов (M1), моноцитов, базофилов, тучных клеток и В-клеток.
4. **CD163** – высокоаффинный скавенджер-рецептор (рецептор-«мусорщик»), экспрессируется на клетках-макрофагах (M2).
5. **СК-19** – низкомолекулярный цитокератин, в норме экспрессируется в цитоплазме эпителиальных клеток тимуса.
6. **Pan-СК** – смесь двух моноклональных антител: AE1 окрашивает большинство кислых кератинов, а AE3 – большинство основных, данная комбинация имеет широкий спектр, позволяющий выявлять практически все типы эпителия, при этом отсутствует перекрестная реактивность с другими промежуточными филаментами.

Антителами к CD1a определяли популяцию незрелых лимфоцитов в корковом и мозговом слоях вилочковой железы [116, 146]. Антителами к CD3 в исследовании производили оценку активности тимопоэза и выявления популяции

зрелых Т-лимфоцитов [7, 19, 108, 109, 122, 123]. Антитела к CD68 и CD163 использовали для выявления макрофагов, моноцитов, базофилов, тучных клеток и В-клеток. Для выявления эпителиальных клеток вилочковой железы были использованы рап-СК и СК-19.

Уровень экспрессии оценивали путем подсчета доли клеток с положительной экспрессией маркера на 1000 клеток в 10 случайных полях зрения вилочковой железы при увеличении 774,0 х, выраженный в процентах. Оценку производили отдельно в корковом и мозговом веществе.

2.2.3. Статистические методы анализа

Статистическую обработку данных выполняли при помощи программного пакета Microsoft Excel 2010.

Для общих обзорных статистических целей при помощи критерия Шапиро-Уилка был проведен анализ нормальности распределения данных, по результатам которого было установлено, что распределение полученных данных не соответствует нормальному.

Исходя из этого, при расчете описательных характеристик рядов данных и описания групп, выделенных в исследовании, были рассчитаны следующие параметры: медианы (Me), 25-й и 75-й перцентили (Q1 и Q3), а также максимумы (max) и минимумы (min). Для выявления статистически значимых отличий рассчитывали непараметрические критерии.

Для определения характера, степени и силы взаимного влияния тех или иных признаков друг на друга рассчитывали непараметрический коэффициент корреляции (R) Спирмена, а затем производили оценку степени тесноты их связи по шкале Чеддока. Установление силы связей необходимо для выявления наиболее значимых параметров при оценке массы вилочковой железы. Завершающим этапом этого раздела статистического анализа было вычисление уравнений линейной и полиномиальной регрессии через встроенные в Microsoft Excel

операторы. Полиномиальная регрессия – непараметрический эквивалент линейной регрессии, его применение обусловлено ненормальностью распределения исследуемых показателей, этот метод позволяет математически более точно описать зависимость одного параметра от другого (массы тимуса от массы тела).

Для определения достоверности отличий в группах был использован непараметрический критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными на уровне значения $Z > 2,01$; $p < 0,05$ [68].

С целью выявления факторов риска и их возможного влияния на исход был рассчитан непараметрический критерий χ^2 Пирсона, в том числе и по методу многопольных таблиц, что позволило выявить заболевания, которые более часто сопровождаются гиперплазией вилочковой железы, а также оценить статистическую значимость различий двух или нескольких относительных показателей (частот, долей) [68].

Для дополнения и подтверждения выявленных взаимосвязей рассчитывали критерий соотношения шансов, отражающий, насколько наличие определённого исхода связано с присутствием или отсутствием определённого фактора в конкретной статистической группе [68].

2.3. Дизайн исследования

Диссертация имеет 3 главы, посвященных результатам собственных исследований. На первом этапе было проанализировано 922 протокола вскрытия и получены данные о соответствии массы вилочковой железы массе тела в разные периоды гестационного возраста у плодов и новорожденных в раннем неонатальном периоде. Статистические методы позволили отобрать группу ($n=451$), на основании которой была сформирована таблица с морфометрическими данными вилочковой железы (Рисунок 2).

На втором этапе было проведено гистологическое исследование 414 случаев ранней неонатальной смерти и проведен сравнительный анализ двух групп (вилочковой железы с нормальной массой и увеличенной массой) с применением морфометрических и иммуногистохимических методов, установлены гистологические признаки увеличения вилочковой железы (Рисунок 3).



Рисунок 2 – Блок-схема исследования динамики массы вилочковой железы в перинатальном периоде

Включение только случаев ранней неонатальной смерти было обусловлено тем, что именно в неонатальном периоде вилочковая железа начинает

функционировать как самостоятельный орган (выполняя иммунную и эндокринную функции) и не подвержена влиянию организма матери, что является наиболее актуальным по сравнению с плодами, умершими в анте- и интранатальном периодах. На последнем этапе в этих же двух группах проведено ИГХ-исследование, описаны ИГХ-профиль клеточных популяций тимуса, особенности телец Гассалья и их клеточного микроокружения (Рисунок 3).

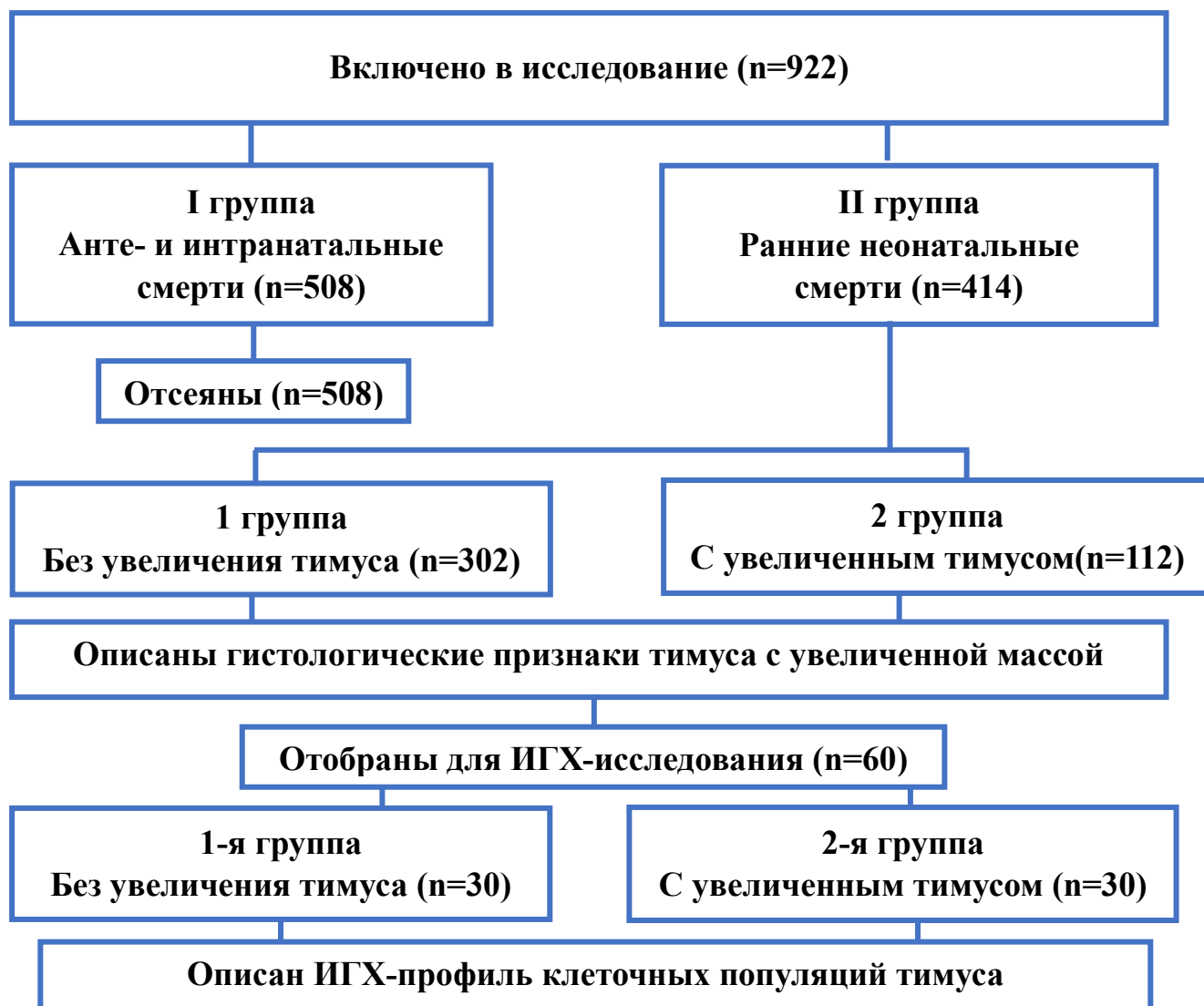


Рисунок 3 – Блок-схема исследования гистологического и ИГХ исследования увеличенной вилочковой железы

Критерии включения в исследование: срок гестации свыше 18 недель, отсутствие признаков аутолиза у плодов и продолжительность жизни до 168 часов

у живорожденных, наличие в протоколе патологоанатомического вскрытия данных о массе тимуса и массе тела на момент смерти.

Критерии невключения: аномалии закладки тимуса: агенезия, атипичная локализация, добавочные доли тимуса.

Критерии исключения: отсутствие в протоколе патологоанатомического вскрытия данных о массе тимуса.

Описание критериев соответствия (диагностические критерии)

Главными исследуемыми показателями явились масса тела новорожденного или плода и масса его тимуса, а также показатели взаимосвязи этих параметров (тимический индекс, коэффициенты корреляции).

ГЛАВА 3. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ МАССЫ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ, ПОГИБШИХ В АНТЕ-, ИНТРА- И РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДАХ

3.1. Динамика изменений массы вилочковой железы плодов и новорожденных в зависимости от сроков гестации и продолжительности жизни

Масса органа – одна из самых доступных его характеристик при макроскопическом исследовании трупа. Именно на массу и размеры органа взгляд патологоанатома обращен в первую очередь. Для объективной оценки данных параметров врачи-патологоанатомы используют таблицы с морфометрическими характеристиками различных органов. Особенно актуальна разработка такой таблицы для массы вилочковой железы в перинатальном периоде, когда идет ее развитие, и она имеет влияние на течение любого патологического процесса.

На основании анализа 922 протоколов вскрытия умерших плодов и новорожденных раннего неонатального периода было установлено, что у плодов масса вилочковой железы поступательно увеличивается с 18 по 39 неделю гестации, после чего наблюдается ее снижение, к моменту родов масса вилочковой железы приближается к значениям 38 недели. В результате проведения корреляционного анализа с применением непараметрического метода Спирмена была установлена прямая сильная корреляция ($R_{\text{Спирмена}} = 0,71$; $p < 0,001$). Однако обращает на себя внимание характеристика линии графика, которая имеет зигзагообразный характер, что свидетельствует о том, что периоды увеличения массы вилочковой железы чередуются с периодами ее снижения (Рисунок 4).

У новорожденных в раннем неонатальном периоде отмечается снижение массы вилочковой железы к третьему дню жизни на 25% относительно момента

рождения, что, вероятно, связано с процессами адаптации и физиологической убылью веса новорожденного. Дальнейшее снижение массы вилочковой железы с 5 дня жизни, вероятно, обусловлено развитием патологических процессов (Рисунок 5). Корреляционный анализ показал наличие обратной корреляции слабой силы ($R_{\text{Спирмена}} = -0,18$; $p = 0,006$).

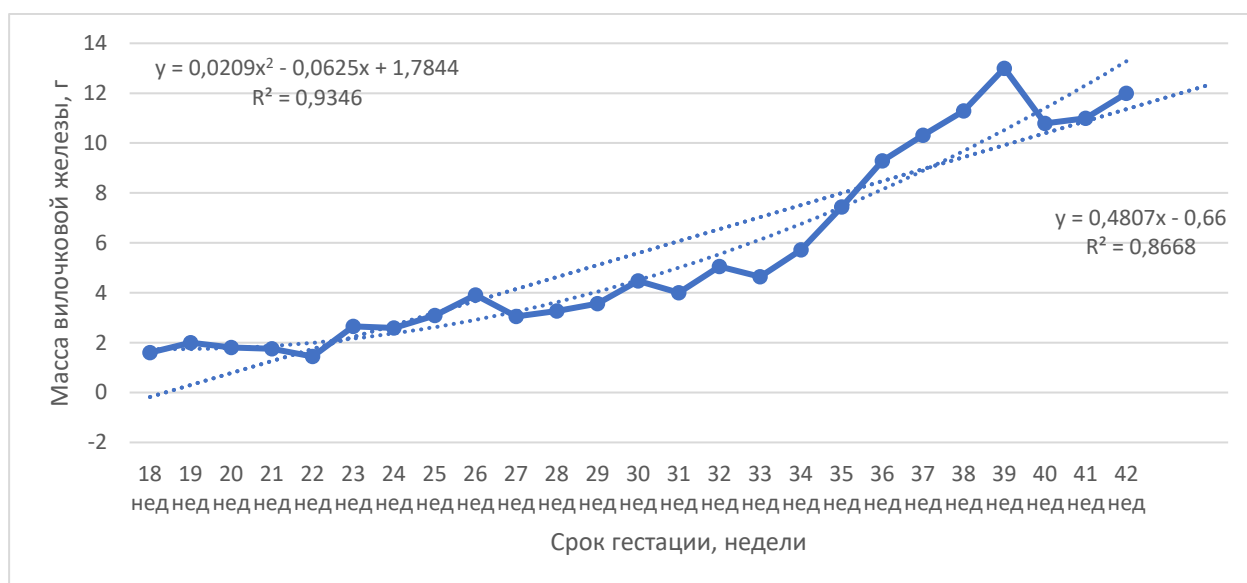


Рисунок 4 – Масса вилочковой железы плодов, умерших в антенатальном, интранатальном периоде, в зависимости от срока гестации

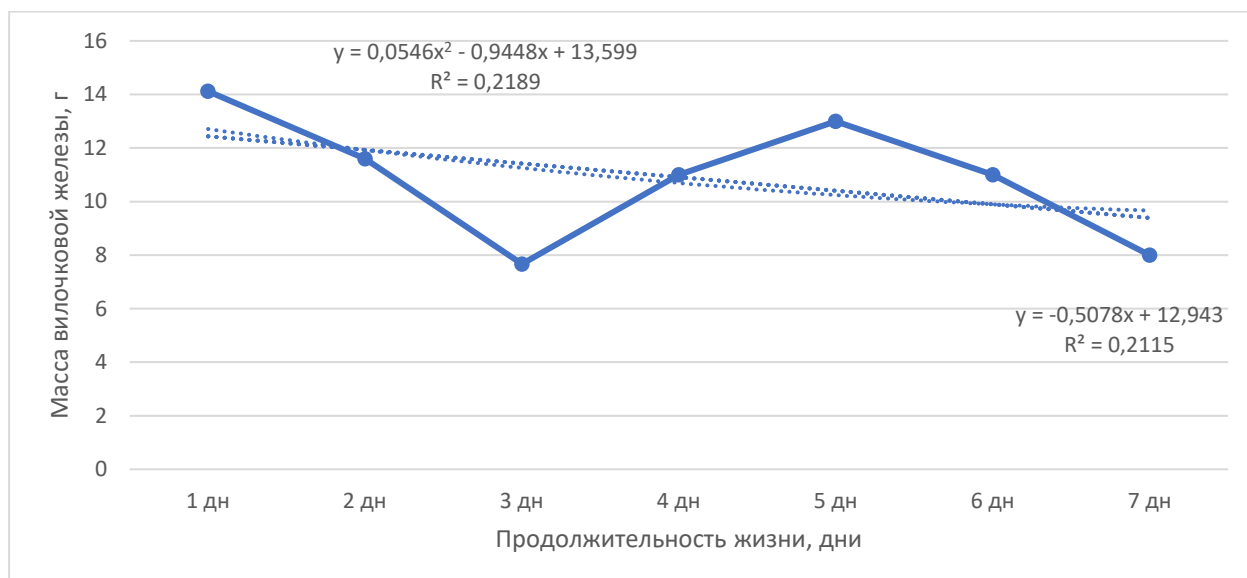


Рисунок 5 – Масса вилочковой железы новорожденных, умерших в раннем неонатальном периоде, в зависимости от продолжительности жизни

В результате исследования, направленного на изучение изменения веса тимуса в зависимости от срока беременности и продолжительности жизни младенцев, было установлено, что увеличение тимуса не подчиняется линейной зависимости от этих факторов. В связи с этим, на следующем этапе исследования был проведён анализ изменения веса тимуса в зависимости от массы тела.

При изучении динамики изменения массы вилочковой железы в зависимости от массы тела были выявлены следующие тенденции. Масса вилочковой железы увеличивается согласованно с массой тела до веса в 3500 г, затем также наблюдается незначительное снижение ее массы с последующим восстановлением до исходного уровня. Вероятно, причины этого явления те же – физиологическое снижение массы и начало адаптационных процессов в организме новорожденного (Рисунок 6).

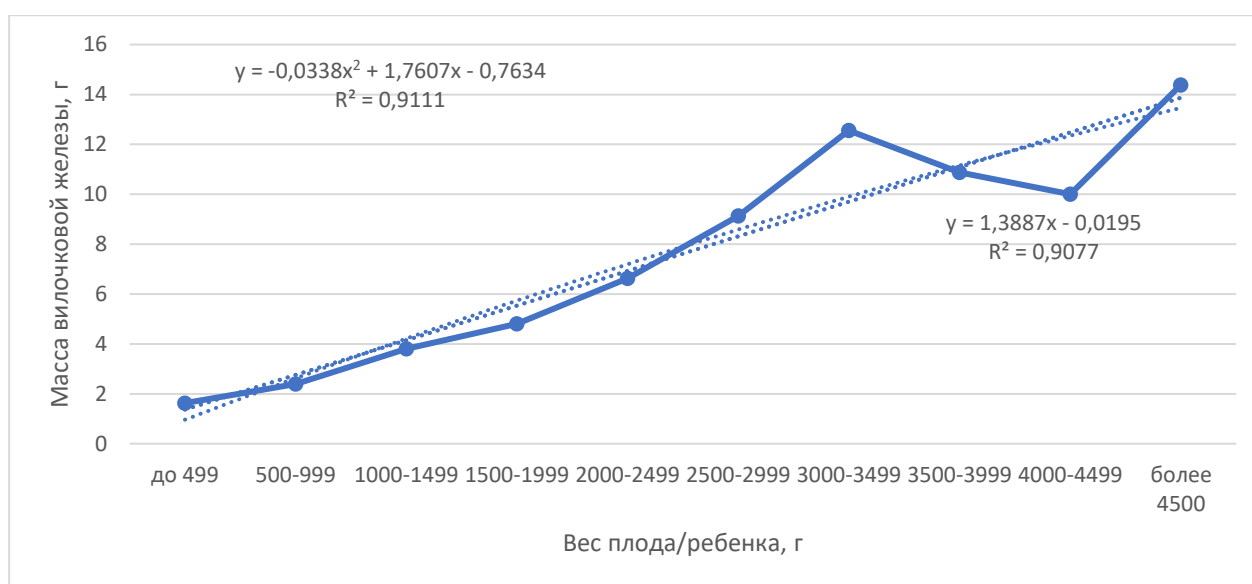


Рисунок 6 – Масса вилочковой железы плодов, умерших в антенатальном, интранатальном периоде, и новорожденных, умерших в раннем неонатальном периоде, в зависимости от массы тела

В нашем исследовании мы попытались выявить различия в динамике изменения массы вилочковой железы между группой плодов и группой новорожденных. Однако при выделении соответствующих подгрупп не было отмечено существенных отличий (Рисунок 7). В результате проведения

корреляционного анализа была установлена прямая сильная корреляция ($R_{\text{Спирмена}} = 0,71; p < 0,001$).

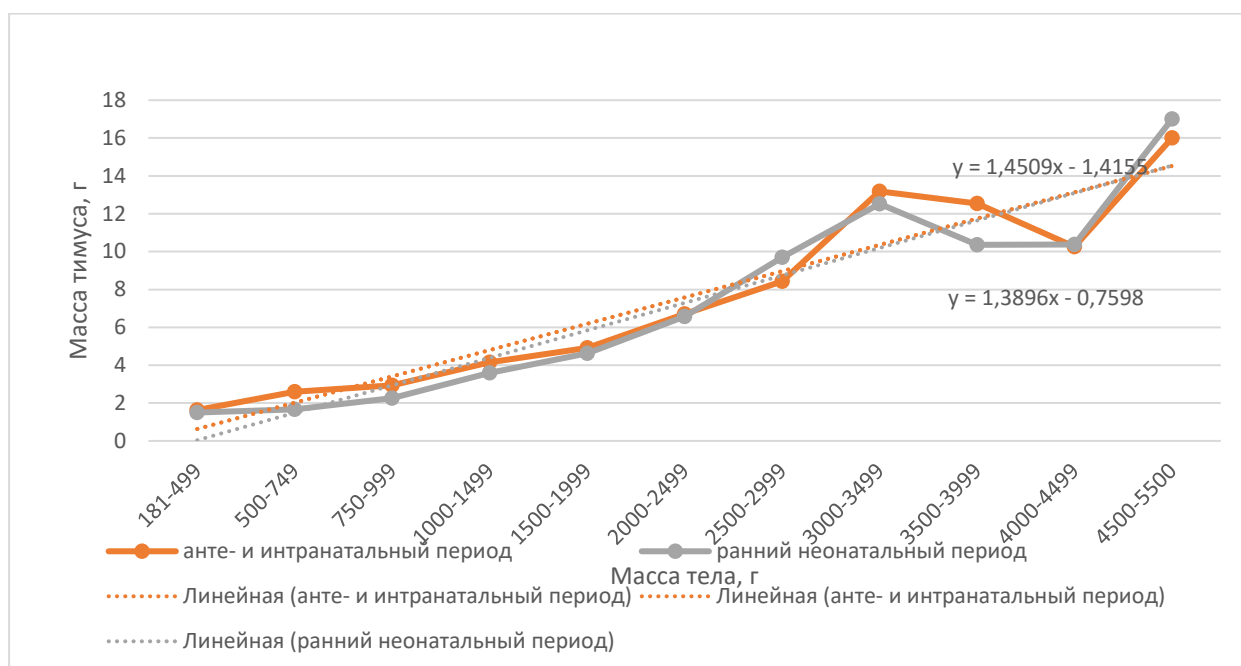


Рисунок 7 – Медиана массы вилочковой железы плодов и новорожденных в соответствии с массой их тела

Проведенный регрессионный анализ показал, что значения коэффициентов корреляции массы вилочковой железы и массы тела, а также массы вилочковой железы и срока гестации совпадают, а массы вилочковой железы и продолжительности жизни характеризуются слабой связью. Анализ уравнений полиномиальной и линейной регрессии показал, что зависимость массы тимуса от массы тела больше похожа на линейную. Это позволяет утверждать, что оценка массы тимуса по массе тела более точна и объективна.

3.2. Характеристика массы вилочковой железы у плодов и новорожденных, погибших в раннем неонатальном периоде от заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза

В предыдущем разделе было установлено, что для определения объективных значений массы вилочковой железы следует ориентироваться на массу тела плода или ребенка. Учитывая, что вилочковая железа является центральным органом иммуногенеза, в ней развиваются реактивные изменения, которые изменяют ее морфометрические показатели. Известно, что наибольшее напряжение на иммунную систему человека приходится на период развития инфекционных заболеваний, когда она мобилизует свои защитные механизмы для борьбы с инфекцией. В этот период иммунная система проявляет себя в полной мере, используя различные компоненты, включая Т-лимфоциты, которые развиваются, активируются и копируются под воздействием инфекции. Именно поэтому было решено проанализировать различия в массе вилочковой железы детей с верифицированной инфекционной и неинфекционной патологией.

Для этого были выделены две группы: 1 группа – плоды и новорожденные, умершие от инфекционных заболеваний (n=67), и 2 группа – плоды и новорожденные, умершие от неинфекционных заболеваний (n=855).

Исследование продемонстрировало, что вес детей, относящихся ко второй группе, в два раза превосходил вес детей из первой группы. Такие же различия были выявлены и в массе тимуса (Таблица 3). Таким образом, динамика изменения массы тимуса по отношению к общей массе тела была схожей независимо от типа заболевания.

Основываясь на полученных результатах, было принято решение провести исследование динамики интегрального показателя, известного как тимический индекс (ТИ%), который широко применяется в работе педиатров и специалистов по ультразвуковой диагностике.

Таблица 3 – Показатели массы тела и вилочковой железы у плодов и новорожденных, умерших от инфекционных и неинфекционных заболеваний

Показатель Группа	Масса тела Me {Q1-Q3} (min-max)	Масса вилочковой железы Me {Q1-Q3} (min-max)
1 группа (инфекционные заболевания)	1230 {716-2370} (200-5800)	3 {2-6} (1-49)
2 группа (неинфекционные заболевания)	2700 {1621-3530} (630-5786)	7 {4-11} (1-56)
Значимость	p < 0,001	p < 0,001
Примечание: при статистической обработке использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, отличия считали достоверными при $p > 0,05$.		

Медиана ТИ% в первой и второй группах составили 0,32 и 0,28 соответственно. Разница между ними статистически не значима ($p = 0,2$).

Расчет коэффициента корреляции Спирмена ($R_{\text{Спирмена}}$) показал, что с увеличением массы тела увеличивается и масса вилочковой железы. В обеих группах взаимосвязь масс оказалась сильной: $R_{\text{Спирмена}} = 0,8477$ ($p < 0,001$) – для первой группы; $R_{\text{Спирмена}} = 0,7991$ ($p < 0,001$) – для второй. Для более детального изучения далее был проведен анализ динамики изменения ТИ% в трех диапазонах: до 25-го перцентиля (интервал А), от Q1 до Q3 (от 25-го до 75-го перцентиля (интервал Б)), выше Q3 (75-го перцентиля (интервал В)). Согласно этим диапазонам был проведен сравнительный анализ масс вилочковой железы в группах с инфекционными и неинфекционными заболеваниями.

В интервале «А» значений ТИ% до 25-го перцентиля (Q1) оказалось 249 случаев: 23 из группы детей и плодов с инфекционными заболеваниями и 226 – с неинфекционными. В интервал «Б» (Q1-Q3) попал 451 случай: 29 с инфекционной патологией и 422 с неинфекционной патологией. Крайний интервал «В» (выше Q3) – 222 случая: с инфекционной патологией – 15; с неинфекционной патологией – 207.

Для каждого из диапазонов была построена точечная диаграмма и произведен расчет уравнения полиномиальной регрессии. В первой и третьей группах (интервалы «А» и «В») данные графики вели себя разнонаправленно, что говорит о том, что на изменение массы тимуса при увеличении массы тела в этих группах воздействовали определённые внешние условия.

В результате исследования графика зависимости массы вилочковой железы от массы тела у детей из подгрупп до 25 перцентиля, умерших от инфекционных и неинфекционных заболеваний, был установлен следующий паттерн: однонаправленная динамика изменений масс тела и тимуса наблюдается до 2000 г массы тела, после чего масса тимуса в подгруппе детей с инфекционными заболеваниями увеличивается значительно быстрее (Рисунок 8).

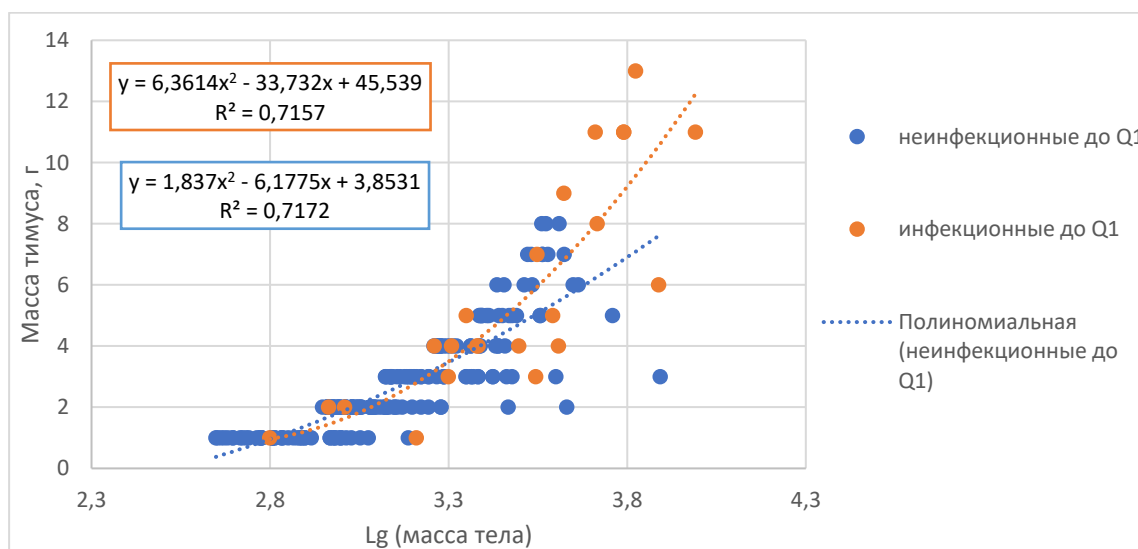


Рисунок 8 – Точечная диаграмма соответствия массы вилочковой железы массе тела в диапазоне до 25 перцентиля плодов и новорожденных, умерших от инфекционных и неинфекционных заболеваний

Анализ диаграммы зависимости массы вилочковой железы от массы тела у детей из подгрупп «В» (от 76 перцентиля), было установлено, что ее масса увеличивается согласованно с массой тела. Интересно отметить, что на интервале значений массы тела от 1200 г до 3000 г масса вилочковой железы в группе детей с инфекционной патологией оказалась ниже значений массы вилочковой железы детей с неинфекционной патологией (Рисунок 9).

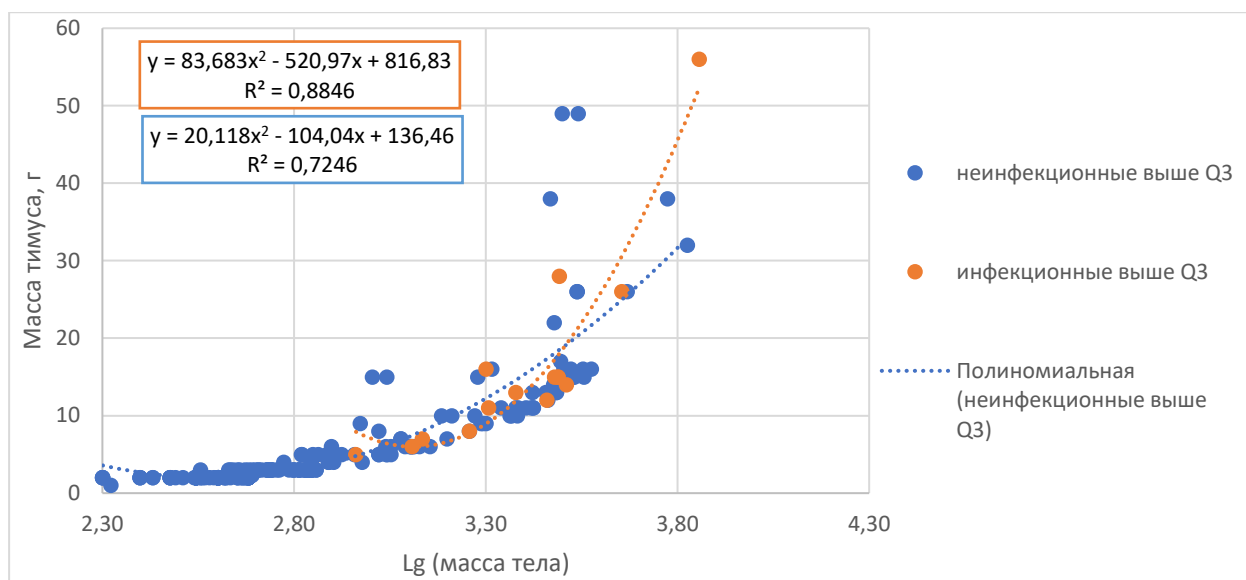


Рисунок 9 – Точечная диаграмма соответствия массы вилочковой железы массе тела в диапазоне выше Q3 процентиля плодов и новорожденных, умерших от инфекционных и неинфекционных заболеваний

Четыре вышеописанные подгруппы были исключены при расчете «эталонных» значений соотношений массы тела и массы вилочковой железы. Это было обусловлено поведением графиков линейной регрессии. Несовпадение линий тренда свидетельствует о наличии воздействия неких внешних факторов, например, характера заболевания, его длительности, срока гестации у плодов и продолжительность жизни у новорожденных, которые могут исказить полученные данные. Таким образом, в группах А и В было выявлено выраженное влияние внешних факторов, и нельзя исключить, что эти группы являются группами риска по развитию состояний, сопряженных с патологией железы или отягощающих течение основного патологического процесса.

В результате анализа графика зависимости массы тимуса от массы тела из интервала «Б» (Q1-Q3) у детей и плодов с инфекционными и неинфекционными заболеваниями было обнаружено, что графики полиномиальной регрессии практически совпадают на всём диапазоне массы тела. Это позволяет предположить, что другие факторы, о которых мы говорили ранее, не оказывают значительного влияния (Рисунок 10).

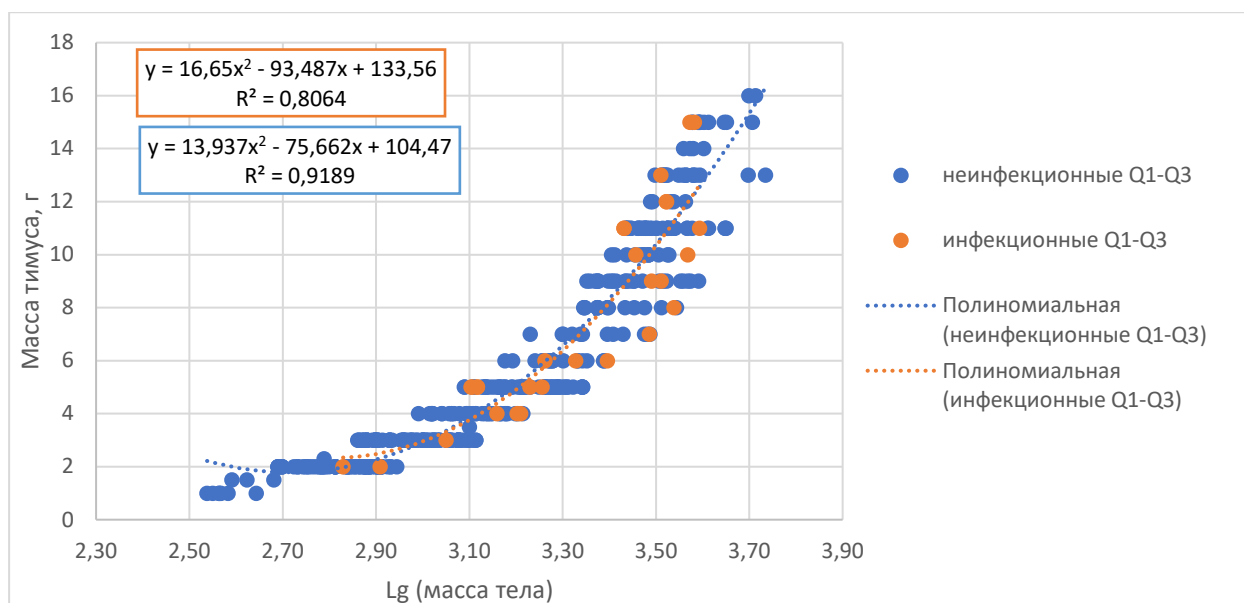


Рисунок 10 – Точечная диаграмма соответствия массы вилочковой железы массе тела в диапазоне Q1-Q3 процентиля плодов и новорожденных, умерших от инфекционных и неинфекционных заболеваний

Это предположение было дополнительно подтверждено при проведении корреляционного анализа. Было установлено, что в диапазоне «Б» (от 25 до 75 процентиля) отмечались самые сильные парные прямые корреляционные связи (Таблица 4), а значение средневзвешенного $R_{\text{Спирмена}}$ составило 0,8429.

Таблица 4 – Значения коэффициентов корреляции Спирмена (R) массы вилочковой железы с массой тела плодов и новорожденных, умерших от инфекционных и неинфекционных заболеваний

Процентильный интервал	А (до Q1)	Б (Q1 - Q3)	В (выше Q3)
1 группа (инфекционные заболевания)	$R = 0,8999;$ $p < 0,001$	$R = 0,9999;$ $p < 0,001$	$R = 0,9995;$ $p < 0,001$
2 группа (неинфекционные заболевания)	$R = 0,8855;$ $p < 0,001$	$R=0,8322;$ $p < 0,001$	$R=0,1857;$ $p > 0,05$

Исходя из фактов, изложенных выше, была составлена таблица зависимости массы тимуса от массы тела на основании данных детей и плодов из интервала «Б»

(значение ТИ% которых находилось в интервале от 25 до 75 перцентиля (Q1-Q3)) (Таблица 5).

Таблица 5 – Распределение массы вилочковой железы плодов и умерших новорожденных в зависимости от массы тела

Масса тела, г	300-500	500-599	600-699	700-799	800-899	900-999
Масса тимуса, г	1,1-1,48	1,85-2,09	1,88-2,08	2,08-2,18	2-2,13	2,96-3,13
Масса тела, г	1000-1099	1100-1199	1200-1299	1300-1399	1400-1499	1500-1999
Масса тимуса, г	2,97-3,11	3-3,13	3,96-4,11	4,76-4,96	4,44-4,58	4,63-5,39
Масса тела, г	2000-2499	2500-2999	3000-3499	3500-3999	4000-5500	
Масса тимуса, г	6,38-7,11	9,51-10,22	10,23-11,17	12,54-13,12	12,36-15,09	

Таким образом, в результате проведенного исследования была выявлена прямая сильная корреляция массы вилочковой железы с массой тела. Составлена таблица распределения масс вилочковой железы в зависимости от массы тела. Объективность и правомочность данных, приведенных в таблице, доказана высокими значениями корреляционных связей и совпадением коэффициентов регрессии в двух разнородных группах.

Кроме того, была составлена центильная таблица масс тела, длины тела и массы вилочковой железы при различных сроках гестации (приложение А).

Проведенный анализ наших случаев с применением данной таблицы позволил установить, что вилочковая железа с увеличенной массой встречалась в 27% случаев, тогда как в заключительном клиническом диагнозе мы не встретили ни одного упоминания о возможном ее увеличении. В патологоанатомическом диагнозе сведения об увеличении вилочковой железы были обнаружены в 9 случаях из 451, что составило 2,0 %. Несомненно, эти показатели подчеркивают

актуальность данного исследования и свидетельствуют о гиподиагностике патологии вилочковой железы, тогда как гиперплазия тимуса играет существенную роль в танатогенезе независимо от инфекционного или соматического генеза патологии [73, 74, 75, 76, 77, 78].

ГЛАВА 4. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ГИПЕРПЛАЗИЕЙ

Не вызывает сомнений, что диагностика увеличения массы вилочковой железы имеет наибольшую актуальность в неонатальном периоде, так как именно в этом возрасте она играет роль как иммунного, так и эндокринного органа и существенно влияет на течение патологического процесса.

Составленная на предыдущем этапе исследования таблица соответствия массы вилочковой железы массе тела новорожденного позволила отобрать 2 группы, в первую группу (группу сравнения) вошли 302 случая умерших новорожденных, у которых вилочковая железа была в пределах нормы, вторую группу (группа исследования) составили новорожденные с увеличенной вилочковой железой ($n = 112$).

Исследование протоколов вскрытия новорожденных в этой группе, выявило, что в 32 процентах случаев дети родились в результате доношенной беременности.

По половой принадлежности случаи распределились следующим образом: 62% ($n=256$) – трупы мужского пола и 38% – женского ($n=158$). Среди умерших новорожденных в группе с увеличенной вилочковой железой ($n=112$) 62,5% составляли новорожденные мужского пола.

Исследование причин летальных исходов среди детей выявило, что структура смертности среди младенцев с увеличенным тимусом отличается от группы детей с нормальной массой этого органа. Новорожденные с увеличенной массой вилочковой железы умирали в 2,5 раза чаще от врожденных пороков развития и в 1,9 раз чаще от инфекционной патологии. Дыхательные и сердечно-сосудистые нарушения, характерные для перинатального периода в этой группе новорожденных фиксировались в 1,8 раза реже (Таблица 6). По методу многопольных таблиц Пирсона было установлено, что такие состояния, как

врожденные пороки развития и инфекционные заболевания в перинатальном периоде, могут считаться предикторами увеличения массы вилочковой железы, в то время как дыхательные и сердечно-сосудистые нарушения, характерные для перинатального периода, а также геморрагические и гематологические нарушения у плода и новорожденного реже сопровождаются увеличением массы вилочковой железы (Рисунок 11).

Таблица 6 – Структура смертности в группах новорожденных с увеличенной и нормальной массой вилочковой железы

Причины смерти по классам МКБ	Количество случаев умерших детей в раннем неонатальном периоде		
	ВЖ без увеличения массы	ВЖ с увеличенной массой	Всего
P20-P29 Дыхательные и сердечно-сосудистые нарушения, характерные для перинатального периода			
Асфиксия	51	17	234
СДР	68	39	
Врожденная пневмония	22	37	
P35-P39 Инфекционные болезни, специфичные для перинатального периода			
Сепсис новорожденного	2	20	27
Цитомегаловирусная инфекция	2	-	
РС- инфекция	3	-	
P50-P61 Геморрагические и гематологические нарушения у плода и новорожденного			
Внутрижелудочковые кровоизлияния	35	23	71
Кровоизлияния в надпочечники	-	2	
Гемолитическая болезнь	4	7	
Q00-Q99 Врожденные пороки развития	21	53	74
Другие единичные случаи	18	17	35
Примечание: Различия статистически достоверны на уровне $p = 0,0004$ ($\chi^2 = 35,75$ по методу многопольных таблиц Пирсона).			

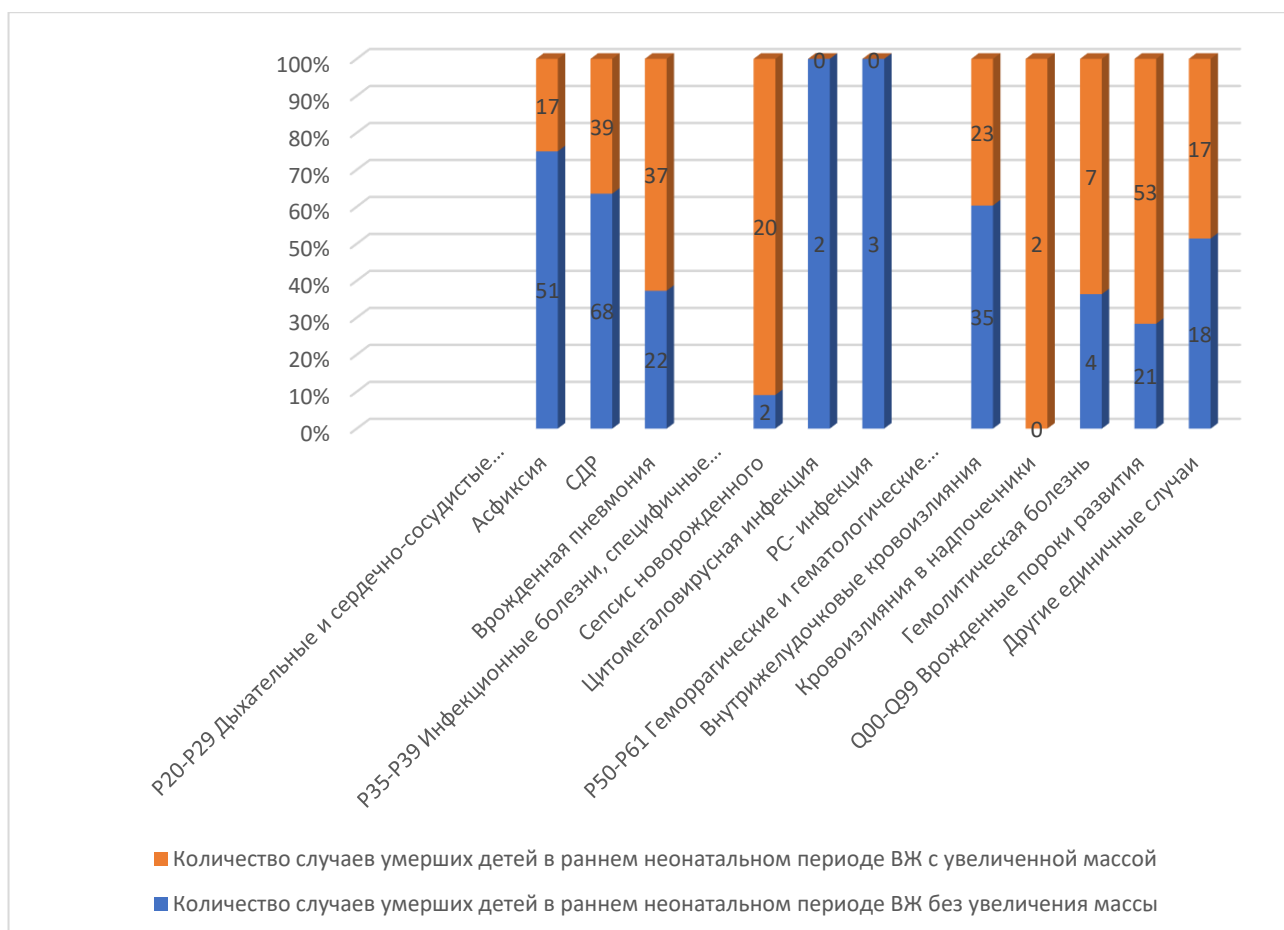


Рисунок 11 – Частота встречаемости увеличения вилочковой железы при различной патологии

Медиана массы тимуса в группе сравнения составила 6,0 г, что в три раза меньше, чем в группе исследования — 18,28 г. Различия статистически значимы на уровне $p=0,001$.

Тимический индекс в группе сравнения составил 0,39; соответствующий показатель при увеличении вилочковой железы составил 0,46; отличия статистически достоверны на уровне значимости $p < 0,001$ (Таблица 7).

При гистологическом исследовании срезов увеличенной вилочковой железы при обзорных методах окраски было обнаружено значительное утолщение соединительнотканной капсулы (до 0,20 мм), что превышало этот показатель в группе сравнения на 60% ($Z=5,368$; $p < 0,001$), и доли стромального компонента вилочковой железы практически в полтора раза (Таблица 7). Утолщение капсулы и

стромального компонента происходило за счет отека, увеличения количества соединительнотканых волокон, полнокровия и кровоизлияний (Рисунок 12).

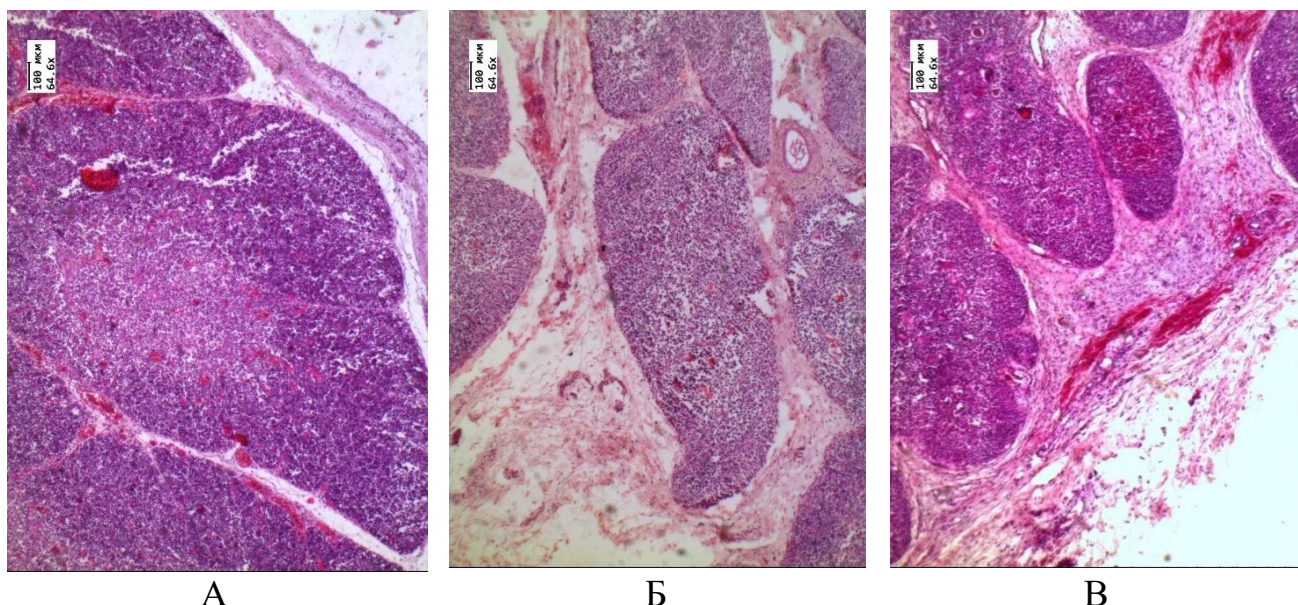
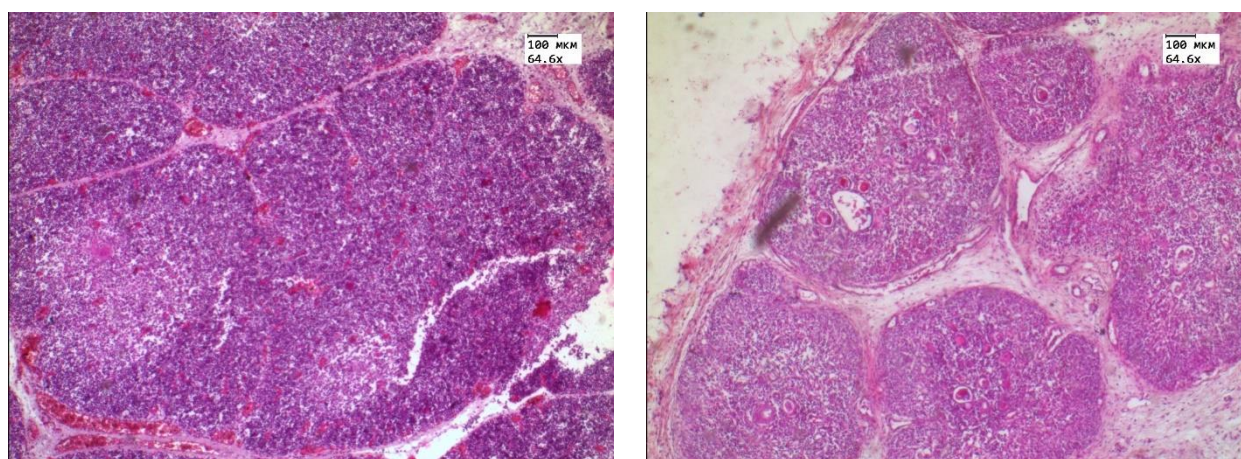


Рисунок 12 – Утолщение капсулы вилочковой железы: А – за счет увеличения количества соединительнотканых волокон; Б – за счет отека; В – за счет отека, кровоизлияний и увеличения соединительнотканых волокон. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 64,6

Привлекало внимание увеличение толщины коры, при этом в некоторых участках дифференцировка между корой и мозговым веществом была затруднена. В этой группе тельца Гассалья были обнаружены как в коре, так и в мозговом веществе, причём преобладали тельца с кистозной трансформацией. Описанное гистологическое строение отличалось от строения вилочковой железы в первой группе (без ее увеличения), где практически во всех случаях дольки тимуса были дифференцированы на корковое и мозговое вещество, а тельца имели типичное строение и находились преимущественно в центральной части дольки.

При увеличении массы вилочковой железы площадь долек уменьшалась в среднем на 15%, а количество долек, попадающих в поле зрения микроскопа, увеличивалось на 50% относительно этих же показателей вилочковой железы из группы сравнения (с относительно нормальной массой) (Рисунок 13, Таблица 7).



А

Б

Рисунок 13 – Изменение площади и структурных элементов дольки в вилочковой железе: А – группа сравнения; Б – исследуемая группа. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 64,6

Таблица 7 – Морфометрические показатели вилочковой железы

Признак	Группа	1 группа сравнения (ВЖ без увеличения массы)	2 группа исследования (ВЖ с увеличенной массой)	Статистические параметры	
		Me {Q1-Q3} (min-max)	Me {Q1-Q3} (min-max)	Z	P
Масса ВЖ, г		6,0 {4,84-8,79} (1,24-11,90)	18,28 {6,23-21,7} (2,24-23,9)	5,426	0,001
Тимический Индекс		0,39 {0,33-0,42} (0,32-0,43)	0,46 {0,42-0,47} (0,40-0,49)	5,368	0,001
Площадь дольки, мм ²		1,54 {0,89-1,97} (0,23-3,56)	1,30 {0,84-1,79} (0,24-3,90)	2,141	0,032

Продолжение Таблицы 7

Площадь мозгового вещества, мм ²	0,32 {0,00-0,60} (0,00-1,40)	0,32 {0,00-0,56} (0,00-1,06)	0,112	0,910
Площадь коркового вещества, мм ²	0,85 {0,32-1,29} (0,11-2,35)	0,95 {0,63-1,27} (0,17-2,84)	2,539	0,011
Количество долек, граничащих в поле зрения, ед.	4 {2-5} (2-7)	6 {4-7} (3-10)	6,504	p < 0,001
Доля стромального компонента, %	13,8 {12,1-18,27} (7,6-25,28)	19,44 {15,43-28,43} (5,65-35,42)	2,156	0,031
Примечание: при статистической обработке использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, отличия считали достоверными при p > 0,05.				

При морфометрическом исследовании было установлено, что при увеличении вилочковой железы на фоне уменьшения площади дольки в ней происходит увеличение доли коркового вещества (Таблица 8).

Таблица 8 – Доля коркового и мозгового вещества вилочковой железы (%)

Признак \ Группа	1 группа, без увеличения ВЖ, %	2 группа, с увеличенной ВЖ, %	χ^2	p
	Me	Me		
Доля мозгового вещества	32,15	14,89	8,19	0,042
Доля коркового вещества	67,85	85,11	8,19	0,042
Примечание: статистический метод - χ^2 Пирсона				

Если в вилочковой железе с нормальной массой соотношение площади коркового вещества к площади мозгового вещества составляет 2,1:1, то в вилочковой железе с увеличенной массой – 5,7:1.

Анализ аналогичных морфометрических показателей, достоверно отличающихся друг от друга в двух группах (с нормальной массой вилочковой железы и при ее увеличении) позволил сделать предположение о возможности их диагностической значимости для диагностики состояния и степени увеличения вилочковой железы только на основании ее гистологического исследования. В практической патологической анатомии это является очень актуальным, так как не всегда в протоколах патологоанатомического исследования указывается масса вилочковой железы. Был разработан способ диагностики тимомегалии у детей в раннем неонатальном периоде с использованием нового гистологического критерия – индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ). Подробная методика разработки данного метода приводится в приложении Б.

Суть этого метода состоит в том, что на основании подсчета количества граничащих долек тимуса в поле зрения и вычисления площади поля зрения микроскопа проводится расчет индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ) по формуле:

$$\text{ИГДТ} = \frac{\text{Среднее количество граничащих долек}}{S_{\text{поля зрения}}}$$

Полученные показатели значений индекса граничащих долек тимуса с последующей их математической обработкой (Приложение А) позволили составить таблицу (Таблица 9), дающую представление о степени увеличения тимуса и очень удобную для применения в практике детского патологоанатома.

Учитывая дискуссионные данные о термине «тимомегалия», изложенные в литературном обзоре, мы считаем, что данный термин следует применять при увеличении вилочковой железы III степени. Следует отметить, что количественный показатель для постановки диагноза «тимомегалии» предложен впервые.

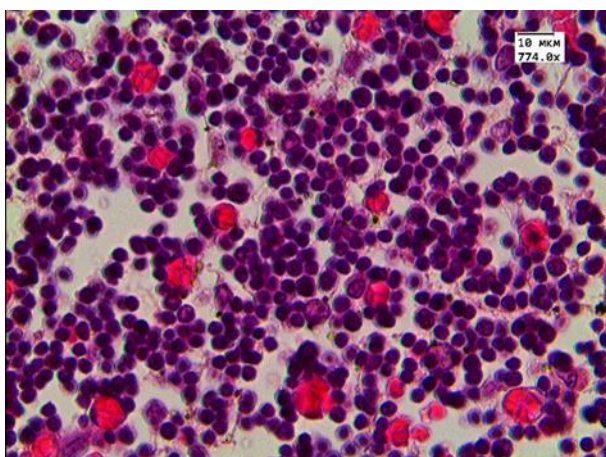
Таблица 9 – Диапазон значений ИГДТ для определения степени увеличения вилочковой железы

Значение ИГДТ	Норма	I степень увеличения ВЖ	II степень увеличения ВЖ	III степень увеличения ВЖ
		0,960 - 1,855	1,856 - 1,886	1,887 - 2,142

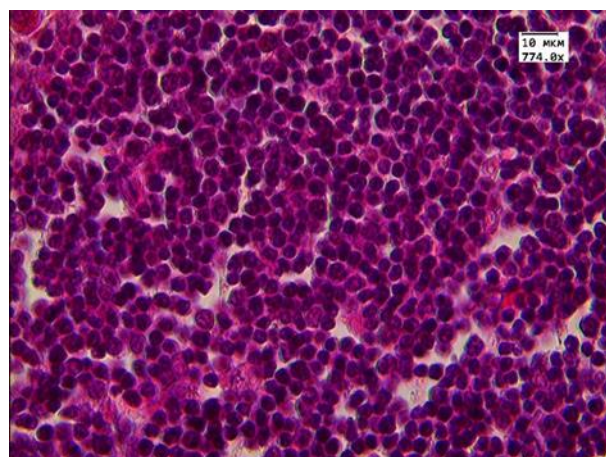
В случаях, когда мы имеем дело с увеличением вилочковой железы I и II степеней, более уместным будет применение термина гиперплазии вилочковой железы.

В результате исследования было установлено, что общее количество клеток в поле зрения в корковом слое в группе с увеличенной массой вилочковой железы было больше на 25,6% ($p < 0,001$). Число клеток в мозговом слое тимуса не имело значимых различий в обеих группах (Таблица 10, Рисунок 14). Информация, представленная в таблице 10, свидетельствует о том, что в корковом слое вилочковой железы при увеличении в 774,0 раза под микроскопом можно обнаружить не менее 170 клеток. Это может быть дополнительным гистологическим признаком увеличения массы вилочковой железы.

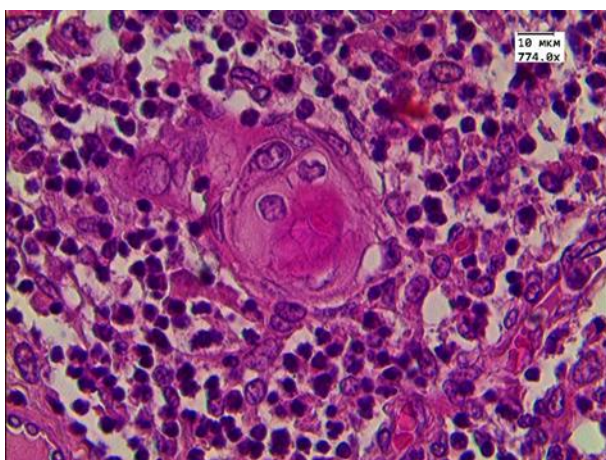
Для определения популяции зрелых тимоцитов, макрофагов и эпителиальных клеток тимуса было проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к CD3, CD68, CD163 и СК-19. Чтобы определить активность процесса созревания Т-клеток и обнаружить зрелые Т-лимфоциты, была проведена реакция с антителами к CD3. Для идентификации макрофагов, моноцитов, базофилов, тучных клеток и В-клеток была проведена реакция с антителами к CD68. Чтобы выделить из этой группы макрофаги и моноциты, были использованы антитела к CD163. СК-19 применяли для обнаружения эпителиальных клеток тимуса.



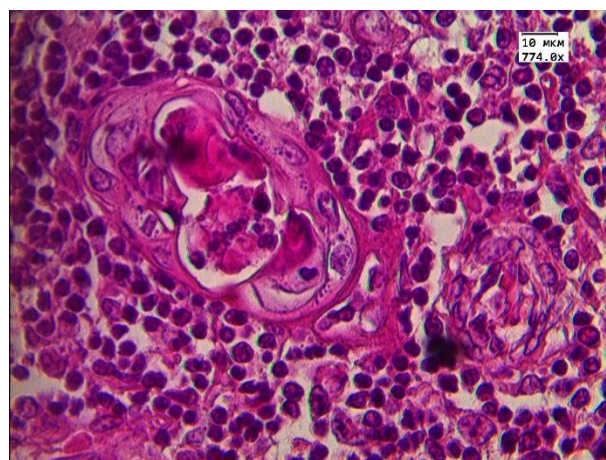
А



В



Б



Г

Рисунок 14 – Содержание клеток в поле зрения в вилочковой железе. А, Б – 1 группа детей (с нормальной массой ВЖ): А – корковое вещество, Б – мозговое вещество; В, Г – 2 группа детей (с увеличенной массой ВЖ): В – корковое вещество, Г – мозговое вещество. Окр. гематоксилин и эозин. Ув. 774,0

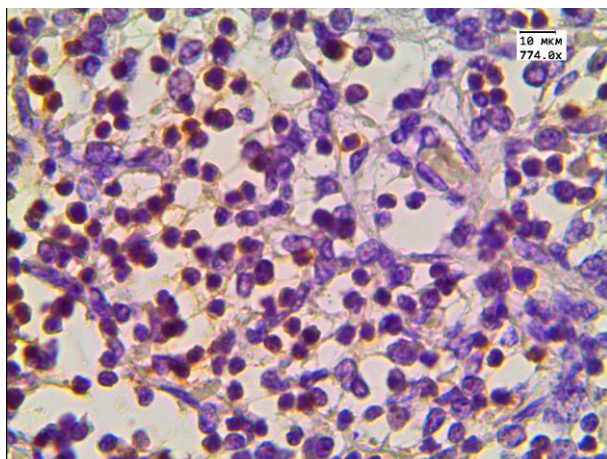
В ходе иммуногистохимического анализа было установлено, что у детей из группы с увеличенной вилочковой железой (группа 2) уровень экспрессии маркера CD3 в корковом слое был выше, чем у детей из контрольной группы (группа 1). При этом не было выявлено значимых различий в количестве клеток в мозговом веществе тимуса (Таблица 10, Рисунок 15).

Таблица 10 – Экспрессия иммуногистохимических маркеров (%) в корковом и мозговом слое вилочковой железы

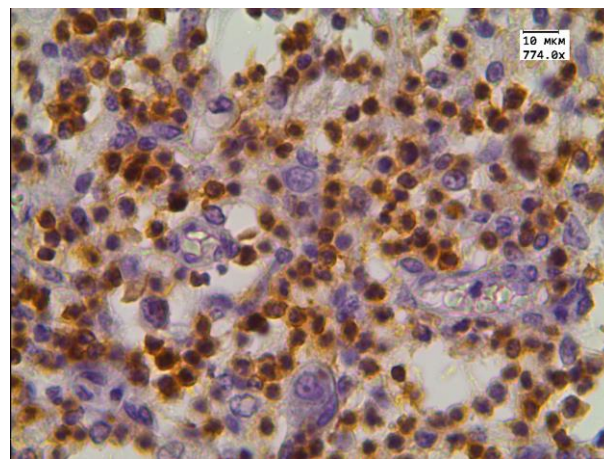
Локализация	Маркер	Группа 1 (без увеличения ВЖ) Me {Q1-Q3} (min-max)	Группа 2 (с увеличенной ВЖ) Me {Q1-Q3} (min-max)	P
Корковый слой ВЖ	CD3	14,2 {9,5-23,1} (6,8-50,0)	37,7 {36,8-41,1} (21,1-48,4)	0,009
	CD1a	100 {97,8-100} (96-100)	100 {96,4-100} (95-100)	0,784
	CD68	4,1 {3,7-5,6} (3,6-6,9)	13,8 {7,3-14,3} (3,8-21,7)	0,001
	CD163	25,9 {21,3-33,3} (16,7-49,5)	15,5 {11,3-25,0} (6,4-30,0)	0,005
	СК19	7,85 {4,66-10,75} (0-15,93)	0,67 {0-2,05} (0-5,13)	0,001
	Кол-во клеток	145 {125-167} (114-187)	186 {170-225} (137-253)	p<0,001
Мозговой слой ВЖ	CD1a	11,21 {6,45-15,8} (5,68-16,58)	45,33 {41,45-47,53} (37,14-52,42)	0,005
	CD3	59,9 {37,4-65,1} (29,2-76,2)	57,7 {48,6-64,9} (37,7-68,7)	0,761
	CD68	0 {0-2,1} (0-3,1)	1,52 {0-3,9} (0-6,9)	0,178
	CD163	16,7 {14,4-25,5} (8,5-35,2)	12,6 {12,4-13,9} (8,4-15,8)	0,008
	СК19	7,56 {5,93-12,68} (3,97-19,19)	7,87 {5,6-9,3} (3,68-13,24)	0,06

Продолжение Таблицы 10

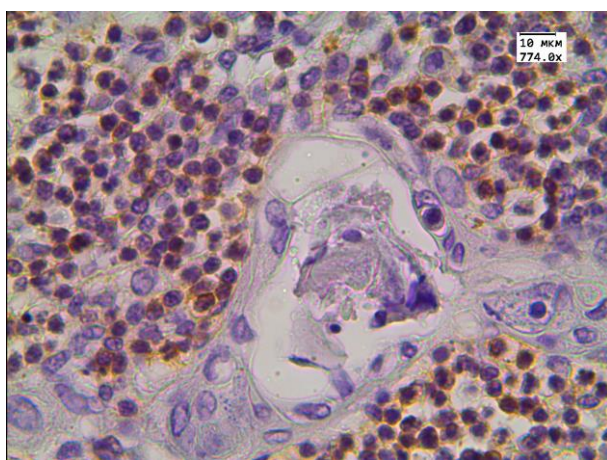
Мозговой слой ВЖ	Кол-во клеток	120 {117-154} (101-179)	150 {129-167} (121-198)	0,286
---------------------	------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------



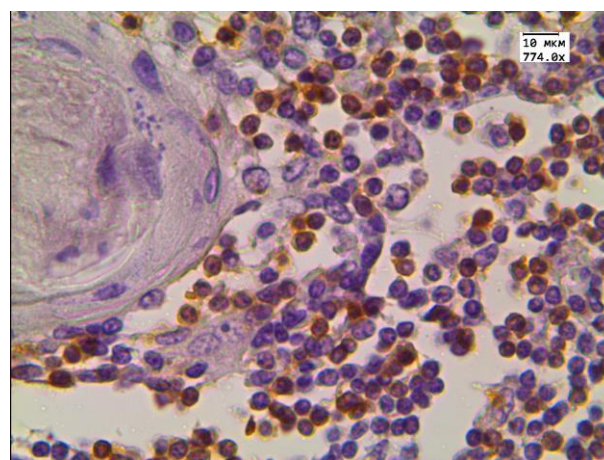
А



Б



Б



Г

Рисунок 15 – Экспрессия CD3 в вилочковой железе. А, Б – 1 группа детей (с нормальной массой ВЖ): А – корковое вещество, Б – мозговое вещество; В, Г – 2 группа детей (с увеличенной массой ВЖ): В – корковое вещество, Г – мозговое вещество. Реакция ИГХ. Ув. 774

При проведении иммуногистохимической реакции с антителами к CD1a было выявлено тотальная позитивная реакция в клетках коркового слоя вилочковых желез как с нормальной, так и с увеличенной массой. В мозговом слое

вилочковых желез с увеличенной массой было увеличение доли клеток с позитивным окрашиванием практически в 4 раза (таблица 10, рисунок 16). CD1a-положительные клетки формировали очаговые скопления, прилежащие к тельцам Гассалья.

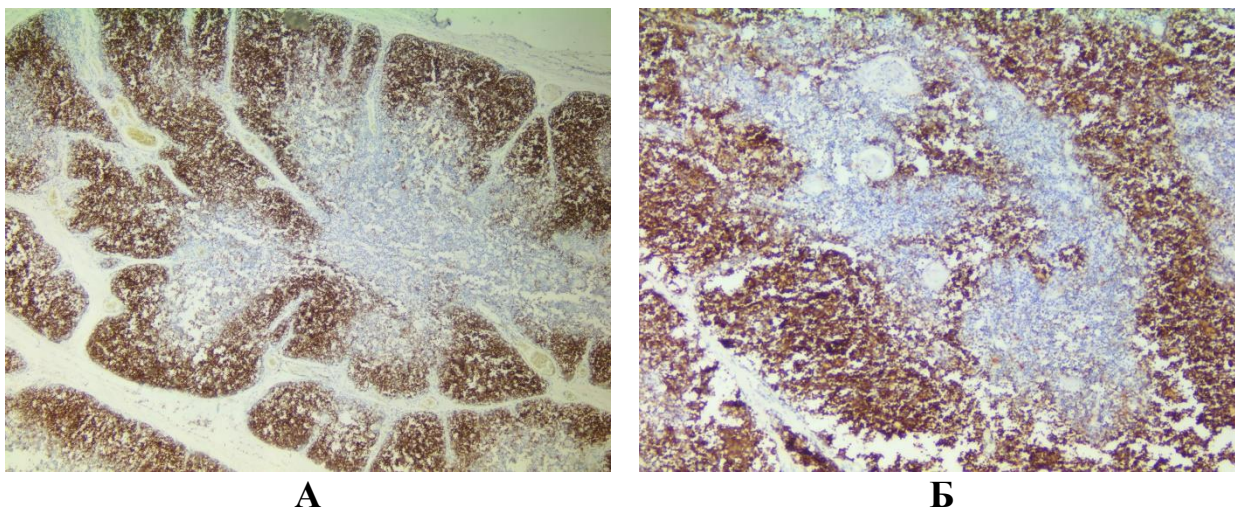


Рисунок 16 – Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD1a. А- нормальная масса тимуса. Реакция ИГХ. Ув. 64; Б – тимус с увеличенной массой. Реакция ИГХ. Ув. 246,4

Число клеток, которые дали положительную реакцию с антителами к CD68, демонстрировало схожую динамику. В корковом слое тимуса у детей с избыточным весом было обнаружено в 3,5 раза больше CD68-позитивных клеток (макрофагов, моноцитов, базофилов, тучных клеток и В-клеток), чем в мозговом слое. При этом не было выявлено значимых различий в уровне положительной иммуногистохимической реакции в мозговом слое органа (Таблица 10, Рисунок 17).

В образцах тимуса второй группы наблюдалось статистически значимое уменьшение числа клеток, которые проявляют положительную реакцию при взаимодействии с антителами к CD163, характерную для макрофагов (M2), как в корковом, так и в мозговом веществе тимуса (Таблица 10, Рисунок 18 - В, Г).

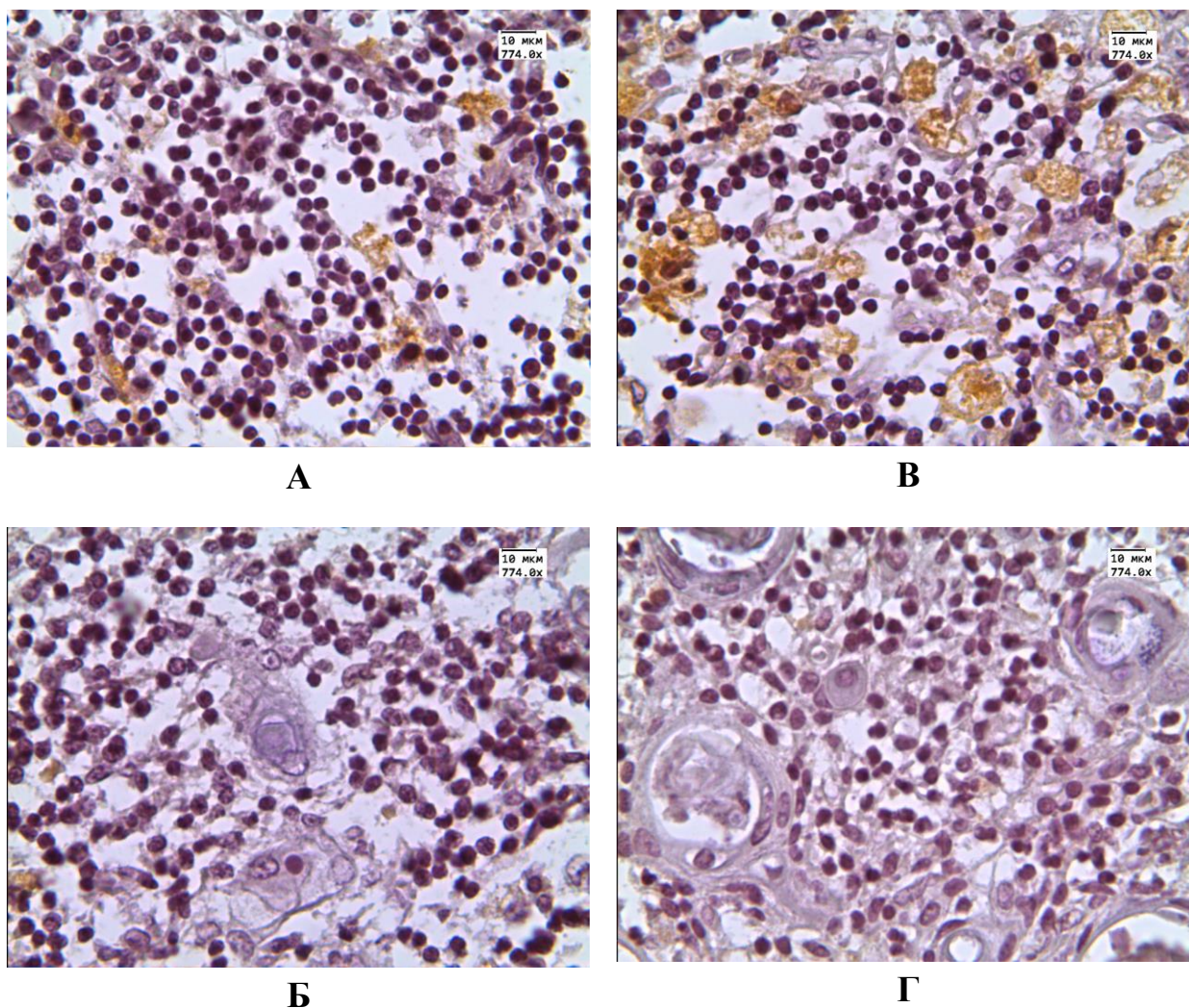


Рисунок 17 – Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD68 в вилочковой железе. А, Б – 1 группа детей (с нормальной массой тимуса): А – корковое вещество, Б – мозговое вещество; В, Г – 2 группа детей (с увеличенной массой ВЖ): В – корковое вещество, Г – мозговое вещество. Реакция ИГХ.
Ув. 774

В группе детей с увеличенной массой тимуса клетки, экспрессирующие цитокератин-19, были распределены неравномерно: они концентрировались в основном в корковом веществе, вблизи от междольковых перегородок (Рисунок 19 - В) и не формировали сеть ни в корковом, ни в мозговом веществе (Рисунок 19 - В, Г). В корковом слое количество положительных клеток, характерных для СК-19, снизилось на 91%, тогда как в мозговом слое их количество осталось примерно на том же уровне — около 8%.

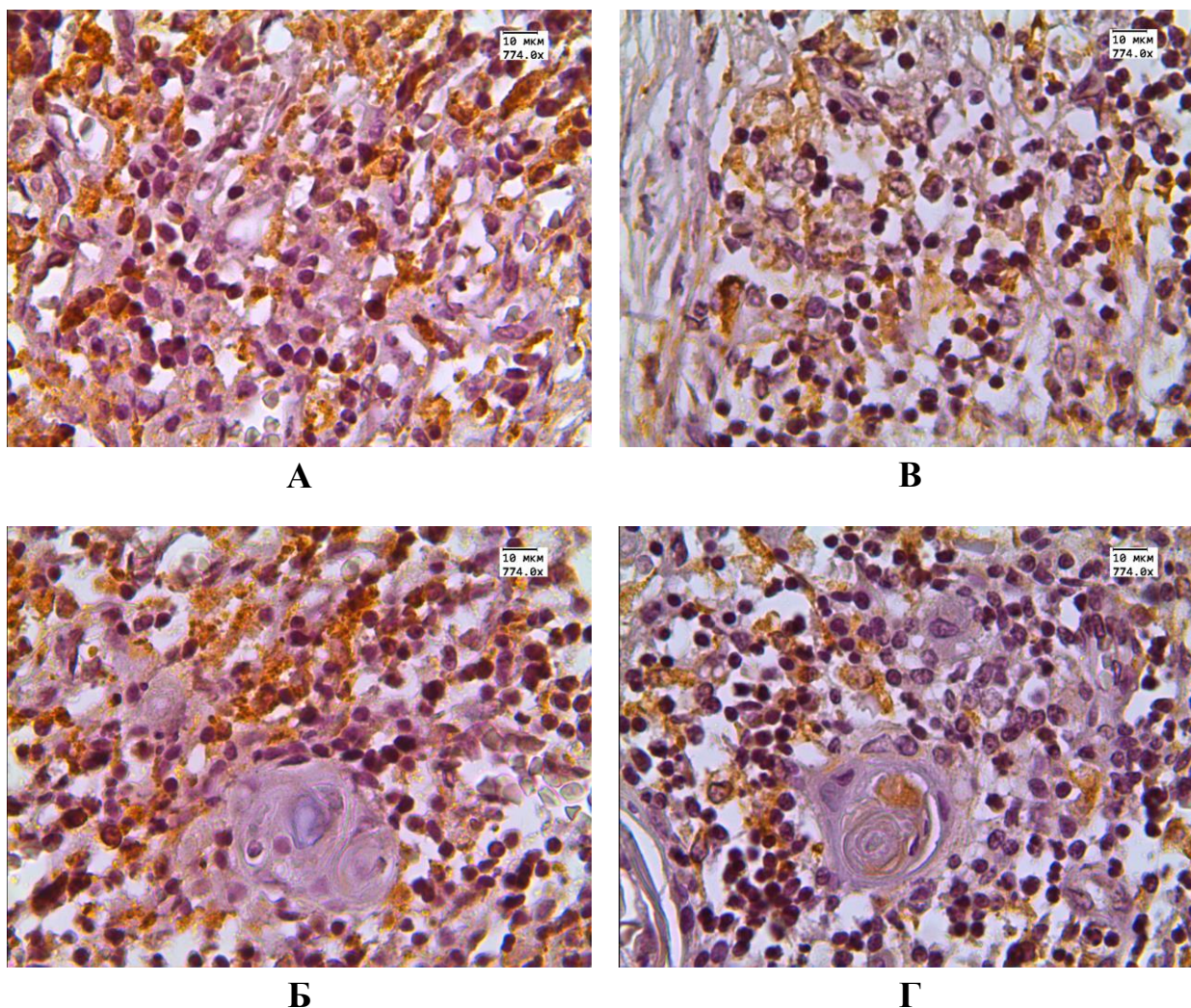
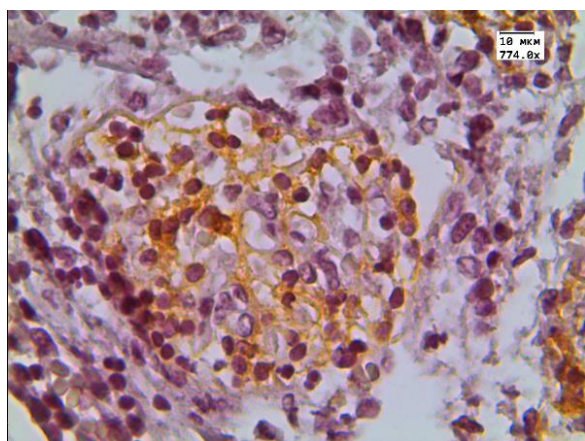
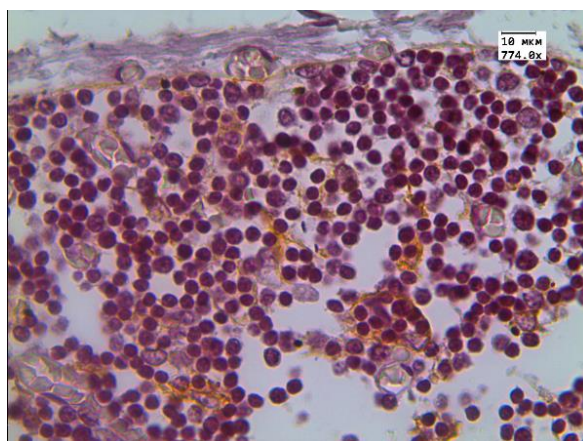


Рисунок 18 – Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD163 в вилочковой железе. А, Б – 1 группа детей (с нормальной массой вилочковой железы): А – корковое вещество, Б – мозговое вещество; В, Г – 2 группа детей (с увеличенной массой вилочковой железы): В – корковое вещество, Г – мозговое вещество. Реакция ИГХ. Ув. 774

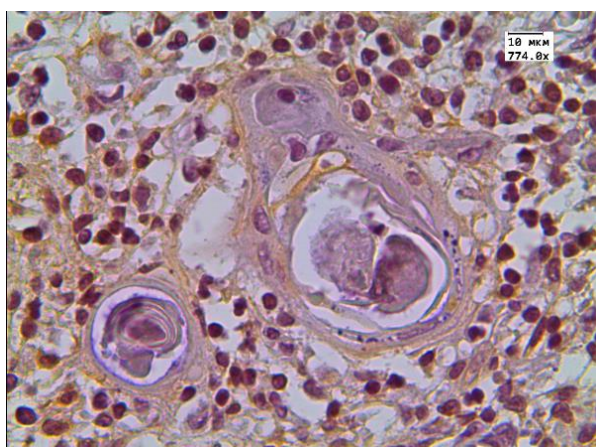
В составе телец Гассала не всегда можно было обнаружить клетки эпителиального происхождения, которые дают положительную реакцию на определённый маркер при иммуногистохимическом анализе. В обеих группах доля телец с положительной реакцией на антитела к СК-19 составляла примерно 70% (Рисунок 19-Г).



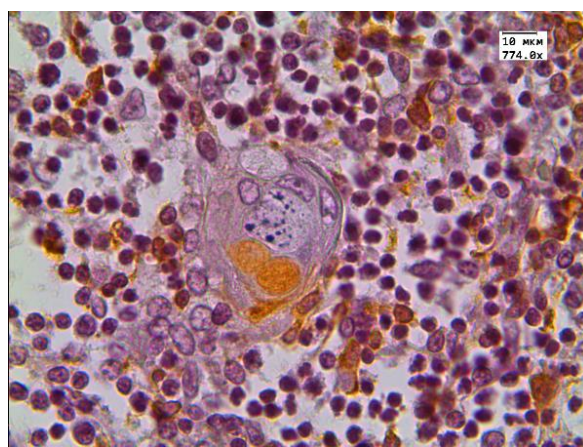
А



В



Б



Г

Рисунок 19 – Иммуногистохимическая реакция с антителами к цитокератину-19. А, Б – 1 группа детей (с нормальной массой вилочковой железы): А – корковое вещество, Б – мозговое вещество; В, Г – 2 группа детей (с увеличенной массой вилочковой железы): В – корковое вещество, Г – мозговое вещество. Реакция ИГХ. Ув. 774

Таким образом, анализ иммуногистохимических реакции с антителами к маркерам CD1a, CD3, CD68, CD163 и СК-19 в срезах вилочковой железы нормальной массы и при ее увеличении показал, что достоверные отличия в клеточном составе указанных клеток наблюдаются только в корковом слое вилочковой железы, который расширяется за счет увеличения количества тимоцитов, моноцитов, базофилов, тучных клеток, макрофагов (M1) и В-клеток. Причем количество макрофагов (M2) в корковом слое вилочковой железы с увеличенной массой уменьшается по сравнению с аналогичным показателем в

вилочковой железе с нормальной массой ($M_e - 15,5$, и $M_e - 25,9$ соответственно, $p = 0,005$). Более того, установлен факт наличия незрелых тимоцитов в мозговом веществе долек тимуса с увеличенной массой [76, 77, 78, 79].

ГЛАВА 5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕЛЕЦ ГАССАЛЯ В ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЕ С ГИПЕРПЛАЗИЕЙ

При обзорной микроскопии обращало на себя внимание, что в гиперплазированной вилочковой железе уменьшается количество телец Гассалья (ТГ), и в них развиваются дистрофические изменения. Поэтому на следующем этапе с целью исследования телец Гассалья и их микроокружения было изучено 60 случаев аутопсийного материала детей, умерших в раннем неонатальном периоде от различных причин инфекционного и неинфекционного генеза.

Все случаи были разделены на 2 группы: 1-я группа детей с нормальной массой тимуса (n = 30 случаев) и 2-я группа с гиперплазией вилочковой железы (n = 30 случаев) (исследуемая группа).

Исследования проводились с использованием пяти маркеров: CD1a (EP3622), CD3 (SP7), CD68(E19194), CK-19(RCK108), Pan-CK(AE1/AE3).

Иммуногистохимическую реакцию с антителами к маркерам оценивали в 1000 клеток, окружающих ТГ в 6-8 полях зрения, и вычисляли процент клеток с положительной реакцией.

В тимусе, который имел нормальную массу (контрольная группа), при морфологическом анализе с использованием обзорных методов было обнаружено, что ТГ преимущественно локализовались в мозговом веществе. Однако единичные ТГ также были обнаружены в корковом слое. Среднее количество ТГ в поле зрения составляло 5.

В изучаемой группе (тимус с увеличенной массой) ТГ в основном располагались в мозговом слое органа. Стоит отметить, что в этих ТГ часто наблюдались дистрофические изменения и кистозная трансформация. Размеры ТГ в обеих группах были примерно одинаковыми.

Медиана количества ТГ в поле зрения составила 4.

В зависимости от степени зрелости, все ТГ были классифицированы на три категории: [8]: прогрессивные, зрелые и регрессивные. Прогрессивные тельца содержали от одного до четырёх эпителиоцитов первого типа, имеющих округлую форму. Они представляли собой структуры следующего вида:

1) На первой стадии развития, которая называется «одноклеточное тельце», клетка увеличивается в размерах и становится гипертрофированной (Рисунок 20-А);

2) На второй стадии, которая называется «юное тельце», вокруг гипертрофированной клетки формируются скопления округлых клеток (Рисунок 20-Б);

3) На третьей стадии, которая называется «молодое тельце», в структуре тельца начинают появляться признаки формирования полости (стадия молодого тельца) (Рисунок 20-В).

Особенностью зрелых клеток было присутствие двух видов эпителиальных клеток: округлых и вытянутых, а также сформированное ядро из кератина. В зависимости от того, насколько сформировалось кератиновое ядро, зрелые ТГ можно было разделить на следующие виды:

1) в полости которых можно обнаружить отдельные кератиновые пластинки (этап формирования кератинового ядра) (Рисунок 20-Г);

2) с кератиновыми пластинами, расположенными по кругу (стадия сформированного кератинового ядра). (Рисунок 20-Д);

3) ТГ, где кератиновые пластинки занимали значительную часть пространства (стадия начала разрушения кератинового ядра) (Рисунок 20-Е).

В зрелых телецках обычно присутствовала одна полость и одно кератиновое ядро. Многокамерные тельца, то есть те, которые имеют несколько полостей, встречались редко, и их частота была примерно одинаковой в обеих группах. В эпителиоцитах II типа в зрелых тельцах можно было обнаружить два вида включений. Первый тип включений был базофильным и представлял собой гранулы синего или тёмно-фиолетового цвета, которые находились в цитоплазме

клеток. Второй тип включений представлял собой гранулы чёрного цвета, которые в два с половиной раза чаще встречались в зрелых тельцах группы с увеличенной массой тимуса (Рисунок 21) [75].

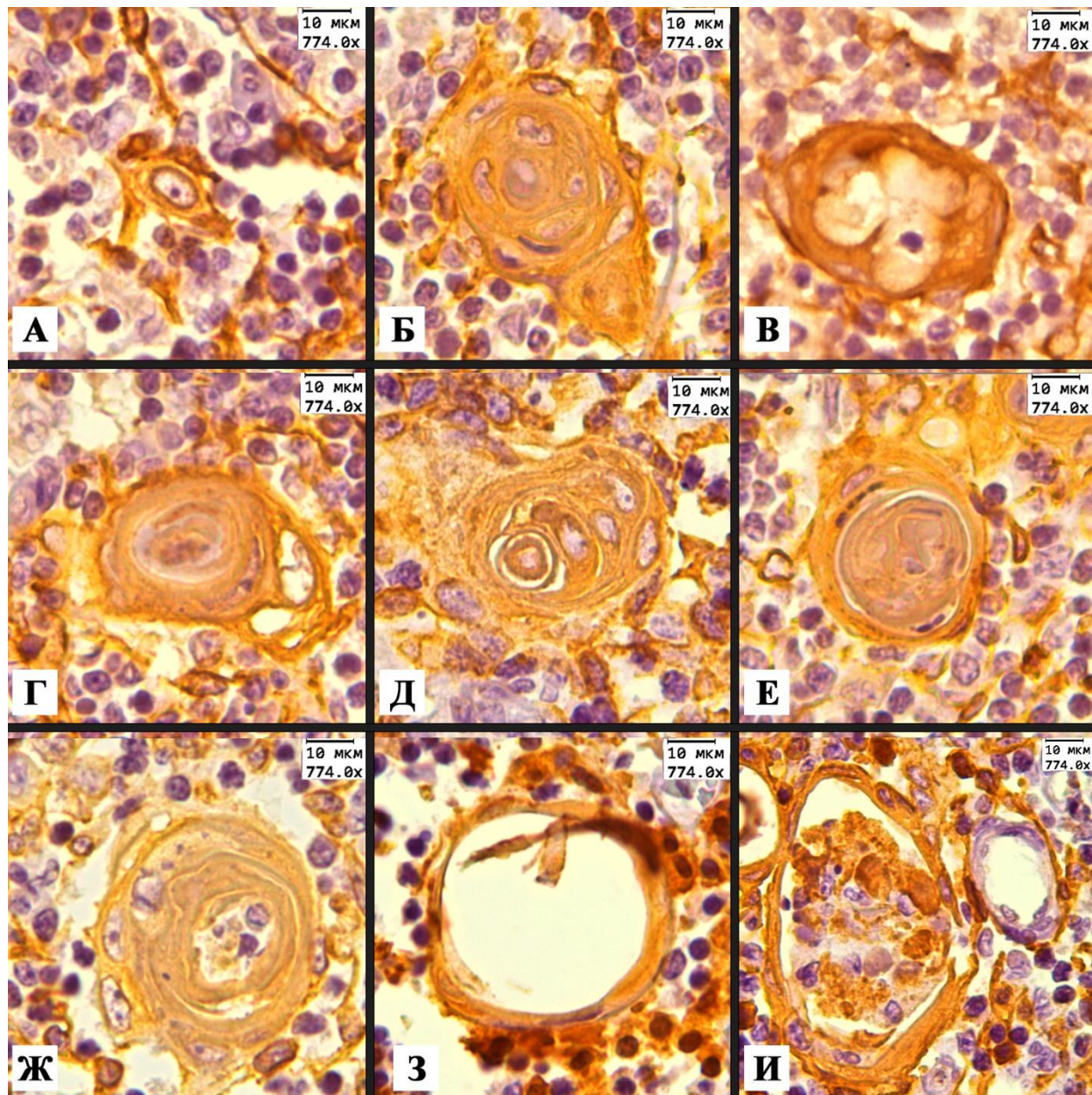
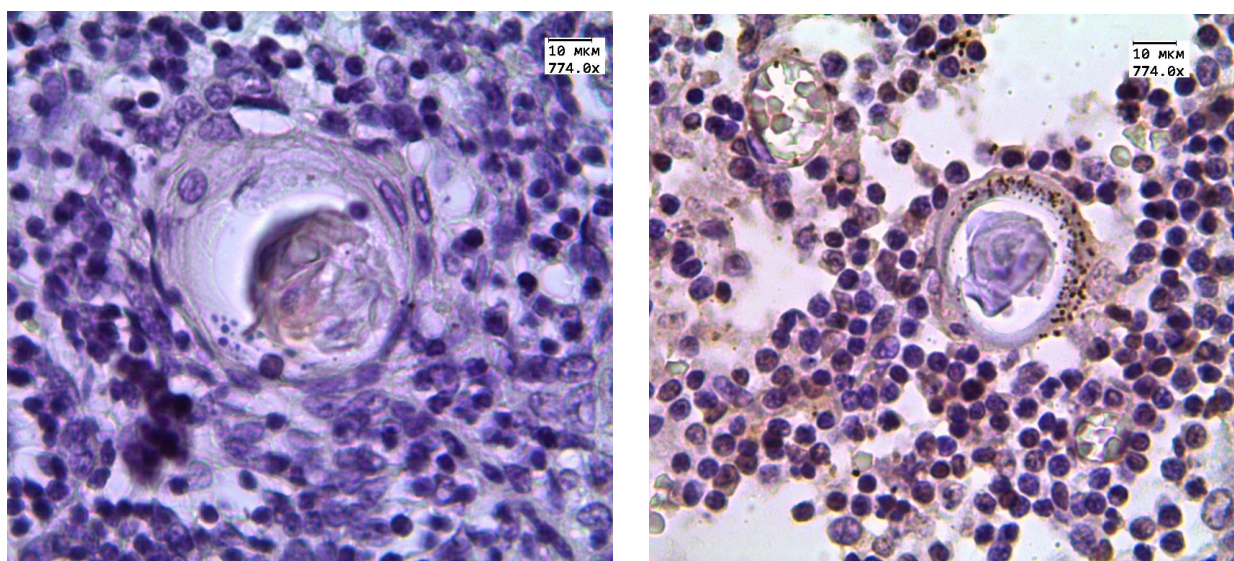


Рисунок 20 – Тельца Гассалья различной степени дифференцировки: А, Б, В – прогрессивные; Г, Д, Е – зрелые; Ж, З, И – регрессивные.

Иммуногистохимическая реакция с антителами к Pan-Cytokeratine, ув. 774

В регрессивных тельцах также можно выделить несколько типов:

- 1) тельца, в которых кератиновые пластины занимают менее половины объёма (первая стадия разрушения) (Рисунок 20 - Ж);
- 2) тельца, в которых обнаруживается клеточный детрит или пустота (вторая стадия разрушения) (Рисунок 20 - З);
- 3) Тельца с признаками разрыва стенки (третья стадия разрушения) (Рисунок 20 - И). В регрессивных тельцах эпителиоциты первого типа не определяются.



А

Б

Рисунок 21 – Зрелые тельца Гассалья. Включения в эпителиоцитах II типа. А – группа детей с нормальной массой вилочковой железы, Б – группа детей с увеличенной массой вилочковой железы. Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD3, ув. 774

В контрольной группе соотношение ТГ (прогрессивных, зрелых и регрессивных) было 1 : 2,8 : 2, что указывает на доминирование зрелых телец.

В группе, которую мы изучали, соотношение было таким: 1 : 4,1 : 8,4. Это означает, что регрессивные тельца преобладали, а это, в свою очередь, указывало на то, что процессы обновления ТГ замедлялись.

В результате сопоставления показателей двух групп было выявлено, что количество более развитых и зрелых клеток в группе с увеличенным тимусом (2-я

группа) уменьшается по сравнению с группой с нормальным тимусом (1-я группа) в 2,3 и 1,6 раза соответственно. В то же время количество менее развитых клеток во 2-й группе увеличивается почти в 2 раза (Таблица 11).

Анализ соотношения телец Гассалья различной степени зрелости показал, что при увеличении массы тимуса общее количество этих клеток в поле зрения уменьшается примерно на 20%. При этом доля зрелых телец снижается, а количество регрессивных телец, наоборот, увеличивается примерно в два раза (Таблица 11).

Таблица 11 – Соотношение телец Гассалья по степени зрелости в вилочковых железах с увеличенной массой и без ее увеличения

Тельца Гассалья \ Группа	1 группа (ВЖ с нормальной массой)	2 группа (ВЖ с увеличенной массой)	Z	p
	Me {Q1-Q3} (min-max)	Me {Q1-Q3} (min-max)		
Количество в поле зрения	5 {4-6} (1-10)	4 {3-6} (1-9)	-2,030	0,042
Прогрессивные, %	16,67 {0-25} (0-100)	7,14 {0-25} (0-50)	-1,32	0,186
Зрелые, %	46,43 {25-60} (0-100)	29,17 {16,67-50} (0-75)	4,71	0,000
Регрессивные, %	33,33 {20-66,67} (0-100)	60 {50-66,67} (0-100)	5,30	0,000
Примечание: при статистической обработке использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, отличия считали достоверными при $p > 0,05$.				

Также было установлено, что распределение телец по степени зрелости зависит от непосредственной причины смерти. Так, при неинфекционной

патологии в группе гиперплазией вилочковой железы доля телец регрессивного типа была в 1,5 раза больше, чем в группе с нормальной массой вилочковой железы (Таблица 12).

Таблица 12 – Соотношение телец Гассалья по степени зрелости в вилочковых железах умерших от неинфекционной патологии

Тельца Гассалья	Группа	Нормальная масса ВЖ	Увеличенная масса ВЖ	Z	p
		Me {Q1-Q3} (min-max)	Me {Q1-Q3} (min-max)		
Количество в поле зрения		4 {3-6} (1-10)	4 {3-5} (1-7)	-1,624	0,134
Прогрессивные, %		16,67 {0-33,33} (0-100)	22,5 {0-50} (0-100)	1,263	0,206
Зрелые, %		42,86 {25-60} (0-100)	40 {20-50} (0-100)	1,161	0,212
Регрессивные, %		25 {0-50} (0-100)	36,67 {0-60} (0-66,67)	-4,164	0,001
Примечание: при статистической обработке использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, отличия считали достоверными при $p > 0,05$.					

При инфекционных заболеваниях наблюдалась другая картина. В группе с гиперплазией вилочковой железы прогрессивные тельца практически не обнаруживались, а доля зрелых телец была в 2 раза выше. Доля телец регрессивного типа в обеих группах находилась приблизительно на одном уровне, независимо от массы вилочковой железы (Таблица 13).

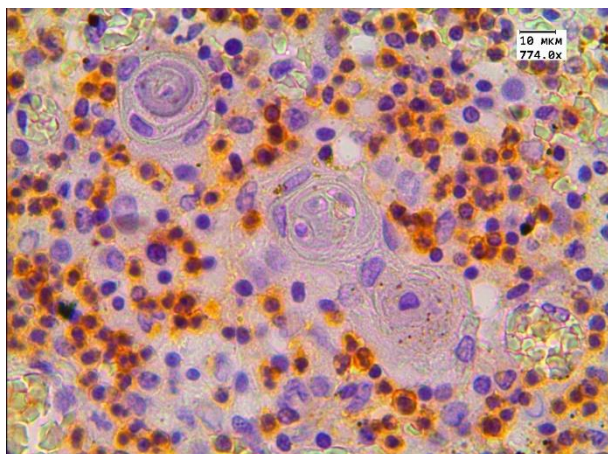
При помощи иммуногистохимических реакций было выявлено, что в группе сравнения большинство клеток в микроокружении ТГ составляли Т-лимфоциты – 63% (Рисунок 22 - А). Доля макрофагов была значительно ниже – 3,5% (Рисунок 22 - В). Кроме того, в этой группе практически во всех ТГ регрессивного типа были

обнаружены CD68-положительные клетки, которые локализовались в их полости. (Рисунок 22 - В).

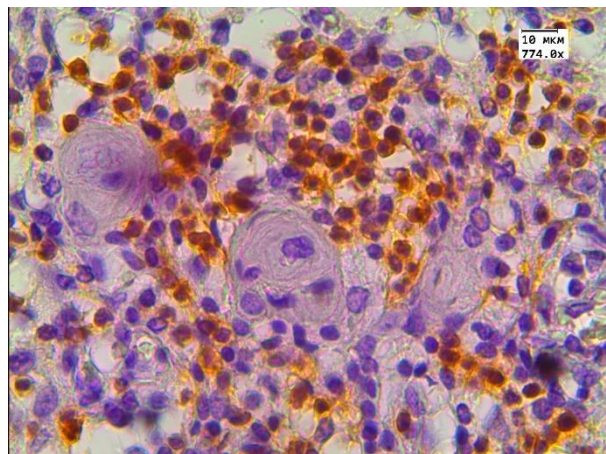
Таблица 13 – Соотношение телец Гассалья по степени зрелости в вилочковых железах новорожденных, умерших от инфекционной патологии

Тельца Гассалья \ Группа	Группа 1 Нормальная масса ВЖ	Группа 2 Увеличение массы ВЖ	Z	P
	Me {Q1-Q3} (min-max)	Me {Q1-Q3} (min-max)		
Количество в поле зрения	7,5 {6-9} (4-10)	4 {3-6} (1-9)	0,993	0,321
Прогрессивные, %	12,7 {0-16,67} (0-25)	0 {0-20} (0-100)	-2,991	0,003
Зрелые, %	16,67 {11,11-25} (10-37,5)	33,33 {16,67-50} (0-100)	3,869	0,000
Регрессивные, %	70,71 {66,67-77,78} (37,5-90)	60 {50-69,05} (0-100)	-1,562	0,118
Примечание: при статистической обработке использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, отличия считали достоверными при $p > 0,05$.				

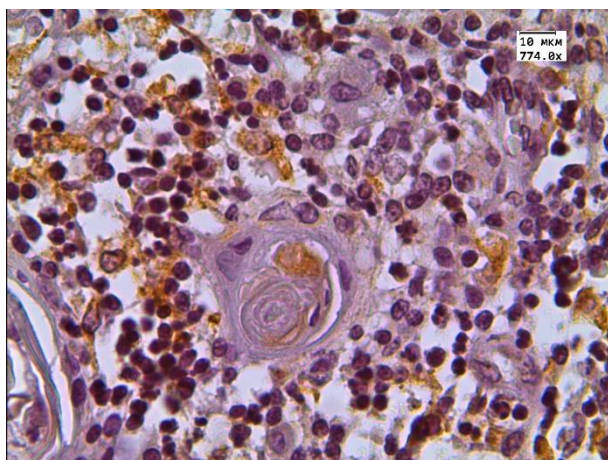
В исследуемой группе процент клеток, которые реагировали на все использованные иммуногистохимические маркеры, уменьшался. Количество CD3-положительных лимфоцитов снизилось примерно в 1,5 раза (Таблица 14, Рисунок 22 - В); CD68-положительных клеток – в 3,5 раза (Таблица 14, Рисунок 22 - Г). Важно подчеркнуть, что в этой группе макрофаги были обнаружены только в единичных случаях в просвете телец.



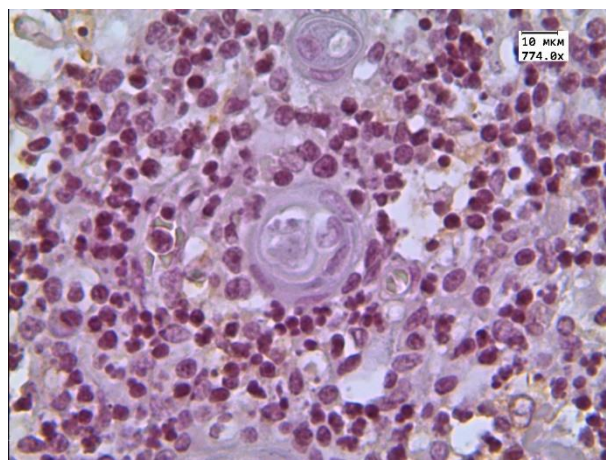
А



В



Г



Б

Рисунок 22 – Реакция с антителами к иммуногистохимическим маркерам в клетках микроокружения ТГ: А, Б – в тимусе без увеличения массы, В, Г – тимусы с увеличенной массой; А, В – с антителами к CD3; Б, Г – с антителами к CD68, ув. 774

Таблица 14 – Доля клеток, дающих положительную иммуногистохимическую реакцию с антителами к маркерам в клетках микроокружения ТГ в вилочковых железах с увеличенной массой и без ее увеличения

Группа Маркер	Группа 1 (ВЖ без увеличения массы) Me (Q1-Q3) {min-max}	Группа 2 (ВЖ с увеличенной массой) Me (Q1-Q3) {min-max}	Z	P
CD3, % (тимоциты)	63 (48-90,5) {23-110}	47 (23-59) {3-81}	2,340	0,019
CD68, %	3,5 (1-7) {0-13}	1 (0-4) {0-13}	3,033	0,002
Примечание: использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, отличия считали достоверными при $p > 0,05$				

Как уже упоминалось ранее, в контрольной группе эпителиальные клетки, позитивно окрашенные при реакции с антителами к СК-19, были равномерно распределены как в корковом, так и в мозговом веществе, образуя сеть. (Рисунок 23 - А). В этой группе доля ТГ, в которых была обнаружена положительная ИГХ-реакция на данный маркер, составила 65,4% (Рисунок 23 - В).

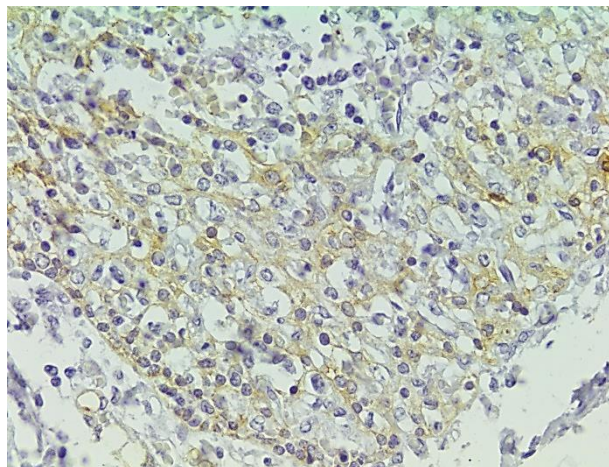
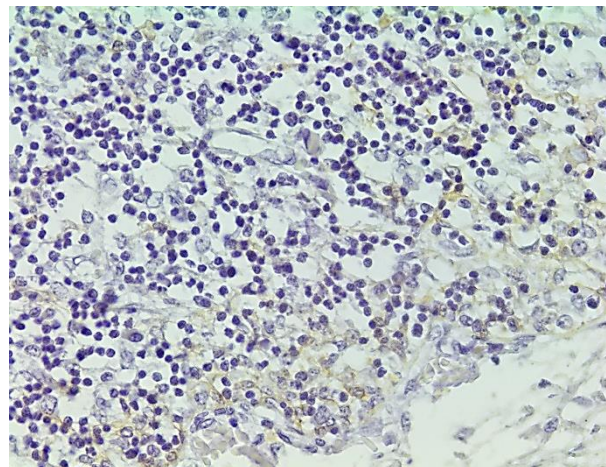
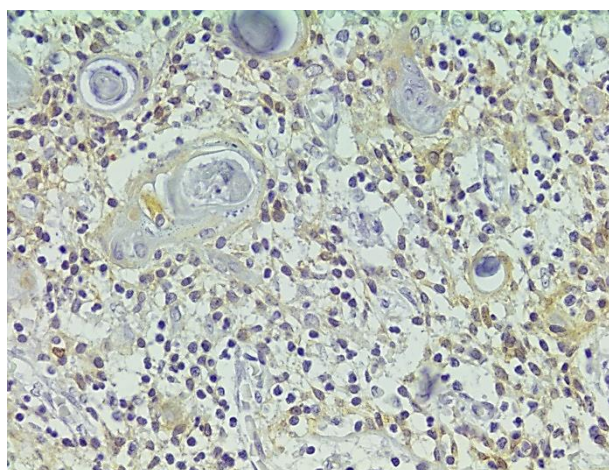
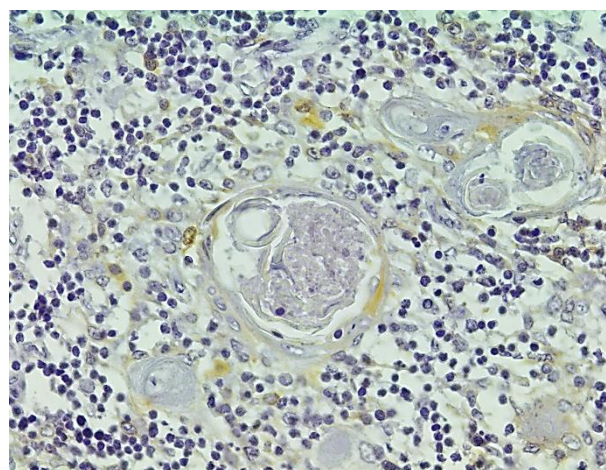
**А****Б****В****Г**

Рисунок 23 – Иммуногистохимическая реакция с антителами к маркера цитокератин-19: А, В – группа сравнения; Б, Г – исследуемая группа.
Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК19. Ув. 774

Таблица 15 – Доля клеток с положительной ИГХ-реакцией с антителами к СК-19 в клетках вилочковой железы с увеличенной массой и без ее увеличения

Группа % клеток с позитивным окрашиванием	Группа 1 (ВЖ без увеличения массы) Me (Q1-Q3) {min-max}	Группа 2 (ВЖ с увеличенной массой) Me (Q1-Q3) {min-max}	Z	P
В мозговом слое	7,56 (5,93-12,68) {3,97-19,19}	7,87 (5,6-9,3) {3,68-13,24}	1,78	0,06
В составе телец Гассалья	70 (41,33-72) {41-72}	66 (65-66,67) {46-73,33}	0,23	0,82
Примечание: использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, отличия считали достоверными при $p > 0,05$				

В группе с гиперплазией вилочковой железы общее количество клеток с цитокератин-19 положительной ИГХ-реакцией практически не изменялось. Однако обращало на себя внимание, что они не формировали сетчатых структур и были распределены неравномерно (Таблица 15, Рисунок 23 - А, Б). Количество СК-19 положительных клеток в микросреде телец Гассалья, которые находятся в корковом слое, не продемонстрировало значимых изменений и составило 7,8%..

В ходе исследования не было отмечено изменений в процентном соотношении телец Гассалья с положительной ИГХ-реакцией данного маркера. В группах исследования и сравнения медиана этого показателя составила 66% и 70% соответственно (Таблица 15, Рисунок 23 - В, Г).

Морфологическое исследование телец Гассалья в вилочковой железе с гиперплазией показало, что их общее количество в поле зрения уменьшается, и меняется соотношение телец Гассалья (прогрессивные / зрелые / регрессивные) в сторону увеличения телец регрессивного типа, что свидетельствует о нарушении процессов их обновления. В микроокружении телец Гассалья снижается количество Т-лимфоцитов.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в результате проведенного исследования данные, имеют практическую значимость для врачей-патологоанатомов и научных исследователей, изучающих патогенез того или иного патологического процесса. Актуализация данных о медианных значениях массы вилочковой железы позволит врачам-патологоанатомам определить влияние вилочковой железы на танатогенез, так как функциональная роль вилочковой железы, как органа с широкими возможностями нейроиммуноэндокринного взаимодействия, обуславливает ее вовлечение практически во все патологические процессы.

Для морфолога при формулировании заключительного патологоанатомического диагноза критически важно иметь актуальные данные о морфометрических показателях вилочковой железы, так как состояние именно этого органа играет определяющую роль в развитии и исходе любого заболевания, особенно в период новорожденности.

В работах А.И. Абрикосова (1948), которые были использованы в более поздних исследованиях, таких как работы И.С. Дергачева (1964), Г.Г. Автандилова (2002) и М.А. Пальцева и соавторов (2002), представлены сведения о весе тимуса в разные возрастные периоды [3, 5, 34, 87]. Безусловно, эти сведения представляют большую ценность для специалистов в области патологической анатомии, которые занимаются вскрытием тел умерших детей старше одного года и взрослых. Однако появление новой категории вскрытий маловесных и недоношенных детей продиктовало необходимость поиска новых критериев «условной» нормы. Наши результаты полностью совпадают с результатами предыдущих исследований тимуса. Как известно, в младенческом возрасте существует наиболее сильная связь между массой вилочковой железы и весом ребёнка, а не с его возрастом или сроком беременности.

Grandmaison G.L. и соавт. (2001), впервые в своих работах показали, что связь массы внутренних органов намного сильнее с массой тела, чем с возрастом

[139]. К сожалению, они не приводят данных по вилочковой железе, но правомерность их выводов подтвердило наше исследование.

Разработанная в результате проведенного нами исследования таблица соответствия массы тела и вилочковой железы плодов и новорожденных подтверждает факт наличия сильной прямой корреляции массы вилочковой железы с массой тела у плодов или новорожденных раннего неонатального периода [74]. Полученные данные согласуются и дополняют ранее предложенные таблицы, где авторы указывают массу вилочковой железы у плодов только на период гестации [72, 84, 87], а у новорожденных – только на момент рождения (без уточнения массы тела) и далее с интервалом в 1 год (по Гундобину Н.П) или 5 лет (по Абрикосову А.И.) [33].

В литературе мы нашли небольшое количество работ педиатров, иммунологов и врачей ультразвуковой диагностики, которые в своих исследованиях отмечали несомненную привязку массы вилочковой железы к массе тела ребенка, его иммунологическому статусу [9, 60, 65, 66, 70, 72, 73].

Важно отметить, что клиницисты чаще всего опираются не на фактическую массу вилочковой железы, а на данные, полученные путем различных методик расчета [72]. Для педиатров определяющую роль играет значение тимического индекса (ТИ%), который рассчитывается как отношение массы вилочковой железы к массе тела ребенка или плода, выраженное в процентах. Однако, З.И. Эсмурзиева (2010) в своих работах, основанных на УЗИ-исследованиях, отмечает, что фактические значения массы вилочковой железы отличаются от рассчитанных в 1,6 раза [72]. В работе патологоанатома неприемлемы многие клинические методики для расчета тех или иных показателей по косвенным признакам. Что касается морфологических работ, посвященных массе вилочковой железы маловесных детей и детей с экстремально низкой массой тела, то они единичны и, как правило, основаны на определении массы тимуса в различные сроки гестации [56, 57, 58, 84]. Разработанная в нашем исследовании таблица зависимости массы тимуса от массы тела плодов и новорожденных дает врачам-патологоанатомам удобный для практической деятельности справочный материал для определения нормы и патологии и может помочь проработать данный аспект проблемы и внести

необходимые правки в методики вычисления результатов, полученных при других методах исследования, в частности, при УЗИ- диагностике.

В научных трудах можно найти информацию о том, что при инфекционных болезнях, если тимус развивается нормально, его вес больше, чем при неинфекционных заболеваниях [9, 46]. Некоторые специалисты считают, что такие изменения связаны с возникновением «транзиторной тимомегалии» [106]. Другие авторы отмечают, что «транзиторная тимомегалия» – адекватный ответ организма на инфекционное заболевание, и своего максимального морфологического выражения она достигает на 2-3 день инфекционного процесса [52, 53, 54].

В ходе исследования мы обнаружили, что подобная тенденция проявляется только у детей с весом более 4000 граммов. При этом значения тимического индекса находились в пределах от 75 до 100 процентиля.

В ходе морфологического анализа мы обнаружили, что тимус увеличивается неравномерно, преимущественно за счёт разрастания коркового слоя на фоне сокращения объёма долек [28]. На уменьшение площади долек вилочковой железы при увеличении ее массы обращали внимание и другие авторы [70, 71]. Сходные морфологические изменения были описаны у животных в экспериментальной модели иммунодефицитного состояния [113].

В зарубежных источниках часто встречается понятие «гиперплазия тимуса», которое связано с увеличением количества клеток тимуса в поле зрения. Однако в доступных источниках не удалось найти конкретное число клеток, которое соответствует этому понятию [46, 154, 155]. В ходе исследования мы обнаружили, что по мере роста массы вилочковой железы возрастает число тимоцитов, которые можно увидеть в поле зрения. Кроме того, нами было обнаружено, что содержание более 170 тимоцитов в поле зрения в корковом слое вилочковой железы – это признак увеличения ее массы и, вероятно, в этом случае правомерно употреблять термин «гиперплазия тимуса» [28].

Обратная тенденция относительно количества тимоцитов описана Л.В. Кулидой в 2011 году при обследовании детей с экстремально низкой массой тела, у которых значение тимико-массового коэффициента (эквивалент ТИ%) составляло 0,002 условные единицы [59]. Однако следует отметить, что автор

проводила исследования тимуса у плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела при сроках гестации от 22 до 27 недель.

Согласно современным представлениям о морфологии вилочковой железы, именно в субкапсулярной зоне коркового слоя тимуса происходит первичное накопление претимоцитов, мигрирующих в вилочковую железу из костного мозга [99]. Известно, что процесс созревания тимоцитов проходит поэтапно, и претимоциты перемещаются из коры в мозговое вещество [39, 40, 41]. В корковом слое тимуса эти клетки продолжают своё развитие и превращение в зрелые лимфоциты. Затем они перемещаются в мозговое вещество тимуса и оттуда попадают в кровоток. Таким образом, согласно точке зрения этих исследователей, разрастание тимуса происходит из-за увеличения числа незрелых лимфоцитов и сбоя в их развитии и перемещении в корковое вещество. [42].

В исследованиях Н. Schuurman, L. Kater (1990), А.Н. Чередыева, Л.В. Ковальчука (1989) поэтапно описаны процессы приобретения тимоцитами поверхностных антигенов. Согласно этим данным, в костном мозге претимоциты имеют на своей поверхности TdT (Terminal deoxynucleotidill Transferase), который они сохраняют в субкапсулярной зоне коркового вещества вилочковой железы. Продвигаясь по эпителиальной сети незрелые тимоциты получают поверхностный рецептор CD1a, который сохраняется вплоть до миграции тимоцитов в мозговой слой тимуса. В процессе дифференцировки тимоцитов CD1a должен быть замещен CD3-рецептором [19].

В ряде исследований отмечается, что CD1a является не только маркером созревающих лимфоцитов, но в то же время положительная иммуногистохимическая реакция характерна для дендритных клеток мозгового вещества вилочковой железы [116, 146].

В нашем исследовании было установлено, что при увеличении массы вилочковой железы в структуре мозгового вещества тимуса обнаруживаются скопления CD1a-позитивных клеток, морфология которых не соответствует дендритным клеткам. Данный факт свидетельствует о нарушении процессов селекции тимоцитов. С функциональной точки зрения, увеличение массы тимуса может считаться признаком несовершенства иммунной системы, так как только из

мозгового вещества тимоциты попадают в периферическую кровь. CD1a-положительные лимфоциты являются незрелыми, следовательно, не способны выполнять в полной мере свои функции.

Мы согласны с точкой зрения исследователей, которые утверждают, что CD-3 антиген характерен для зрелых тимоцитов, расположенных в корковом слое [50]. К сожалению, в литературе мы не нашли данных по изменению количества этих клеток в вилочковой железе с увеличенной массой. В ходе исследования мы обнаружили, что при увеличении массы тимуса происходит увеличение его коркового слоя. В этом слое количество зрелых тимоцитов, которые несут на своей поверхности рецепторы к CD3, увеличивается в 2,7 раза. В то же время, не было обнаружено статистически значимых различий в количестве клеток с положительной реакцией на этот маркер в мозговом слое тимуса. В результате увеличения массы тимуса в его корковом слое происходит накопление Т-клеток, что препятствует их перемещению в мозговое вещество [76]. Как известно, в здоровом состоянии на границе между корковым и мозговым слоями образуется гематотимусный барьер, состоящий из эпителиоретикулярных клеток. Этот барьер служит для изоляции мозгового вещества. Вероятно, рост числа CD3-положительных клеток в коре может свидетельствовать о дисфункции этого барьера. Поскольку число CD3-положительных клеток в мозговом веществе тимуса, где происходит заключительная стадия созревания лимфоцитов, было одинаковым в обеих группах, можно сделать вывод, что увеличение массы тимуса не является индикатором активации клеточного иммунитета. Некоторые исследователи считают, что клетки, находящиеся в корковом слое тимуса, не могут попасть в кровотоки и, следовательно, не могут выполнять свои функции [160].

Тем не менее, этот вопрос требует более глубокого изучения. Существует гипотеза, что увеличение количества клеток в корковом веществе может быть связано с активной миграцией предшественников из костного мозга. Некоторые исследователи считают, что CD3 является маркером активации тимопоэза [116].

В литературе имеются данные иммунологов о содержании в CD1a-положительных дендритных клеток в коже, легких и некоторых других органах, а также обнаруживаются свободные CD1a-положительные клетки в норме в

периферической крови. В обзорной статье Y. Matsuzaki и группы авторов имеются указания на факт того, что содержание данных клеток увеличивается в периферической крови при аутоиммунных заболеваниях, туберкулезе и дерматитах [126, 127]. Исследованию CD3-лимфоцитов в периферической крови посвящено несколько опубликованных клиницистами работ. Авторы также отмечают, что рецептор CD3 характерен для всех субпопуляций зрелых лимфоцитов [116, 124, 125]. Морфологические исследования, посвященные изучению CD3-лимфоцитов в тимусе, в основном проведены на лабораторных животных [70, 71]. Однако в литературе имеются данные о том, что вилочковая железа человека обладает набором уникальных морфологических характеристик, что ставит под сомнение возможность использования экспериментальных животных для воспроизведения модели развития патологических процессов в тимусе [119].

Для изучения макрофагов вилочковой железы нами было использовано 2 иммуногистохимических маркера: CD68 и CD163. Большое количество исследователей применяли только один маркер CD68 для выявления макрофагов в тимусе [94, 102, 104, 136]. Однако CD68 не может считаться специфичным маркером только для макрофагов и тучных клеток. Этот маркер также обнаруживается в гранулоцитах, дендритных клетках, базофилах, фибробластах, клетках Купфера, остеокластах и В-лимфоцитах [4, 93]. Другие исследования показывают, что более специфичным маркером макрофагов является CD163. Его использование позволяет прицельно оценить популяцию макрофагов тимуса [91, 92]. Мы посчитали, что применение двух маркеров более целесообразно и позволяет выделить из большой группы клеток, дающих положительную ИГХ-реакцию CD68, именно CD163- позитивные клетки моноцитарно-макрофагального ряда.

Итоги наших исследований продемонстрировали, что изменения в этих маркерах происходили в разных направлениях: в увеличенной вилочковой железе количество клеток с положительной реакцией на антитела к CD68 возрастало только в корковом веществе. В то же время количество клеток с положительной

реакцией на антитела к CD163 уменьшалось как в корковом, так и в мозговом веществе вилочковой железы.

В литературе имеются указания на то, что В-клетки и даже плазмоциты встречаются в ткани тимуса, и особенно часто они локализуются у телец Гассала [160].

CD68 - положительные клетки были обнаружены другими исследователями в структуре телец Гассала [61]. В данном исследовании авторами был выявлен специфический паттерн расположения CD68-позитивных клеток, ассоциированных с тельцами Гассала. Однако они не провели сравнительный анализ распределения макрофагов в окружении телец различных стадий. В нашем исследовании было установлено, что, во-первых, CD68 - позитивные клетки чаще встречаются в окружении телец регрессивного типа, а во-вторых, количество CD68 - позитивных клеток уменьшается при увеличении массы вилочковой железы.

Таким образом, повышение доли клеток с положительной ИГХ-реакцией с антителами к CD68 отражает увеличение количества базофилов, плазмоцитов, тучных и В-клеток, ну и конечно же некоторой части макрофагов. Однако функциональное назначение данных клеток в вилочковой железе до настоящего времени остается малоизученным [95, 100]. Существует предположение, что В-клетки могут быть задействованы в процессе отрицательного отбора [125, 126]. Это могло бы объяснить, как происходит компенсация отрицательного отбора за счёт увеличения количества В-клеток. Однако некоторые исследователи не считают, что теория о роли В-клеток в уничтожении дефектных тимоцитов имеет достаточное обоснование [154, 155].

Некоторые исследователи ассоциируют фенотип CD68 с возникновением активированных макрофагов, которые играют ключевую роль в клеточно-опосредованном иммунном ответе и способны реагировать на разнообразные стрессовые воздействия [20, 168].

Полученные в нашем исследовании данные говорят о снижении активности CD163 макрофагов тимуса. В процессе отрицательной селекции повреждённые лимфоциты распознаются и уничтожаются макрофагами. Уменьшение количества клеток с положительной иммуногистохимической реакцией на антитела к CD163

в тимусе детей с увеличенной массой этого органа свидетельствует о снижении эффективности отрицательной селекции. Это, в свою очередь, приводит к увеличению числа дефектных лимфоцитов.

Тучные клетки снижают активность Т-регуляторных клеток, включая макрофаги тимуса, выделяя гистамин. Это означает, что при увеличении размеров тимуса не только уменьшается количество макрофагов, но и усиливается их подавление. Такой эффект отрицательно влияет на негативную селекцию тимоцитов, нарушая процесс их нормального развития.

Многие авторы отмечают наличие в вилочковой железе нескольких популяций клеток эпителиального происхождения, среди которых выделяют четыре типа: субкапсулярный, внутренний кортикальный, медуллярный эпителий и эпителий телец Гассала [88, 102, 173]. Другие авторы считают, что цитокератин-позитивные клетки представляют собой клетки ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС) вилочковой железы и эпителиоциты телец Гассала. Клеткам РЭС авторы отводят значительную роль в процессах созревания, дифференцировки и обучения лимфоцитов [134, 157, 163]. Эти клетки обладают большим количеством ответвлений, которые образуют сеть, по мнению исследователей, важную для корректного развития Т-лимфоцитов [92]. В научных трудах можно найти информацию о том, что в тимусе существует непрерывная система клеток, которая охватывает как корковое, так и мозговое вещество. Эта система включает в себя тельца Гассала, которые являются результатом дифференцировки эпителиальных клеток тимуса [12]. Опираясь на ранее приведенные другими исследователями данные, которые в своих исследованиях использовали цитокератиновые коктейли и конкретные фракции цитокератинов, было решено в данном исследовании использовать СК-19, так как именно эта фракция кислых кератинов наиболее специфична для эпителиального компонента вилочковой железы (обнаруживается и в клетках РЭС, и в эпителиоцитах телец Гассала) [21, 173].

В ходе нашего исследования мы обнаружили, что у детей с нормальной массой вилочковой железы СК-19 в корковом и мозговом веществе тимуса эпителиальные клетки образуют сеть. В случае гиперплазии тимуса происходит уменьшение количества клеток, которые экспрессируют СК-19, в коре тимуса.

Помимо этого, обнаружено нарушение образования связей между этими клетками как в коре, так и в мозговом веществе вилочковой железы. В некоторых работах подчёркивается, что рост количества клеток, содержащих антиген СК-19, — это обычная реакция тимуса на стресс и воспаление. Авторы связывают описанные изменения в клеточном составе тимуса с восстановлением коркового вещества благодаря активации процессов размножения и специализации клеток тимуса [15]. Основываясь на результатах предыдущих исследований, которые показывают, что сеть клеток эпителиального происхождения служит площадкой для взаимодействия лимфоцитов с клетками, представляющими антигены, и создаёт оптимальные условия для созревания Т-лимфоцитов, можно предположить, что нарушение этой сети в увеличенной тимусе может быть ещё одним признаком его дисфункции.

Морфологическая картина вилочковой железы с нормальной массой в нашем исследовании полностью соответствовала типичному описанию, представленному в ряде исследований [19, 84, 85]. В литературе имеются сведения о том, что морфология вилочковой железы при ее увеличении не отличается от ее строения в норме [165]. Проведенное нами исследование показало, что вилочковая железа с увеличенной массой имеет морфологические особенности: в ней уменьшается площадь долек, что согласуется с данными других авторов [147]. Но стоит подчеркнуть, что в своих работах эти исследователи отмечали рост индекса мозгового вещества в дольках тимуса. По всей видимости, это можно объяснить тем, что в исследовании Daniel Scharifker (2006) и Smita Manchanda и соавторов (2017) использовался материал других возрастных групп [145, 164]. Таким образом, мы можем говорить о том, что описанные нами изменения являются характерными только для вилочковой железы плодов и новорожденных.

В ходе исследования морфологических особенностей телец Гассалья (ТГ) мы обнаружили, что их общее число в вилочковой железе с увеличенным весом уменьшается. В ходе исследования мы не обнаружили в доступных нам источниках информации данных о количественных показателях ТГ в случае патологии неонатального периода, которые мы изучали. В научных трудах можно

найти информацию о том, что уровень ТГ уменьшается и при аутоиммунных болезнях, и при иммунодефицитных состояниях [170].

Другие исследователи также отмечали наличие кистозных трансформаций и формирование «многополостных» ТГ. Так, Н.Н. Омельчук (2014) обнаружил сходные морфологические изменения телец Гассалья при увеличении массы тимуса. Другие исследователи, подобные изменения в вилочковой железе описали при язвенном колите. К сожалению, авторы не связывали упомянутые ситуации с изменениями в весе тимуса [84].

Хотя существует множество классификаций телец Гассалья, в научной литературе не рассматривался вопрос о том, как они соотносятся по уровню зрелости в норме и при различных заболеваниях.

В ходе исследования мы обнаружили, что в тимусе с нормальной массой тела соотношение ТГ (прогрессивных, зрелых и регрессивных) было 1:2,8:2, то есть большинство составляли зрелые клетки. В вилочковой железе с гиперплазией подобное соотношение составляло 1 : 4,1 : 8,4, то есть более чем в четыре раза увеличивалось количество регрессивных телец. Следует отметить, что в данных ТГ преобладали эпителиоциты второго типа. Это позволило сделать вывод, что при гиперплазии тимуса большая часть телец Гассалья функционально неактивны. Снижение количества телец Гассалья приводит к снижению процессов негативной селекции Т-лимфоцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ 922 протоколов вскрытия и результатов гистологического исследования аутопсийного материала плодов и новорожденных выявил наличие сильной корреляции массы вилочковой железы с массой тела и позволил составить оценочную таблицу гармоничного соответствия массы вилочковой железы массе тела для современного периода (первой четверти 21 века). Результаты исследований, представленные в таблице, дополняют имеющиеся сведения о массе вилочковой железы у плодов и новорожденных в раннем неонатальном периоде. Ретроспективный анализ этих же случаев с применением данной таблицы позволил установить, что вилочковая железа с увеличенной массой встречается в 27% случаев, тогда как в клиническом заключительном диагнозе сведений о возможном увеличении вилочковой железы мы не встретили. В патологоанатомическом диагнозе только в 9 случаях имелись данные об увеличении вилочковой железы, что составило 2,2%. Эти показатели свидетельствуют о гиподиагностике данной патологии.

Установлено, что тимический индекс, широко применяемый в практике врача ультразвуковой диагностики для оценки состояния вилочковой железы, неудобен для оценки результатов патологоанатомического исследования, так как требует проведения дополнительных расчетов.

Гистологическое изучение увеличенных вилочковых желез позволило выявить объективный морфологический критерий увеличения вилочковой железы – это уменьшение площади долек с соответствующим увеличением количества долек в поле зрения микроскопа. Был предложен способ вычисления индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ). Установлено, что значение ИГДТ 0,960 - 1,855 соответствует норме. При значениях ИГДТ 856 - 1,886 можно говорить об увеличении вилочковой железы I степени, при значениях ИГДТ 1,887 - 2,142 – об увеличении II степени, а при ИГДТ > 2,143 – увеличении III степени. Мы считаем, что при увеличении вилочковой железы I и II степени логичнее применять термин

«гиперплазия» вилочковой железы, а при III степени уместно применение термина «тимомегалии».

Установлено, что с уменьшением площади долек меняется соотношение площадей коркового и мозгового вещества. В вилочковой железе с нормальной массой соотношение площади коркового вещества к мозговому веществу составляет 2,1:1, с увеличенной массой – 5,7:1. То есть площадь коркового вещества в увеличенной вилочковой железе увеличивается в 2,7 раза за счет увеличения общего количества клеток. Установлено, что в вилочковой железе с нормальной массой общее количество клеток составляет – 145 (Me: 125-167), а в вилочковой железе с увеличенной массой – 186 (Me: 170-225) ($p = 0,001$). В мозговой веществе количество клеток также увеличивается, не имеет достоверных значений ($p = 0,286$). То есть, если при подсчете количества клеток коркового слоя вилочковой железы мы получаем показатели более 170 клеток, то это также является показателем гиперплазии вилочковой железы.

Иммуногистохимическое изучение клеточной популяции, составляющей корковый слой увеличенного тимуса, позволило установить, что увеличение вилочковой железы происходит за счет CD3 и CD68 положительных клеток, то есть за счет зрелых лимфоцитов, а также базофилов, плазмоцитов, тучных и В-клеток, ну и конечно же некоторой части макрофагов. Что касается СК-19 положительных клеток в корковом слое вилочковой железы, то при увеличении массы органа наблюдается уменьшение их количества. Кроме того, выявлено нарушение их расположения: данные клетки не формировали сетчатых структур, которые обнаруживались в вилочковых железах с нормальной массой.

Аналогичная тенденция наблюдалась и с тельцами Гассалья, их количество уменьшалось в вилочковой железе с увеличенной массой. В вилочковой железе с нормальной массой соотношение ТГ (прогрессивные / зрелые / регрессивные) составляло 1 : 2,8 : 2, то есть преобладали зрелые тельца. В вилочковой железе с увеличенной массой подобное соотношение составляло 1 : 4,1 : 8,4, то есть более чем в четыре раза увеличивалось количество регрессивных телец. Следует отметить, что в данных ТГ преобладали эпителиоциты второго типа. Это позволило сделать вывод, что в увеличенном тимусе большая часть телец Гассалья

функционально неактивны, и это может свидетельствовать о нарушении процессов негативной селекции лимфоцитов.

В мозговом слое долек тимуса с увеличенной массой обнаружены CD1a-положительные клетки. Данный факт свидетельствует о нарушении процессов дифференцировки и селекции тимоцитов в вилочковой железе с увеличенной массой. Кроме того, данные клетки могут попадать в периферический кровоток, что ведет к недостаточности клеточного иммунитета.

Таким образом, изучение морфологии увеличенной вилочковой железы показало, что ее строение нарушается по сравнению с «условной» нормой. Выявленные признаки: уменьшение площади долек с увеличением их количества, нарушение соотношения коркового и мозгового вещества за счет гиперплазии CD3 и CD68 положительных клеток в корковом веществе, уменьшение количества СК-19 положительных клеток и их структурной организации; а также уменьшение количества телец Гассалья с преобладанием среди них регрессивных телец свидетельствует о нарушении процессов негативной селекции тимоцитов и морфофункциональной недостаточности вилочковой железы, так как только клетки, прошедшие негативную селекцию, могут мигрировать в мозговой слой тимуса и далее в периферическую кровь для выполнения своих функций.

На основании проведенного исследования был разработан алгоритм выявления гиперплазии тимуса, представленный на рисунке 24.

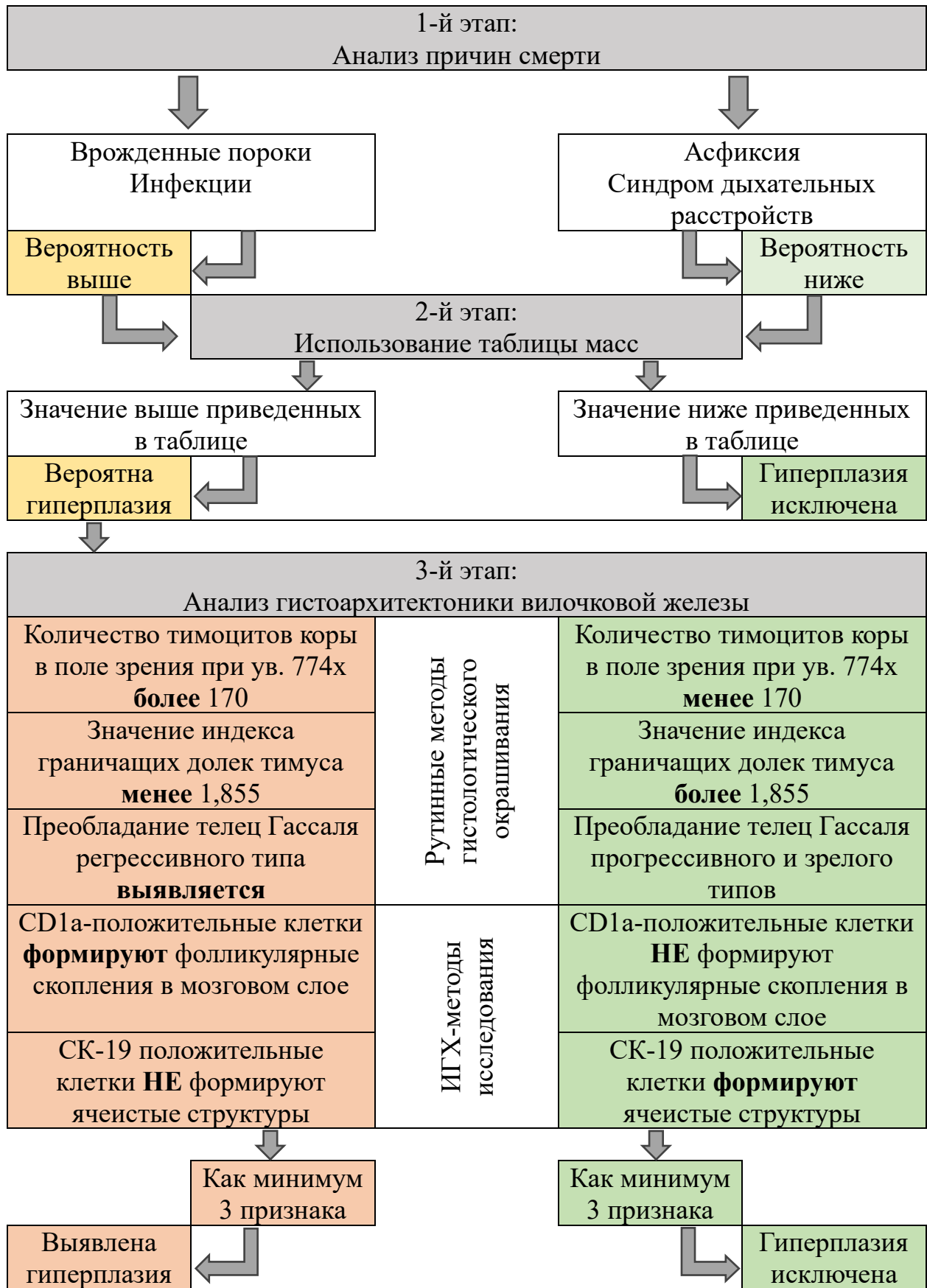


Рисунок 24 – Алгоритм выявления гиперплазии тимуса

ВЫВОДЫ

1. Для совершенствования посмертной диагностики гиперплазии вилочковой железы разработана оценочная таблица распределения масс вилочковой железы в зависимости от массы тела плода/новорожденного, позволяющая усовершенствовать ее посмертную диагностику. Объективность и правомочность данных, приведенных в таблице, доказана высокими значениями корреляционных связей и совпадением коэффициентов регрессии в двух разнородных группах.

2. В вилочковой железе с увеличенной массой происходит уменьшение площади ее долек, сопровождающееся расширением зоны коркового вещества и изменением соотношения площади коркового и мозгового вещества. В вилочковой железе с гиперплазией это соотношение составляет 5,7:1, в органе с нормальной массой – 2,1:1. Предложен способ диагностики гиперплазии вилочковой железы у детей в раннем неонатальном периоде с использованием нового гистологического критерия – индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ).

3. Достоверными гистологическими признаками гиперплазии вилочковой железы являются: площадь долек (уменьшается в среднем на 15%), количество долек, попадающих в поле зрения микроскопа (увеличивается на 34%), увеличение количества клеток в корковом слое (более 170 клеток в поле зрения при увеличении 774,0).

4. Увеличение массы вилочковой железы происходит за счет гиперплазии в корковом слое CD3 и CD68 положительных клеток, т.е. за счет лимфоцитов, моноцитов, базофилов, тучных клеток и В-клеток. Количество CD163 и СК19 положительных клеток в корковом слое вилочковой железы с увеличенной массой уменьшается по сравнению таким же показателем в вилочковой железе с нормальной массой. В мозговом веществе вилочковой железы при гиперплазии увеличивается количество CD1a-положительных клеток практически в 4 раза.

5. Установлено, что при гиперплазии тимуса происходит уменьшение количества прогрессивных и зрелых телец Гассалья в 2,3 и 1,6 раза соответственно. В то же время количество регрессивных телец увеличивается более чем в 4 раза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оптимизации диагностики гиперплазии тимуса, рекомендуется использовать разработанный алгоритм, учитывающий массу тела плодов и новорожденных, а также массу их вилочковой железы, установленные при проведении патологоанатомического вскрытия и данные гистологического исследования тимуса.
2. При отсутствии данных по массе вилочковой железы в протоколе патологоанатомического вскрытия (акта судебно-медицинского исследования) рекомендуется диагностировать ее увеличение по данным гистологического исследования с использованием нового предложенного гистологического критерия – индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ) (Приложение 1), значения которого также позволяют определить степень увеличения тимуса. Референсные значения ИГДТ позволяют уточнить одну из трех степеней ее увеличения. ИГДТ 0,960 - 1,855 – соответствует норме, 856 - 1,886 – свидетельствует об увеличении вилочковой железы I степени, 1,887 - 2,142 – II степени, > 2,143 – III степени.
3. В качестве дополнительных гистологических критериев увеличения вилочковой железы рекомендуется использовать: соотношение площади коркового вещества к мозговому веществу, которое в норме составляет 2,1:1, с увеличенной массой – 5,7:1; увеличение количества тимоцитов в корковом слое вилочковой железы более 170 клеток при увеличении 774,0; изменение соотношения зрелых и регрессивных телец Гассала, которое в норме составляет 2,8 : 2, а вилочковых железах с увеличенной массой – 4,1 : 8,4 .

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В теоретическом аспекте, безусловно, актуально проведение исследований, касающихся особенностей механизмов взаимного влияния вилочковой железы и других эндокринных органов, в частности надпочечников, а также органов иммуногенеза. Несомненно, перспективным направлением является уточнение механизмов нарушения миграции тимоцитов в вилочковой железе из коркового мозговое вещество, а также функционального значения увеличенной вилочковой железы. На практике это означает поиск наиболее информативных и характерных признаков, которые могут указывать на функциональную активность тимуса. На основе этих признаков разрабатываются критерии для морфологической оценки этой активности в каждом конкретном случае. На основании полученных в ходе диссертационной работы критериев в дальнейшем можно установить корреляцию массы вилочковой железы с уровнями TREC\KREC в периферической крови новорожденных, что даст более полное представление о состоянии иммунной системы при увеличенной или уменьшенной массе вилочковой железы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- AIRE** – autoimmune regulator (аутоимунный регулятор)
- APC** – antigen presenting cells (антиген-представляющие клетки)
- CD** – cluster of differentiation / cluster designation (кластер дифференцировки)
- CEA** - cancer embrional antigen (раково-эмбриональный антиген)
- СК (ЦК)** – cytokerin (цитокератин)
- DN** – double negative (дважды отрицательные)
- DP** – double positive (дважды положительные)
- ETP** - early T-cell precursor (ранние Т-клеточные предшественники)
- МНС** – major histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)
- HLA** – human leukocyte antigens (человеческие лейкоцитарные антигены)
- LAMP** - Lysosomal-associated membrane protein
- МТЕС** - медулярные эпителиоциты тимуса
- TCR** – T-Cell receptor (Т-клеточный рецептор)
- ВЖ** – вилочковая железа
- ИГДТ** – индекс граничащих долек тимуса
- ИГХ** – иммуногистохимия
- КМ** – кортико-медулярная зона
- РЭК** – ретикуло-эпителиальные клетки
- СВДС** – синдром внезапной детской смерти
- СВСМ** – синдром внезапной смерти младенцев
- ТГ** – тельца Гассалья
- ТИ** – тимический индекс
- ТКН** – тимусные клетки-няньки
- ТМ** - тимомегалия
- УЗИ** – ультразвуковое исследование

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абаева, Т. С. Макро-микроскопическая анатомия вилочковой железы у новорожденных детей/ Т. С. Абаева // Вестник международного университета Кыргызстана. – 2015. – №1 (27). – С. 121-123.
2. Аблякимов, Э. Т. Функции телец Гассала и их связь с микроокружением / Э. Т. Аблякимов, М. А. Кривенцов // Научно-методический электронный журнал “Концепт”. – 2017. – № 42. – С. 112-115.
3. Абрикосов, А. И. Техника патологоанатомических вскрытий трупов / А.И. Абрикосов. – М.: Медгиз, 1948. – 168 с.
4. Авербах, М. М. Туберкулёзная гранулема. Современный взгляд на иммуногенез и клеточный состав / М. М. Авербах // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2010. – № 6. – С. 3–9.
5. Автандилов, Г. Г. Основы количественной патологической анатомии: учебное пособие для ФПК. / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 238 с.
6. Агеев, А. К. Гистопатология вилочковой железы человека / А. К. Агеев. – Л: Медицина, 1973. – 128 с.
7. Акцидентальная инволюция тимуса в растущем организме при воздействии различных видов стрессоров / М. Ю. Капитонова, С. Л. Кузнецов, С. В. Клаучек [и др.] // Морфология. –2006. – № 6. – С. 56-61.
8. Анисимова, В. П. О влиянии антенатальной патологии на состояние вилочковой железы / В. П. Анисимова // Иммунология и иммунопатологические состояния у детей : тезисы докладов Всесоюзной научной конференции (22–24 ноября 1983 г.). – Москва, 1983. – С. 18.
9. Аспекты вилочковой железы (тимуса) детского возраста (часть II) / Ю. И. Ровда, Н. Н. Миняйлова, А. В. Ведерникова [и др.] // Мать и дитя в Кузбассе. – 2020. – №4 (83). – С. 56-69.

10. Афанасьев, Ю. И. Гистология: учебник. / Ю. И. Афанасьев, Н. А. Юрина, Е. Ф. Котовский – 5-е изд. – М: Медицина, 2002. – 737 с.
11. Беловешкин, А. Г. К вопросу о классификации телец Гассалья тимуса человека / А. Г. Беловешкин // Молодой ученый. – 2013. – № 4 (51). – С. 631-634.
12. Беловешкин, А. Г. Морфофункциональные аспекты взаимосвязи кровеносных сосудов и телец Гассалья тимуса человека / А. Г. Беловешкин, Т. М. Студеникина // Национальная академия наук Беларуси. – 2012. – № 3. – С. 93-97.
13. Беловешкин, А. Г. Ультраструктурная характеристика процессов аутофагии в эпителиальных клетках мозгового вещества и телец Гассалья тимуса человека / А. Г. Беловешкин // Молодой ученый. – 2012. – № 7. – С. 338–340.
14. Беловешкин, А. Г. Участие миоидных клеток в морфогенезе телец Гассалья тимуса человека. / А. Г. Беловешкин, Т. М. Студеникина // Медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 22–24.
15. Беловешкин, А. Г. Участие эозинофилов в морфогенезе телец Гассалья / А. Г. Беловешкин, Т. М. Студеникина // Национальная академия наук Беларуси. – 2011. – №1 (27). – С. 93-97.
16. Беловешкин, А. Г. Этапы разрушения телец Гассалья тимуса человека / Беловешкин А. Г., Студеникина Т. М. // Медицинский журнал. – 2011. – №1 (35). – С. 25-26.
17. Билич, Г. Л. Анатомия человека. Современный атлас с подробными иллюстрациями. / Г. Л. Билич, Е. Ю. Зигалова. – МЕДПРОФ: атласы, книги для врачей, 2022. – 422 с.
18. Биорегуляция в медицине катастроф / В. С. Новиков, Г. М. Яковлев, В. С. Смирнов, В. Х. Хавинсон; Рос. акад. наук, Отд-ние физиологии. - СПб. : Наука : С.-Петербург. отд-ние, 1992. - 46
19. Болезни вилочковой железы / В. П. Харченко, Д. С. Саркисов, П. С. Ветшев [и др.]. – М.: Триада-Х, 1998. – 232 с.
20. Брындина, И. Г. Пептидергические механизмы регуляции бактерицидной активности альвеолярных макрофагов в условиях эмоционального стресса / И. Г.

- Брындина, Н. Н. Васильева, М. В. Казакова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 85. – С. 257–259
21. Бутенко, Г. Р. Эпителиальные опухоли вилочковой железы: иммуноцитохимические критерии / Г. Р. Бутенко // Новости клинической цитологии России. – 2020. – № 2. – С. 5-7
22. Бутко, Т. М. Патологические изменения надпочечников и вилочковой железы при синдроме внезапной смерти маленьких детей / Т. М. Бутко, О. Н. Демчук, А. И. Авдеев // Избранные вопросы судебно-медицинской экспертизы. – 1999. – № 2. – С. 60-63.
23. Вариабельность размера вилочковой железы у недоношенных детей разного гестационного возраста с осложненным течением неонатального периода / Л. Л. Панкратьева, В. Е. Мухин, Н. В. Чернова [и др.] // Иммунопатология. – 2014. – № 1. – С. 37-44
24. Внутриутробное развитие человека : рук. для врачей / И.Е. Алещенко, В.И. Алтухова, Т.Г. Бархина [и др.] ; под ред. А. П. Милованова, С. В. Савельева. - Москва : Московская типография, 2006. – 382 с. – ISBN 5-93649-017-3.
25. Возрастные изменения тимусзависимого звена иммунной системы / С.В. Демьяненко, В. А. Чистяков, А. С. Водопьянов, А. Б. Брень // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2012. – № 1. – С. 17-29.
26. Галактионов, В. Г. Иммунология: Учебное пособие. / В. Г. Галактионов. – М.: РИЦ МДК. – 2000. – С. 138-140.
27. Галил-Оглы, Г. А. Сравнительная ультраструктурная характеристика эпителиальных клеток паренхимы вилочковой железы и тимом / Г. А. Галил-Оглы, Я. Х. Ингберман, А. И. Берщанская // Архив патологии. – 1988. – № 9. – С. 51-60.
28. Гистологические признаки увеличения вилочковой железы. / Д.А. Мудрак, Н.А. Наволокин, А.М. Мыльников [и др.] // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2020. – № 9 (2). – С. 46-52.

29. Глуховец, Б. И. Синдром внезапной смерти младенцев: методологические и патогенетические варианты диагноза / Б. И. Глуховец // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – № 2. – С. 78–81
30. Гордова, В.С. Антигенпрезентирующие клетки лимфоидных органов / В.С. Гордова, И.М. Дьячкова // Вестник чувашского университета. – 2014. – № 2. – С. 217-224.
31. Гормональные нарушения у детей с синдромом увеличения вилочковой железы и возможная их коррекция/ П. Д. Ваганов, М. И. Мартынов, И. Г. Михеева [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. –2000. – № 4. – С. 32.
32. Греков, И. С. Патологоанатомические аспекты синдрома внезапной детской смерти в клинической практике (обзор литературы) / И. С. Греков, Р. Б. Кондратюк // Медико-социальные проблемы семьи. – 2020. – №4. – С. 73-81.
33. Давронова, Ш. Р. Новые взгляды об участии тимуса в процессах иммуногенеза / Ш. Р. Давронова // Scientific progress. – 2022. –№ 3. – С. 546-551.
34. Дергачев, И. С. Патологическая анатомия и патогенез болезней новорожденных, детей грудного и раннего возраста / И. С. Дергачев. – Москва : Медицина, 1964. – 342 с.
35. Диагностика и лечение состояний, ассоциированных с высоким риском внезапной сердечной смерти у детей / Е. Г. Цой, И. В. Болгова, Л. Н. Игишева, Л. Н. Глухова // Мать и дитя в Кузбассе. – 2008. – № 4. – С. 37-42.
36. Дисфункции показателей иммунной системы у детей с тимомегалией / Л. П. Андриеш, Т. Г. Цуркану, Д. В. Барба [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2018. – № 2. – С. 117.
37. Ерофеева, Л. М. Морфология тимуса человека в детские возрастные периоды / Л. М. Ерофеева // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 8. – С. 93.
38. Зарницына, Н. Ю. Тимомегалия, имитирующая тимому, как фактор, способствующий развитию тяжелой пневмонии у новорожденного / Н. Ю. Зарницына, Ю. В. Курносов, М. А. Подлужная // Материалы российской научно-

практической конференции с международным участием, посвященной 95-летию пермской педиатрической школы. – Пермь, 2017. – С. 411-415.

39. Зиматкин, С. М. Гистология, цитология и эмбриология : учебное пособие / С. М. Зиматкин// – Минск: Выш.шк., 2012. – 229 с.

40. Ивановская, Т. Е. Гиперплазия вилочковой железы и статус тимико-лимфатикус у детей грудного возраста / Т. Е. Ивановская // Педиатрия. – 1970. – № 1. – С. 22-29.

41. Ивановская, Т. Е. Иммунная система и ее связь с характером инфекционного процесса у детей / Т. Е. Ивановская // Архив патологии. – 1983. – № 7. – С. 3-13.

42. Ивановская, Т. Е. Структура тимуса, иммунный статус и патологический процесс / Т. Е. Ивановская, Л. П. Катасонова // Архив патологии. – 1986. – № 1. – С. 3-4.

43. Изменение соотношения телец Гассала по степени зрелости в тимусах детей, погибших в неонатальном периоде / Д.А. Мудрак, М.А. Микаелян, А.А. Неликян, Н.Е. Кузнецова / Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. – 2024. – Т. 14. – № 2. – С. 185.

44. Иммуногистохимические исследования клеточного состава тимуса при канцерогенезе в условиях врожденного иммунодефицита / Е. Г. Драндрова, Г. Ю. Стручко, Л. М. Меркулова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 199–206.

45. Иммуногистохимическая характеристика акцидентальной инволюции тимуса после спленэктомии / Е. В. Москвичев, Л. М. Меркулова, Г. Ю. Стручко [и др.] // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2012. – № 2. – С. 40-43.

46. Исраилов, Р. И. «Сепсис новорожденных и морфологическое состояние тимуса» / Р.И. Исраилов, Г.Э. Исоев, К.К. Нуманов // Журнал проблемы биологии и медицины. – 2016. – № 3 (89). – С. 29-31

47. Кабак, С. Л. Ангиология, неврология, спланхнология : учебно-методическое пособие / С. Л. Кабак. – Минск : БГМУ, 2020. – 124 с.

48. Кельцов, В. А. Современные представления о роли эндокринной системы в регуляции иммуногенеза в норме и патологии / В. А. Кельцов // Вопросы охраны материнства и детства. – 1986. – № 7. – С. 58-60.
49. Клещенко, Е. И. Некоторые клинико-лабораторные особенности новорожденных детей с синдромом увеличения вилочковой железы / Е. И. Клещенко, М. Н. Свиарева // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – №4 (109). – С. 25-26.
50. Ковальчук, Л. В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учеб. / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р.Я. Мешкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 640 с.
51. Криволапов, Ю. А. Морфологическая диагностика лимфом / Ю. А. Криволапов, Е. Е. Леенман. – Санкт-Петербург : КОСТА, 2006. – 202 с.
52. Кузьменко, Л. Г. Величина тимуса, внутриутробная инфицированность и врожденные пороки развития / Л. Г. Кузьменко, З. В. Смылова, Р. К. Агарвал // Электронный научно-образовательный вестник здоровье и образование в XXI веке. – 2015. – № 4. – С. 19-25.
53. Кузьменко, Л. Г. Концептуальный взгляд на генез врожденной тимомегалии / Л. Г. Кузьменко // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2012. – № 2. – С. 117.
54. Кузьменко, Л. Г. Лечебно-профилактическая помощь детям с увеличенной вилочковой железой / Л. Г. Кузьменко // Педиатрия. – 1996. – № 4.– С. 63-69.
55. Кузьменко, Л. Г. Современный взгляд на роль тимуса в живом организме и его участие в вакцинальном процессе у детей раннего возраста / Л.Г. Кузьменко, Н. М. Киселева // Дискуссионные вопросы клинической патофизиологии. – 2016. – № 22. – С. 104-114.
56. Кулида, Л. В. Диагностические критерии дисхронии тимуса у новорожденных с экстремально низкой массой тела / Л. В. Кулида, Л. П. Перетятко // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2010. – № 2/1. – С.157-158.

57. Кулида, Л. В. Морфологические критерии дисхронии тимуса у плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела / Л. В. Кулида, Л. П. Перетятко // Архив патологии. – 2010. – № 6. – С. 26-28.
58. Кулида, Л. В. Морфология тимуса и плаценты у плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела: дис...д-ра мед.наук: 14.03.01, 3.2.2 / Кулида Людмила Викторовна.– Ярославль, 2011. – 220 с.
59. Ластовка, И. Н. Особенности течения острых респираторных инфекций у детей раннего возраста с тимомегалией / И. Н. Ластовка, В. А. Матвеев, М. Г. Богданович // Охрана материнства и детства. – 2010. – № 2. – С. 20-24.
60. Ластовка, И. Н. Оценка величины вилочковой железы у новорожденных по данным ультразвукового исследования / И. Н. Ластовка, И. Н. Ластовка, В. А. Матвеев // Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – № 4. – С. 38-42.
61. Луговцов, Н. А. Топография клеточных элементов тимуса человека: CD68-положительные макрофаги, S-100, CD1a-положительные дендритные клетки, тельца Гассалья, их содержимое (СЕА) / Н. А. Луговцов, А. Н. Платонов, П. А. Луговцова // Научные стремления. – 2012. – № 2. – С. 101-105.
62. Лян, Н. А. Жак Миллер / Н. А. Лян // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2015. – №1 (40). – С. 4-6.
63. Масса тимуса и селезёнки у глубоко незрелых плодов и новорождённых по данным морфологического исследования / В. Б. Гринберг, А. А. Молчанова, К. Б. Жубанышева, Л. В. Фомина // Педиатрия и детская хирургия. – 2020. – № 1 (99). – С. 23-25.
64. Масса тимуса у детей первого года жизни, погибших вследствие синдрома внезапной смерти / А. В. Цинзерлинг, И. М. Воронцов, И. А. Кельмансон [и др.] // Архив патологии. – 1992. – № 9. – С. 34-38.
65. Масса тимуса у плодов человека и новорожденных детей (по данным морфологического и ультразвукового исследования) / Л. Г. Кузьменко, Л. Н. Каск, О. А. Осадчая, З. И. Эсмурзиева // Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». – 2010. – № 1. – С. 68-70.

66. Матвеев, В.А. Метод выявления тимомегалии у детей раннего возраста с целью прогнозирования течения инфекционных процессов: инструкция по применению № 047–0511 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 30.09.2011 / В. А. Матвеев, Е. А. Улезко, И. Н. Ластовка. – Минск, 2011. – 6 с.
67. Матковская, Т. В. Синдром увеличения тимуса у детей Учеб.-метод. пособие / Т. В. Матковская. – Томск : Том. мед. ин-т, 1985. – 44 с.
68. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. д-ра физ.-мат. наук Ю. А. Данилова; под ред. Н. Е. Бузикашвили и Д. В. Самойлова. - Москва : Практика, 1999. – 459 с.
69. Морфологические изменения тимуса после применения полиоксидония. / Г. Ю. Стручко, Л. М. Меркулова, Е. В. Москвичев [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 5. – С. 197-202.
70. Морфологическое строение вилочковой железы у новорождённых с врождённой цитомегаловирусной инфекцией / И. А. Андриевская, И. Н. Гориков, Л. М. Сомова [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – 69. – С. 64–69. https://doi.org/10.12737/article_5b976495bd8670.12380235
71. Морфология тимуса и особенности его клеточного состава при экспериментальном остром и хроническом язвенном колите / Е. А. Постовалова, О. В. Макарова, А. М. Косырева, Л. П. Михайлова // Архив патологии. – 2019. – № 5. – С. 53-63. <https://doi.org/10.17116/patol20198105153>
72. Морфометрия тимуса плодов различного гестационного возраста и доношенных новорожденных детей по данным ультразвукового исследования / З. И. Эсмурзиева, Л. Г. Кузьменко, О. А. Осадчая, Л. Н. Каск // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2015. – № 1. – С. 68-72.
73. Морфофункциональное состояние вилочковой железы у детей раннего возраста с тимомегалией / И. Н. Ластовка, С. Г. Криворот, В. А. Матвеев [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2011. – № 1 (17). – С. 10.
74. Мудрак, Д.А. Морфометрические показатели массы тимуса плодов и новорожденных раннего неонатального периода. / Д.А. Мудрак // Саратовский

научно-медицинский журнал. – 2024. – № 20 (4). – С. 505–510. EDN: XUJMTT. <https://doi.org/10.15275/ssmj505>.

75. Мудрак, Д.А. Морфология телец Гассалья и их микроокружение у новорожденных с увеличенной массой тимуса / Д.А. Мудрак, Н.А. Наволокин, Г.Н. Маслякова // Архив патологии. – 2024. – № 86 (1). – С. 13-20.

76. Мудрак, Д.А. Анализ экспрессии CD3, CD68, CD163 и СК-19 в тимусах детей неонатального периода при инфекционных заболеваниях / Д.А. Мудрак, Г.Н. Маслякова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2024. – № 20 (3). – С. 327–332. EDN: JJBIBM. <https://doi.org/10.15275/ssmj2003327>

77. Мудрак, Д.А. Морфология вилочковой железы при инфекционных заболеваниях у детей первого года жизни / Мудрак Д.А., Зенина Е.А., Маслякова Г.Н. // Сборник материалов VII всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» // Челябинск, 2023. – С. 86-90.

78. Мудрак, Д.А. Разработка диагностических критериев тимомегалии с помощью использования программного обеспечения Imageview / Д.А. Мудрак, Г.Н. Маслякова // Материалы XIII юбилейного пленума российского общества патологоанатомов. Саратов, 2023. – С. 40-42.

79. Мудрак, Д.А. Особенности телец Гассалья у новорожденных с увеличенной массой вилочковой железы/ Д.А. Мудрак/ Сб. материалов YSRP всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики»// Саратов, 2024.- С.321-323.

80. Мудрак, Д.А. Морфометрические признаки увеличения вилочковой железы / А.М. Мыльников, Д.А. Мудрак, А.Е. Положенков// В книге: Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты. XIV Всероссийская (88-я Итоговая) студенческая научная конференция СНО с международным участием, посвященная 90-летию Клиник СамГМУ. Самара, 2020. – С. 325.

81. Никифорова, З. Н. Синдром тимомегалии у детей раннего возраста / З.Н. Никифорова // Здоровоохранение Чувашии. – 2009. – №1. – С. 67-72.

82. Новый подход к исследованию тимопоэза при тимомегалии у детей / Донецкова А. Д., Никонова М. Ф., Ваганов П. Д. [и др.] // Иммунология. – 2014. – № 4. – С. 204-208.
83. Обухова, Л. А. Частная анатомия лимфатической системы: учебно-методическое пособие / Обухова Л. А. – Новосибирск : Новосибирский государственный университет, 2020. – 29 с.
84. Омельчук, Н. Н. Циклические изменения тимических телец при гиперплазии тимуса / Н. Н. Омельчук, Л. В. Волкова, В. П. Бондарев // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 10. – С. 15.
85. Особенности экспрессии цитокератинов (СК) 5 и 8 в клетках эпителиальной стромы тимуса и количество ТREC в периферических Т-лимфоцитах у детей с врожденными пороками сердца / Н. П. Логинова, В. А. Четвертных, В. В. Семченко [и др.] // Иммунология. – 2014. – № 35 (6). – С. 333–337.
86. Павленко, В. И. Клетки и органы иммунной системы: учебное пособие. / В. И. Павленко, И. Ю. Саяпина. – Благовещенск: 2017. – 124 с.
87. Пальцев, М. А. Руководство по биопсийно-секционному курсу: Учебное пособие. / М. А. Пальцев, В. Л. Коваленко, Н. М. Аничков. – М.: Медицина, 2002. – 256 с.
88. Патология тимуса у детей / Т. Е. Ивановская, О. В. Заратьянц, Л. В. Леонова, И. Н. Волощук. – СПб.: Сотис, 1996. – 70 с.
89. Перетятко, Л. П. Морфология плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела/ Л. П. Перетятко, Л. В. Кулида, Е. В. Проценко. – Иваново: Изд-во: «Иваново», 2005. – 384 с.
90. Петров, Р. В. Биохимия мембран Книга 9: Клеточные мембраны и иммунитет: учебное пособие / Р. В. Петров, Р. И. Атауллаханов, А. А. Болдырев. – М.: Высшая школа, 1991. – 144 с.
91. Прогностическое значение экспрессии CD163- и CD68-положительных макрофагов при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина / Е. А. Перфилова, М.

- С. Минаев, Д. А. Дьяконов [и др.] // Онкогематология. – 2022. – № 17 (1). – С. 104–112.
92. Рахматова, М. Х. Структурно-функциональные основы реакции тимуса при экспериментальном хроническом токсическом гепатите и некоторые пути его коррекции: специальность 14.00.23 – Гистология, цитология, эмбриология : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Рахматова М.Х.; М-во здравоохранения Республики Узбекистан, Второй ташкент. гос. мед. ин-т. – Ташкент 1998. – 18 с.
93. Реакция CD68 позитивных клеток селезенки и тимуса на введение иммуномодуляторов. / С. А. Ястребова, С. В. Илларионова, Н. А. Зайцева, В. Е. Сергеева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 4–3. – с. 589–593.
94. Сазонов, С. В. Частная гистология: учебник для студентов медицинских вузов. / С. В. Сазонов. – Екатеринбург: ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, 2023. – 584 с.
95. Сапин, М. Р. Иммунная система человека / М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген. – Москва : Медицина, 1996. – 300 с.
96. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2025621734 Российская Федерация. База данных масс вилочковой железы и массы тела детей, погибших в перинатальном периоде при различных сроках гестации и причинах смерти : № 2025621265 : заявл. 07.04.2025 : опубл. 17.04.2025 / Мудрак Д. А. // Федерация службы по интеллектуальной собственности. – Бюллетень № 4.
97. Синельников, Р. Д. Атлас анатомии человека: Учеб. Пособие / Р. Д. Синельников, Я. Р. Синельников. – 2-е изд., стереотипное. – М.: Медицина, 1996. – 232 с.
98. Современные представления о морфологии тимуса / Д. В. Бреусенко, И. Д. Димов, Е. С. Клименко, Н. Р. Карелина // Педиатр. – 2017. – Т. 8. – № 5. – С. 91-95.
99. Сонголов, Г. И. Топографическая анатомия и оперативная хирургия области груди: учебное пособие ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра анатомии

человека, оперативной хирургии и судебной медицины. / Г. И. Сонголов, О. П. Галеева, Т. И. Шалина. – Иркутск: ИГМУ, 2019. – 97 с.

100. Состояние стромального компонента тимуса и телец Гассала при аутопсиях у детей / Л. В. Волкова, В. П. Бондарев, Н. Н. Омельчук [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 8-1. – С. 133-134.

101. Сотникова, Е. А. Некоторые аспекты лучевой диагностики при выявлении патологии вилочковой железы у детей (обзор литературы, клинические наблюдения) / Е. А. Сотникова, М. П. Коваленко // Визуализация в медицине. – 2022. – № 3. – С. 34-40.

102. Старская, И. С. Морфологические аспекты атрофии тимуса при стрессе. / И.С. Старская, А. В. Полевщиков // Иммунология. – 2013. – № 5. – С. 271–277.

103. Судебно-медицинская диагностика морфологических изменений при синдроме внезапной детской смерти / Х. А. Аванесян, М. В. Берлай, А. В. Копылов [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – № 4. – С. 667–671.

104. Султанов, И. С. Синдром внезапной детской смерти: структурно-функциональная характеристика вилочковой железы / И. С. Султанов, О. В. Рачкова // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека : XII Областной фестиваль «Молодые ученые - развитию Ивановской области» : межрегиональная научная конференция студентов и молодых ученых с международным участием, Иваново, 11–15 апреля 2016 года / Министерство здравоохранения РФ; Ивановская государственная медицинская академия. Том 1. – Иваново: Ивановская государственная медицинская академия, 2016. – С. 20-22.

105. Тимомегалия и раннее инфицирование вирусами Эпштейн-Барр и цитомегалии / М. М. Азова, О. Б. Гигани, О. О. Гигани [и др.] // Детские инфекции. – 2004. – № 4. – С. 23–24.

106. Тимомегалия у детей грудного возраста / В. Б. Гузаревич, Е. А. Осипова, А. И. Кизелевич, Н. И. Хлебовец // Журнал ГГМУ. – 2005. – № 3. – С. 227-228.

107. Торбек, В. Э. Ретикулярные эпителиоциты тимуса и их роль в развитии регуляторных т-лимфоцитов / В. Э. Торбек, С. С. Обернихин, Н. В. Яглова // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2016. – № 2 (18). – С. 66-70.
108. Учебно-методическое пособие по дисциплине «Общая и клиническая иммунология» / О.В. Скороходкина, Р.Ф. Хакимова, А.А. Васильева [и др.]. – Казань: КГМУ, 2018. – 192 с.
109. Халматова, Б. Т. Некоторые показатели иммунного статуса и уровень кортизола у детей с тимомегалией / Б. Т. Халматова // Педиатрия. – 2005. – № 6. – С. 124.
110. Хасанов, Б. Б. Структурно-функциональных особенностях тимуса млекопитающих / Б. Б. Хасанов // Достижения науки и образования. – 2022. – № 5 (85). – С. 60-66.
111. Цибель, Б. Н. Функциональная морфология аденогипофиза, тимуса и коры надпочечников при синдроме внезапной смерти младенцев / Б. Н. Цибель, А. К. Бочкарева // Архив патологии. – 1998. – № 60 (2). – С. 23-27.
112. Черешнев, В. А. Иммунология: учебник / Черешнев В. А., Шмагель К. В. – изд. 4-е, перераб. и доп. – М.: НП «Центр стратегического партнерства», 2014. – 519 с.
113. Черненко, Н. В. Особенности структурно-функциональных преобразований тимуса и лимфатических узлов при экспериментальном иммунодефицитном состоянии. / Н. В. Черненко // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2014. – № 1. – С. 9-14.
114. Чупак, Э. Л. Особенности оценки физического развития детей: учебное пособие для студентов лечебного и педиатрического факультетов / Э. Л. Чупак. – Благовещенск: ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России, 2020. – 32 с.
115. Чурилов, Л. П. Краткая история иммунологии глазами патофизиологов / Л.П. Чурилов, А. Г. Васильев, В. И. Утехин // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2017. – № 2. – С. 824-875.

116. Шатских, О. А. Реакция CD1a – и CD3-позитивных клеток тимуса при введении мелатонина в различных световых условиях / О. А. Шатских, Е. М. Лузикова, В. Е. Сергеева // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 5. – С. 40.
117. Эозинофил: современный взгляд на кинетику, структуру и функцию / Ю. В. Колобовникова, О. И. Уразова, В. В. Новицкий [и др.] // *Гематология и трансфузиология*. – 2012. – № 1. – С. 30-36.
118. Юрчинский, В. Я. Возрастные изменения морфологии тимусных телец разной стадии зрелости у позвоночных животных и человека/ В. Я. Юрчинский // *Успехи геронтологии*. – 2015. – № 4. – С. 687-983.
119. Юрчинский, В. Я. Системный сравнительно-анатомический анализ тимуса наземных позвоночных животных и человека: построение дискриминантной математической модели / В. Я. Юрчинский // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. – 2015. – №3. – Публикация 1-4. DOI: 10.12737/13204
120. A developmental pathway involving four phenotypically and functionally distinct subsets of CD3-CD4-CD8- triple-negative adult mouse thymocytes defined by CD44 and CD25 expression. / D. I. Godfrey, J. Kennedy, T. Suda, A. Zlotnik // *J. Immunol.* – 1993.– № 10. – P. 4244–4252.
121. Anderson, M. S. Aire and T cell development / M. S. Anderson, M. A. Su // *Curr Opin Immunol.* – 2011. –№ 23 (2). – P. 198-206. doi: 10.1016/j. coi.2010.11.007.
122. All infiltrations T-lymphocytes in Hodgkin's disease express immunohistochemically detectable T-cell receptor zeta-chains in situ / D.F. Dukers, J.J. Oudejans, E.H. Jaspars [et all.] // *Hystopathology*. – 2000. – № 36 (6). – P. 544-540.
123. Autopsy pathology : a manual and atlas / A. J. Connolly, W. E. Finkbeiner, P. C. Ursell, R. L. Davis. – Third edition. – Philadelphia, PA : Elsevier, 2016. – 392 p.
124. Basal and Antigen-Induced Exposure of the Proline-Rich Sequence in CD3 / J. Cruz, T. Kruger, C. A. Parks [et al.] // *Journal of immunology*. – 2011. – № 4. – P. 2282-2290. URL: doi:10.4049/jimmunol.1003225

125. Bearman, R. M. The normal human thymic vasculature: An ultrastructural study / R. M. Bearman, K. G. Bensch, G. D. Levine // *Anat Rec.* – 1975; – № 183 (4). – P. 485–497. DOI: 10.1002/ar.1091830402
126. Castleman, B. Atlas of tumor pathology. Tumors of the thymus gland : fascicle 19 / B. Castleman. – Washington, DC : Armed Forces Institute of Pathology, 1955. – 53 p.
127. CD1a presentation of endogenous antigens by group 2 innate lymphoid cells / Hardman C. S., Chen Y.-L., Salimi M. [et al.] // *Science Immunology.* – 2017. – № 2 (18). – P. ean5918. – DOI:10.1126/sciimmunol.aan5918
128. Ceredig, R. A Positive look at double-negative thymocytes / R. A. Ceredig // *Nat. Rev. Immunol.* – 2002. – № 11. – P. 888–896.
129. Ceylan, A. Ultrastructure of apoptotic T lymphocytes and thymic epithelial cells in early postnatal pig thymus / A. Ceylan, B. Alabay // *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* – 2017. – № 41. – P. 613-620.
130. Characterization of c-kit positive intrathymic stem cells that are restricted to lymphoid differentiation. / Y. Matsuzaki, J. Gyotoku, M. Ogawa [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1993. – № 4. – P. 1283–1292.
131. Clark, S. L. The thymus in mice of strain 129/J, studied with the electron microscope. / S. L. Clark // *Am. J. Anat.* – 1963. – № 112. – P. 1-33. doi: 10.1002/aja.1001120102.
132. Cruse, J. M. Atlas of Immunology / J. M. Cruse, R. E. Lewis. – 2nd ed. – N.Y. : CRC Press, 2004. – P. 793.
133. Developmental potential of the earliest precursor cells from the adult mouse thymus / L. Wu, M. Antica, G. R. Johnson [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1991. – № 6. – P. 1617–1627.
134. Eun, N.L. Characterization of the expression of citokeratins 5, 8 and 14 in mouse thymic epithelial cells during thymus regeneration following acute thymic involution. / N. L. Eun, P. J. Kyeong, J. Lee // *Anat. Cell Biol.* – 2011. – № 44 (1). – P. 14–24.

135. Figueiredo, M. Thymus Inception: Molecular Network in the Early Stages of Thymus Organogenesis. / M. Figueiredo, R. Zilhão, H. Neves // *Int J Mol Sci.* – 2020. – № 16. – P. 5765. doi:10.3390/ijms21165765
136. Functional and phenotypic analysis of thymic B cells: Role in the induction of T cell negative selection / I. Ferrero, F. Anjuere, P. Martin [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 1999. – № 5. – P. 1598–1609. DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199905)29:05<1598::AID-IMMU1598>3.0.CO;2-O
137. Geenen, V. History of the thymus: from an "accident of evolution" to the programming of immunological self-tolerance / V. Geenen // *Med. Sci. (Paris).* – 2017. – № 6-7. – P. 653-663.
138. Godfrey, D. I. Control points in early T-cell development / D.I. Godfrey // *Immunol. Today.* – 1993.– № 11. – 547–553 p.
139. Grandmaison, G. L. Organ Weight in 684 Adult Autopsies: New Tables for a Caucasoid Population. / G. L. Grandmaison, I. Clairand, M. Durigon // *Forensic Science International.* – 2001. – № 119. – P. 149-154. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0379-0738\(00\)00401-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0379-0738(00)00401-1)
140. Greaves, M. F. Effect of bursectomy and thymectomy on the responses of chicken peripheral blood lymphocytes to phytohaemagglutinin / M. F. Greaves, I. M. Roitt, M. E. Rose // *Nature.* – 1969. – № 220. –P. 293-295.
141. Hammar, J. A. The new views at the morphology of the thymus gland and their bearing on the problem of the function of the thymus / J. A. Hammar // *Endocrinology.* – 1921. – № 5. – P. 543–573.
142. Heterogeneity among DN1 prothymocytes reveals multiple progenitors with different capacities to generate T cell and non-T cell lineages / H. E. Porritt, L. L. Rumfelt, S. Tabrizifard [et al.] // *Immunity* – 2004. – № 6 – P. 735–745.
143. Hogan, S. P. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. / S. P. Hogan, H. F. Rosenberg, R. Moqbel // *Clin. Exp. Allergy.* – 2008. – № 38. – P. 709-750.

144. Human intrathymic lineage commitment is marked by differential CD7 expression: Identification of CD7- lympho-myeloid thymic progenitors / Q. L. Hao, A. A. George, J. Zhu [et al.] // *Blood*. – 2008. – № 3. – P. 1318–1326.
145. Imaging of the pediatric thymus: Clinicoradiologic approach. / S. Manchanda, A. S. Bhalla, M. Jana, A. K. Gupta // *World. J. Clin. Pediatr.* – 2017. – № 6 (1). – P. 10-23. doi: 10.5409/wjcp.v6.i1.10.
146. Immunohistological Characterization of Thymic Dendritic Cells / Papoudou-Bai A., Bai M., Doukas M. [et al.] // *In Vivo*. – 2012. – № 26(6). – P. 985 - 992
147. Immunohistochemical and enzyme histochemical contributions to the problem concerning the role of the thymus in the pathogenesis of myasthenia gravis / G. Palestro, G. Tridente, F. Botto Micca [et al.] // *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.* – 1983. – № 44 (2). – P. 173-186. doi: 10.1007/BF02890168.
148. Inaba, K. Thymic dendritic cells and B cells: isolation and function / K. Inaba, M. Hosono, M. Inaba // *Int. Rev. Immunol.* – 1990. – № 2-3. – P. 117-126. doi: 10.3109/08830189009056623.
149. Isaacson, P. G. The Human Thymus Contains a Novel Population of B Lymphocytes / P. G. Isaacson, A. J. Norton, B. J. Addis // *Lancet*. – 1987. – № 8574 – P. 1488–1491.
150. Martins, V. C. Ltbetar signaling does not regulate Aire-dependent transcripts in medullary thymic epithelial cells / V. C. Martins, T. Boehm, C. C. Bleul // *J. Immunol.* – 2008. – № 1. – P. 400-407. – doi: 10.4049/jimmunol.181.1.400.
151. Massive true thymic hyperplasia in a 3-month-old infant: case report and literature review / M. Yang, L. Zeng, Y. Ji [et al.]// *Turk. J. Pediatr.* – 2021. – № 4. – P. 721-726.
152. Miller, J. F. Immunological function of the thymus / J.F. Miller // *The Lancet*. – 1961. – № II. – P. 748–749.
153. Miller, J. F. The thymus and the development of immunologic responsiveness / J.F. Miller // *Science*. – 1964. – № 144. – P. 1544-1551.
154. Mori, K. The perivascular space as a path of hematopoietic progenitor cells and mature T cells between the blood circulation and the thymic parenchyma. / K. Mori, M.

- Itoi, N. Tsukamoto // *Int. Immunol.* – 2007. – № 6. – P. 745–53. DOI: 10.1093/intimm/dxm041
155. Ninti, F. The role of T-lymphocytes in the pathogenesis of primary immunodeficiency / F. Ninti, F. Pandolfi // *Thymus.* – 1982. – №. 4. – P. 257-264.
156. Nitta, T. Mesenchymal stromal cells in the thymus / T. Nitta // *Inflamm Regen.* – 2022. – № 42(1). – P. 33.
157. Notch signaling controls the generation and differentiation of early T lineage progenitors / A. Sambandam, I. Maillard, V. P. Zediak, L. Xu // *Nat. Immunol.* – 2005. – № 7. – P. 663–670.
158. Pearse, G. Normal structure, function and histology of the thymus / G. Pearse // *Toxicologic Pathology.* – 2006. – № 5. – P. 504–514. – DOI: 10.1080/01926230600865549
159. Postnatal Involution and Counter-Involution of the Thymus. / J.E. Cowan, Y. Takahama, A. Bhandoola, I. Ohigashi // *Front. Immunol.* – 2020. – № 11. – P. 897. doi:10.3389/fimmu.2020.00897
160. Quantitative Standards for Fetal and Neonatal Autopsy / J. G. Archie, J. S. Collins, R. R. Lebel [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2006. – № 126. – P. 256-265.
161. Raica, M. Structural heterogeneity and immunohistochemical profile of Hassall corpuscles in normal human thymus / M. Raica, S. Encica, A. Motoc // *Ann. Anat.* – 2006. – № 188. – P. 345-352.
162. Ramieri, M. T. The discover of the immunological role of the Thymus in the second half of the XX century: the contribute of pathology / M. T. Ramieri, M. Marino // *Клиническая патофизиология.* – 2020. – № 3. – P. 73-76.
163. Regeneration of the adult thymus is preceded by the expansion of K5+ K8+ epithelial cell progenitors and by increased expression of Trp63, cMyc and Tcf3 transcription factors in the thymic stroma. / I. Popa, I. Zubkova, M. Medvedovic [et al.] // *Int. Immunol.* – 2007. – № 11. – P. 1249–1260.

164. Scharifker, D. True thymic hyperplasia associated with a unilocular thymic cyst: an unusual combination not previously reported / D. Scharifker // *Annals of Diagnostic Pathology*. – 2006. – № 1. – P. 32. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2005.04.005
165. *Surgery of the Thymus* / J. C. Givel, M. P. Merlini, D. B. Clarke, M. E. Dusmet – Heidelberg: Springer Berlin, 1990. – 345 p. – DOI:10.1007/978-3-642-71076-6
166. Thapa, P. The Role of the Thymus in the Immune Response / P. Thapa, D. L. Farber // *Thorac. Surg. Clin.* – 2019. – № 2. – P. 123-131.
167. The nature and nurture of cell heterogeneity: accounting for macrophage gene-environment interactions with single-cell RNA-Seq / Q.F. Wills, E. Mellado-Gomez, R. Nolan [et al.] // *BMC Genomics*. – 2017. – № 18 (1). – p. 53. doi: 10.1186/s12864-016-3445-0
168. Thymopoiesis independent of common lymphoid progenitors / D. Allman, A. Sambandam, S. Kim [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2003. – № 2 – P. 168–174.
169. *Thymus gland pathology: Clinical, diagnostic, and therapeutic features* / C. Lavini, C.A. Moran, U. Morandi, R. Schoenhuber. – Milan: Springer, 2008. – 273 p. doi: 10.1007/978-88-470-0828-1.
170. Varas, A. Analysis of the human neonatal thymus: evidence for a transient thymic involution / A. Varas, E. Jimenez, R. Sacedon // *J. Immunol.* – 2000. – № 164. – P. 6260–6267.
171. Wang, F. Rapid deletion of rearranged T cell antigen receptor (TCR) Valpha-Jalpha segment by secondary rearrangement in the thymus: role of continuous rearrangement of TCR alpha chain gene and positive selection in the T cell repertoire formation. / F. Wang, C. Y. Huang, O. Kanagawa // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1998. – № 20. – P. 11834–11839.
172. What do we know about the structure of human thymic Hassall's corpuscles? A histochemical, immunohistochemical, and electron microscopic study / R. Mikušová, V. Mešťanová, Š. Polák, I. Varga // *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. – 2017. – № 211. – P. 140-148. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2017.02.006>.

173. Wyatt, J. Oxford Handbook of Emergency Medicine. / J. Wyatt. – Fourth edition. – Oxford: Oxford University Press, 2012. – 749 p.
174. Yu, Q. TCF1 and beta-catenin regulate T cell development and function. / Q. Yu, A. Sharma, J. M. Sen // Immunol Res. – 2010. – № 47(1-3). – P. 45-55. doi:10.1007/s12026-009-8137-2

Приложение А

Таблица А.1 – Центильные таблицы массы тела, длины тела и массы вилочковой железы по сроку гестации

Срок гестации	Масса тела			Длина тела			Масса вилочковой железы		
	25	50	75	25	50	75	25	50	75
18	200	200	350	16	16,5	17,25	1,5	2	2,25
19	225	250	250	18	18	18	2	2	2
20	270	355	390	18	19	20	1	2	2
21	350	400	473	19	20	21	2	2	2
22	400	480	502,5	20	21	22	1,5	2	2
23	500	598	753	24	26	29	2	2	2,3
24	600,25	688,5	776,25	29	31	32,25	1	2	3
25	672,5	800	952,5	32	33	34	2	2	3
26	749	949	1182	33	35	37	2	2	3
27	800	1030	1260	32	36	37	2	3	3
28	1000	1200	1470	32	36	38	2	3	4
29	1042,5	1310	1477	37	39	41	3	4	5
30	1173	1372	1521,25	40	41	42	3	4	5
31	1275	1555	1812	39,25	42	44	3,25	5	5
32	1200	1527,5	1891,25	39,25	41,5	43	3	4	6
33	1447,5	1875	2230	42,25	44	45	3	5	5
34	1863,5	2194	2485,5	44	45	46,75	5	6	8
35	1877,5	2342	2662,5	44	46	47	5	5,5	8,75
36	2167,75	2585	3049,5	45,75	48	49,25	6,75	9	10,25
37	2312,5	2686	2957,5	45	47	49	5,75	10	12,5
38	2335	3122,5	3657,5	47,25	50,5	52	9	11	12,75
39	3150	3540	3920	50	51	52	11	11	13,5
40	3136	3350	4000	51	52	54	11	13	14
41	3117,5	3690	4917,5	50,5	53	55	11	12	12,5
42	3530	3660	3700	54,5	56	56	12	12	13

Приложение Б

Методика разработки формулы индекса количества граничащих долек тимуса для определения признаков гиперплазии вилочковой железы по данным гистологического исследования

Наиболее удобным является расчет индекса количества граничащих долек тимуса на цифровой микрофотографии с известной площадью прямоугольного поля зрения. На тот случай, если в лаборатории нет устройства, позволяющего получить цифровую микрофотографию, способ был адаптирован для применения с использованием обычного светового микроскопа. Для этого изначально необходимо рассчитать площадь поля зрения в плоскости нахождения среза при установленном увеличении. Площадь поля зрения микроскопа определяется исходя из формулы площади круга: $S = \pi * \left(\frac{D}{2}\right)^2$,

где $D_{\text{поля зрения}}$ – диаметр поля зрения микроскопа в плоскости среза, который может быть рассчитан по формуле:

$$D_{\text{поля зрения}} = \frac{FN}{M_o * M_T},$$

где FN – диаметр поля зрения окуляра, то есть диаметр фиксированной диафрагмы в окуляре в миллиметрах, M_o – увеличение объектива микроскопа, M_T – увеличение тубусной линзы.

После некоторых преобразований можно прийти к следующей формуле вычисления площади

$$S_{\text{поля зрения}} = \frac{FN^2 * \pi}{4(M_o * M_T)^2}$$

где FN – диаметр поля зрения окуляра, то есть диаметр фиксированной диафрагмы в окуляре в миллиметрах, M_o – увеличение объектива микроскопа, M_T – увеличение тубусной линзы.

Учитывая то обстоятельство, что долька тимуса – достаточно крупный гистологический объект, по стандартным методикам подсчета объектов на

гистологическом срезе в срезах тимуса подсчитывают среднее количество долек, попадающих в одно поле зрения («граничащие дольки тимуса» (ГДТ)), не менее чем в 10 случайных полях зрения микроскопа. Если все поле зрения занимает только одна долька, количество граничащих следует принять за 0.

Для удобства применения данного способа на обычных световых микроскопах мы рассчитали площади зрения для наиболее широко распространенных характеристик микроскопов (Таблица Б.1):

Таблица Б.1 – Показатели площади зрения для световых микроскопов с учетом имеющихся показателей: диаметр окуляра, увеличение окуляра, увеличение объектива

Диаметр окуляра, мм	Увеличение окуляра	Увеличение объектива	Площадь поля зрения, мм ²
30	10	4	0,441563
30	10	10	0,07065
25	10	4	0,306641
25	10	10	0,049063
22	10	4	0,237463
22	10	10	0,037994
20	10	4	0,19625
20	10	10	0,0314
18	10	4	0,158963
18	10	10	0,025434
30	12,5	4	0,2826
30	12,5	10	0,045216
25	12,5	4	0,19625

Продолжение Таблицы Б.1

Диаметр окуляра, мм	Увеличение окуляра	Увеличение объектива	Площадь поля зрения, мм ²
25	12,5	10	0,0314
22	12,5	4	0,151976
22	12,5	10	0,024316
20	12,5	4	0,1256
20	12,5	10	0,020096
18	12,5	4	0,101736
18	12,5	10	0,016278
30	16	4	0,172485
30	16	10	0,027598
25	16	4	0,119781
25	16	10	0,019165
22	16	4	0,092759
22	16	10	0,014841
20	16	4	0,07666
20	16	10	0,012266
18	16	4	0,062095
18	16	10	0,009935

Таким образом, подсчитав среднее количество граничащих долек тимуса в поле зрения и взяв показатель площади поля зрения из таблицы, проводится расчет индекса граничащих долек тимуса (ИГДТ) по формуле:

$$\text{ИГДТ} = \frac{\text{Среднее количество граничащих долек}}{S_{\text{поля зрения}}}$$

Именно введение этого коэффициента позволяет объективно оценить среднее количество граничащих долек тимуса на 1 мм² и стандартизировать данные, полученные на различных микроскопах и при различных увеличениях.

Для подтверждения статистической значимости разработанного критерия нами был исследован материал, полученный в результате 32 вскрытий детей раннего неонатального периода. Наличие увеличения оценивали по центильным таблицам тимического индекса, который определяется как отношение массы вилочковой железы к массе тела в % [65, 66, 67, 83]. В результате расчета тимического индекса и сопоставления его с центильными таблицами было выделено 2 группы детей: без увеличения тимуса (n=18); с увеличенным тимусом (n=14). Изучались гистологические срезы вилочковой железы детей, изготовленные и окрашенные гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Подсчитывали ИГДТ по предложенной нами методике. При проверке нормальности распределения признака по группам (в нашем случае признак – ИГДТ) по критерию Шапиро-Уилка выяснили, что распределение не соответствует нормальному, в связи с чем для оценки значимости отличий в группах был использован непараметрический Z-критерий Манна-Уитни. Оценка значимости по данному критерию предполагает расчёт медианы, 10, 25, 75 и 90-й перцентилей для каждой группы (Таблица Б.2).

Таблица Б.2 – Значение перцентилей ИГДТ у детей первого года жизни

	10	25	50	75	90	Z	P
Группа без увеличения тимуса	0,672	0,960	1,088	1,344	1,727	-4,76	0,000002
Группа с увеличенным Тимусом	1,855	1,887	2,047	2,143	2,271		

Согласно общей методике построения центильных шкал при описании какого-либо признака за типичное проявление этого признака берут значения, свойственные 80% популяции (то есть интервалу от 10 до 90 центиля) [109]. Исходя из чего за минимальный ИГДТ, соответствующий увеличению вилочковой железы, мы предлагаем использовать значение 10 перцентиля группы с увеличенным тимусом, таким образом, вилочковая железа при **ИГДТ > 1,855** является увеличенной.

Основываясь на центильной таблице показателей ИГДТ в группе с увеличенным тимусом, можно выделить степени увеличения тимуса, представленные в таблице Б.3.

Таблица Б.3 – Интерпретация значений ИГДТ

	Норма	I степень увеличения	II степень увеличения	III степень увеличения
Значение ИГДТ	0,960 - 1,855	1,856 - 1,886	1,887 - 2,142	> 2,143

Разница долей телят Гассалья различной степени зрелости, приведенные в таблицах 7 и 8, позволяют сделать предположение, что увеличение массы тимуса может трактоваться двояко: как физиологическая норма в условиях инфекционных заболеваний или как патология – при неинфекционных заболеваниях. Так как наиболее активны, в функциональном отношении, тельца зрелого типа.