

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ИРКУТСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ХИРУРГИИ И ТРАВМАТОЛОГИИ»**

На правах рукописи

**ЖАРКАЯ**  
**Анастасия Валерьевна**

**ТОТАЛЬНАЯ ПАРАТИРЕОИДЭКТОМИЯ ПРИ ХИРУРГИ-  
ЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ВТОРИЧНОГО ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА,  
МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ  
НАРУШЕНИЙ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОЙ ПАРАТИРЕОИДЭКТОМИИ  
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**14.01.17 – хирургия**

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научные руководитель:**  
доктор медицинских наук, профессор  
*Ильичева Елена Алексеевна*  
**Научный консультант:**  
доктор биологических наук  
*Лепехова Светлана Александровна*

Томск – 2016

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>ГЛАВА 1. ЛЕЧЕНИЕ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</b> .....	15
<b>1.1.</b> Консервативное лечение вторичного гиперпаратиреоза .....	16
<b>1.2.</b> Хирургическое лечение вторичного гиперпаратиреоза .....	18
<b>1.3.</b> Трансплантационные методы коррекции послеоперационного гипопаратиреоза .....	21
<b>1.4.</b> Моделирование гипопаратиреоза .....	24
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	27
<b>2.1.</b> Характеристика клинических наблюдений .....	27
<b>2.2.</b> Характеристика экспериментальных исследований <i>in vivo</i> .....	32
2.2.1. Разработка способа моделирования пострезекционной гипокальциемии (первая серия экспериментов <i>in vivo</i> ) .....	34
2.2.2. Оценка эффективности лечения послеоперационного гипопаратиреоза (вторая серия экспериментов <i>in vivo</i> ) .....	36
2.2.3. Исследование летальности и выживаемости .....	40
<b>2.3.</b> Характеристика оперативных вмешательств .....	40
2.3.1. Оперативные вмешательства в клинике .....	40
2.3.2. Характеристика оперативных вмешательств в эксперименте ..	44
<b>2.4.</b> Общая характеристика методов исследования .....	48
2.4.1. Методы диагностики в клинике .....	48
2.4.2. Методы исследования в эксперименте .....	49
<b>2.5.</b> Методы статистической обработки .....	52
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ</b> .....	53

3.1. Морфология вторичного гиперпаратиреоза .....	53
3.2. Непосредственные результаты хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза. ....	60
3.3. Отдаленные результаты хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза .....	62
3.3.1. Рецидив гиперпаратиреоза .....	63
3.3.2. Персистенция гиперпаратиреоза .....	72
3.3.3. Послеоперационный гипопаратиреоз .....	83
3.3.4. Целевые значения уровня паратиреоидного гормона .....	84
<b>ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ РАЗРАБОТКИ СПОСОБА МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОПАРАТИРЕОЗА С ИССЛЕДОВАНИЕМ МЕХАНИЗМОВ ПАТОГЕНЕЗА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В УСЛОВИЯХ СОХРАНЕННОГО ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА .....</b>	<b>86</b>
4.1. Результаты исследования топографической анатомии щитовидной и околощитовидной желез крыс-самок линии Wistar .....	86
4.2. Результаты разработки способа моделирования послеоперационного гипопаратиреоза с использованием микрохирургической техники и клея «Сульфакрилат» .....	95
4.2.1. Оценка летальности, выживаемости при паратиреоидэктомии разработанным способом .....	98
4.2.2. Оценка уровня паратиреоидного гормона и ионизированного кальция при паратиреоидэктомии разработанным способом ..	100
4.2.3. Оценка морфологических изменений в области оперативного вмешательства при паратиреоидэктомии разработанным способом .....	104
4.2.4. Оценка функции щитовидной железы после паратиреоидэктомии по разработанному способу .....	106
4.3. Результаты исследований патогенетических механизмов при моделировании гипопаратиреоза по оригинальному способу в условиях сохраненного тиреоидного статуса .....	109
4.3.1. Оценка показателей воспаления и неспецифической резистентности при моделированном гипопаратиреозе .....	109
4.3.2. Характеристика лабораторных изменений у животных при моделировании гипопаратиреоза по оригинальному способу через 30 суток эксперимента .....	115

4.3.3. Патоморфологические изменения в тканях органов погибших животных при моделировании гипопаратиреоза по оригинальному способу .....	117
<b>ГЛАВА 5. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ГИПОПАРАТИРЕОЗА АУТОТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ОКОЛОЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ .....</b>	<b>124</b>
<b>5.1. Результаты стендовых исследований <i>in vitro</i> .....</b>	<b>124</b>
<b>5.2. Влияние аутотрансплантации культуры клеток околощитовидной железы на метаболические нарушения при гипопаратиреозе .....</b>	<b>129</b>
5.2.1. Оценка летальности и выживаемости при коррекции гипопаратиреоза разработанным способом .....	129
5.2.2. Оценка эффективности аутотрансплантации культуры клеток околощитовидной железы после паратиреоидэктомии в условиях сохраненного тиреоидного статуса .....	131
5.2.3. Результаты исследования влияния аутотрансплантации культуры клеток околощитовидной железы на показатели воспаления .....	135
5.2.4. Результаты исследования влияния аутотрансплантации культуры клеток околощитовидной железы на показатели неспецифической резистентности организма .....	140
5.2.5. Морфологическое исследование тканей в области трансплантации .....	147
5.2.6. Морфологическая оценка эффектов трансплантации культуры аутологичных клеток околощитовидной железы .....	149
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>155</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	<b>173</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>174</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....</b>	<b>176</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>177</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Согласно регистру Российского диализного общества, 27,7 % больных, получающих заместительную почечную терапию (ЗПТ), имеют явный гиперпаратиреоз (ГПТ) (уровень паратиреоидного гормона (ПТГ) – более 600 пг/мл), а у 8,4 % больных выявляется гиперкальциемия [4]. В настоящее время отсутствуют принципиальные разногласия о показаниях к паратиреоидэктомии (ПТЭ) при хронической болезни почек (ХБП). В соответствии с международными (K/DOQI, 2003 г.) и национальными рекомендациями Российского диализного общества (2011 г.), паратиреоидэктомия рекомендована больным с тяжелым гиперпаратиреозом. Это понятие включает в себя стойкое повышение сывороточного уровня ПТГ более 800 пг/мл (88,0 пмоль/л), ассоциированное с гиперкальциемией и/или гиперфосфатемией, которое устойчиво к медикаментозной терапии [35].

Хирургическое лечение пациентов с вторичным гиперпаратиреозом можно отнести к одной из наиболее спорных междисциплинарных проблем современной нефрологии, эндокринологии и хирургии.

Анализ «United States Renal Database», проведенный В. Kestenbaum et al., показал, что общая частота паратиреоидэктомий в период с 1990 по 1999 гг. составила 7,16 на 1000 больных в год. В начале 1990-х гг. отмечено небольшое повышение частоты паратиреоидэктомий, которая снизилась в период между 1995 и 1999 гг. на 30 % за счет коррекции консервативного лечения [152]. На сегодняшний день количество паратиреоидэктомий у пациентов, находящихся на диализе, остается стабильно высоким и составляет 5,7 (4,1–7,8) на 1000 пациенто-лет при использовании цинакалцета и 10,3 (8,0–13,3) – при отсутствии возможности проведения терапии селективными кальцимитетиками. По данным S. Akaberi et al., операции по поводу гиперпаратиреоза выполняются 3,4 % больных, получающих заместительную почечную терапию [185]. С успешной паратиреоидэктомией связывают снижение риска летальности больных, находящихся на заместительной

почечной терапии [41]. Большинство авторов отмечают уменьшение числа паратиреоидэктомий у диализных пациентов после введения в клиническую практику селективных кальций-миметиков [4, 99, 198]. При этом отмечается низкая частота применения цинакальцета и парикальцитола для лечения тяжелого гиперпаратиреоза в России, что обусловлено, в первую очередь, отсутствием возможности обеспечения этими дорогостоящими препаратами большинства субъектов Российской Федерации [4].

Основной проблемой выбора хирургической тактики при лечении диализных больных, страдающих тяжелым вторичным гиперпаратирезом, является отсутствие единого мнения в отношении цели операции. Одни авторы стремятся к достижению целевых значений паратиреоидного гормона [173], другие – к отсутствию рецидива заболевания, при этом частота рецидивов зависит от сроков оценки результатов операции и неизбежно возрастает при увеличении длительности диализа после операции [130]. Третьи стараются снизить частоту развития послеоперационного гипопаратиреоза (ПОГПТ) [131]. Используются субтотальные резекции, тотальные паратиреоидэктомии (с/без аутотрансплантации, с/без тимэктомии) и даже расширенные диссекции шеи и верхнего средостения [16, 26, 53, 81]. При этом отсутствуют исследования, подтверждающие преимущества того или иного объема хирургического вмешательства [4]. Отсутствуют единые критерии оценки результатов хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза. Большинство авторов в качестве послеоперационного гипопаратиреоза, в том числе и у диализных пациентов, рассматривают уровень паратиреоидного гормона менее 12 пг/мл [26, 130], в то время как целевым для этой категории больных определен интервал, от 2 до 9 раз превышающий нормальные значения (не ниже 130 пг/мл) [124]. Рецидивом гиперпаратиреоза у диализных больных одни авторы считают увеличение уровня паратиреоидного гормона более 60 пг/мл [130], другие – более 300 пг/мл [26, 143], третьи – превышение 9-кратного порога от нормальных значений (более 600 пг/мл) [119].

Частота достижения целевых значений паратиреоидного гормона после паратиреоидэктомии варьирует от 57 % до 98 % [105, 137, 171], частота развития после-

операционного гипопаратиреоза – от 0 % до 38 % [50, 85, 130]. Частота развития рецидива заболевания составляет от 0 % при выполнении тотальной паратиреоидэктомии с билатеральной шейной тимэктомией до 50 % и 88,9 % – при выполнении, соответственно, субтотальной и неполной паратиреоидэктомии [26, 121].

Стойкий гипопаратиреоз не имеет полноценной заместительной (в том числе и трансплантационной) терапии и, по данным некоторых авторов, приводит к развитию динамической костной болезни [117, 158] и ухудшению функции трансплантированной почки [92]. Однако это мнение не является общепринятым, подтверждением чего является увеличение количества сообщений о применении тотальной паратиреоидэктомии без ауотрансплантации (АТ) ткани околощитовидных желез (ОЩЖ) [190, 191], где авторы не видят серьезных проблем, связанных с послеоперационным гипопаратиреозом. Таким образом, необходимость коррекции послеоперационного гипопаратиреоза у пациентов, находящихся на заместительной почечной терапии, а также выбор метода коррекции в современной литературе остается предметом споров и нуждается в экспериментальном обосновании.

Для изучения послеоперационного гипопаратиреоза в эксперименте общепринятым способом моделирования считается выполнение паратиреоидэктомии. Классическая методика моделирования гипопаратиреоза описана для крупных лабораторных животных [27]. Сложности при паратиреоидэктомии возникают ввиду вариабельности анатомии околощитовидных желез [18]. P. S. Russell и R. F. Gittes сообщили, что около 20 % животных исключают из эксперимента из-за трудной визуализации околощитовидных желез [169]. С целью стандартизации в эксперименте используют линейных животных, чаще крыс, морских свинок, для которых широко используется способ разрушения ткани околощитовидных желез методом электрокоагуляции по причине небольших размеров органа [6, 52, 70]. При этом летальность животных после данной операции в течение первых суток составляет 10–20 %, стойкая гипокальциемия выявляется у 75 % животных [62]. В литературе отсутствует подробное описание топографической анатомии щитовидной и околощитовидных желез крыс линии Wistar, необходимое для экспериментального моделирования [36, 147].

Наиболее распространенным из трансплантационных методов профилактики и коррекции послеоперационного гипопаратиреоза в настоящий момент является ауто трансплантация. Первые попытки ауто трансплантации околощитовидных желез описаны еще в 1926 году F. Lahey. Общепринятая технология проста, не требует значительных экономических затрат и большого опыта хирурга, процент восстановления функции околощитовидных желез после ауто трансплантации колеблется от 15 % до 30 % [108]. С целью оптимизации выбора наименее измененной околощитовидной железы для ауто трансплантации при хирургическом лечении почечного гиперпаратиреоза предложен метод стереомикроскопии [80]. Обсуждаются различные способы трансплантации паратиреоидной ткани [28, 177]. E. Aysan et al. представили клинический случай серии ауто трансплантаций культуры паратиреоидных клеток в мышцу после тотальной паратиреоидэктомии по поводу вторичного гиперпаратиреоза у 15-тилетней пациентки, находящейся на заместительной почечной терапии [71].

Алло- и ксенотрансплантация не получили распространения в связи с нерешенной проблемой преодоления иммуногенности ткани донора и, соответственно, низкой продолжительности функционирования трансплантата [76, 149, 114]. Работы в области тканевой инженерии ограничены исследованиями *in vitro* [126, 146].

### **Степень разработанности темы исследования**

В последние годы проблеме хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза у пациентов, находящихся на заместительной почечной терапии уделено внимание в работах Л.В. Егшатын, Л. Я. Рожинской, Н. С. Кузнецова, Р. П. Герасимчука, Т. Д. Евменовой, Е. М. Мохова, Е. В. Полухиной, А. М. Писаренко, И. В. Слепцова, С. Е. Barreira, Y. Sun, F. F. Chou, S. Stracke, Y. Tominaga, S. Matsuoka, P. Riss, J. Sharma, E. Kandil, R. Schneider, G. Sakman, B. D. Pulgar, M. Hamouda, T. M. Hsieh.

Проблемам повышения эффективности трансплантационных методов профилактики и коррекции послеоперационного гиперпаратиреоза посвящены труды О. С. Попова, М. М. Ларионова, В. А. Зурнаджянц, В. Я. Хрыщановича, С. И. Треть-

яка, А. Н. Харламовой, М. N. Ohe, I. Nawrot, S. M. Flechner, P. Björklund, G. Conzo, J. C. Ng. Однако в трудах этих ученых применение клеточных технологий не рассматривается в аспекте аутотрансплантации, а также изучения ключевых звеньев саногенеза послеоперационного гипопаратиреоза. Таким образом, отсутствие убедительной аргументации в пользу того или иного объема хирургического вмешательства, необходимости трансплантационной коррекции послеоперационного гипопаратиреоза и эффективности клеточных технологий при послеоперационном гипопаратиреозе предопределило наше исследование.

### **Цель исследования**

Патогенетическое обоснование расширенной паратиреоидэктомии при вторичном ГПТ и клеточной коррекции экспериментального послеоперационного гипопаратиреоза при сохраненном тиреоидном статусе.

### **Задачи исследования:**

1. Провести анализ сопряженности клинико-морфологических признаков заболевания при гиперпаратиреозе у пациентов, находящихся на заместительной почечной терапии, и оценить эффективность эксплорации околощитовидных желез при паратиреоидэктомии.

2. Сравнить непосредственные и отдаленные результаты различных способов хирургической коррекции гиперпаратиреоза у пациентов, находящихся на заместительной почечной терапии.

3. Разработать способ моделирования послеоперационного гипопаратиреоза, исследовать механизмы патогенеза метаболических нарушений в условиях сохраненного тиреоидного статуса.

4. Усовершенствовать технологию получения функционально активных клеток околощитовидной железы с высокой степенью жизнеспособности.

5. Оценить эффективность клеточной коррекции и раскрыть механизмы саногенеза экспериментального послеоперационного гипопаратиреоза с сохраненным тиреоидным статусом.

### Научная новизна

Показана низкая эффективность интраоперационной эксплорации околощитовидных желез при вторичном гиперпаратиреозе (81 %), которая объясняется отсутствием согласованности функциональной автономии и морфологических изменений в околощитовидных железах и отсутствием синхронности в морфологической картине изменений в ткани околощитовидных желез. Установлена возможность удаления из шейного доступа 80 % эктопированных околощитовидных желез. Доказано отсутствие влияния объема хирургического вмешательства (при сравнении тотальной (ТПТЭ) и субтотальной (СПТЭ) паратиреоидэктомии) на частоту достижения целевых значений паратиреоидного гормона при вторичном гиперпаратиреозе ( $p > 0,95$ ). Показано снижение частоты персистенции вторичного гиперпаратиреоза (с источником, доступным для удаления из шейного доступа) при использовании тотальной паратиреоидэктомии, основанной на удалении околощитовидных желез всех возможных локализаций, доступных из шейного доступа (включая доли щитовидной железы с установленной эктопией, центральную клетчатку шеи и верхнего средостения, верхние рога вилочковой железы), ЧБНЛ = 4.

Разработан способ моделирования послеоперационного гипопаратиреоза с контролируемыми параметрами, включающими отбор животных по полу и возрасту, со стандартизацией по объему удаляемой ткани, иссечением околощитовидных желез в капсуле с захватом на 0,1 мм тканей щитовидной железы, который может быть использован для изучения патогенетических механизмов метаболических нарушений и их коррекции. Метаболические и электролитные нарушения вследствие удаления околощитовидных желез приводят к нарушению дренирующей функции бронхов с формированием абсцедирующей пневмонии, почечной и сердечной недостаточности.

На модели послеоперационного гипопаратиреоза (самки линии Wistar) впервые продемонстрирована эффективность аутотрансплантации 3-суточной культуры клеток (КК) околощитовидных желез, продуцирующих паратиреоидный

гормон (инъекционным введением 0,5 мл взвеси, содержащей  $2 \times 10^4$  клеток с жизнеспособностью 99,5 %), подтвержденная на основании анализа летальности/выживаемости к 30-м суткам после паратиреоидэктомии, комплексной оценки кальциевого обмена, гормонального статуса, маркеров воспаления, иммунного ответа.

Выявлено, что саногенные эффекты клеточной трансплантации реализуются посредством раннего восстановления гормонального статуса, обмена кальция, иммунологических показателей 1-го уровня, сохранением неспецифической резистентности, отсутствием морфологических признаков полиорганной недостаточности. Впервые установлено, что трансплантация культивированных аутологических клеток околотитовидной железы значительно повышает выживаемость по сравнению с аналогичным показателем при трансплантации фрагментов околотитовидной железы.

Созданы теоретические предпосылки для трансляции результатов экспериментальных исследований трансплантационной коррекции гипопаратиреоза, вызванного удалением околотитовидных желез, в клиническую практику после оперативного лечения гиперпаратиреоза у пациентов, находящихся на заместительной почечной терапии.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Определены преимущества тотальной паратиреоидэктомии с иссечением центральной клетчатки шеи, верхнего средостения и верхних рогов тимуса при лечении гиперпаратиреоза у больных, получающих заместительную почечную терапию. Использование этого вида операции позволяет предотвратить персистенцию гиперпаратиреоза после операции у одного из 4 больных в сравнении с субтотальной паратиреоидэктомией, и у одного из 11 больных – в сравнении с тотальной паратиреоидэктомией без иссечения клетчатки и верхних рогов вилочковой железы. Отсутствие увеличения частоты послеоперационных осложнений, в том числе послеоперационного гипопаратиреоза, позволяет считать такой объем операции оправданным.

Низкая частота выявления функциональной активности трансплантированных фрагментов ткани околощитовидных желез после хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза (36 % наблюдений) подтверждает обоснованность проведения дальнейших клинических и экспериментальных исследований, направленных на разработку трансплантационных методов коррекции послеоперационного гипопаратиреоза при рассматриваемой патологии.

Разработанная технология выделения и культивирования клеток околощитовидных желез и проведенные экспериментальные исследования раскрывают перспективы применения трансплантации культуры аутологичных клеток околощитовидных желез в клинических исследованиях.

Клинико-экспериментальное обоснование использования тотальной паратиреоидэктомии с иссечением центральной клетчатки шеи, верхнего средостения и верхних рогов вилочковой железы с ауто трансплантацией культуры клеток околощитовидных желез может быть использовано при проведении трансляционных исследований, направленных на улучшение отдаленных результатов хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза у пациентов, находящихся на заместительной почечной терапии.

### **Методология и методы исследования**

Для достижения цели диссертационного исследования были применены теоретические и экспериментальные общенаучные методы.

Работа выполнена на основании клинического и экспериментального разделов исследования. Клинический раздел исследования представлен ретроспективным анализом результатов хирургического лечения пациентов со вторичным гиперпаратиреозом, находящихся на заместительной почечной терапии. Экспериментальный раздел исследования включает 2 серии опытов *in vivo* и *in vitro*. Этапы работы соответствуют поставленным задачам.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

**1.** При вторичном гиперпаратиреозе выполнение расширенной тотальной паратиреоидэктомии с удалением околощитовидных желез всех возможных лока-

лизаций, доступных из шейного доступа (включая доли щитовидной железы с установленной эктопией, центральную клетчатку шеи и верхнего средостения, верхние рога вилочковой железы), предпочтительнее операции, основанной на эксплорации околощитовидных желез. Преимуществом операции определено снижение риска персистенции заболевания с источником, доступным из шейного доступа.

**2.** При развитии экспериментального гипопаратиреоза с сохраненным тиреоидным статусом ключевым механизмом исхода метаболических нарушений установлено снижение неспецифической резистентности организма.

**3.** Эффективность аутотрансплантации культивированных клеток околощитовидной железы, подготовленных по разработанной технологии, превосходит аутотрансплантацию фрагментов ткани околощитовидной железы в эксперименте и является патогенетически обоснованным методом коррекции послеоперационного гипопаратиреоза.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов исследования обеспечена объемом клинического и экспериментального материала с применением современных лабораторных и инструментальных методов исследования, адекватного цели и задачам исследования, применением статистической обработки полученных данных.

Материалы исследования представлены на 22-м (24-м) Российском симпозиуме с международным участием «Эндокринная хирургия 2003–2014 гг.» (Санкт-Петербург, 2014), II Всероссийском конгрессе с участием стран СНГ «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, 2014), IV научно-практической конференции молодых ученых Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (Иркутск, 2014).

### **Внедрение в практику**

Результаты диссертационного исследования используются в лечебном процессе ГБУЗ «ИОКБ», в учебном процессе госпитальной хирургической клиники

Иркутского государственного медицинского университета и Иркутского научного центра хирургии и травматологии.

### **Структура и объем работы**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы о материалах и методах исследования, трех глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы.

Текст изложен на 198 страницах, иллюстрирован 38 таблицами и 59 рисунками. Библиография включает 198 источников, из них 70 на русском и 128 на иностранных языках.

## **ГЛАВА 1. ЛЕЧЕНИЕ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Несмотря на технологические успехи в области замещения функции почек и научный прогресс в понимании патогенетических механизмов минерально-костных нарушений при ХБП, одной из нерешенных проблем остается вторичный гиперпаратиреоз.

Вторичный гиперпаратиреоз – компенсаторное повышение продукции ПТГ в ответ на гипокальциемию, которая (при хронической почечной недостаточности и других почечных заболеваниях) развивается в результате уменьшения массы действующих нефронов, что приводит к гиперфосфатемии (с последующим реципрокным снижением количества ионов кальция в крови), снижению синтеза кальцитриола почками [15].

Значение термина «третичный гиперпаратиреоз» имеет разную трактовку с точки зрения зарубежных и отечественных публикаций. В русскоязычной литературе это «состояние, возникающее с развитием автономно функционирующей аденомы (А) околощитовидной железы на фоне длительно существующего вторичного гиперпаратиреоза» [15]. Наиболее сложно при этом отнести к вторичному или третичному ГПТ больных со стойкой гиперкальциемией, не имеющих аденом при гистологическом исследовании операционного материала. В зарубежных публикациях понятие «третичный гиперпаратиреоз» включает как функциональную автономию, которая проявляется гиперкальциемией, так и сохраняющийся или прогрессирующий ГПТ после трансплантации почки [133].

Согласно регистру Российского диализного общества, 27,7 % больных, получающих ЗПТ, имеют явный ГПТ (ПТГ – более 600 пг/мл), а у 8,4 % больных выявляется гиперкальциемия [4]. Доля пациентов с тяжелым ГПТ (ПТГ более 1000 пг/мл) достигает 21 % [7]. В популяции пациентов с терминальной ХБП частота выявления ГПТ увеличивается в прямой зависимости от длительности ЗПТ.

В патогенезе развития вторичного ГПТ уже на ранних стадиях ХБП выявляется внутриклеточное накопление фосфатов, компенсаторное повышение уровня FGF23 и снижение активности альфа-гидроксилазы [96]. По мере снижения функции почек совокупность патогенетических факторов приводит к развитию и прогрессированию структурных изменений ОЩЖ [145]. Увеличение уровня секреции ПТГ при одновременном нарушении его метаболизма и деградации, ассоциированное с существенным снижением экспрессии кальциевых и чувствительных к витамину D рецепторов, играет ключевую роль в чрезмерной пролиферации клеток ОЩЖ, которая возникает при вторичном ГПТ [174]. Изменения в ОЩЖ характеризуются диффузной поликлональной или узловой моноклональной гиперплазией с развитием функциональной автономии железы, частота которой возрастает с увеличением длительности ЗПТ и ХБП [90, 106, 188].

Главными направлениями лечебного воздействия на звенья патогенеза при вторичном ГПТ являются уменьшение гиперфосфатемии, повышение содержания кальция и кальцитриола в плазме [13, 35, 67, 88, 89, 90, 110, 124].

### **1.1. Консервативное лечение вторичного гиперпаратиреоза**

Общепринятым и доступным препаратом, используемым для коррекции гиперфосфатемии, является карбонат кальция. Его длительное применение ассоциировано с гиперкальциемией и кальцификацией коронарных артерий и аорты, поэтому суточная доза элементарного кальция в большинстве случаев не должна превышать 3,0 г. Лантан и севеламер (не содержащие кальций фосфат-биндеры) имеют меньший риск сосудистой кальцификации, и основным их побочным эффектом являются диспепсические явления [155]. Эффективность лантана не доказана в долгосрочных исследованиях. До настоящего времени не определены преимущества содержащих и не содержащих кальций фосфат-биндеров [101].

К настоящему времени накоплен большой опыт применения препаратов D-гормона (кальцитриол, альфакальцидол) для лечения вторичного ГПТ, свидетельствующий об обратном развитии как лабораторных, так и костных нарушений на фоне лечения [196]. Однако данному классу препаратов присуще такое побочное

действие, как гиперфосфатемия. В настоящее время в арсенале врача имеется препарат с меньшим гиперфосфатемическим эффектом, доксеркальциферол. Это аналог прогормона второго поколения, биологически активизируется в печени до 1,25-дигидроксивитамина D<sub>2</sub>. Несмотря на то, что доксеркальциферол обладает меньшими кальцеицическими и фосфатеицическими свойствами, чем кальцитриол, в ходе многих исследований показано снижение ПТГ до целевого диапазона с умеренной гиперкальциемией и гиперфосфатемией в 84 % случаев [196]. Препарат отсутствует на территории Российской Федерации.

Стремление нивелировать нежелательные явления, свойственные препаратам D-гормона, привело к созданию новой группы лекарственных средств, обладающих селективной активацией рецепторов витамина D, расположенных на поверхности главных клеток ОЦЖ, не повышающих риск развития гиперкальциемии. Среди селективных активаторов рецепторов витамина D наиболее широкое клиническое применение в лечении ГПТ приобрел парикальцитол (земплар). Первый опыт применения парикальцитола свидетельствует о перспективности его использования с целью предупреждения прогрессирования и лечения вторичного ГПТ у пациентов с целевыми параметрами кальциево-фосфорного обмена [32, 98]. Использование аналогов витамина D противопоказано при гиперкальциемии. После открытия роли кальций-чувствительного рецептора был создан новый класс лекарственных препаратов для лечения вторичного ГПТ. Цинакальцет (мимпара) – это препарат из класса кальцимиметиков, являющийся аллостерическим модулятором кальций-чувствительных рецепторов. Связываясь с трансмембранной частью рецептора, кальцимиметики II типа вызывают структурное изменение в кальциевых рецепторах, при этом снижая порог чувствительности для кальция. Таким образом, они подавляют секрецию ПТГ, приводя уровень кальция в норму [93]. Современные исследования показывают, что применение цинакальцета перспективно и безопасно для лечения вторичного ГПТ у больных с ХБП. Препарат обеспечивает хороший контроль за целевым уровнем ПТГ в крови и нормализацию кальциево-фосфорного обмена [8, 100]. Низкая частота применения цинакальцета и парикальцитола для лечения тяжелого ГПТ в

России связана с отсутствием возможности обеспечения этими весьма дорогостоящими препаратами большинства субъектов Федерации [4].

Несмотря на широкий спектр терапевтических средств лечения вторичного ГПТ у пациентов, находящихся на ЗПТ, у ряда пациентов остается потребность в хирургической коррекции заболевания.

В настоящее время отсутствуют принципиальные разногласия о показаниях к паратиреоидэктомии при ХБП. В соответствии с международными (K/DOQI, 2003 г.) и национальными рекомендациями Российского диализного общества (2011 г.), паратиреоидэктомия показана больным с тяжелым ГПТ. Это понятие включает в себя стойкое повышение сывороточного уровня ПТГ более 800 пг/мл (88,0 пмоль/л), ассоциированное с гиперкальциемией и/или гиперфосфатемией, которое рефрактерно к медикаментозной терапии, прогрессирование костной патологии, подтвержденное денситометрией, мучительный кожный зуд, не поддающийся другим видам лечения [35].

## **1.2. Хирургическое лечение вторичного гиперпаратиреоза**

Хирургическое лечение вторичного ГПТ можно отнести к одной из наиболее спорных междисциплинарных проблем современной нефрологии, эндокринологии и хирургии.

В. Kestenbaum et al., анализируя «United States Renal Database», показали, что общая частота ПТЭ в период с 1990 по 1999 гг. составила 7,16 на 1000 больных в год. В начале 1990-х гг. отмечено небольшое повышение частоты ПТЭ, которая снизилась в период между 1995 и 1999 гг. на 30 % за счет коррекции консервативного лечения [152]. На сегодняшний день количество ПТЭ у пациентов, находящихся на диализе, остается стабильно высоким и составляет 5,7 (4,1–7,8) на 1000 пациенто-лет при использовании цинакальцета и 10,3 (8,0–13,3) – при отсутствии возможности проведения терапии селективными кальцимиметиками [185]. Необходимость в ПТЭ возникает у 1–30 % пациентов с длительностью ЗПТ до 10 лет и у 36–40 % пациентов с длительностью ЗПТ более 10 лет [81, 104, 106, 163, 175, 193].

По данным S. Akaberi et al. (2014), операции по поводу ГПТ выполняются 3,4 % больных, получающих ЗПТ [185]. С успешной ПТЭ связывают снижение риска летальности больных, находящихся на ЗПТ. Большинство авторов отмечают уменьшение числа ПТЭ у диализных пациентов после введения в клиническую практику селективных кальций-миметиков [4, 99, 198]. При этом отмечается низкая частота применения цинакалцета и парикальцитола для лечения тяжелого ГПТ в России, что обусловлено, в первую очередь, отсутствием возможности обеспечения этими препаратами большинства субъектов Российской Федерации [4]. Под влиянием терапии вторичного ГПТ цинакальцетом у пациентов с паратиреоидной остеодистрофией стабилизируются показатели костного обмена, но не отмечается восстановления минеральной плотности кости, тогда как после ПТЭ у пациентов с вторичным ГПТ отмечается значимое увеличение минеральной плотности костной ткани [26, 109].

В настоящее время наиболее обоснованной в лечении вторичного ГПТ у пациентов с ХБП 5 Д при отсутствии перспективы трансплантации почки признается тотальная ПТЭ. Атипичное расположение ОЩЖ, не установленное до первичной операции, приводит к персистенции заболевания, прогрессированию костных и системных проявлений. Известны случаи летального исхода у больных, находящихся на ЗПТ, связанные с персистенцией тяжелого ГПТ после шейной эксплорации с тотальной ПТЭ и отсутствием возможности топической диагноститки эктопированной паратиромы [33]. J. Malmaeus в 1983 г. указал на высокую частоту добавочных ОЩЖ и предложил иссекать клетчатку, окружающую ОЩЖ и верхние рога вилочковой железы [134], однако работ по исследованию эффективности предложенного объема операции нами не найдено.

Основной проблемой выбора хирургической тактики при лечении диализных больных, страдающих тяжелым вторичным ГПТ, является отсутствие единого мнения в отношении цели операции. Одни авторы стремятся к достижению целевых значений ПТГ [173], другие – к отсутствию рецидива заболевания, при этом частота рецидивов зависит от сроков оценки результатов операции и неизбежно возрастает при увеличении длительности диализа после операции [130].

Третьи считают обязательным оценить частоту ПОГПТ [131]. Используются суб-тотальные резекции, тотальные ПТЭ (с/без аутотрансплантации, с/без резекции вилочковой железы) и расширенные диссекции шеи и верхнего средостения [16, 26, 53, 81, 86, 107, 141, 156]. Приверженцы каждого из этих подходов приводят свои доводы. Стойкий гипопаратиреоз, неизбежный при гарантированной, с точки зрения отсутствия рецидива, операции, не имеет полноценной заместительной (в том числе и трансплантационной) терапии. Его развитие некоторые авторы связывают с формированием адинамической костной болезни [117, 158] и ухудшением функции почечного трансплантата [92], однако убедительных долгосрочных исследований, подтверждающих развитие этих осложнений, не представлено. Целевые значения ПТГ свидетельствуют о сохранении функционирующей ткани ОЩЖ. В то же время продолжение терапии минерально-костных нарушений после операции не исключает развития рецидива заболевания. Таким образом, отсутствуют единые критерии оценки хирургического лечения вторичного ГПТ у пациентов, находящихся на ЗПТ. В литературе нет единого мнения об использовании целевого уровня ПТГ как маркера эффективности оперативного лечения. Большинство авторов в качестве послеоперационного гипопаратиреоза, в том числе и у диализных пациентов, рассматривают уровень ПТГ менее 12 пг/мл [26, 130], в то время как целевым для этой категории больных определен интервал, превышающий нормальные значения от 2 до 9 раз (т. е. не ниже 130 пг/мл) [124]. Рецидив ГПТ у диализных больных одни авторы оценивают по уровню ПТГ более 60 пг/мл (в сроки более 6 месяцев) [130], другие – более 300 пг/мл [26, 143]. С точки зрения современных рекомендаций по диагностике и лечению пациентов с ХБП 5 Д – это превышение порога 9-кратного увеличения от нормальных значений (т. е. более 600 пг/мл). Важным аспектом поддержания целевого уровня ПТГ остается полноценная профилактика и терапия минерально-костных нарушений.

Применение чрескожных инъекций этанола и кальцитриола в ОЩЖ при вторичном ГПТ у пациентов, находящихся на ЗПТ, не обеспечивают удовлетворительных результатов у всех пациентов [12, 43, 137, 154]. Использование радиочастотной абляции ограничивается единичными наблюдениями и не получило

широкого распространения по причине низкой эффективности при вторичном ГПТ [53, 161, 194].

### **1.3. Трансплантационные методы коррекции послеоперационного гипопаратиреоза**

Наиболее распространенным из трансплантационных методов профилактики и коррекции ПОГПТ в настоящий момент является аутотрансплантация (АТ) фрагментов ткани ОЩЖ. Первые попытки АТ ОЩЖ описаны еще в 1926 году F. Lahey [127]. Методика проста, не требует больших экономических затрат и большого опыта хирурга. Однако доля пациентов с целевыми уровнями ПТГ после тотальной ПТЭ и АТ ОЩЖ колеблется от 15 % до 50 % при оценке по общему уровню ПТГ в крови [108, 128].

С целью повышения эффективности АТ фрагментов ткани ОЩЖ при хирургическом лечении вторичного ГПТ и одновременной профилактики рецидива заболевания за счет повышенной функции трансплантата предложен метод стереомикроскопии, который позволяет визуализировать минимально измененные участки ОЩЖ и использовать их для трансплантации [80]. J. C. Ng et al. показали, что альтернативой хирургическому способу АТ ОЩЖ может быть инъекционное подкожное введение паратиреоидной ткани [177]. В настоящее время АТ ткани ОЩЖ проводят преимущественно в мышечную ткань и подкожную клетчатку, эффективность этих методов сопоставима [128]. О.С. Поповым с соавторами в эксперименте предложен оригинальный способ аутотрансплантации фрагментов жизнеспособных ОЩЖ в просвет притоков большой подкожной вены с возможным программируемым удалением паратиреоидной ткани при сохранении гиперпаратиреоза, показаны высокая жизнеспособность трансплантатов, а также возможность контролировать объем функционально активной ткани ОЩЖ [57]. Однако данных о клинических исследованиях не представлено.

Существующие методы аллотрансплантации ОЩЖ требуют обязательной иммуносупрессивной терапии. В качестве одного из способов отказа от иммуносупрессии рассматривали поиск области для трансплантации: одни авторы счита-

ли приоритетной областью семенник [113], другие – надпочечники [77] или латеральный желудочек мозга [112, 179], что теоретически обосновано наличием гистогематических барьеров. Однако применительно к человеку эти методики представляются сложно выполнимыми. Учитывая, что осложнения иммуносупрессивной терапии, необходимой при аллотрансплантации [72], являются более тяжелыми, по сравнению с осложнениями заместительной терапии препаратами кальция и витамином D при гипопаратиреозе, на сегодняшний день этот метод применяется ограниченно. Имеются сообщения об единичных аллотрансплантациях гиперплазированной ткани ОЩЖ пациентам, перенесшим тотальную ПТЭ при лечении третичного ГПТ, которые исходно получали иммуносупрессивную терапию по поводу аллотрансплантации почки [74, 94, 144].

Другой путь преодоления иммунного барьера для продления жизни клеток и тканей состоит в инкапсулировании трансплантата в полупроницаемые мембраны [68]. С. Hasse et al. одними из первых на экспериментальной модели гипопаратиреоза у крыс проводили ксенотрансплантацию микроинкапсулированных ОЩЖ человека. Наблюдение за животными продолжалось до 210 дней, у большинства определялся нормальный уровень кальция и человеческого ПТГ, гистологически подтверждалась сохранность паратиреоидной ткани в интактных сферах [149]. Тем не менее, клинические данные об эффективности этой методики малы. В. Я. Хрыщанович с соавт. сообщили о 7 аллотрансплантациях макрокапсулы с культивированными паратироцитами в артериальное русло, функция трансплантата в течение года отмечена в 2 случаях [49].

При изучении некоторых методик криоконсервации и культивирования клеток, выявилась способность этих методик снижать степень иммуногенности. После 6 недель культивирования и замораживания клеток ОЩЖ человека I. Nawrot et al. отмечают снижение экспрессии их лейкоцитарного антигена (HLA) 1-го класса и отсутствие HLA 2-го класса. После трансплантации таких клеток у 50 % реципиентов без применения иммуносупрессии аллотрансплантаты выполняли их эндокринную функцию более 2 месяцев [76].

В эксперименте на «голых» мышах Y. Tanaka et al. показали, что при трансплантации участков нормальной, гиперплазированной и аденоматозной ткани ОЩЖ человека сывороточные уровни ПТГ у мышей с трансплантатами из гиперплазированных и аденоматозных ОЩЖ были значительно выше таковых у реципиентов ткани нормальных ОЩЖ, без существенного различия между мышами с трансплантатами желез с гиперплазией и аденомой [114].

Важным этапом в развитии трансплантационных методов является создание банка тканей и клеток. Криоконсервация – метод, направленный на сохранение жизнеспособности и функциональной активности трансплантата [69]. Метод криоконсервации позволяет сохранять ткани ОЩЖ пациента в течение длительного времени для трансплантационных методов, что позволяет использовать материал в отдаленном послеоперационном периоде при терапии гипопаратиреоза. Длительность времени хранения, при котором ткань ОЩЖ остается функционально активной, до сих пор точно не определена. Исследуя образцы криоконсервированной ткани ОЩЖ, M. A. Guerrero et al. выявили, что жизнеспособными были 10 % образцов, статистическая значимость различий в количестве жизнеспособных клеток была установлена между группами образцов, хранившимся менее или ровно 24 месяца (71 %) и более 24 месяцев (1 %) [195]. Важность длительности криоконсервации отмечается и другими авторами. M. S. Cohen et al. показали отсутствие функциональной активности трансплантатов, хранившихся более 22 месяцев [129]. На основании этих исследований авторами предложено ограничивать срок хранения и утилизировать образцы со сроком хранения более 24 месяцев.

C. E. Barreira et al. установлено, что от момента забора до криоконсервации при температуре транспортного раствора +4 °C нормальная структура клеток ОЩЖ сохраняется до 12 часов [103].

По мнению авторов, перспективными являются исследования в области клеточных технологий и тканевой инженерии [61]. Изначально клетки ОЩЖ выращивали в монослойную культуру, которая очень быстро теряла способность реагировать на уровень внеклеточного кальция, что может быть объяснено нарушением межклеточного взаимодействия, снижением экспрессии на поверхности

клетки кальций-чувствительного рецептора. В работах *in vitro* при культивировании ткани ОЩЖ на трехмерной коллагеновой матрице клетки сохраняют функциональную активность и способность реагировать на физиологические стимулы до 10 недель [126, 146].

Некоторые успехи достигнуты в области поиска вектора дифференцировки для клеток ОЩЖ. Woods Ignatoski К.М. с соавторами сообщили о получении паратиреоид-подобных клеток из клеток вилочковой железы человека, которые реагировали на физиологические стимулы, без использования генетических методов [97].

Большинство предложенных методов обсуждаются в эксперименте, сообщения о клинических результатах встречаются относительно редко. Так E. Aysan et al. представили клинический случай серии АТ культуры клеток ОЩЖ в мышцу после тотальной паратиреоидэктомии по поводу вторичного ГПТ у 15-летней пациентки, находящейся на заместительной почечной терапии [71].

#### **1.4. Моделирование гипопаратиреоза**

Для изучения патогенеза ПОГПТ и поиска новых способов коррекции в эксперименте общепринятой моделью считается выполнение паратиреоидэктомии.

В руководстве по экспериментальной хирургии описан способ моделирования гипопаратиреоза у собак [27]. Доступ начинают через срединный разрез на шее от щитовидного хряща книзу, не доходя 2 см до яремной вырезки грудины. Продольные мышцы шеи разъединяют тупым путем и обнажают трахею. По бокам от трахеи пальпаторно находят щитовидную железу, которую выпрепаровывают из ложа и устанавливают локализацию ОЩЖ. Кровеносные сосуды каждой ОЩЖ перевязывают. ОЩЖ вылушивают из-под капсулы щитовидной железы с помощью пинцета. Если ткань щитовидной железы на месте удаления ОЩЖ кровоточит, то через ее паренхиму накладывают отдельный шов, которым стягивают капсулу. Существуют работы, где в некоторых случаях ввиду вариабельности расположения ОЩЖ у беспородных собак отмечают необходимость проведения субтотальной тиреоидэктомии, так как технически не всегда удается удалить ткань ОЩЖ без резекции щитовидной железы [18]. К недостаткам можно отнести

невозможность стандартизации получаемых результатов вследствие использования нелинейных животных (например, разные породы собак имеют разный вес, рост, иммунитет, сроки заживления и прочее). Эффективность этих моделей вариabельна. Так, P. S. Russell и R. F. Gittes сообщили, что около 20 % животных исключают из эксперимента из-за трудной визуализации ОЩЖ [169].

С целью стандартизации в эксперименте используют линейных животных, чаще крыс и морских свинок. В литературе отсутствует топографическая анатомия щитовидной и ОЩЖ крыс линии Wistar, необходимая для экспериментального моделирования [36, 84, 147], что является предметом для изучения. Удаление ОЩЖ с использованием классической хирургической техники у мелких лабораторных животных невозможно ввиду особенностей анатомии, низкой массы тела. Для данных животных широко используется способ разрушения ткани ОЩЖ методом электрокоагуляции [6, 52, 70]. Выполняют его следующим образом: после обезболивания и фиксации экспериментального животного (крысы) проводят воротничкообразный разрез в области шеи, выделяют щитовидную железу и в ее толще, по обе стороны, находят ОЩЖ, которые выжигают термокаутером, после чего рану ушивают. При этом летальность животных после данной операции в течение первых суток составляет 10–20 %, стойкая гипокальциемия выявляется у 75 % животных [62].

При этом невозможно достоверно оценить объем разрушенной ткани ОЩЖ, а также повреждается ткань щитовидной железы, что возможно и при ПТЭ с использованием классической хирургической техники гемостаза.

После моделирования ПОГПТ наблюдали гипокальциемию, максимальные сроки, описанные в работах, составили 3 недели. Нормализация уровня кальция к третьей неделе после ПТЭ свидетельствовала об оставлении ткани ОЩЖ и нестабильности модели. Однако процент таких исходов не указывается, как отсутствуют и однозначные сведения о пожизненности ПОГПТ у животных после ПТЭ, возможности коррекции гипокальциемии, летальности [178].

Для контроля гемостаза после хирургического вмешательства в целях снижения термической и/или электрической травмы при применении электрокоагу-

ляции распространение получили новые гемостатики, среди которых выделена группа клеев для медицинского назначения. Так, известен клей «Сульфакрилат», который используется при хирургических вмешательствах на паренхиматозных органах брюшной полости (печень, селезенка), для фиксации имплантов, герметизации швов [20, 21, 40, 42, 45, 55].

Наиболее часто модель гипопаратиреоза используют для оценки эффектов гипокальциемии как ведущего проявления недостаточности функции ОЩЖ. Большое количество работ посвящено роли кальция в фагоцитозе, выявлено два наиболее значимых пути его активации [140]. Однако до настоящего времени неясной остается причинно-следственная связь между ПТГ и маркерами воспаления [79], актуальны исследования влияния ПТГ на различные ступени иммунного ответа [54, 37]. Рецепторы ПТГ обнаружены на большинстве иммунокомпетентных клеток (нейтрофилах, Т и В лимфоцитах). Большинство научных работ посвящено изучению влияния повышенного уровня ПТГ. Выявленные эффекты высоких концентраций ПТГ в крови пациентов с гиперпаратиреозом на полиморфноядерные лейкоциты представлены нарушением миграции, уменьшением фагоцитарной и бактерицидной активности, ингибированием хемотаксиса [102].

Вследствие вышеизложенного экспериментальная модель ПОГПТ нуждается в усовершенствовании. Необходимо изучить механизмы течения экспериментального гипопаратиреоза, его особенности и критерии оценки.

Отсутствие убедительных данных об эффективности различных методов лечения и высокая частота распространенности вторичного ГПТ в популяции больных, находящихся на ЗПТ, составляют проблему, лежащую на стыке нефрологии, хирургии, эндокринологии, трансплантологии и патологической физиологии. Выявленные информационные ниши позволяют считать патогенетическое обоснование способа хирургического лечения важной задачей современной хирургии, что и стало побудительным мотивом для выполнения настоящего исследования.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Работа выполнена на основании клинических исследований и серий экспериментов *in vitro* и *in vivo*. В клинический раздел включены результаты обследования и хирургического лечения 34 пациентов, страдающих вторичным ГПТ и находящихся на заместительной почечной терапии. В раздел экспериментальных исследований вошли две серии работы: первая серия – по моделированию гипокальциемии путем ПТЭ с использованием микрохирургической техники у экспериментальных животных (крыс) ( $n = 60$ ); вторая серия – хронические эксперименты на крысах-самках линии Wistar 10-месячного возраста с массой тела 250–300 г ( $n = 84$ ) по изучению сано- и патогенетических механизмов коррекции гипокальциемии с использованием трансплантации клеток.

Работа является итогом научных исследований, выполненных автором в соответствии с планом научно-исследовательской работы Иркутского научного центра хирургии и травматологии (НИР 063: «Биомедицинские технологии профилактики и лечения органной недостаточности в реконструктивной и восстановительной хирургии», сроки выполнения 2013–2017 гг.).

### **2.1. Характеристика клинических наблюдений**

Проведен ретроспективный анализ хирургического лечения пациентов, оперированных на базе торакального хирургического отделения ГБУЗ «Иркутской области» областного клинической больницы» в период с 2005 по 2014 гг. (гл. врач – к.м.н. П. Е. Дудин, зав. отд. – к.м.н. В. Н. Махутов). Критерием включения в исследование было наличие показаний к хирургическому лечению вторичного ГПТ у пациентов, находящихся на ЗПТ, в соответствии с рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов 2006, 2013 гг. [15] и Национальными рекомендациями по минеральным и костным нарушениям при хронической болезни почек Российского диализного общества 2011 г. [4]. Показанием к операции при ХБП 5Д считали стойкое повышение уровня ПТГ более 800 пг/мл в сочетании с: постоянно повышенным уровнем кальция в сыворотке крови; ростом величины произведе-

ния кальция на фосфор в сыворотке крови до 6,0–6,9 ммоль/л или выше в сочетании с прогрессирующей кальцификацией мягких тканей, несмотря на жесткое ограничение потребления фосфатов; прогрессирующим поражением скелета, вызванным вторичным ГПТ; постоянным, мучительным, не поддающимся обычным методам лечения кожным зудом; кальцифилаксией. Показаниями к операции у пациентов с функционирующим почечным трансплантатом были: повышение уровня ПТГ выше целевых значений, ассоциированное с гиперкальциемией, резистентной к консервативной терапии; прогрессирующее снижение скорости клубочковой фильтрации аллотрансплантата на фоне ГПТ; снижение минеральной плотности кости на фоне консервативной терапии.

Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (протокол заседания № 9 от 09.11.2012 г.). Критерием исключения из исследования считали отсутствие согласия пациента на обработку персональных данных. Всего критериям включения в ретроспективное исследование соответствовали 34 пациента, все были включены в исследование.

Медиана возраста пациентов, включенных в ретроспективный анализ, составила 50 лет (47; 57), в их числе 19 женщин (56 %), 15 мужчин (44 %).

Структура патологии почек у пациентов на ЗПТ представлена в таблице 1.

**Таблица 1** – Структура заболеваний почек, приведших к терминальной ХПН

<b>Заболевание, приведшее к терминальной ХПН</b>	<b>Количество пациентов</b>	<b>%</b>
Хронический гломерулонефрит	19	60
Поликистоз почек	7	20,6
Врожденная аномалия развития мочевыводящей системы (уретерогидронефроз)	2	5,8
Гипертонический нефроангиосклероз	1	2,9
Хронический интерстициальный нефрит	1	2,9
Диабетическая нефропатия	1	2,9
Не установлено	3	8,9

В качестве метода ЗПТ (таблица 2) на момент оперативного лечения у 85,3 % пациентов применяли программный гемодиализ (ПГ), у 5,9 % – постоянный амбулаторный перитонеальный диализ (ПАПД), у 8,8 % ЗПТ осуществлена

трансплантацией почки. В таблице 2 приведены данные о длительности ЗПТ в анамнезе у пациентов.

**Таблица 2** – Данные о виде и длительности ЗПТ

Вид ЗПТ на момент операции	Кол-во пациентов на момент операции	Длительность, мес.	Вид и длительность ЗПТ в анамнезе					
			ПГ		ПАПД		АТП	
			<i>n</i>	Длит., мес.	<i>n</i>	Длит., мес.	<i>n</i>	Длит., мес.
ПГ	29	84 (60; 132)	–		2	41 и 67	4	15 (11; 29)
ПАПД	2	74 и 108	2	1 и 2	–			
АТП	3	(33; 84)	3	9 и 12	0		–	

**Примечание:** ПГ – программный гемодиализ, ПАПД – постоянный амбулаторный перитонеальный диализ, АТП – аллотрансплантация трупной почки.

Медиана длительности анамнеза по основному почечному заболеванию у пациентов с ХБП С5 Д (31 пациент) составила 17 (11; 22) лет, суммарной длительности ЗПТ – 84 (60; 130) месяцев, длительности гемодиализа – 7 (3; 11) лет, длительности анамнеза по ГПТ – 3 (2; 4) года.

В структуре сопутствующей соматической патологии (таблица 3) преобладали заболевания сердечнососудистой системы, вирусные заболевания печени, заболевания органов пищеварительной системы.

У всех пациентов было установлено нарушение кальциево-фосфорного обмена. В таблице 4 представлена характеристика изменений показателей кальция, фосфора, кальциево-фосфорного произведения (СахР) и щелочной фосфатазы (ЩФ) у 31 пациента с ЗПТ в виде программного гемодиализа (ПГ) и ПАПД и у 3 пациентов с функционирующим почечным трансплантатом.

При анализе частоты исходов оперативного лечения выделяли группы пациентов в зависимости от объема выполненного хирургического вмешательства и уровня ПТГ. Целевыми уровнями ПТГ считали: для пациентов с ХБП 5 Д 130–585 пг/мл (13,7–64,4 пмоль/л) (в соответствии с рекомендациями KDIGO 2009 г.), на стадии ХБП 4 у пациентов с функционирующим почечным трансплантатом (в

соответствии с рекомендациями K/DOQI 2003 г.) - 70–110 пг/мл (7,7–12,1 пмоль/л), для пациентов с ХБП 3 - 35–70 пг/мл (3,85–7,7 пмоль/л);-. В качестве ПОГПТ рассматривали снижение уровня ПТГ ниже целевых значений на момент цензурирования. Под персистенцией ГПТ понимали выявление ПТГ выше целевых значений в сроки до 6 месяцев, под рецидивом («возвратный ГПТ») – выявление ПТГ выше целевых значений в сроки свыше 6 месяцев [64].

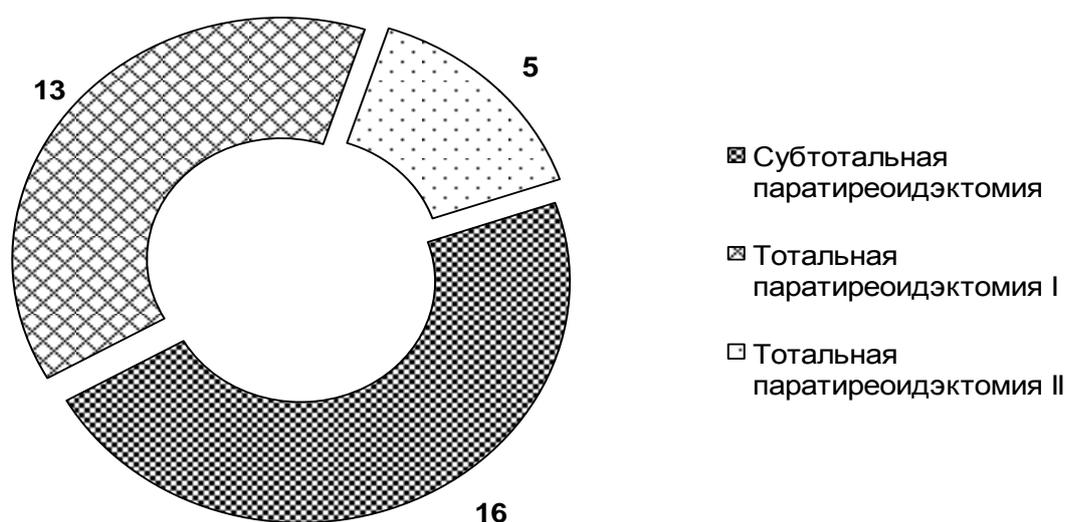
**Таблица 3** – Перечень сопутствующих соматических патологий пациентов до операции

Патология	<i>n</i>
Хронический вирусный гепатит С	13
Хроническая обструктивная болезнь легких	1
Гипертоническая болезнь	5
Ожирение	1
Многоузловой зоб	8
Ишемическая болезнь сердца: Постинфарктный кардиосклероз	4
Ишемическая болезнь сердца: нарушения сердечного ритма и проводимости	3
Хроническая сердечная недостаточность	9
Ишемическая болезнь сердца: стенокардия	2
Дисциркуляторная энцефалопатия	3
Остеоартроз	4
Аутоиммунный тиреоидит	3
Хронический вирусный гепатит В	3
Сахарный диабет, 1 тип	1
Сахарный диабет, 2 тип	1
Энцефалопатия сочетанного генеза	3
Атеросклероз	3
Хронический гастрит	1
Подагра	1
Ишемическая болезнь сердца: безболевого ишемия миокарда	1
Хронический бронхит	2
Хронический холецистит	5
Геморрой	1
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	1
Кисты печени	2
Амиодарониндуцированный тиреотоксикоз	1
Рак щитовидной железы	1

**Таблица 4** – Лабораторные показатели у пациентов до оперативного лечения

Группа	ПТГ, пг/мл	Са общ., ммоль/л	Р, ммоль/л	СахР	ЩФ, ед./л
ХБП С5 Д	2150 (1929; 2882)	2,55 (2,37; 2,70)	2,29 (2,02; 2,66)	5,64 (4,85; 7,22)	716 (248; 1015)
ХБП С3-4 Т	410 (149; 560)	2,79 (2,61; 3,05)	0,83 (0,73; 0,93)	-	73 (58; 139)

Всего было выполнено 36 оперативных вмешательств, из них 34 первичных (рисунок 1) и 2 повторных. Также было выполнено 8 симультанных операций по поводу заболеваний щитовидной железы, из них 6 по поводу многоузлового зоба, 1 – аутоиммунного тиреоидита, 1 – амиодарониндуцированного тиреотоксикоза.

**Рисунок 1** – Структура первичных операций.

### *Характеристика наблюдений в отдаленном периоде*

Пациентов после оперативного лечения выписывали из стационара под амбулаторное наблюдение эндокринолога, нефролога по месту жительства, где проводилось обследование в объеме, определенном стандартом оказания медицинской помощи пациентам с ХБП (таблица 5).

**Таблица 5** – Частота предоставления исследования пациентов с ХБП

<b>Вид исследования</b>	<b>Частота предоставления</b>
Общий кальций крови	1 раз в месяц
Фосфор крови	1 раз в месяц
Паратиреоидный гормон	1 раз в 3 месяца
Щелочная фосфатаза	1 раз в 3 месяца
Консультация эндокринолога	1 раз в 10 месяцев
Рентгенденситометрия	1 раз в 10 месяцев
Сцинтиграфия по показаниям	1 раз в 16 месяцев

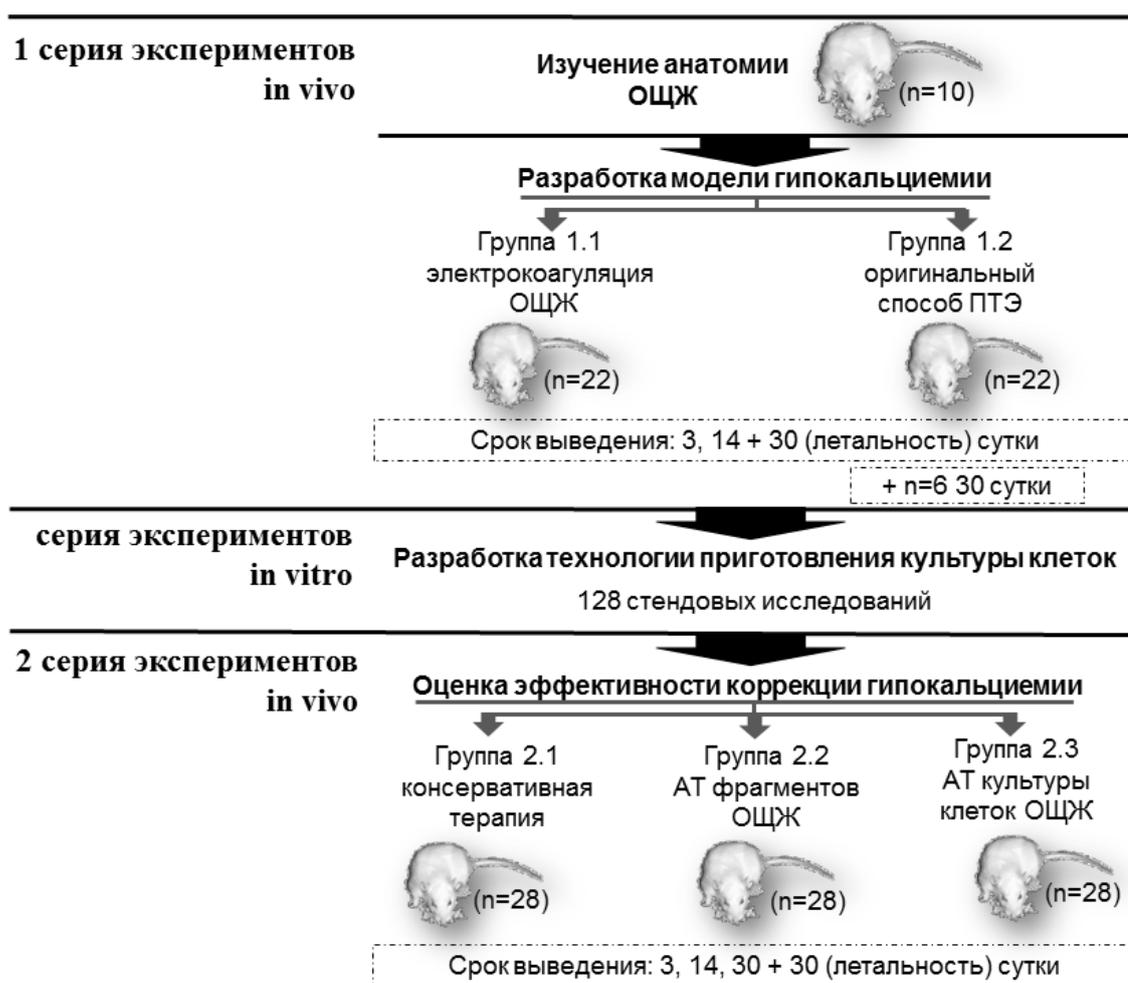
Клиническое исследование включало сбор данных годовых историй болезни диализных центров (архив диализных центров Б-Браун, НИИ «Клинической медицины», ГБУЗ «ИОКБ»), амбулаторных карт (база данных Иркутской областной консультативно-диагностической поликлиники ГБУЗ «ИОКБ»).

После выписки из хирургического стационара пациенты обследованы в сроки от 3 до 95 месяцев.

## **2.2. Характеристика экспериментальных исследований *in vivo***

Работа была выполнена на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (директор – д.м.н., профессор Сороковиков В. А.). Животных содержали в условиях вивария на рационе питания, соответствующем нормативам ГОСТ «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ», со свободным доступом к воде и пище с соблюдением стандартных операционных процедур [25]. Все документы, регламентирующие работу вивариев, имелись на протяжении всего времени исследования (виварий I категории, ветеринарное удостоверение 238 № 000360 от 30 апреля 2013 г., служба ветеринарии Иркутской области). В эксперимент включали крыс-самок в возрасте 6–10 месяцев весом 250–300 г. Опыты на животных выполнялись в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения

работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приказами МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных», а также основывались на положениях Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации от 1964 г. с дополнениями от 1975, 1983 и 1989 гг. Все оперативные вмешательства проводились в асептических условиях, под общим обезболиванием (одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НЦРВХ» СО РАМН (протокол заседания № 9 от 09.11.2012 г.). Дизайн исследования – рандомизированное контролируемое исследование. Рандомизация животных осуществлялась методом конвертов. Общая схема экспериментальных исследований представлена на рисунке 2.



**Рисунок 2** – Общая схема распределения животных в эксперименте.

Выведение животных производилось методом декапитации после общего обезболивания, при этом рабочий инструмент располагали в максимально кра-ниальном положении во избежание повреждения анатомической области щито-видной железы.

### ***2.2.1. Разработка способа моделирования пострезекционной гипокальциемии (первая серия экспериментов in vivo)***

Разрабатывая способ моделирования пострезекционной гипокальциемии, мы не встретили в доступной литературе подробного описания топографической анатомии щитовидной и околощитовидных желез крыс линии Wistar, необходи-мой для экспериментального моделирования [36, 147]. В связи с этим нами про-ведена серия исследований по изучению особенностей топографо-анатомического строения органов шеи, включая кровоснабжение, иннервацию, синтопию щито-видной и ОЩЖ. Исследование выполнено на основании острых опытов на кры-сах-самках линии Wistar ( $n = 10$ ). Возраст животных – 6–10 месяцев, вес – 200–300 г (таблица 6).

**Таблица 6** – Распределение животных на группы в серии топографо-анатомических исследований

<b>Группа</b>	<b>Возраст крысы, мес.</b>	<b>Количество животных</b>
Группа 1	6	3
Группа 2	8	3
Группа 3	10	4

После фиксации животного на столике Сеченова в положении на спине и подготовки операционного поля под общей анестезией в области шеи выполняли угловой разрез кожи с формированием косынкообразного лоскута, мобилизовали слюнные железы. Тупым путем разделяли мышцы передней поверхности шеи, брали на держалки, визуализировали щитовидную железу. Для визуализации ОЩЖ мобилизовали боковые поверхности долей щитовидной железы.

Для контрастирования сосудов производили наливку сосудов путем трансторакальной инъекции раствора метиленового синего в левый желудочек сердца после пальпаторного определения верхушечного толчка.

Мобилизация проводилась с использованием микрохирургической техники и операционного микроскопа «Olimpus» с увеличением  $\times 12,5$ .

Фотодокументирование проводилось через окуляр операционного микроскопа при увеличении  $\times 12,5$ , при помощи фотоаппарата со стандартными настройками режима макросъемки.

После выведения животных из исследования для гистологического исследования проводили забор органокомплекса – трахея, пищевод, щитовидная железа, ОЩЖ. Микропрепараты изучали методом световой микроскопии.

Для указания анатомических структур использовали термины в соответствии с Ветеринарной анатомической номенклатурой (Nomina Anatomica Veterinaria – N.A.V.) 5-го издания [30].

Следующим этапом исследования была разработка способа моделирования пострезекционной гипокальциемии. Исследование выполнено с использованием 30 крыс - самок в возрасте 10 мес. При помощи методов рандомизации животные были распределены на группы (таблица 7): в группе 1.1 ( $n = 12$ ) проводили разрушение ОЩЖ при помощи электрокоагуляции; в группе 1.2 ( $n = 12$ ) выполняли моделирование гипокальциемии по оригинальному способу. После чего по разработанному способу были оперированы еще 6 животных для наблюдения в течение 30 суток после вмешательства.

**Таблица 7** – Характеристика экспериментальных групп в 1-й серии исследований

<b>Группа</b>	<b>Характер воздействия</b>	<b>Кол-во животных</b>	<b>Методы исследования</b>
1.1	Модель гипокальциемии с использованием электрокоагуляции (по И. Г. Джиеву с соавт., 2013)	12	Рентгенологические; морфологические; биохимические;
1.2	Разработанная модель гипокальциемии	12 + 6	радиоиммунологические; ОАК; иммунологические тесты 1-го порядка.
Норма	Здоровые животные	6	
<b>Всего</b>			<b>36</b>

На первом этапе своей работы нами была воспроизведена известная модель И. Г. Джигоева с соавт. (2013): животным группы 1.1 моделирование гипокальциемии выполняли при помощи электрокоагуляции ОЩЖ [62]. Животным группы 1.2 выполняли моделирование с использованием оригинального способа ПТЭ, технология которой включала выполнение углового разреза кожи с формированием «косынкообразного» лоскута в области шеи, выделение ОЩЖ и проведение ТПТЭ с одномоментной резекцией ткани щитовидной железы с нанесением на раневую поверхность щитовидной железы медицинского клея «Сульфакрилат» (патент РФ № 2573381 «Способ моделирования пострезекционной гипокальциемии» от 09.04.2014 года).

Оперативное вмешательство проводилось при помощи операционного микроскопа «Olimpus» при увеличении  $\times 12,5$ . Фотодокументирование проводилось через окуляр операционного микроскопа.

Животных групп 1.1 и 1.2 выводили из эксперимента через 3 и 14 суток (по 6 крыс в каждой группе) [24], 6 животных группы 1.2 выводили через 30 суток. Проводили забор крови для оценки общего числа лейкоцитов, лейкоцитарной формулы, эритроцитов, иммунологических тестов 1-го порядка, выбранных биохимических показателей. После эвтаназии проводили аутопсию с забором тканей в области оперативного вмешательства, легких, миокарда, печени, почек.

### ***2.2.2. Оценка эффективности лечения послеоперационного гипопаратиреоза (вторая серия экспериментов *in vivo*)***

Для решения поставленных задач по изучению эффективности профилактики и лечения ПОГПТ аутотрансплантацией культуры клеток ОЩЖ была выполнена вторая серия экспериментов. Всем животным было выполнено моделирование гипокальциемии по оригинальной методике, далее в зависимости от способа воздействия животных распределяли на группы следующим образом (таблица 8): группа 2.1 ( $n = 18$ ) – заместительная терапия альфакальцидолом и препаратом кальция; группа 2.2 ( $n = 18$ ) – аутотрансплантация фрагментов ОЩЖ в мышцу; группа 2.3 ( $n = 18$ ) – аутотрансплантация культуры клеток ОЩЖ в мышцу.

**Таблица 8** – Характеристика экспериментальных групп во 2-й серии исследований

<b>Группа</b>	<b>Характер воздействия</b>	<b>Кол-во животных</b>	<b>Сутки забора</b>	<b>Кол-во животных на точку забора</b>	<b>Методы исследования</b>
2.1	Разработанная модель гипокальциемии с заместительной терапией	18	3	6	Морфологические; биохимические; радиоиммунологические; бактериологические; ОАК; иммунологические тесты.
			14	6	
			30	6	
2.2	Разработанная модель гипокальциемии с АТ фрагментов ОЩЖ	18	3	6	
			14	6	
			30	6	
2.3	Разработанная модель гипокальциемии с АТ КК ОЩЖ	18	3	6	
			14	6	
			30	6	
<b>Всего</b>			<b>54</b>		

Все экспериментальные животные находились на одинаковой диете, содержание кальция в корме составляло 25 мг/100 г.

Животных групп 2.1 и 2.2 выводили из эксперимента через 3, 14 и 30 суток после ПТЭ. Животных группы 2.3 выводили из эксперимента через 3 суток после АТ культуры клеток ОЩЖ (через 6 суток после ПТЭ) и через 14 и 30 суток после ПТЭ. После забора крови для оценки ОАК, иммунологических тестов 1-го порядка, выбранных биохимических показателей и эвтаназии проводили аутопсию с забором тканей в области трансплантации (животным групп 2.2 и 2.3), ткани легкого, миокарда, печени, почек для патоморфологического исследования.

### ***Получение взвеси изолированных клеток околощитовидной железы***

Стендовые исследования по разработке методики были выполнены с использованием клеток, полученных от кроликов, ввиду их большей массы. В дальнейшем разработанную технологию мы применили для получения культуры клеток ОЩЖ крыс.

Выделение, культивирование клеток ОЩЖ кроликов выполняли в клеточном боксе научного отдела экспериментальной хирургии ФГБНУ «Иркутский научный

центр хирургии и травматологии». Забор биоматериала производили у кроликов десятимесячного возраста ( $n = 10$ ). В условиях операционной после подготовки операционного поля выполняли ПТЭ при помощи микрохирургической техники и операционного микроскопа с сохранением капсулы ОЩЖ. Извлеченный материал помещали в емкость с питательной средой RPMI с добавлением гентамицина, температура среды  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . При выделении клеток ОЩЖ использовался комбинированный метод дезагрегации ткани по протоколам, предложенным M. L. Brandi et al. для бычьих ОЩЖ (1986) и С. А. Лепеховой для получения клеток-островков Лангерганса (2007). Вес одной ОЩЖ кролика составил 0,03 г, в исследованиях *in vitro* количество клеток высчитывали при использовании двух ОЩЖ кроликов.

Для получения клеточного материала для трансплантации крысам группы 2.3 забирали ОЩЖ во время выполнения ПТЭ по оригинальному способу. Удаленные ОЩЖ помещали в стерильную емкость с охлажденной до  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$  питательной средой RPMI («Панэко», Россия) с добавлением антибиотиков (гентамицин, 0,09 мг/мл) для транспортировки в клеточный бокс. После взвешивания на электронных весах Adventurer TM Balances (OHAUS, США) выделенный биоматериал переносили для дальнейших манипуляций в стерильный бокс.

Все манипуляции по получению взвеси клеток проводили в асептических условиях, используя ламинарный бокс, обработку антисептиками, кварцевание. Орган помещали в полимерную чашку Петри и инъецировали под капсулу ОЩЖ раствор коллагеназы («ICN», тип IV, активность 179) из расчета 2,5 мг/г ткани. Затем чашки Петри с ОЩЖ помещали в термостат на 10 минут при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . После этого ткань ОЩЖ механически измельчали, удаляли обломки сосудов и фрагменты капсулы. Затем добавляли 1 мл раствора коллагеназы и вновь помещали в термостат при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 10 минут. Раствором рабочей среды омывали чашки Петри. Все отмывочные воды и полученную взвесь клеток центрифугировали. Пробирки устанавливали в холодильную центрифугу на 5 минут при 1700 об./мин и температуре  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Надосадочную жидкость удаляли до уровня осажженной клеточной взвеси. Повторно добавляя в пробирки раствор рабочей среды, проводили центрифугирование при 1700 об./мин в течение 5 минут. После центрифугирования клеточную взвесь собирали.

На всех этапах выделения клеток проводили контроль бактериальной контаминации [44]. Подсчет жизнеспособности клеток проводили с помощью теста на исключение красителя [23]. В суспензию клеток добавляли 0,4%-й водный раствор трипанового синего (Sigma, США) и в камере Горяева подсчитывали число неокрашенных и окрашенных клеток. Далее выделенные клетки культивировали до концентрации  $4 \times 10^4$  клеток в 1 мл суспензии.

Культивирование выделенных клеток проводили в матрасах Ру с использованием стандартных питательных сред и добавок («Панэко», Россия) по методу Р. Фрешни (1989). Культивирование проводили в стандартных условиях в течение 3 суток и однократной сменой питательной среды с элементами субкультивирования, которое заключалось в диспергировании клеточной взвеси на этапе смены питательной среды. Применяли среду для культивирования в оригинальной модификации. Для снятия культуры клеток со стенок посуды применяли версен 0,2 г/л раствора Хенкса по методике Р. Адамса (1983). Полученные клетки центрифугировали в течение 5 минут при 1700 об./мин. После удаления надосадочной жидкости в клеточную взвесь добавляли раствор NaCl 0,9%-й до 0,5 мл, после чего клетки трансплантировали.

### ***Характеристика заместительной терапии гипопаратиреоза в зависимости от групповой принадлежности***

Все экспериментальные животные находились на одинаковой диете, содержание кальция в корме составляло 25 мг/100 г. Заместительная терапия проводилась животным из группы 2.1 на протяжении всего срока наблюдения и животным из группы 2.3 на протяжении 2 дней до АТ в объеме 0,012–0,018 мкг альфакальцидола («TEVA», Израиль) в сутки, 0,12–0,15 мг кальция глюконата («Виал», Россия) в сутки.

Препарат «Альфа Д3 Тева» выпускается в форме капсул с масляным раствором бледно-желтого цвета, содержащего 0,25 мкг альфакальцидола. Альфакальцидол (1 $\alpha$ -гидроксивитамин D3) быстро превращается в печени в 1,25-дигидроксивитамин D3, активный метаболит витамина D (кальцитриол), который действует как регулятор обмена кальция и фосфора. Повышает абсорбцию кальция и фосфора в кишечнике, увеличивает их реабсорбцию в почках. Расчет дозы препарата проводили из учета 0,006 мкг на 100 г массы тела животного [82, 138]. Препара-

раты альфакальцидола и кальция глюконата входят в стандарт медицинской помощи больным гипопаратиреозом [59]. Препараты добавляли в корм животным.

### **2.2.3. Исследование летальности и выживаемости**

Для оценки летальности в первую и вторую серию исследований включили 50 животных. Распределение животных по группам представлено в таблице 9.

**Таблица 9** – Характеристика экспериментальных групп в 1-й и 2-й сериях исследований

<b>Группа</b>	<b>Характер воздействия</b>	<b>Кол-во животных</b>	<b>Сутки забора</b>	<b>Методы исследования</b>
1.1	Модель гипокальциемии с использованием электрокоагуляции	10	30	Морфологическое исследование тканей почки, легкого, миокарда, печени
1.2	Разработанная модель гипокальциемии	10		
2.1	Разработанная модель гипокальциемии с заместительной терапией	10		
2.2	Разработанная модель гипокальциемии с АТ фрагмента ОЦЖ	10		
2.3	Разработанная модель гипокальциемии с АТ КК ОЦЖ	10		
<b>Всего</b>		<b>50</b>		

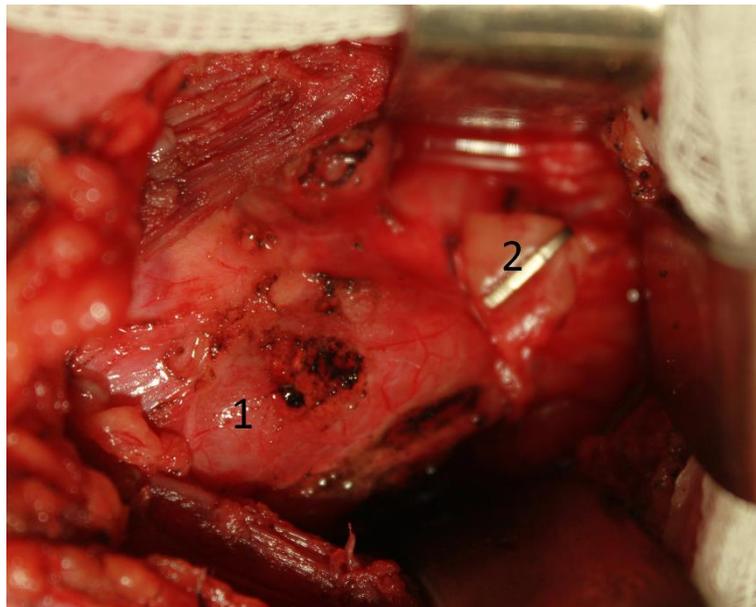
Летальность контролировали в течение 30 суток. У погибших животных в группах 1.1 и 1.2 проводили аутопсию с ревизией зоны оперативного вмешательства, забор органокомплекса в области операции, тканей висцеральных органов для последующего патоморфологического исследования. У погибших животных в группах 2.1, 2.2, 2.3 проводили аутопсию с ревизией области трансплантации, тканей висцеральных органов для последующего патоморфологического исследования.

## **2.3. Характеристика оперативных вмешательств**

### **2.3.1. Оперативные вмешательства в клинике**

**Технология выполнения СПТЭ.** После выполнения поперечно-дугобразного доступа по Кохеру и выделения медиального края грудино-ключично-сосцевидных мышц, в продольном направлении рассекали белую линию шеи, выделяли края грудинно-подъязычной и грудинно-щитовидной мышц. Между этими мышцами острым путем формировали туннель. В результате этого полностью освобождалась передняя

поверхность грудинно-щитовидных мышц, укрывающих паренхиму щитовидной железы. Следующим этапом операции производили мобилизацию латеральной поверхности нижнего полюса щитовидной железы. Разделение тканей производили в направлении «вдоль» предполагаемой локализации возвратного гортанного нерва (ВГН) до его визуализации. Следующим этапом проводили выделение ВГН и его отведение с использованием эластичного турникета. Интраоперационная эксплорация проводилась в стандартной последовательности. Поиск ОЦЖ осуществляли в местах их наиболее частой локализации: верхних – дорсально от ВГН, нижних – вентрально, при необходимости перевязывали нижнюю щитовидную артерию или ее ветви. При отсутствии ОЦЖ в типичных местах расположения продолжали поиск в соответствующих отделах клетчатки шеи и средостения (за пищеводом, перед трахеей). Мобилизацию контралатеральных ОЦЖ выполняли аналогично. Стремилась к визуализации не менее 4 ОЦЖ. После завершения эксплорации шеи проводили макроскопическую оценку найденных ОЦЖ и принимали решение об оставлении наименее измененной ОЦЖ или ее части размером 5–6 мм<sup>3</sup> (не более 60 мг). Фрагмент ОЦЖ оставляли на месте или перемещали на осевом кровотоке в более поверхностные слои шеи с маркировкой металлической клипсой (рисунок 3).

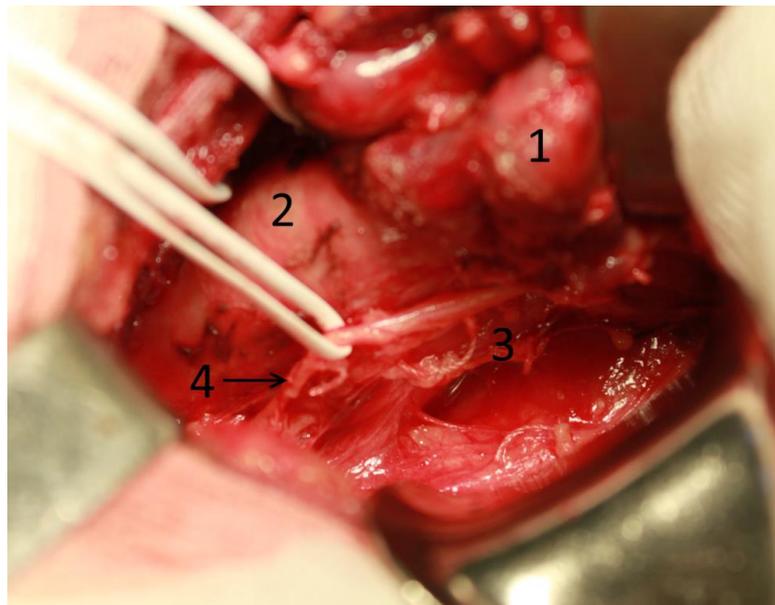


**Рисунок 3** – Фрагмент ОЦЖ перемещен на переднюю поверхность щитовидной железы и маркирован клипсой: **1** – щитовидная железа, правая доля; **2** – фрагмент ОЦЖ.

Остальные ОЩЖ удаляли. Белую линию шеи восстанавливали сшиванием грудинно-подъязычных мышц. Дренажирование операционной раны проводили с помощью силиконовых трубчатых дренажей по способу Петрова – Винника [29]. Операцию заканчивали наложением отдельных швов на подкожную мышцу шеи и внутрикожного шва.

**Технология выполнения тотальной ПТЭ I типа (ТПТЭ I).** Доступ и эксплорацию ОЩЖ проводили аналогично технологии СПТЭ. После завершения эксплорации все найденные ОЩЖ удаляли. После удаления ОЩЖ проводили макроскопическую их оценку, наименее измененную ОЩЖ или ее часть размером  $5 \times 5$  мм использовали для трансплантации.

**Технология выполнения тотальной ПТЭ II типа (ТПТЭ II).** Доступ проводили аналогично технологии субтотальной ПТЭ. После отведения ВГН с использованием эластичного турникета производили двухстороннее иссечение клетчатки шеи и верхнего средостения в одном блоке с ОЩЖ и верхними рогами тимуса. В зону диссекции попадала клетчатка от гортани и глотки, вдоль пищевода и трахеи, медиально от общей сонной артерии до уровня дуги аорты слева и плечеголового ствола справа, верхнего средостения с верхними рогами тимуса (рисунок 4).



**Рисунок 4** – Вид после удаления ОЩЖ и центральной клетчатки шеи: **1** – щитовидная железа; **2** – трахея; **3** – пищевод; **4** – левый ВГН.

При наличии узлов в щитовидной железе проводилась резекция щитовидной железы (или гемитиреоидэктомия/тиреоидэктомия – при наличии соответствующих показаний к хирургическому лечению узлового зоба). После завершения шейного этапа проводили макроскопическую оценку удаленных ОЩЖ, наименее измененную ОЩЖ или ее часть размером  $5 \times 5$  мм использовали для трансплантации.

### ***Методика выполнения ауотрансплантации ОЩЖ***

В основу методики АТ положен метод Уэллса (Wells S. A. et al., 1986). После завершения ПТЭ макроскопически наименее измененную ОЩЖ помещали в охлажденный стерильный 0,9%-й раствор NaCl. Пациентам, получавшим ЗПТ программным гемодиализом, АТ осуществляли в верхнюю конечность, на которой не было функционирующей артериовенозной фистулы. Трансплантацию проводили в плечелучевую мышцу предплечья либо в двуглавую мышцу плеча. После обработки операционного поля по медиальной поверхности производили разрез кожи до 1,5–2 см. Надсекали фасцию мышцы и тупым путем формировали мышечные «карманы». Удаленную ОЩЖ извлекали из раствора, при помощи скальпеля и пинцета освобождали от капсулы, фрагмент размером  $5 \times 5$  мм измельчали (до  $1 \times 1$  мм) и помещали в сформированные мышечные «карманы» (рисунок 5). Фасцию мышцы ушивали непрерывным швом. Накладывали кожные швы и асептическую повязку.



**Рисунок 5** – Этап ауотрансплантации фрагментов ОЩЖ в плечелучевую мышцу.

### ***Послеоперационное ведение пациентов и консервативная терапия***

В раннем послеоперационном периоде в течение первых суток пациентов наблюдали в условиях палаты интенсивной терапии, где проводили мониторинг уровня ионизированного кальция каждые четыре часа. При документированном снижении уровня ионизированного кальция до или ниже 0,9 ммоль/л проводили коррекцию гипокальциемии введением раствора кальция глюконата 10%-го через шприцевой инфузионный насос, скорость введения препарата контролировали по уровню ионизированного кальция крови. Со 2-х суток послеоперационного периода заместительная терапия включала прием альфакальцидола (до 4 мкг/сут) и препаратов кальция в пересчете на элементарный кальций до 3 г в сутки. Анальгезирующая терапия состояла из внутримышечного введения нестероидных противовоспалительных препаратов в течение 3–5 суток после операции.

Сеансы гемодиализа пациенты проходили в стандартном режиме на базе отделения гемодиализа ГБУЗ ИОКБ по 4 часа не менее 3 раз в неделю.

Послеоперационные швы снимали на 7–12-е сутки. Медиана длительности госпитализации составила 10,5 (9; 13,5) дней.

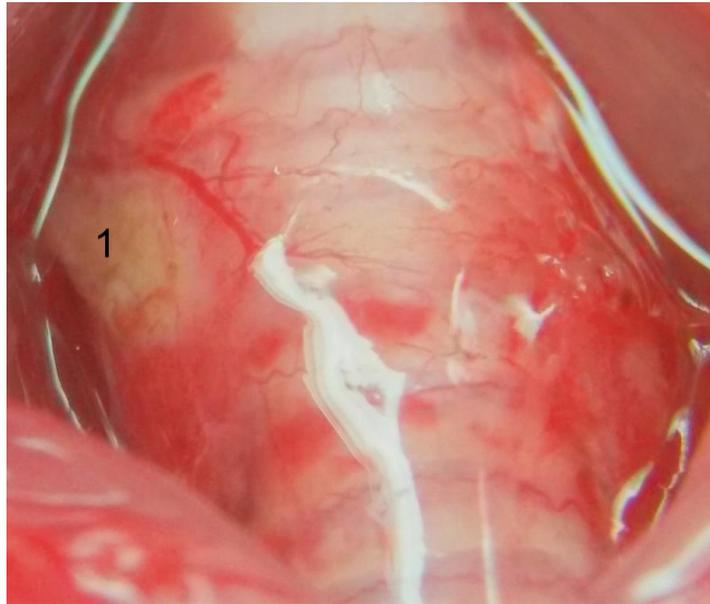
#### ***2.3.2. Характеристика оперативных вмешательств в эксперименте***

Всем животным за час до операции выполняли премедикацию с последующей общей анестезией. Далее в асептических условиях и под общей анестезией животное фиксировали на столике А. И. Сеченова в положении на спине. На вентральной поверхности шеи ножницами выстригали шерсть, затем кожу обрабатывали раствором антисептика. Крысу накрывали стерильной простыней с разрезом в области операционного поля. Далее выполняли оперативное вмешательство в зависимости от групповой принадлежности крысы. Раны ушивали с использованием атравматического шовного материала 5/0 и 3/0. Ход оперативных вмешательств протоколировали в операционный журнал.

#### ***Способ моделирования по И. Г. Джисоеву с деструкцией тканей ОЩЖ электрокоагуляцией***

Для доступа к щитовидной железе выполняли воротникообразный разрез в области шеи, выделяли щитовидную и околощитовидную железы. К ОЩЖ под-

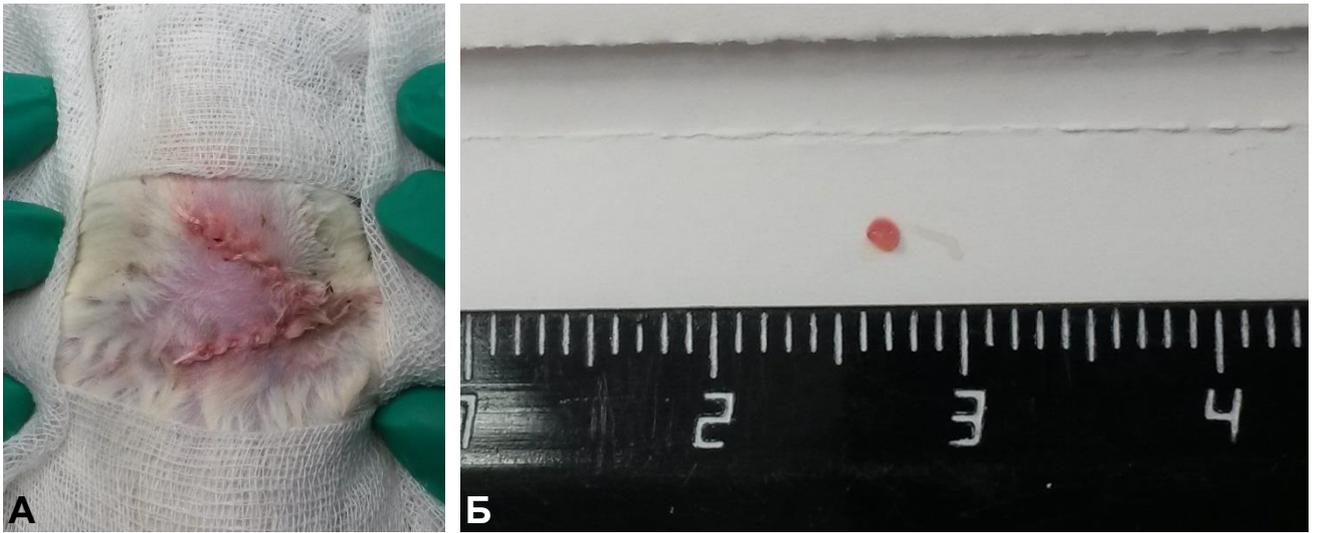
водили монополярный электрод диаметром 1 мм и воздействовали в течение 1 с (рисунок 6), после чего рану послойно ушивали.



**Рисунок 6** – Крыса-самка линии Wistar. Вид щитовидной железы после деструкции околощитовидной железы при помощи электрокоагуляции: **1** – зона коагуляционного некроза на месте правой ОЩЖ. Ув.  $\times 12,5$ .

### ***Оперативное вмешательство при моделировании по оригинальному способу***

Производили угловой разрез кожи с формированием косынкообразного лоскута. Отпрепарированный кожный лоскут отводили на зажиме. Мобилизовали слюнные железы в бессосудистой зоне. Тупым путем разделяли грудино-подъязычные мышцы по срединной линии и отводили на держалках. Визуализировали гортань и трахею. Подводили операционный микроскоп. При помощи микрохирургических инструментов мобилизовали щитовидную железу и ОЩЖ. Пинцетом подтягивали кверху ОЩЖ, ножницами отсекали ОЩЖ, резецируя при этом щитовидную железу, после чего наносили на поверхность дефекта ткани щитовидной железы клей «Сульфакрилат» с использованием инъекционной иглы 30 G. Рану послойно ушивали (рисунок 7).



**Рисунок 7** – Крыса-самка линии Wistar. Вид послеоперационных швов (А) и макропрепарат (Б): удаленная ОЩЖ с фрагментом прилежащей ткани щитовидной железы.

Клей «Сульфакрилат» (рисунок 8) состоит из этил- $\alpha$ -цианакрилата, бутилакрилата и сульфоланметакрилата (противовоспалительный, антимикробный компонент) и представляет собой бесцветную прозрачную жидкость с удельным весом 1,05–1,07 г/см<sup>3</sup> и вязкостью 5–85 сст., предназначенную для склеивания мягких тканей живого организма. При контакте с живой тканью быстро полимеризуется; время отверждения клея в зависимости от вида склеиваемой ткани составляет 10–120 с. Биодegradация клея в организме происходит в течение 30–40 дней [21].



**Рисунок 8** – Клей «Сульфакрилат» и инъекционная игла.

### ***Техника трансплантации фрагмента***

У животных группы 2 после выполнения ПТЭ околощитовидные железы помещали в питательную среду. После завершения вмешательства на шее производили ауто трансплантацию фрагментов ОЩЖ в широчайшую мышцу спины справа. В проекции широчайшей мышцы спины справа после подготовки операционного поля и обработки растворами антисептиков производили разрез кожи до 8 мм, рассекали фасцию на 3–4 мм и тупым путем формировали «карман» в широчайшей мышце спины (рисунок 9) [36].



**Рисунок 9** – Крыса-самка линии Wistar. Этап операции трансплантации фрагмента околощитовидной железы в мышцу предплечья: формирование мышечного «кармана».

С использованием операционного микроскопа одну из удаленных ОЩЖ рассекали скальпелем на 4 фрагмента, удаляли капсулу, после чего фрагменты ОЩЖ трансплантировали в сформированный мышечный «карман». Фасцию мышцы над зоной трансплантации ушивали атравматичной нитью Prolen 6/0. Накладывали кожные швы.

### ***Техника трансплантации культуры клеток***

Через 3 суток после паратиреоидэктомии животным из группы 2.3 инъекционным способом после обработки кожи раствором антисептика вводилась взвесь

культуры аутологичных клеток в объеме 0,5 мл при помощи иглы 23 G в край широчайшей мышцы спины справа (рисунок 10).



**Рисунок 10** – Крыса-самка линии Wistar. Инъекция взвеси культуры аутологичных клеток околощитовидной железы в край широчайшей мышцы спины крысы.

### *Послеоперационное ведение крыс*

В послеоперационном периоде всем животным выполняли стандартное лечение, которое включало в себя: введение обезболивающих препаратов 2 раза в день – утром и вечером – в течение первых трех дней после операции; обработку послеоперационной раны с использованием раствора бриллиантовой зелени.

## **2.4. Общая характеристика методов исследования**

### *2.4.1. Методы диагностики в клинике*

Кроме стандартного клинико-лабораторного обследования, включавшего общий анализ крови, биохимические показатели, проводились электрокардиография (ЭКГ), эхокардиография (ЭхоКГ), фиброгастродуоденоскопия (ФГДС), УЗИ органов брюшной полости и забрюшинного пространства, сосудов.

Биохимические исследования проводили по стандартным методикам, в анализ включены следующие показатели: общий кальций, фосфор, щелочная фосфатаза. Данные показатели определяли в лаборатории ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница» (заведующая – к.м.н. Корякина Л. Б.), единицы измерения – мМ, Ед/л.

Уровень ионизированного кальция определяли электродным методом на электролитном анализаторе Easy Lite, анализаторе газов крови ABL 100, единица измерения – мМ.

ПТГ определяли с использованием радиоиммунологического метода (счетчик гамма-излучения Wizard 2470, IRMA PTH Immunotech, Чехия; единица измерения – пг/мл), иммунохемилюминесцентного анализа (SIEMENS IMMULITE 1000; единица измерения – пмоль/л); при переводе единиц измерения использовали формулу:  $\text{пг/мл} \times 0,105 = \text{пМ}$ .

Исследование функции ОЩЖ проводили методом двухфазной сцинтиграфии с использованием радиофармпрепарата technetium-99m (99mTc) sestamibi (MIBI) и с исследованием в режиме однофотонной эмиссионной компьютерной томографии.

По показаниям с целью топической диагностики выполняли мультиспиральную компьютерную томографию с внутривенным усилением на аппарате SIEMENS Somatom Definition AS (Германия).

УЗИ щитовидной железы и ОЩЖ выполняли на аппарате GE Healthcare Logiq S8.

Осмотр голосовых складок проводили врачи-оториноларингологи ЛОР-отделения ГБУЗ ИОКБ (заведующий – к.м.н. Исхаков Ш. Д.) методом непрямой ларингоскопии.

Оценку функции трансплантата ОЩЖ выполняли по методике упрощенного теста Казановы [78], результат считали положительным при снижении уровня ПТГ в 2 и более раз.

#### ***2.4.2. Методы исследования в эксперименте***

Кровь для исследований забирали при помощи катетера HELMFLON 24 G  $0,7 \times 19$  мм из бедренной вены подопытных крыс. После антисептической обработки

бедрца по внутренней поверхности в вену вводилась игла, и производили забор крови необходимого объема в стерильные пробирки для дальнейших исследований.

Для определения нормальных показателей использовали сыворотку крови б здоровых крыс, содержащихся в одинаковых условиях с экспериментальными.

Радиоиммунологические исследования (ПТГ) выполняли на базе Центра нуклеарной диагностики ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница» (заведующая центром – к.м.н. Андаева Т. М.). Использовали счетчик гамма-излучения Wizard 2470, набор для определения ПТГ IRMA PTH Imunotech (Чехия), единица измерения – пг/мл.

Определение уровня ионизированного кальция проводили с использованием электродного метода на анализаторе электролитов Easy Lite, единица измерения – мМ.

Иммунологические исследования проводили в лабораторном отделе Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (ректор – д.м.н., проф. Шпрах В. В.). Состояние фагоцитарной активности нейтрофилов крови оценивали по следующим параметрам: фагоцитарный индекс (ФИ) – отображает процент нейтрофилов, способных к активному захвату частиц; фагоцитарное число (ФЧ) – среднее число частиц поглощенных одним активным нейтрофилом. В качестве фагоцитируемых частиц использовали суспензию дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*, инактивированных при температуре 80–90 °С [19, 34]. Для оценки кислородзависимой биоцидности нейтрофилов применяли спонтанный нитросиний тетразолий (НСТ) тест. Методика основана на реакции восстановления нитросинего тетразолия до нерастворимой формы – диформозана – и отложения его гранул внутри и на поверхности фагоцитов. Результат выражали в количестве диформозан-положительных нейтрофилов (в % от общего количества подсчитанных клеток). Для определения функционального резерва нейтрофилов использовали индуцированный НСТ-тест (НСТ<sub>инд.</sub>). Индуцированный НСТ-тест проводили с добавлением в среду инкубации активатора фагоцитарной реакции [19, 34].

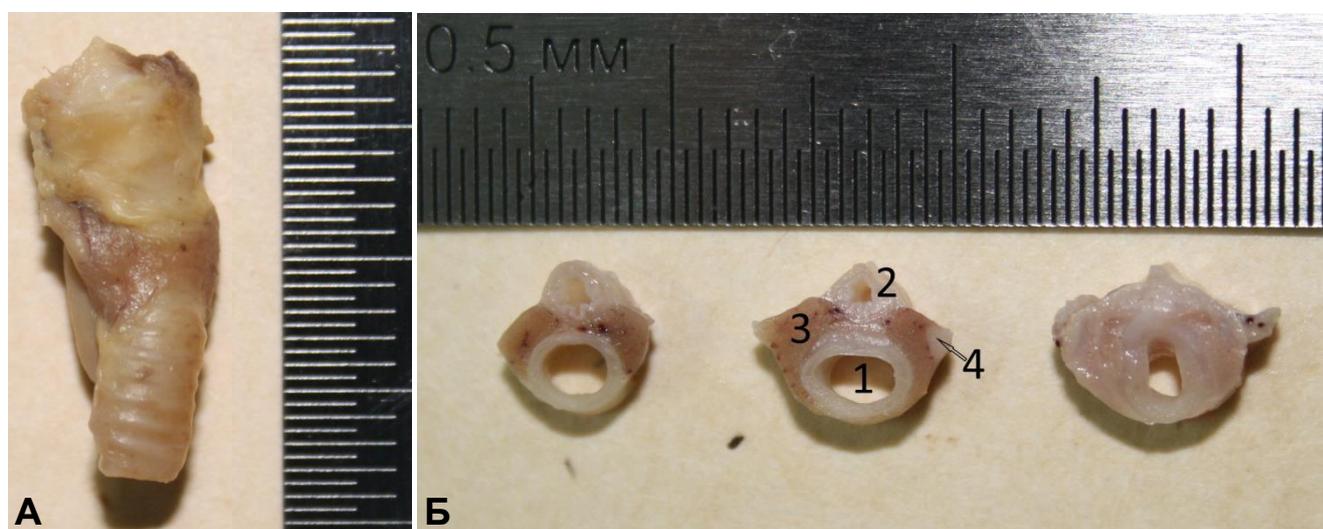
Уровень свободного трийодтиронина (ТЗсв.), свободного тироксина (Т4св.) и тиреотропного гормона (ТТГ) определяли в сыворотке крови крыс методом иммуноферментного анализа (ИФА), единица измерения – пМ.

Определение общего числа лейкоцитов, лейкоцитарной формулы выполняли в лабораторном отделе Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России. Подсчитывали количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу крови по общепринятым методикам [34].

### ***Методы морфологического исследования***

Обзорная световая микроскопия была выполнена на базе лаборатории патоморфологии ФГБУ «НЦРВХ» СО РАМН (заведующая – д.м.н. Шурыгина И. А.) совместно с ведущим научным сотрудником к.м.н. О. А. Гольдбергом.

Для обзорной световой микроскопии материал фиксировали в 10%-м нейтральном растворе формалина (рисунок 11).



**Рисунок 11** – Этапы приготовления гистологического препарата: **А** – фиксированный препарат органокомплекса; **Б** – фронтальные срезы фиксированного препарата органокомплекса: **1** – трахея; **2** – пищевод; **3** – щитовидная железа; **4** – ОЩЖ.

На светооптическом уровне исследовали депарафинированные срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, а также по методу Косса [31]. Препараты исследовали при помощи фотомикроскопа Olympus VX41 (Япония).

## 2.5. Методы статистической обработки

Статистическая обработка результатов произведена с помощью пакета программ Statistica 10 for Windows (лицензия № AXAR402G263414FA-V) [5]. Данные представляли в виде медианы с нижним и верхним квартилями (25-й и 75-й процентиля) [3].

Определение значимости различий полученных данных ( $p$ ) в сравниваемых выборках проведено по критериям Манна – Уитни (U), Вилкоксона (W), Хи-квадрат, F-критерия Кокса, точного метода Фишера, по методу Каплана – Мейера с использованием теста Вилкоксона с поправкой Пето [5, 14, 46]. Значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . В клиническом разделе исследования проводили расчет ЧБНЛ [17, 136].

### **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ**

Клиническая часть исследования выполнена на основании оценки результатов хирургического лечения 34 пациентов с вторичным ГПТ, находящихся на ЗПТ.

#### **3.1. Морфология вторичного гиперпаратиреоза**

На первом этапе нами были оценены результаты патогистологического исследования операционного материала.

Всего на патогистологическое исследование было направлено 134 макропрепаратов, маркированных как ОЩЖ. Результаты гистологического исследования маркированных препаратов представлены в таблице 10.

Из всех макропрепаратов в 128 (95,5 %) случаях была верифицирована ткань ОЩЖ (рисунок 12). 4 макропрепарата были представлены тканью лимфатических узлов, 2 – фрагментами ткани щитовидной железы. В 3 случаях была выявлена неизменная ткань ОЩЖ, в 56 случаях изменения в ОЩЖ были представлены диффузно-очаговой гиперплазией (ДОГ), в 46 случаях – диффузной гиперплазией (ДГ), в 23 случаях – аденомой на фоне гиперплазии ОЩЖ.

При изучении результатов патогистологического исследования ОЩЖ у каждого пациента установлено, что в 9 случаях в 1 или более ОЩЖ выявляли аденому ОЩЖ на фоне гиперплазии, в 20 случаях – ДОГ, у 7 пациентов во всех ОЩЖ выявляли только ДГ ОЩЖ (рисунок 13).

**Таблица 10** – Результаты патогистологического исследования операционного материала

Пациент	Операция	Найдено ОЩЖ на операции	Удалено ОЩЖ на операции	Гистологически подтверждена ОЩЖ	Правая верхняя ОЩЖ	Правая нижняя ОЩЖ	Левая верхняя ОЩЖ	Левая нижняя ОЩЖ	Дополнительная ОЩЖ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1*	ТПТЭ I	4	4	3	ДОГ	л/уз	ДОГ	ДОГ	–
2	СПТЭ	4	3 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	3 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ	–
3*	ТПТЭ I	3	3	3	ДОГ	–	ДОГ	ДОГ	–
4	ТПТЭ I	4	4	4	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ	–
5*	ТПТЭ II	3	4	4	ДОГ	ДОГ	ДОГ	–	ДОГ (тимус)
6	ТПТЭ II	3	3	3	ДГ	ДГ	ДГ	–	–
7	СПТЭ	4	3 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	3 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	ДГ	ДОГ	ДГ	ДГ	–
8*	ТПТЭ I	4	4	4	ДГ	ДГ	ДОГ	ДОГ	–
9*	ТПТЭ I	4	4	4	А	А	А	А	–
10.1*	ТПТЭ I	4	4	4	А	А	А	А	–
10.2*	ПТАЭ	1	1	1	–	–	–	–	А (средостение)
11*	ТПТЭ I	4	4	4	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДГ	–
12	СПТЭ	4	2	2	Н	–	ДГ	–	–
13	ТПТЭ I	4	4	4	ДГ	ДГ	ДОГ	ДОГ	–
14	СПТЭ	3	3	3	ДГ	ДГ	ДГ	–	–
15	СПТЭ	4	3	3	ДОГ	–	ДГ	ДГ	–
16 <sup>#</sup>	ТПТЭ I	4	4	4	ДГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ	–
17	СПТЭ	2	2	2	–	А	–	А	–
18*	ТПТЭ II	4	4	4	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ	–
19	СПТЭ	4	3 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	3 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	ДОГ	ДОГ	ДГ	ДГ	–

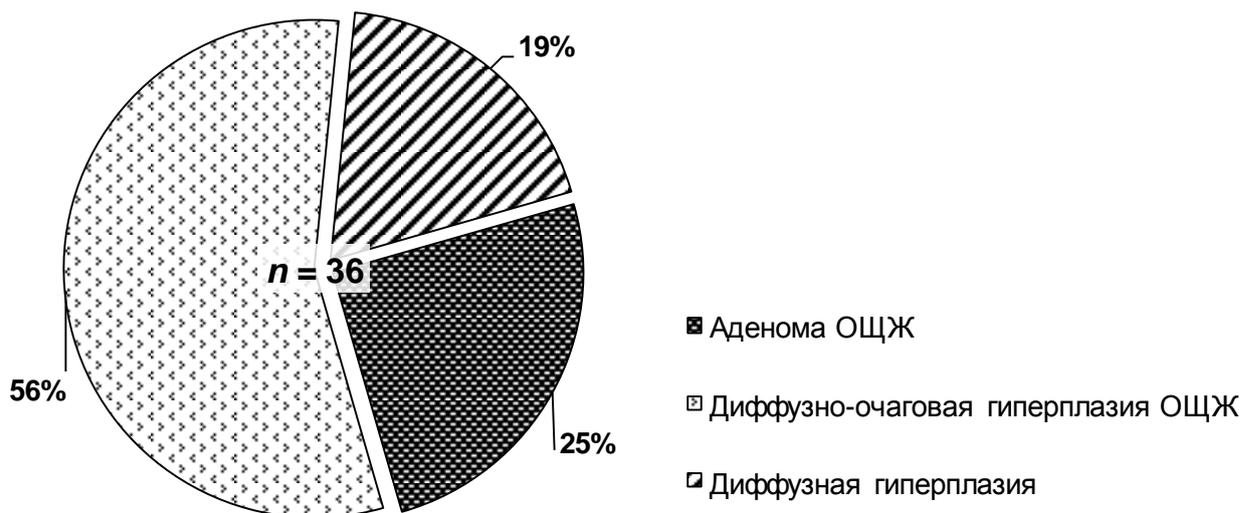
Продолжение таблицы 10

Пациент	Операция	Найдено ОЩЖ на операции	Удалено ОЩЖ на операции	Гистологически подтверждено ОЩЖ	Правая верхняя ОЩЖ	Правая нижняя ОЩЖ	Левая верхняя ОЩЖ	Левая нижняя ОЩЖ	Дополнительная ОЩЖ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
20	СПТЭ	4	3 1/2	3 1/2	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ	–
21*	ТПТЭ II	4	5	3	ЩЖ	ДОГ	ДОГ	ЩЖ	N
22	СПТЭ	3	3	2	–	ДГ	л/уз	A	–
23*	СПТЭ	4	3 1/2	2	ДГ	л/уз	ДОГ	л/уз	–
24	ТПТЭ I	4	4	4	ДГ	ДГ	ДОГ	ДГ	–
25*	СПТЭ	3	3	3	A	A	–	A	–
26*	СПТЭ	3	3	3	A	–	A	A	–
27*	СПТЭ	3	3	3	–	ДГ	N	ДГ	–
28.1*	СПТЭ	4	3	3	A	–	ДГ	ДОГ	–
28.2*	ТПТЭ II	8	8	8	ДГ	A	A	ДГ	Эктопированные 4 – A, A, ДГ, ДГ
29	ТПТЭ I	4	4	4	ДОГ	ДОГ	ДГ	ДГ	–
30	СПТЭ	4	3 1/3	3 1/3	ДГ	ДГ	ДГ	ДГ	–
31	ТПТЭ II	4	4	4	ДГ	ДГ	ДГ	ДГ	–
32	СПТЭ	4	3 2/3	3 2/3	ДГ	ДГ	ДГ	ДГ	–
33	ТПТЭ I	5	5	5	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ
34	ТПТЭ I	4	4	4	ДОГ	ДОГ	ДОГ	ДОГ	–

**Примечание:** \* – гиперкальциемия до операции; # – гипокальциемия до операции; N – ОЩЖ с нормальным строением; л/уз – лимфатический узел.



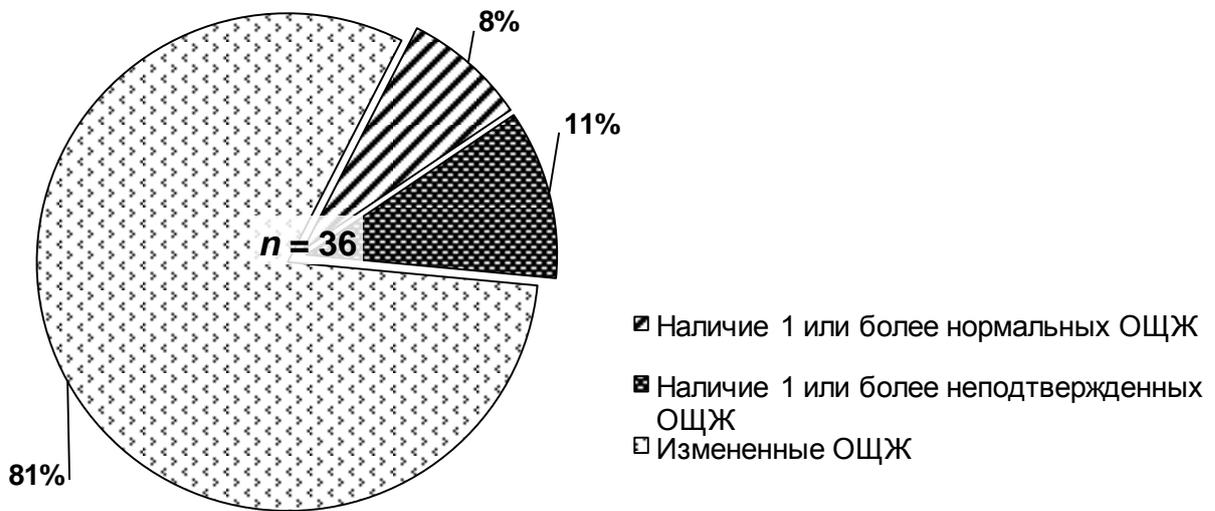
**Рисунок 12** – Структура операционного материала по результатам патогистологического исследования макропрепаратов.



**Рисунок 13** – Распределение пациентов по максимальной тяжести морфологических изменений в ОЩЖ по результатам патогистологического исследования операционного материала.

При исследовании макропрепаратов после операции, маркированных как ОЩЖ, в 3 (2,2 %) препаратах в ОЩЖ отсутствовала гистологическая картина, характерная для гиперпаратиреоза, структура ОЩЖ соответствовала нормальному строению. В 6 (4,5 %) препаратах, маркированных как ОЩЖ, выявлена структура лимфатических узлов или ткани ЩЖ. Распределение пациентов в зависимости от

результата патогистологического исследования макропрепаратов, маркированных как ОЦЖ, представлено на рисунке 14.



**Рисунок 14** – Распределение пациентов по результативности интраоперационной эксплорации ОЦЖ по результатам патогистологического исследования операционного материала.

В таблице 11 представлены результаты анализа соответствия клинических признаков функциональной автономии (по наличию или отсутствию стойкой гиперкальциемии) морфологической картине в ОЦЖ, который проведен на 35 наблюдениях (исключен случай №24 ввиду отсутствия документального подтверждения уровня кальциемии в первичной документации).

**Таблица 11** – Структура клинико-морфологических изменений вторичного ГПТ

Выявление признака	Гиперкальциемия (n = 16)	Нормо- или гипокальциемия (n = 19)	p (Хи-квадрат)
ДГ (+)	6*	13**	0,067
ДОГ (+)	9*	11*	0,922
А (+)	7*	2***	0,025
ДГ (-)	10	6	0,067
ДОГ (-)	7	8	0,922
А (-)	9	17	0,025

**Примечание:** разница с (-) статистически значима при \* –  $p > 0,1$ ; \*\* –  $p < 0,05$ ; \*\*\* –  $p < 0,01$ .

Анализ частоты выявления различных морфологических изменений при наличии и отсутствии гиперкальциемии как признака функциональной автономии свидетельствует о преобладании частоты выявления аденом при гиперкальциемии ( $p = 0,025$ ) и тенденции к снижению частоты выявления изолированной ДГ ( $p = 0,067$ ). Не выявлено статистически значимых различий в частоте выявления аденомы и ее отсутствия при гиперкальциемии, в то время как при отсутствии функциональной автономии, оцененной по уровню кальция, частота выявления аденом оказалась статистически значимо низкой ( $p < 0,0001$ ), а частота выявления изолированной гиперплазии – высокой ( $p = 0,023$ ). ДОГ выявлялась при обоих вариантах клинического проявления ГПТ с подобной частотой ( $p = 0,922$ ).

Выявленные зависимости подтверждают роль аденомы ОЩЖ в развитии функциональной автономии. В то же время статистически незначимое различие в частоте формирования функциональной автономии при ДОГ оставляет место для дискуссии в отношении терминологии третичного ГПТ. Выявление всех возможных морфологических проявлений заболевания при наличии функциональной автономии и без нее подтверждает отсутствие целесообразности выделения термина «третичный гиперпаратиреоз».

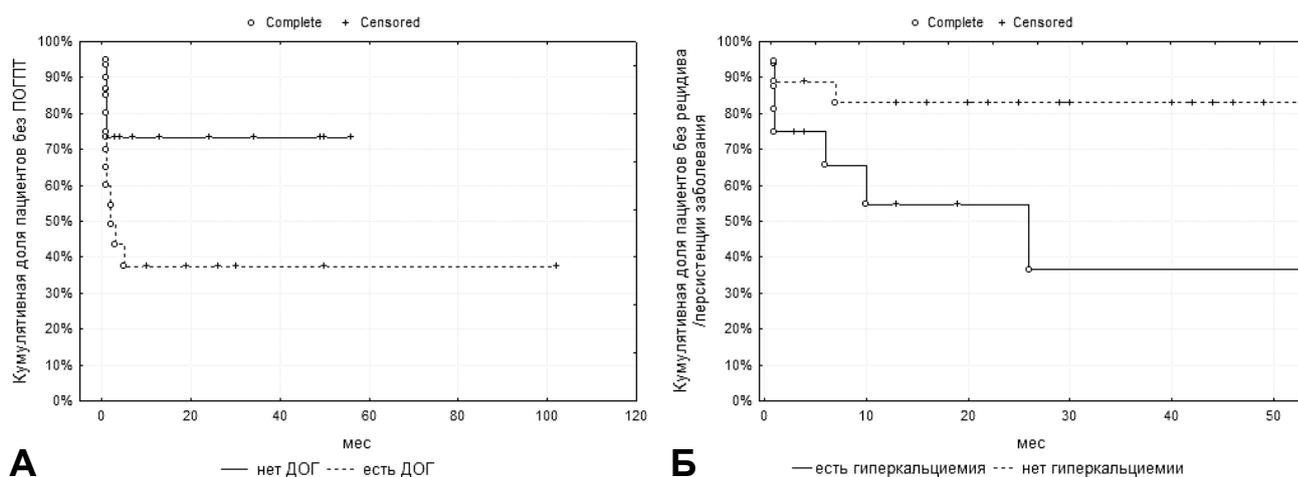
Кроме того, установлено, что гиперплазия при вторичном ГПТ не всегда происходит во всех железах одновременно, часть желез сохраняет нормальное морфологическое строение. В нашем исследовании нормальные ОЩЖ выявлены у 8 % больных. Эффективность эксплорации ОЩЖ, оцененная по количеству удаленных измененных ОЩЖ составила 81%.

Оценка исхода хирургического вмешательства методом Каплана – Мейера не выявила различий в проявляемости персистенции, рецидива заболевания и достижения целевых значений ПГТ в зависимости от наличия или отсутствия ДГ, аденомы ОЩЖ ( $p > 0,1$ ;  $p > 0,5$ ).

В то же время установлено увеличение свободной от развития ПОГПТ выживаемости (рисунок 15А) при выявлении ДОГ ОЩЖ (Cox's F-Test  $p = 0,02$ ).

Зависимость сохранилась при проведении многофакторного анализа с использованием модели пропорциональных интенсивностей Кокса при добавлении в модель вида операции ( $p = 0,053$ ).

Свободная от рецидива выживаемость (рисунок 15Б) оказалась значимо выше при отсутствии гиперкальциемии до операции ( $p = 0,04$ ), зависимость сохранялась при включении в модель вида операции ( $p = 0,02$ ; модель пропорциональных интенсивностей Кокса).



**Рисунок 15** – Свободная от развития ПОГПТ выживаемость в зависимости от наличия или отсутствия ДОГ (А); безрецидивная выживаемость в зависимости от наличия или отсутствия гиперкальциемии до операции (Б).

Формирование функциональной автономии сопровождается снижением безрецидивной выживаемости, морфологические изменения в виде ДОГ являются фактором, благоприятным с точки зрения увеличения свободной от ПОГПТ выживаемости.

Таким образом, для прогнозирования результатов хирургического лечения вне зависимости от объема операции имеет значение выявление у пациентов гиперкальциемии и/или наличия ДОГ ОЩЖ.

Неблагоприятным признаком с точки зрения развития рецидива заболевания можно считать наличие гиперкальциемии на момент операции, а с точки зрения развития ПОГПТ – отсутствие ДОГ ОЩЖ.

Полученные данные позволяют считать, что клинико-морфологические особенности заболевания влияют на исход хирургического вмешательства вне зависимости от его вида. В этой связи попытки дифференцировать объем операции в зависимости от морфологического субстрата или наличия функциональной автономии можно считать бесперспективными, а термин «третичный ГПТ» нецелесообразно выделять при обсуждении хирургической тактики. Несинхронность морфологических изменений в ОЩЖ определяет объективные трудности при интраоперационной эксплорации.

### 3.2. Непосредственные результаты хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза

Послеоперационной летальности не было. Послеоперационные осложнения развились в 16,7 % случаев, структура осложнений представлена в таблице 12.

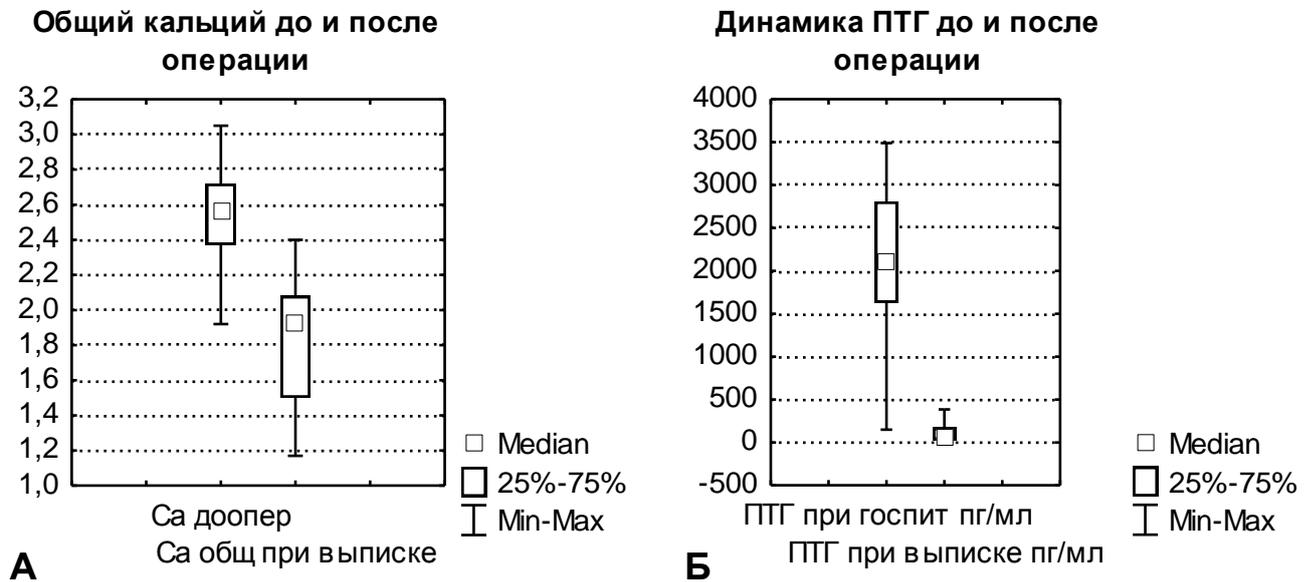
**Таблица 12** – Результаты сравнительного анализа частоты осложнений и вида оперативного вмешательства

Вид операции	Симультанный этап	Вид осложнения	Число осложнений	Число больных без осложнений	$p$ ( $\chi^2$ )
СПТЭ	ТЭ/ГТЭ	–	–	1	> 0,5
ТПТЭ I	ТЭ/ГТЭ	–	–	3	
ТПТЭ II	–	–	–	2	
СПТЭ	–	Транзиторный односторонний компенсированный парез гортани	1	14	> 0,5
ТПТЭ I	–		1	9	
ТПТЭ II	ТЭ/ГТЭ		2	1	
ТПТЭ II + ТЭ + резекция ВГН	–	Стойкий односторонний компенсированный парез гортани	1	–	–
ТПТЭ II + ПТАЭ	–	Медиастинальная гематома	1	–	–
<b>Всего</b>	–	–	<b>6</b>	<b>30</b>	

**Примечание:** ТЭ – тиреоидэктомия; ГТЭ – гемитиреоидэктомия; ПТАЭ – паратиреоидаденомэктомия.

В 1 наблюдении осложнением была медиастинальная гематома после стернотомии и удаления эктопированной аденомы, осложнение было устранено с использованием торакоскопии. Стойкий односторонний компенсированный парез гортани, развившийся в 1 наблюдении, был связан с вынужденной резекцией лапки ВГН при повторной операции на шее. Фактором, значимо повышающим риск развития послеоперационного пареза гортани, было выполнение симультанной гемитиреоидэктомии или тиреоидэктомии ( $p = 0,028$ , критерий Хи-квадрат).

На 1-е сутки послеоперационного периода у 32 пациентов отмечали развитие гипокальциемии, у 2 пациентов – развитие нормокальциемии (пациенты с функционирующим почечным трансплантатом после СПТЭ). Медиана ионизированного кальция крови на 1-е сутки после операции составила 0,81 (0,80; 0,97) ммоль/л. Уровень общего кальция крови при выписке пациентов составил 1,93 (1,50; 2,08) и был значимо ниже по сравнению с уровнем дооперационного кальция ( $p_w < 0,0001$ ) (рисунок 16А). Уровень ПТГ значимо снизился – до 62,0 (31,0–170,0) ( $p_w = 0,046$ ) (рисунок 16Б).



**Рисунок 16** – Динамика уровня общего кальция (А) и ПТГ (Б) крови до и после оперативного лечения.

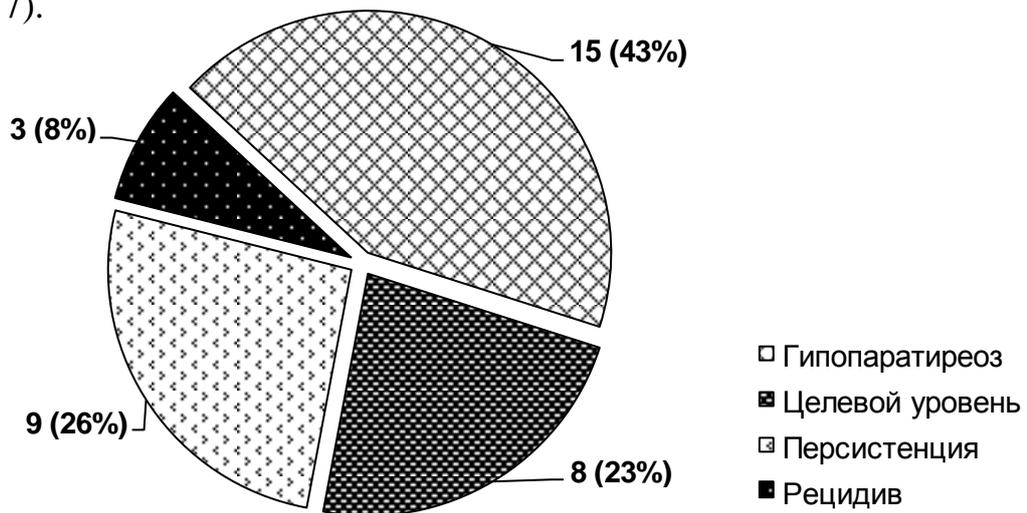
С целью коррекции гипокальциемии назначали препараты кальция (кальция глюконат, кальция карбонат, кальция ацетат), при появлении судорожного син-

дрома медленно вводили раствор глюконата кальция 10%-ого до купирования симптомов. Назначали альфакальцидол максимально до 4 мкг в сутки с коррекцией дозы по уровню ионизированного кальция. К моменту выписки пациентов из стационара на амбулаторное лечение у всех пациентов клинически значимая гипокальциемия была купирована.

### 3.3. Отдаленные результаты хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза

К моменту окончания набора данных под наблюдением оставался 31 пациент. 3 пациента погибли в отдаленные сроки наблюдения: 1 пациентка погибла через 1 месяц после операции без признаков персистенции ГПТ от прогрессирующей сердечно-сосудистой недостаточности после перелома шейки бедра; 1 пациент погиб через 3 года после операции от прогрессирующей кальцифилаксии, сердечно-сосудистых осложнений на фоне персистенции ГПТ (пациент отказался от повторного вмешательства); 1 пациентка – через 2,5 года без признаков рецидива заболевания.

В отдаленном периоде оценены результаты 35 операций у 33-х пациентов (рисунок 17).



**Рисунок 17** – Структура отдаленных результатов хирургического лечения вторичного ГПТ.

### ***3.3.1. Рецидив гиперпаратиреоза***

Рецидив ГПТ выявлен в 3 наблюдениях. В качестве источника рецидива ГПТ у 1 пациентки установлено эктопическое расположение ОЩЖ (в щитовидной железе) в сочетании с распространенным паратиреоматозом. Пациентке выполнено повторное оперативное вмешательство. У 2 пациентов причина рецидива не уточнена.

Частота выявления рецидива заболевания после выполнения СПТЭ составила 12,5 %, ТПТЭ – 5,5 %. Снижение абсолютного риска рецидива заболевания при ТПТЭ составило 6,9, число больных с неблагоприятным исходом лечения (ЧБНЛ) – 14,4.

Сложность повторного хирургического вмешательства при рецидиве на шее подтверждается клиническим примером.

#### ***Клинический пример № 1***

Пациентка Т., 54 года. Поступила в торакальное хирургическое отделение с диагнозом: Рецидивный третичный ГПТ. ХБП 5-й стадии: хронический гломерулонефрит. ПГ с 1998 г. Гиперкальциемия. Системный остеопороз. Артериальная гипертензия 3-й стадии, риск 4. Хроническая сердечная недостаточность 2А степени, 2-й функциональный класс. Хронический холецистит, ремиссия. Полипы желчного пузыря. Компрессионно-ишемическая плексопатия Дюшена – Эрба. Хронический вирусный гепатит С, неактивный.

При поступлении жалобы на боли в костях, кожный зуд, общую слабость, чувство давления в области шеи (при проглатывании).

Анамнестические данные. На ПГ с 1998 г. (16 лет) по поводу терминальной ХПН в исходе хронического гломерулонефрита. Повышение ПТГ диагностировано с 2008 г. В 2010 г. отмечено стойкое повышение уровня ПТГ (2549 пг/мл), кальция крови (2,79 ммоль/л), фосфора (2,59 ммоль/л), слабость, боли в суставах, кожный зуд. В сентябре 2010 г. выполнена СПТЭ. На операции было найдено 5 типично расположенных ОЩЖ. Удалены 4 ОЩЖ (таблица 13).

**Таблица 13** – Характеристика удаленных у пациентки ОЩЖ на первичной операции

<b>ОЩЖ</b>	<b>Макроскопическое описание</b>	<b>Особенности удаления</b>	<b>Гистологическое описание</b>
Верхняя левая	Размер 1 × 1 см	При выделении произошла фрагментация	Ткань ОЩЖ с явлениями гиперплазии
Нижняя левая	Размер 2,5 × 2 см, однородная, эластической консистенции	Удалена с окружающей клетчаткой	Узел бурой ткани 2,5 × 1,5 см, в капсуле, окружен жировой клетчаткой, гистологически ткань ОЩЖ с картиной диффузно-узловой гиперплазии
Добавочная нижняя левая	Макроскопически не определяется	Удалена в составе клетчатки в области нижнего полюса щитовидной железы	Ткани бурого цвета: в представленном материале фрагмент ткани щитовидной железы нормофолликулярного строения; фрагмент жировой клетчатки; фрагмент ткани ОЩЖ с диффузными изменениями в виде гиперплазии ацидофильных, главных светлых и темных клеток, солидно-фолликулярного строения, капсулы не определяется. Диффузная смешанноклеточная гиперплазия ОЩЖ
Верхняя правая	Размеры до 1 × 2 см, эластичная, с кальцинатами	Удалена с капсулой	Фрагмент ткани 1,5 × 1,7 см, на разрезе определяются 2 инкапсулированных образования до 0,5 см, капсула с фиброзом и дистрофическим обызвествлением. 1-е образование представлено мономорфными главными светлыми клетками солидно-альвеолярного строения; 2-е – мономорфными ацидофильными клетками, формирующими альвеолярные структуры. Перифокально определяется ткань ОЩЖ с явлениями атрофии с липоматозом и с очагами смешанноклеточной гиперплазии. Аденомы ОЩЖ железы из ацидофильных и главных светлых клеток, очаговая гиперплазия
Нижняя правая	Визуализирована в типичном месте, размер до 0,5 см, обычная окраска (желто-коричневая), внешне не изменена	Не удалена	–

В раннем послеоперационном периоде уровень ионизированного кальция в крови составил 1,09–1,2 ммоль/л без заместительной терапии. Отмечен регресс клинических симптомов (отсутствие кожного зуда, болей в суставах). Динамика лабораторных показателей и проводимая терапия фосфорно-кальциевых нарушений представлены в таблице 14.

**Таблица 14** – Динамика лабораторных показателей и коррекция фосфорно-кальциевых нарушений у пациентки в послеоперационном периоде

Показатель	Год											
	2010		2011		2012				2013			
	Месяц											
	10	12	01	04	02	04	07	11	12	02	04	06
ПТГ (пг/мл), норма 16–65, целевой диапазон 130–585	182	–	156	218	–	385	–	–	–	735	957	1796
Кальций крови (мм), норма 2,1–2,6	1,7	2,0	2,7	2,3	1,2	2,3	2,0	2,4	2,3	2,4	2,5	2,7
Фосфор крови (мм), норма 0,8–1,48	1,3	1,5	1,4	1,7	1,8	2,2	1,8	1,4	1,4	1,4	1,5	1,7
Лечение												
Фосфат-биндеры	КК	КК	КК	КК	КК	КК	КК	КК	КК	КК	КК, АГ	отм.
Витамин D	–	–	–	–	–	–	–	–	–	АК	АК	отм.

**Примечание:** **КК** – карбонат кальция; **АГ** – альмагель; **АК** – альфакальцидол; **отм.** – отмена препарата.

При повторной госпитализации общее состояние при поступлении удовлетворительное, сознание ясное, положение активное, телосложение правильное. Рост 154 см, вес 49,5 кг. Кожный покров обычной окраски и влажности. Видимые слизистые бледно-розовые, чистые. Тургор кожи в норме. Периферические лимфоузлы не пальпируются. Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС 65 уд./мин, АД 130/80 мм рт. ст. Грудная клетка симметрична, обычной формы. Перкуторно границы лёгких в пределах нормы. Дыхание проводится во все отделы, хрипов нет. Язык чистый, влажный. Живот симметричный, участвует в акте дыхания при пальпации мягкий, безболезненный. Симптомов раздражения брюшины нет. Печень перкуторно по краю реберной дуги, селезёнка не пальпируется. Перисталь-

тика кишечника выслушивается. Стул регулярный. Область почек визуально не изменена. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон. Почки не пальпируются. При осмотре области шеи деформации нет, послеоперационный рубец без признаков воспаления, мягкий, подвижный. Опухоли не пальпируются.

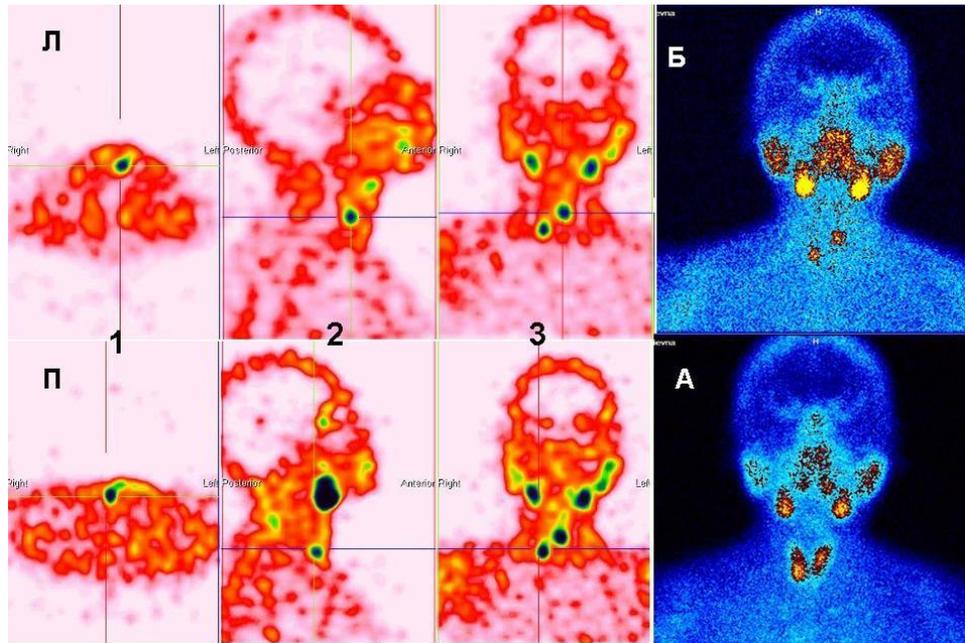
*Результаты дополнительных методов обследования:*

Анализ крови. Кальций общий 2,94 мМ, фосфор 2,33 мМ, щелочная фосфатаза 703 Ед/л (42–121); ПТГ 2350 пг/мл.

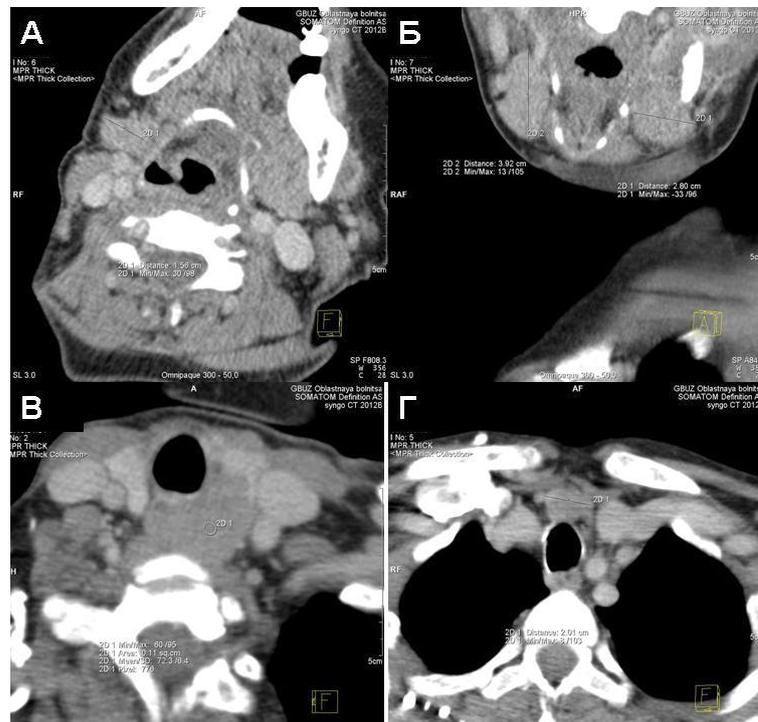
Транскutánная ультрасонография шеи. Щитовидная железа расположена обычно. Перешеек 3,4 мм, правая доля 15 × 16 × 50 мм, объем 5,7 см<sup>3</sup>. Левая доля 24 × 20 × 48 мм, объем 11 см<sup>3</sup>. Общий объем 16,7 см<sup>3</sup>. Контуры ровные, эхогенность нормальная. Очаговые образования: в левой доле определяется несколько образований пониженной эхогенности неоднородной структуры от 8 × 7 × 7 мм до 18 × 22 × 32 мм по задней поверхности. При исследовании в режиме цветного дуплексного картирования кровотока не повышен. В нижней трети шеи определяется бугристое неоднородное образование пониженной эхогенности 20 × 30 мм с хорошо выраженным кровотоком, вдоль сосудисто-нервного пучка – аналогичное образование 10 × 20 мм. Выполнена тонкоигольная биопсия: фолликулярные структуры из клеток с явлениями умеренного полиморфизма, с компактными ядрами, в части ядер подчеркнутые ядрышки. Заключение: больше данных за рак ОЩЖ, фолликулярную опухоль щитовидной железы.

Сцинтиграфия ОЩЖ с technetium-99m (99mTc) sestamibi (MIBI): сцинтиграфические признаки увеличения функциональной активности правой и левой ОЩЖ (рисунок 18).

Результаты мультиспиральной компьютерной томографии представлены на рисунке 19. При нативном исследовании над верхним полюсом щитовидной железы слева определяется гиперденсивное (77–80 ед. Н) округлой формы образование размером до 23 мм, интимно прилежащее к верхнему полюсу, жировой прослойки между образованием и щитовидной железой не определяется (рисунок 19А).



**Рисунок 18** – Двухфазная сцинтиграфия с  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibic: А – тиреоидная фаза; Б – паратиреоидная фаза: очаги повышенного накопления в проекции нижних ОЦЖ. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография в паратиреоидную фазу (Л – левая ОЦЖ; П – правая ОЦЖ): 1 – поперечная плоскость; 2 – сагитальная плоскость; 3 – фронтальная плоскость.



**Рисунок 19** – Высокорастворимая мультиспиральная компьютерная томография шеи и средостения с внутривенным усилением препаратом омнипак 300 – 50,0 с первичной коллимацией  $64 \times 0,75$  мм, толщиной реформированных срезов 1,0–5,0 мм и последующим трехмерным анализом изображений в MPR- и VRT-реконструкциях.

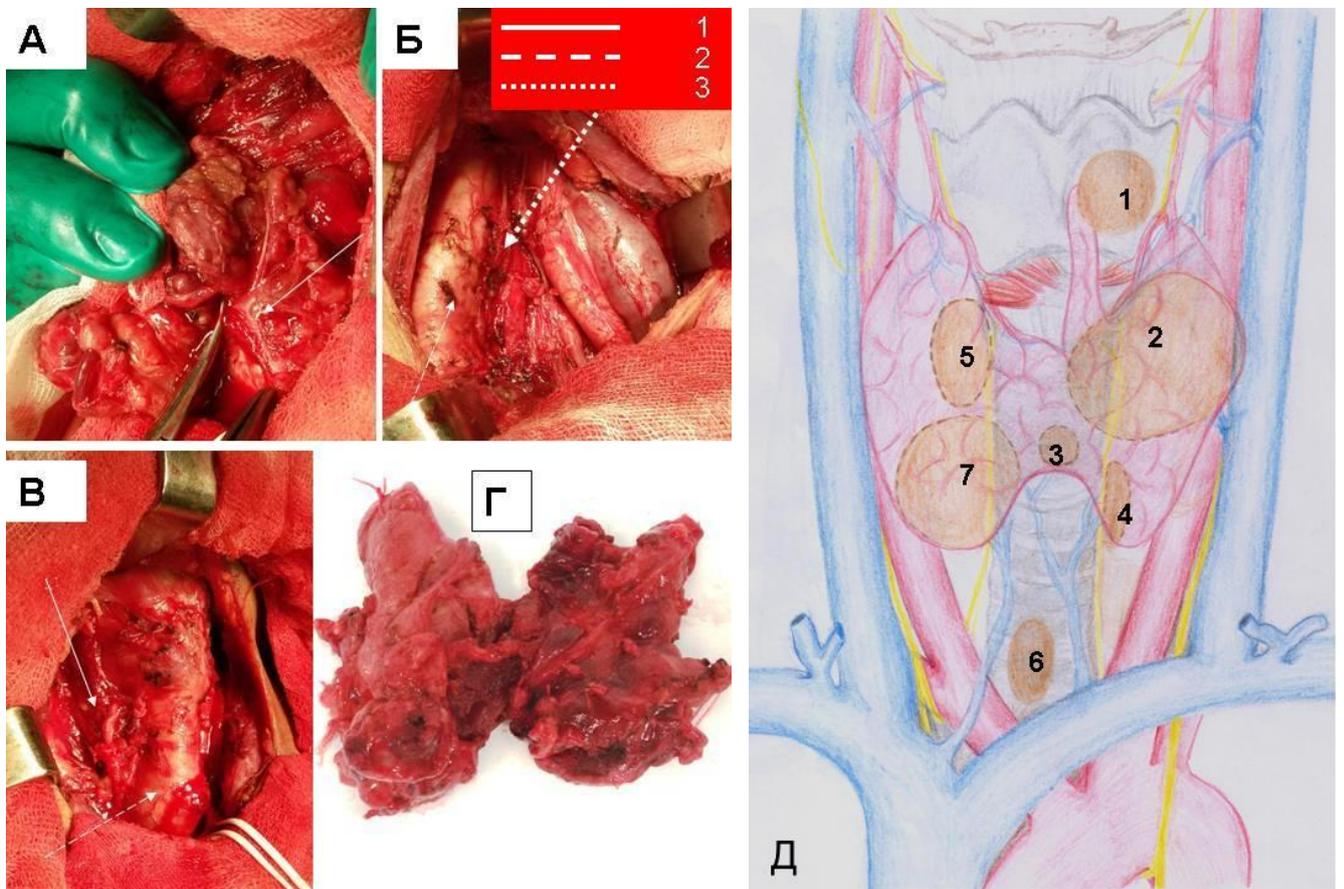
В подчелюстных областях с обеих сторон визуализируются аналогичной плотности образования округлой формы с неровными контурами размером до  $39 \times 16$  мм справа и до  $28 \times 26$  мм слева (рисунок 19Б). У нижнего полюса щитовидной железы слева, распространяясь медиально, определяется округлой формы с неровными контурами образование размером до  $33 \times 29$  мм. Образование интимно прилежит к нижнему полюсу щитовидной железы слева и к трахее и пищеводу (рисунок 19В). В переднем средостении ниже яремной вырезки визуализируется округлой формы образование размером  $20 \times 18$  мм. Все описанные образования не накапливают контраст после внутривенного усиления (рисунок 19Г), контуры их становятся более отчетливыми на фоне накопившей контраст паренхимы щитовидной железы и сосудов. Заключение: множественные объемные образования шеи и переднего средостения с признаками инвазии в щитовидную железу слева.

Непрямая ларингоскопия: подвижность голосовых складок сохранена.

Операция: ТПТЭ (правая нижняя и левая верхняя), тиреоидэктомия с резекцией лапки ВГН слева. Двухсторонняя диссекция центральной клетчатки шеи, левосторонняя диссекция боковой клетчатки шеи.

После обработки операционного поля под эндотрахеальным наркозом выполнен воротникообразный разрез на шее по Кохеру с иссечением послеоперационного рубца. Из плотных рубцовых сращений выделен левый сосудисто-нервный пучок шеи, правая общая сонная артерия. При ревизии определяется плотная бугристая ткань, исходящая из клетчатки верхнего средостения, сращенная с левой и правой долями щитовидной железы, перешейком, передней стенкой трахеи, передне-левой стенкой пищеводно-глоточного перехода, передними мышцами шеи. Правый и левый ВГН выделены, левый взят на держалку. Опухоль мобилизована одним блоком с медиастинальной клетчаткой (с верхними рогами тимуса), левой боковой клетчаткой шеи, центральной клетчаткой шеи с обеих сторон, лимфатическими узлами вдоль левого сосудисто-нервного пучка шеи, верхними глоточными, претрахеальными лимфоузлами. Мобилизованы верхние полюсы щитовидной железы. Препарат удален одним

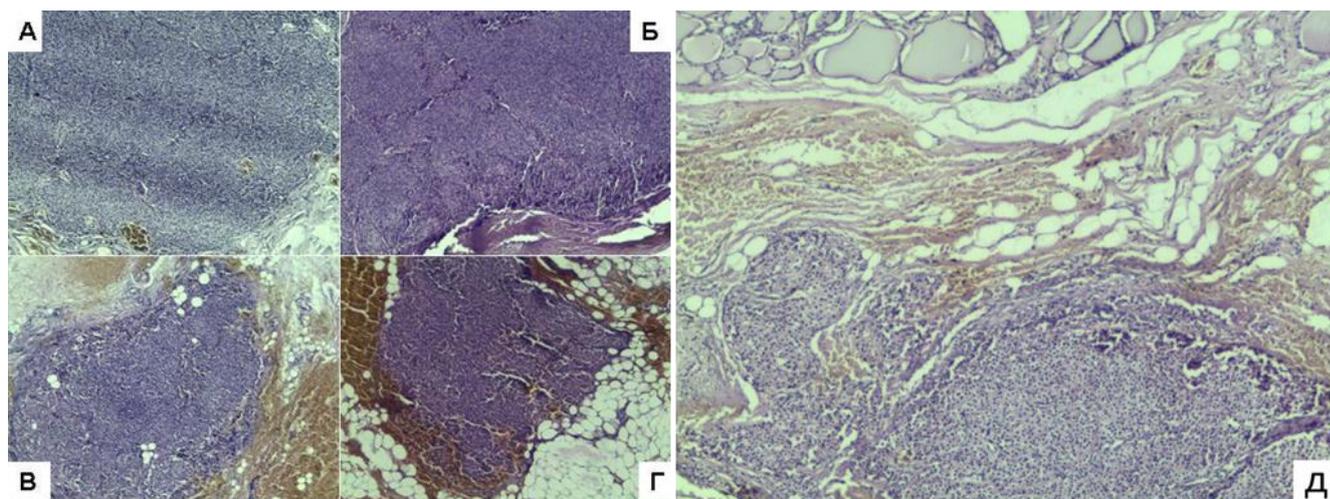
блоком с фрагментом сращенных с щитовидной железой передних мышц шеи (рисунок 20Г), слева оставлен фрагмент плотной ткани в зоне разветвления левого ВГН и пищеводно-глоточного перехода (рисунок 20А). Этот фрагмент иссечен отдельно, с участком сращенной с опухолью стенки пищевода (на уровне глоточно-пищеводного перехода) и гортанной ветвью лапки ВГН. Стенка пищеводно-глоточного перехода ушита двухрядным швом (рисунок 20Б). Правый ВГН выделен и сохранен на всем протяжении (рисунок 20В). Операция закончена дренированием и ушиванием раны. По результатам гистологического исследования операционного материала в ходе операции удалено 7 ОЦЖ (рисунок 20Д; таблица 15).



**Рисунок 20** – Операционное фото: **1** – возвратные гортанные нервы (**А** – левый; **В** – правый); **2** – трахея; **3** – пищеводно-глоточный переход (**Б**); **Г** – удаленный препарат; **Д** – схема расположения ОЦЖ, удаленных при повторной (2014 г.) операции.

**Таблица 15** – Характеристика удаленных ОЩЖ при вторичной операции

<b>ОЩЖ</b>	<b>Макроскопическое описание</b>	<b>Гистологическое описание</b>
Эктопированная ОЩЖ (рисунок 20Д (1))	Фрагмент грудино-подъязычной мышцы слева с плотным узлом до 1 см	Фрагмент мышцы грудино-подъязычной слева с наличием аденомы ОЩЖ из ацидофильных клеток (рисунок 21А)
Верхняя левая ОЩЖ (рисунок 20Д (2))	Участок опухоли в зоне гортанной ветви левого ВГН и глоточно-пищеводного перехода (1,5 см)	Ткань ОЩЖ с наличием аденомы, состоящей из ацидофильных клеток (рисунок 21Б)
Эктопированная ОЩЖ (между перешейком щитовидной железы и передней стенкой трахеи) (рисунок 20Д (3))	Участок плотной ткани 0,5 см	Фрагмент жировой ткани с фиброзными прослойками и фрагментом ткани ОЩЖ железы с выраженными артефициальными изменениями
Добавочная ОЩЖ слева (левая трахеопищеводная клетчатка) (рисунок 20Д (4))	Участок трахеопищеводной клетчатки слева, узлы до 0,5 см	Клетчатка, фрагмент ткани ОЩЖ железы с картиной ДГ
Добавочная ОЩЖ справа (рисунок 20Д (5))	Участок плотной ткани в зоне лапки правого ВГН 1 см	Ткань ОЩЖ в виде 3 фрагментов с явлениями ДГ (рисунок 21В)
Эктопированная ОЩЖ в клетчатке верхнего средостения (рисунок 20Д (6))	Фрагмент претрахеальной клетчатки, узлы до 0,5 см	Клетчатка с тканью ОЩЖ с кровоизлиянием и явлениями ДГ (рисунок 21Г)
Эктопированные (в щитовидную железу) левая верхняя (рисунок 20Д (2)) и нижняя правая (рисунок 20Д (7)) ОЩЖ	Опухоль в одном блоке: щитовидная железа, верхняя левая (2 см) и правая нижняя (2,5 см) ОЩЖ	Интратиреоидный узел в правой доле представлен тканью аденомы ОЩЖ железы из ацидофильных клеток; интратиреоидный узел левой доли имеет строение аденомы ОЩЖ железы из ацидофильных клеток (рисунок 21Д)



**Рисунок 21** – Микрофотография операционного материала. Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 40$ .

В послеоперационном периоде определялась клинически значимая гипокальциемия. Проводилась заместительная терапия: левотироксин 75 мкг/сут, альфакальцидол 4 мкг/сут, глюконат кальция 3 г/сут. Антибактериальная терапия: амоксиклав, метронидазол в течение 5 дней. Уровень ПТГ на 5-е сутки после операции составил 31 пг/мл. Рентгеноскопия пищевода на 6-е сутки после операции: акт глотания не нарушен, глотка и все отделы пищевода свободно проходимы, просвет не изменен, стенки пищевода с ровными контурами, затеков контраста за пределы пищевода не выявляется. Непрямая ларингоскопия на 7-е сутки после операции: левосторонний компенсированный парез гортани (фонация сохранена, дисфагии нет, дыхание свободное). Швы сняты на 10-е сутки. Заживление послеоперационной раны первичным натяжением. Больная выписана в удовлетворительном состоянии, гипокальциемия медикаментозно компенсирована.

Через 1,5 месяца после операции состояние удовлетворительное, жалоб не предъявляет. В анализе крови: ПТГ – 125 пг/мл, кальций общий – 1,97 мМ, фосфор – 1,03 мМ. Больная периодически забывала принимать альфакальцидол. Через 2,5 месяца после операции после коррекции консервативной терапии (3 мкг альфакальцидола, 1000 мкг кальция карбоната в сутки): ПТГ – 113 пг/мл, кальций общий – 2,32 мМ, фосфор – 1,59 мМ.

Представленный анализ клинического случая свидетельствует о необходимости удаления всех возможных локализаций ОЦЖ, доступных из шейного доступа, при первичном хирургическом вмешательстве. Редкие эктопии остаются возможным источником рецидива заболевания и должны учитываться при обследовании пациента с рецидивным вторичным ГПТ.

### ***3.3.2. Персистенция гиперпаратиреоза***

Персистенция ГПТ выявлена в 9 наблюдениях: в 5 случаях персистенция установлена при СПТЭ, в 2 – при ТПТЭ I, в 2 – при ТПТЭ II. Источником персистенции ГПТ после ТПТЭ II в 1 случае оказался трансплантат на предплечье, после ТПТЭ I: в 1 случае – добавочная нижняя левая ОЦЖ, в 1 случае – эктопированная в аорто-легочное окно аденома ОЦЖ.

Случай редкой эктопии ОЦЖ подтверждает возможность внешней локализации источника персистенции ГПТ.

### ***Клинический пример № 2***

Пациентка Г., 66 лет, поступила в хирургическое торакальное отделение с диагнозом: Персистирующий третичный ГПТ. Аденома эктопированной в переднее средостение добавочной нижней ОЦЖ слева. ХБП 5Д (ПАПД с 07.10.08 г.). Симптоматическая артериальная гипертензия. Нефрогенная анемия сочетанного генеза (постгеморрагическая + нефрогенная), средней степени тяжести. Уремическая гастропатия. Уремическая полинейропатия, декомпенсация. ИБС. Нестабильная стенокардия по шкале GRACE 150 баллов (высокий риск). ПИКС неясной давности (по ЭКГ). Пароксизмальное нарушение ритма в анамнезе. ХСН 2А, ФК II. Оклюзия ПКА в среднем сегменте, массивный кальциноз коронарных артерий. Посттравматический правосторонний гонартроз III степени. ФН 2. Соматоформные расстройства на фоне соматического неблагополучия. Сенестопатический синдром. Клаустрофобия. Дисциркуляторная энцефалопатия. Хронический вирусный гепатит С, не активный.

При поступлении жалобы на выраженные боли в костях (не купируются назначением анальгетиков), кожный зуд, периодические судорожные приступы, общую слабость, нарушение сна, плаксивость, чувство беспокойства.

Анамнестические данные. Заболеванием почек страдает с 13 лет, ежегодно госпитализировалась и лечилась по месту жительства. В 1995 г. (в возрасте 47 лет) выявлена гиперазотемия. С этого же года на инвалидности. В августе 2008 г. констатирована терминальная хроническая почечная недостаточность. Учитывая удалённость проживания пациентки, методом ЗПТ выбран ПАПД. В 2011 г. диагностирован рефрактерный к проводимой терапии перитонит. Пациентка переведена на гемодиализ, возврат на ПАПД в 2012 г. В течение последующих 9 месяцев отмечалось повышение уровня ПТГ до 3000 пг/мл, гиперкальциемия, болевой синдром в костях. В октябре 2012 г. выполнена цервикотомия, тотальная ПТЭ с АТ фрагмента ОЩЖ в двуглавую мышцу плеча слева. Во время операции удалено 4 ОЩЖ, гистологически выявлены аденомы на фоне ДГ ОЩЖ. После операции отмечено уменьшение клинических проявлений ГПТ (уменьшились боли в костях, снизился уровень кальция крови). В 2013 г. фосфорно-кальциевый обмен контролировался диетой, приемом фосфатбиндеров (осварен), активных форм витамина D (альфакальцидол) с эпизодическими отменами по показаниям. Биохимические показатели крови за этот период времени: фосфор – 1,5–2,01 мМ; кальций общий – 2,17–2,48 мМ, уровень ПТГ крови в динамике – 411 – 161 – 663 – 930 – 785 пг/мл. Учитывая персистенцию ГПТ, выраженный остеопороз, начата терапия цинакалцетом. Уровень общего кальция крови на фоне начальной терапии цинакалцетом снизился до 1,93 мМ, сохранялся высокий уровень ПТГ (1049–949,2 пг/мл), фосфора. С мая 2014 г. цинакалцет не принимала в связи с его отсутствием. К августу 2014 г. уровень ПТГ увеличился до 2095 пг/мл, появился выраженный болевой синдром в костях.

При повторной госпитализации: общее состояние удовлетворительное, сознание ясное, положение активное. Кожный покров сухой, бледный. Видимые слизистые бледно-розовые, чистые. Тургор кожи в норме. Периферические лимфоузлы не пальпируются. Отеки нижних конечностей до уровня коленных суста-

вов. Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС = 65 ударов в минуту, АД = 120/80 мм рт. ст. Грудная клетка деформирована за счет выпуклой деформации грудины. Перкуторно границы лёгких в пределах нормы. При аускультации дыхание проводится во все отделы, хрипов нет. Язык чистый, влажный. Живот симметричный, участвует в акте дыхания, в мезогастрии перитонеальный катетер, место выхода катетера без признаков воспаления, при пальпации мягкий, безболезненный. Симптомов раздражения брюшины нет. Печень по краю реберной дуги, селезёнка не пальпируется. Перистальтика кишечника выслушивается. Стул регулярный. Область почек визуально не изменена. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон.

*Результаты дополнительных методов обследования:*

Анализ крови: ионизированный кальций – 1,51–1,19 мМ; общий кальций – 2,48 мМ; фосфор – 2,14 мМ.

Транскutánная ультрасонография шеи. Расположение щитовидной железы обычное. Объем общий – 6,7 см<sup>3</sup>. Регионарные лимфоузлы не увеличены. Умеренные диффузные изменения в щитовидной железе.

Эхокардиография. Дилатация левого предсердия. Симметричная гипертрофия миокарда левого желудочка. Дегенеративные изменения и кальциноз аорты, аортального и митрального клапанов.

ЭКГ. Синусовый ритм, частота сердечных сокращений – 65 ударов в минуту, нормальное положение электрической оси сердца. Гипертрофия миокарда левого желудочка с изменением конечной части желудочкового комплекса. Инфаркт без Q-передне-перегородочной области неясной давности.

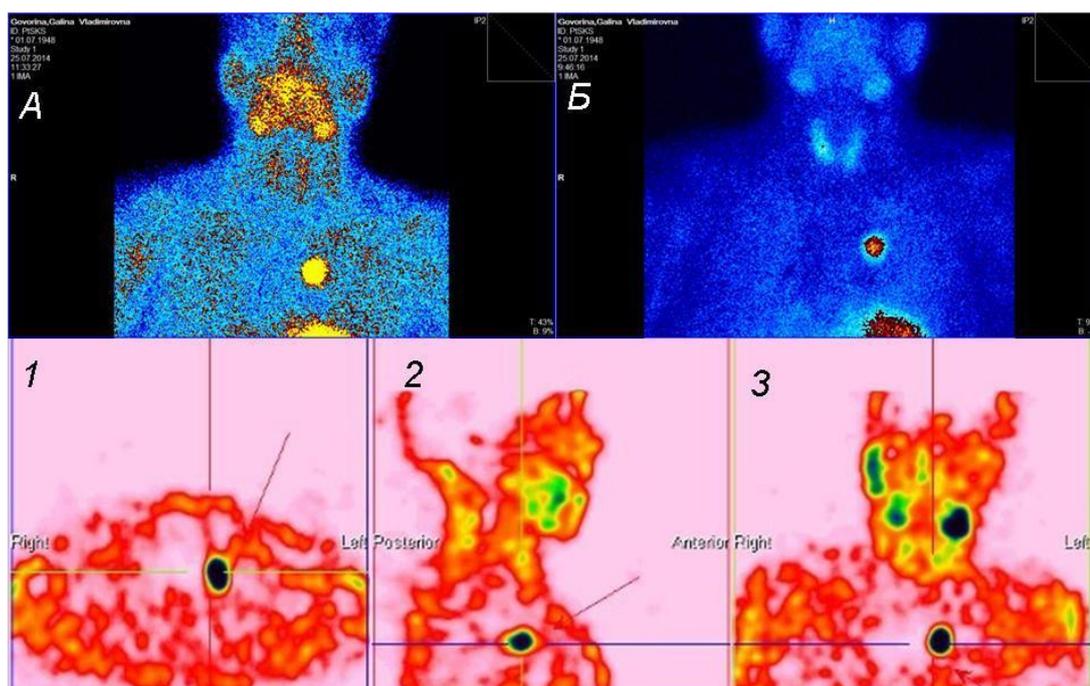
Коронарная ангиография. Сформированные межсосудистые коллатерали из левой коронарной артерии в правую коронарную артерию. Попытки реканализации правой коронарной артерии с использованием проводников различной жесткости безуспешны.

Кардиолог. Ишемическая болезнь сердца. Нестабильная стенокардия по шкале GRACE 150 баллов (высокий риск). Постинфарктный кардиосклероз неясной давности (по ЭКГ). Пароксизмальное нарушение ритма в анамнезе. ХСН 2А,

ФК II. Окклюзия правой коронарной артерии в среднем сегменте, массивный кальциноз коронарных артерий.

Психотерапевт. Соматоформные расстройства на фоне соматического неблагополучия. Клаустрофобия. Сенестопатический синдром.

Сцинтиграфия ОЩЖ с technetium-99m (99mTc) sestamibi (MIBI). Сцинтиграфические признаки выраженного увеличения функциональной активности атипично расположенной ОЩЖ (рисунок 22).



**Рисунок 22** – Двухфазная сцинтиграфия с 99mTc-sestamibi: **А** – тиреоидная фаза; **Б** – паратиреоидная фаза: очаг повышенного накопления в переднем верхнем средостении. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография в паратиреоидную фазу: **1** – поперечная; **2** – саггитальная; **3** – фронтальная проекции.

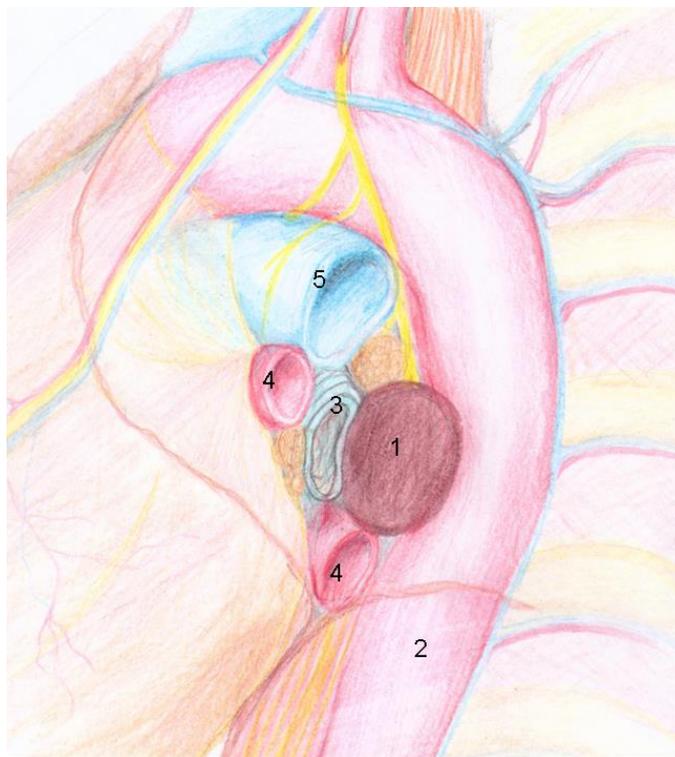
Компьютерная томография грудной клетки не выполнена из-за клаустрофобии и отказа пациентки от исследования.

Операция: Цервикотомия. Ревизия переднего и заднего средостения. Стернотомия. Тимэктомия. Удаление эктопированной в средостение паратиромы.

После обработки операционного поля под эндотрахеальным наркозом выполнен воротникообразный разрез на шее по Кохеру с иссечением послеоперационного рубца. После выделения нижних полюсов левой и правой долей щитовид-

ной железы выделены и взяты на держалки правый и левый ВГН. Проведена ревизия доступных клетчаточных пространств переднего и заднего средостения, патологических образований не выявлено. Выполнена продольная стернотомия. Иссечена ретростерральная клетчатка – патологических образований не выявлено. Иссечена парааортальная клетчатка в зоне отхождения левой подключичной, левой сонной артерий и плечеголового ствола.

После отведения дуги аорты вправо и краниально (с сохранением целостности левого ВГН), легочного ствола каудально, ревизия продолжена глубоко в переднем средостении до нисходящего отдела аорты. На передне-медиальной поверхности нисходящей аорты выявлено опухолевидное образование 4 см в диаметре, эластической консистенции. К опухоли прилежат левый главный бронх и легочная вена, передне-правая стенка нисходящей аорты (рисунок 23). Опухоль удалена, питающая артерия, исходящая из корня левого легкого (3 мм в диаметре), перевязана. Гемостаз. Дренирование средостения из отдельного разреза. Послойные швы на рану.



**Рисунок 23** – Схема расположения опухоли: **1** – опухоль; **2** – нисходящая аорта; **3** – левый главный бронх; **4** – левые легочные вены; **5** – легочная артерия.

По результатам патогистологического исследования операционного материала опухоль аорто-легочной локализации была представлена аденомой ОЦЖ, мнорморфноклеточной эозинофильноклеточной, солидной, в капсуле; в удаленном тимусе, клетчатке шеи и средостении дополнительных ОЦЖ не найдено.

Послеоперационный период осложнился развитием медиастинальной гематомы, двухсторонней пневмонией. Гематома дренирована на 5-е сутки после операции с использованием видеоассистированной миниторакотомии по 6-му межреберью слева. Эвакуировано 200 г сгустков, продолжающегося кровотечения не отмечено. Проводилась искусственная вентиляция легких, антибактериальная, симптоматическая терапия, перитонеальный диализ. Заместительная терапия препаратами кальция (2–4 г в сутки), альфакальцидолом (4 мкг в сутки). На спонтанное дыхание больная переведена на 10-е сутки послеоперационного периода. Швы сняты на 14-е сутки, заживление послеоперационной раны первичным натяжением.

Лабораторные показатели крови после операции: ПТГ на 7-е сутки – 33 пг/мл, ионизированный кальций – 1,1 мМ (на фоне заместительной терапии); фосфор – 0,82 мМ; гемоглобин – 82 г/л; эритроциты –  $3,0 \times 10^{12}/л$ .

Пациентка выписана на амбулаторное лечение на 21-е сутки после паратиромэктомии в удовлетворительном состоянии с улучшением, после нормализации электролитных нарушений. Отмечено отсутствие кожного зуда, уменьшение болей в костях. Через 1,5 месяца после операции ПТГ – 10 пг/мл, через 6 месяцев после операции – 100 пг/мл.

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует необходимость точной топической диагностики при выявлении внутригрудной локализации паратиреоаденомы. Выполнение стернотомии позволяет провести исчерпывающую эксплорацию средостения и удалить эктопированную опухоль даже при отсутствии точных данных о ее локализации. Использование этого доступа у больных с вторичным ГПТ является вынужденным и сопровождается риском развития геморрагических осложнений.

Возможной причиной персистенции заболевания остается зона трансплантации ОЦЖ, что подтверждается клиническим наблюдением.

### *Клинический пример № 3*

Пациент Ф., 35 лет. Диагноз: Вторичный ГПТ (гиперплазия ОЦЖ). ХБП 5Д, неуточненная, ПГ с 25.03.2010 г. Гиперпаратиреоидная остеодистрофия с выраженной деформацией скелета, патологическими переломами в анамнезе. Симптоматическая артериальная гипертензия. Анемия хронических заболеваний, легкой степени тяжести. Хронический гепатит С (ПЦР РНК HCV + ВН  $7,5 \times 10^4$  копий/мл от 17.10.2014 г.), минимальной степени активности (по биохимическим показателям). Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь 0-й ст., недостаточность кардии, дистальный рефлюкс эзофагит, эрозии желудка, рубцовая деформация двенадцатиперстной кишки, хронический дуоденит вследствие вирусного гепатита С. Диффузный зоб 0-й степени по ВОЗ. Эутиреоз.

Жалобы при поступлении: на боли в костях, повышенную ломкость костей (при резких движениях, минимальном давлении).

Анамнестические данные. В марте 2010 г. зарегистрировано желудочно-кишечное кровотечение, был госпитализирован в отделение портальной гипертензии ГБУЗ ИОКБ, диагностированы синдром Мэллори – Вейса, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, осложненная кровотечением, постгеморрагическая анемия легкой степени тяжести. Выполнена эндоваскулярная окклюзия гастродуоденальной артерии. При обследовании выявлена: гиперазотемия (мочевина – 46,6 мМ (2,5–9,0), креатинин – 0,72 мМ (0,05–0,14)), переведен в нефрологическое отделение ГБУЗ «ИОКБ», с 25.03.2010 г. назначен ПГ. Повышение ПТГ, фосфора крови отмечает с 2011 г. Динамика лабораторных показателей: 03.12.2013 г. – ПТГ 1625 пг/мл, кальций 2,45 мМ, фосфор 1,83 мМ, СахР 4,4; 10.06.2014 г. – ПТГ 2798 пг/мл, кальций 2,52 мМ, фосфор 2,36 мМ, СахР 5,9. В 2011 г. установлен диагноз вторичного ГПТ. Пациент принимает кальция карбонат 3 г в сутки. В декабре 2013 г. была выполнена сцинтиграфия ОЦЖ: сцинтиграфические признаки увеличения функциональной активности верхней и нижней ОЦЖ справа. С начала лета 2014 г. пациент не принимает препараты кальция из-за нехватки денежных средств. В декабре 2013 г. перелом надколенников обеих нижних конечностей. В январе 2014 г. перелом левой ключицы и XI ребра. Остеоденситометрия не проводилась.

16.10.2014 г. был госпитализирован в эндокринологическое отделение ГБУЗ ИОКБ для дообследования, подготовки к оперативному лечению.

*Результаты дополнительных методов обследования:*

Анализ крови: щелочная фосфатаза – 748 МЕ/л (42–121), кальций – 2,52 мМ, фосфор – 2,05 мМ. ПТГ – 2045 пг/мл, витамин D3 (холекальциферол) – 24,74 нг/мл ( $\geq 30$ ).

ЭКГ: синусовый ритм с частотой 80 ударов в минуту, резкое отклонение электрической оси сердца влево. Блокада передней ветви левой ножки пучка Гиса.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: диффузные изменения в поджелудочной железе, умеренные диффузные изменения в печени. Гепатомегалия. Диффузно-дегенеративные изменения в почках.

Ультразвуковое исследование щитовидной железы: расположение обычное, перешеек 5,4 мм, правая доля  $17 \times 22 \times 56$  мм, левая доля  $19 \times 24 \times 54$  мм. Объем общий  $22 \text{ см}^3$ , правая доля  $10 \text{ см}^3$ , левая доля  $11,8 \text{ см}^3$ , контуры ровные, четкие, эхогенность нормальная, структура диффузно неоднородная. Очаговые изменения: по нижней поверхности правой доли образование пониженной эхогенности, неоднородной структуры  $14 \times 8 \times 20$  мм, рядом аналогичное  $14 \times 6 \times 17$  мм, по нижней поверхности левой доли аналогичное образование  $9 \times 10 \times 11$  мм. При ЦДК кровоток не повышен, лимфатические узлы не увеличены. Заключение: диффузное увеличение щитовидной железы. Узлы в обеих долях (дифференцировать с ОЩЖ).

Фиброгастродуоденоскопия: дистальный рефлюкс-эзофагит. Функциональная недостаточность кардии. Эрозивный гастрит. Ульцерогенная рубцовая деформация двенадцатиперстной кишки. Дуоденит. Цитология: гиперплазия покровно-ямочного эпителия. *Hb. pylori* – значительное количество.

Сцинтиграфия ОЩЖ: сцинтиграфические признаки увеличения функциональной активности верхней и нижней ОЩЖ справа, умеренно повышенной активности верхней левой ОЩЖ.

Консультация инфекциониста. Диагноз: хронический гепатит С (ПЦР РНК HCV+, ВН  $7,5 \times 10^4$  копий/мл от 17.10.2014 г.), минимальной степени активности (по биохимическим показателям).

*Anamnesis vitae.* Рос и развивался соответственно полу и возрасту. Туберкулёз, венерические заболевания, ВИЧ-инфекцию отрицает. Аллергоанамнез не оглашен. Операции: наложение артериовенозной фистулы в 2010, 2012, 2013 гг. Тромбэктомия из артериовенозной фистулы в 2013 г.

*Status praesens objectivus.* Рост 168 см, вес 57,5 кг. Общее состояние удовлетворительное, сознание ясное, положение активное. Отмечается выраженная деформация скелета: килевидная грудная клетка, кифосколиоз грудного отдела позвоночника, асимметрия надостной зоны (правое плечо выше левого). Кожный покров сероватой окраски, обычной влажности. Видимые слизистые бледно-розовые, чистые. Тургор кожи в норме. На левом предплечье функционирующая артериовенозная фистула. Варикозно расширенных вен нижних конечностей не выявляется. Периферические лимфоузлы не пальпируются. Отеков нет. Тоны сердца ясные, ритмичные. Частота сердечных сокращений 75 уд./мин, артериальное давление 140/80 мм рт. ст. Грудная клетка деформирована. Перкуторно границы лёгких в пределах нормы. При аускультации лёгких дыхание проводится во все отделы, хрипов нет. Язык чистый, влажный. Живот симметричный, участвует в акте дыхания, при пальпации мягкий, безболезненный. Симптомов раздражения брюшины нет. Печень перкуторно по краю реберной дуги, селезёнка не пальпируется. Перистальтика кишечника выслушивается. Стул регулярный. Область почек визуально не изменена. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон. Почки не пальпируются. Диурез до 50 мл в сутки, не ежедневный, мочеиспускание свободное. *Status chirurgicus.* При осмотре область шеи не изменена. Щитовидная железа не увеличена, однородная, мягкая, подвижная. Экзофтальма нет.

30.10.2014 г. выполнена операция: ТПТЭ с АТ 1/5 верхней левой ОЩЖ в правое предплечье. Диссекция центральной клетчатки шеи и верхнего средостения с удалением верхних рогов тимуса с использованием микрохирургической техники визуализации ВГН.

Макропрепарат (раздельная маркировка): 1) левая верхняя ОЩЖ (4 × 2 × 2,5 см) с окружающей клетчаткой; 2) позадиглоточная клетчатка слева; 3) нижняя левая ОЩЖ (1 × 1,5 × 0,7 см); 4) нижняя правая ОЩЖ (2 × 2 × 2,5 см);

5) верхняя правая ОЩЖ ( $2 \times 1,5 \times 0,5$  см), левый верхний рог тимуса с окружающей клетчаткой; 6) глоточно-пищеводная клетчатка справа; 7) левый верхний рог тимуса с медиастинальной клетчаткой; 8) правый верхний рог тимуса с медиастинальной клетчаткой.

Патогистологическое исследование операционного материала: 1) верхняя левая ОЩЖ ( $2,5 \times 1,5$  см), гистологически картина ДГ; 2) пищеводно-глоточная клетчатка – жировая ткань 0,5 см, гистологически с фиброзными прослойками и кровоизлияниями; 3) нижняя левая ОЩЖ 1 см – картина ДГ; 4) нижняя правая ОЩЖ ( $2 \times 1,5 \times 1$  см) – картина ДГ; 5) верхняя правая ОЩЖ ( $5,5 \times 0,5 \times 1$  см) – картина ДГ; 6) глоточно-пищеводная клетчатка – жировая ткань 0,5 см – жировая ткань с фиброзными прослойками; 7) левый рог тимуса жировая ткань ( $5,5 \times 2,5 \times 1$  см) – жировая ткань с фрагментами ткани тимуса; 8) правый рог тимуса – жировая ткань с фрагментом ткани лимфатического узла с реактивными изменениями. *Заключение:* ДГ ткани ОЩЖ.

В послеоперационном периоде лабораторная гипокальциемия. Заместительная терапия: альфакальцидол 2 мкг 2 раза в сутки, карбонат кальция 3 г в сутки. Отмечает уменьшение болевого синдрома в костях. Дренаж удален на 5-е сутки, швы сняты на 7-е сутки. Заживление послеоперационной раны первичным натяжением. Больной выписан на амбулаторное лечение эндокринолога и хирурга в удовлетворительном состоянии с улучшением.

Через месяц после операции ПТГ более 2500 пг/мл. Проведен упрощенный тест Казановы [111]: уровень ПТГ из кубитальной вены правой (трансплантат) верхней конечности – 9825 пг/мл, из левой – 1980 пг/мл. Тест положительный. *Диагноз:* персистенция вторичного ГПТ. Гиперфункция трансплантата ОЩЖ.

Представленное наблюдение демонстрирует необходимость исследования функции трансплантата у всех больных, имеющих признаки персистенции или рецидива ГПТ.

При анализе частоты персистенции ГПТ в зависимости от выполненного объема хирургического вмешательства исключены по одному случаю в каждой группе. В группе с СПТЭ и ТПТЭ I исключены случаи персистенции при атипич-

ной внешней локализации, в группе ТПТЭ II – доказанный случай гиперфункции АТ ОЩЖ.

Частота персистенции заболевания не имела статистически значимых различий в зависимости от вида операции: СПТЭ, ТПТЭ I и ТПТЭ II. В то же время частота выявления персистенции ГПТ при СПТЭ составила 26 %, при ТПТЭ I – 9 %, при ТПТЭ II – 0 %. Снижение абсолютного риска персистенции заболевания при ТПТЭ I в сравнении с СПТЭ составило 17 %, с ТПТЭ II – 26 %. ЧБНЛ при ТПТЭ I при сравнении с СПТЭ составило 5,8, с ТПТЭ II – 3,84. При сравнении ТПТЭ II и ТПТЭ I ЧБНЛ составило 11.

Безрецидивная выживаемость при СПТЭ через 40 месяцев после операции составила 60 %, при ТПТЭ – 75 %, через 100 месяцев – 0 % и 40 % соответственно ( $p = 0,268$ ). При этом тестирование вида операции в многофакторном анализе с использованием модели пропорциональных интенсивностей Кокса с включением в модель длительности наблюдения за пациентом после оперативного лечения показало значимое ее влияние на безрецидивную выживаемость ( $p = 0,030$ ). Чем длительнее период наблюдения пациента после операции, тем меньше безрецидивная выживаемость.

АТ фрагментов ОЩЖ при тотальном варианте ПТЭ остается наиболее опасным с точки зрения персистенции ГПТ хирургическим этапом операции. В таблице 16 представлена структура источников высокого уровня ПТГ после операции.

**Таблица 16** – Структура источников персистенций и рецидивов ГПТ

<i>n</i>	Локализация	Вид исхода	Операция
1	Уточняется	Причина персистенции	ТПТЭ II
1	Трансплантат	Причина персистенции	ТПТЭ II
1	Добавочная на шее	Причина персистенции	ТПТЭ I
1	Эктопия в грудную клетку	Причина персистенции	ТПТЭ I
1	Тимус	Причина персистенции	СПТЭ
4	Типичное расположение	Причина персистенции	СПТЭ
1	Щитовидная железа + типичное расположение	Причина рецидива	СПТЭ
2	Уточняется	Причина рецидива	ТПТЭ I

Эктопированные ОЩЖ выявлены нами в 14 % наблюдений (таблица 17). При этом в 3 случаях они стали источником персистенции заболевания. Важно, что в 2 наблюдениях их удаление было возможно из шейного разреза. Две эктопированные ОЩЖ удалены при первичной ТПТЭ II типа.

**Таблица 17** – Характеристика атипичных локализаций ОЩЖ

<i>n</i>	Локализация	Характеристика	Операция
1	Вилочковая железа	Находка при морфологическом исследовании операционного материала	ТПТЭ II
1	Щитовидная железа	Диагностирована до операции	ТПТЭ II
1	Вилочковая железа	Причина персистенции	СПТЭ
1	Эктопия в грудную клетку	Причина персистенции	ТПТЭ I
1	Добавочная на шее	Причина персистенции	ТПТЭ I

### **3.3.3. Послеоперационный гипопаратиреоз**

ПОГПТ выявлен у 15 пациентов. Медиана длительности наблюдения больных с ПОГПТ составила 27 (13; 44) месяцев. Гипопаратиреоз развился в 5 наблюдениях после СПТЭ и в 9 – после ТПТЭ с АТ ( $p = 0,267$ ). При СПТЭ частота развития ПОГПТ не имела статистически значимых различий в зависимости от технологии сохранения ОЩЖ. При АТ ОЩЖ ПОГПТ выявлен у 8 из 18 больных. Частота развития ПОГПТ после СПТЭ составила 31,25 %, после ТПТЭ – 50 %. Снижение абсолютного риска ПОГПТ при СПТЭ составило 18,75, ЧБНЛ – 5,3.

Свободная от ПОГПТ выживаемость при СПТЭ составила 62 %, при ТПТЭ – 49 % ( $p > 0,1$ ). При ДОГ или ее отсутствии вид операции не влияет на частоту развития ПОГПТ ( $p > 0,95$ ), свободная от ПОГПТ выживаемость выше при наличии ДОГ независимо от вида операции. Наличие ДОГ ОЩЖ является фактором, прогностически благоприятным в отношении увеличения свободной от развития ПОГПТ выживаемости.

### ***3.3.4. Целевые значения уровня паратиреоидного гормона***

Целевой уровень ПТГ достигнут у 8 пациентов (22,8 %): у 4 больных после СПТЭ и у 4 больных после ТПТЭ ( $p > 0,95$ ). Медиана времени достижения целевых значений составила 2,5 (1; 8,5) месяца после операции. Медиана длительности наблюдения больных в целевых значениях ПТГ составила 25 (9; 52) месяца. В 3 наблюдениях на фоне целевых значений ПТГ развился рецидив ГПТ (наблюдения представлены в разделе рецидивов).

Целевые значения ПТГ достигнуты у 22,8 % больных вне зависимости от вида хирургического вмешательства. Рецидивы ГПТ после достижения целевых значений были связаны с наличием эктопированных ОЦЖ и прогрессированием патологических изменений в «оставленных» макроскопически не измененных при эксплорации во время первичной операции ОЦЖ.

Свободная от достижения целевых значений ПТГ выживаемость незначимо ниже при ДГ (57 %) по сравнению с аденомой (67 %) и ДОГ (68 %) ОЦЖ ( $p > 0,1$ ). При анализе с использованием модели пропорциональных интенсивностей Кокса установлено отсутствие зависимости свободной от достижения целевых значений ПТГ выживаемости от длительности наблюдения пациента после операции и тяжести морфологических изменений ОЦЖ ( $p > 0,95$ ).

Оценка функции трансплантата ОЦЖ выполнена у 11 из 18 пациентов, которым была проведена АТ фрагментов ткани ОЦЖ после ТПТЭ при помощи упрощенного теста Казановы. Наличие функционально активного ауто трансплантата установлено у 4 (36 %) больных, перенесших АТ фрагмента ткани ОЦЖ. При этом целевые значения ПТГ установлены у 1 пациента.

Таким образом, проведенный анализ результатов хирургического лечения вторичного ГПТ позволяет заключить, что:

1. Неблагоприятным признаком с точки зрения развития рецидива заболевания можно считать наличие гиперкальциемии на момент операции, а с точки зрения развития ПОГПТ отсутствие ДОГ ОЦЖ. Клинико-морфологические особенности заболевания влияют на исход хирургического вмешательства вне зави-

симости от его вида. Несинхронность морфологических изменений в ОЩЖ при вторичном гиперпаратиреозе затрудняет интраоперационную эксплорацию ОЩЖ.

2. Частота послеоперационных осложнений не имеет статистически значимых различий при субтотальной и различных вариантах ТПТЭ.

3. ТПТЭ имеет преимущества, в сравнении с СПТЭ, с точки зрения предотвращения персистенции ГПТ с источником на шее. Наиболее эффективным вариантом ТПТЭ с этой точки зрения является расширенная ТПТЭ: снижение абсолютного риска составляет 26 %, ЧБНЛ – 4.

4. ТПТЭ с АТ и СПТЭ не имеют различий по частоте достижения целевых значений ( $p > 0,95$ ).

5. Целевые значения ПТГ, связанные с функционирующим трансплантатом, получены лишь у 9 % пациентов, что подтверждает необходимость разработки более эффективных технологий заместительной терапии ПОГПТ.

**ГЛАВА 4.  
РЕЗУЛЬТАТЫ РАЗРАБОТКИ СПОСОБА МОДЕЛИРОВАНИЯ  
ГИПОПАРАТИРЕОЗА С ИССЛЕДОВАНИЕМ МЕХАНИЗМОВ  
ПАТОГЕНЕЗА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В УСЛОВИЯХ  
СОХРАНЕННОГО ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА**

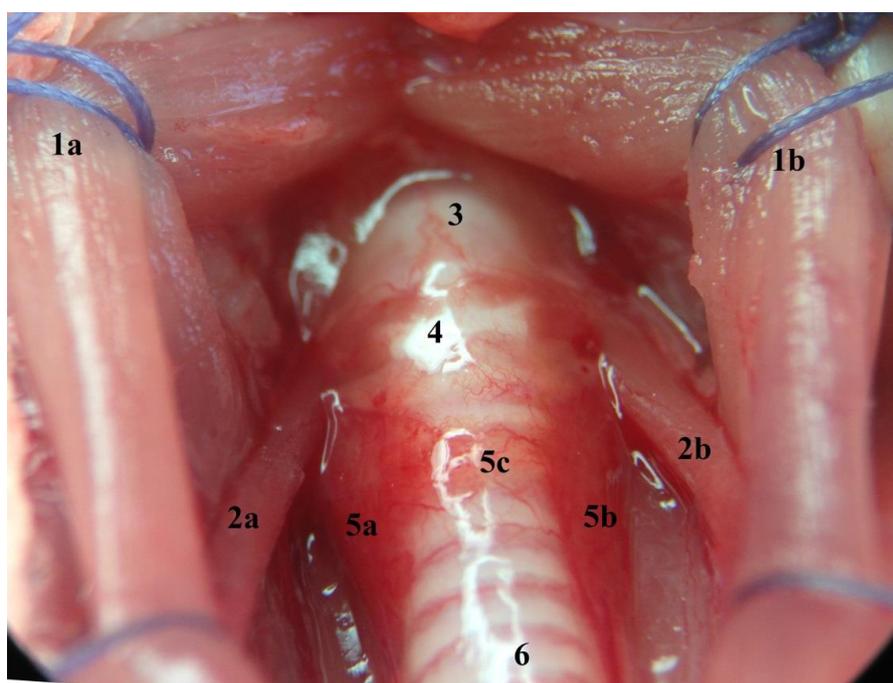
Следующим этапом нашей работы была разработка способа моделирования гипопаратиреоза после ТПТЭ, приближенной по своим характеристикам к клиническому процессу, с формированием устойчивой тяжелой гипокальциемии и сохранением тиреоидного статуса. Для разработки способа моделирования гипопаратиреоза после ТПТЭ с сохраненным тиреоидным статусом было проведено исследование топографической анатомии щитовидной, ОЩЖ крыс самок линии Wistar.

**4.1. Результаты исследования топографической анатомии  
щитовидной и околощитовидной желез крыс-самок линии Wistar**

Для выполнения ПТЭ нами был проведен поиск сведений об анатомических особенностях щитовидной и ОЩЖ крыс линии Wistar (рисунок 24). Щитовидная железа (*gl. thyroidea*) крыс линии Wistar состоит из двух боковых долей – правой и левой (*lobus dext. et sin.*) – и перешейка (*istmus glandularis*). В каждой доле железы различают краниальный и каудальный полюсы. Краниальные полюсы боковых долей щитовидной железы доходят до высоты перстневидного хряща (*cart. cricoidea*) либо до каудального края пластинок щитовидного хряща (*cart. thyroidea*). Каудальные полюсы боковых долей щитовидной железы спускаются ниже перешейка и достигают уровня 4–5-го кольца трахеи (*trachea*). Перешеек щитовидной железы соединяет обе доли и лежит спереди от трахеи (на уровне от 1-го до 3-го или от 2-го до 4-го хряща трахеи). Щитовидная железа имеет паренхиму (*parenchyma*) и фиброзную капсулу (*caps. fibrosa*).

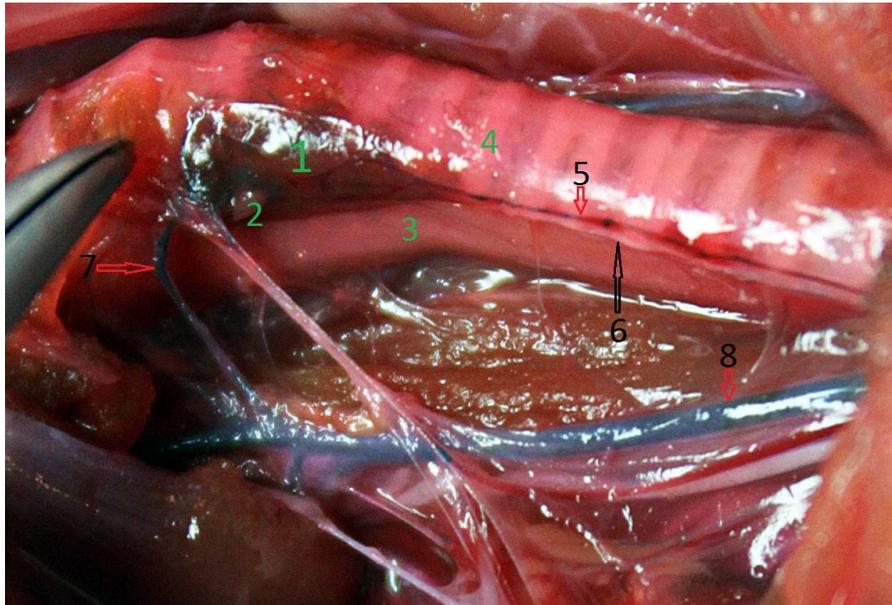
Синтопия. Перешеек щитовидной железы лежит спереди от трахеи на уровне от 1-го до 3-го или от 2-го до 4-го ее хрящей. Боковые доли заднелате-

ральными поверхностями соприкасаются с фасциальными влагалищами общих сонных артерий (*aa. carotis communis*). Заднемедиальные поверхности боковых долей прилежат к гортани (*larynx*), трахее (*trachea*), трахеопищеводной борозде (*sul. tracheaesophagealis*), а также к пищеводу (*esophagus*). В трахеопищеводной борозде справа и слева поднимаются возвратные гортанные нервы (*nn. laryngeus recurrens dext. et sin.*), они лежат вне фиброзной капсулы щитовидной железы. Вентрально щитовидную железу прикрывают грудино-подъязычные, грудино-щитовидные мышцы (*mm. sternohyoidei, sternothyroidei*) (рисунок 24).

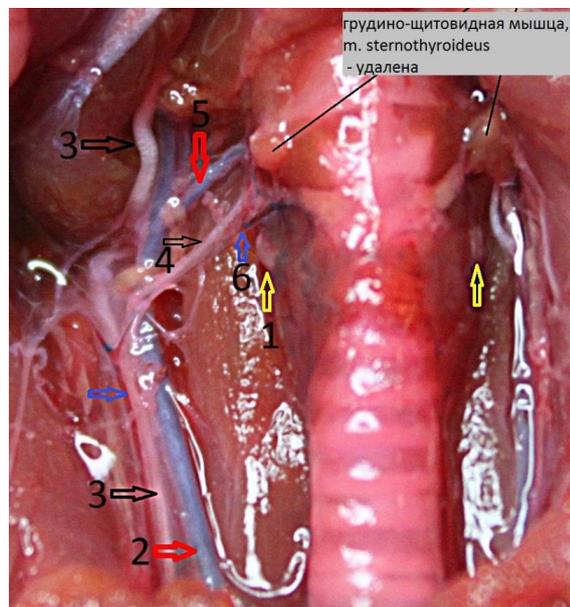


**Рисунок 24** – Крыса-самка линии Wistar. Общий вид операционного поля при доступе к щитовидной железе: **1a** – правая грудино-подъязычная мышца (*musculus sternohyoideus dexter*); **1b** – левая грудино-подъязычная мышца (*musculus sternohyoideus sinister*); **2a** – правая грудино-щитовидная мышца (*musculus sternothyroideus dexter*); **2b** – левая грудино-щитовидная мышца (*musculus sternothyroideus sinister*); **3** – щитовидный хрящ (*cartilago thyroidea*); **4** – перстневидный хрящ (*cartilago cricoidea*); **5** – щитовидная железа (*glandula thyroidea*); **5a** – правая доля (*lobus dexter*); **5b** – левая доля (*lobus sinister*); **5c** – перешеек (*isthmus*); **6** – трахея (*trachea*). Ув.  $\times 12,5$ .

Кровоснабжение щитовидной железы осуществляется ветвями четырех артерий: щитовидные артерии каудальные и краниальные (*aa. thyroideae cranialis dextra et sinistra* и *aa. thyroideae caudalis dextra et sinistra*) (рисунки 25, 26).

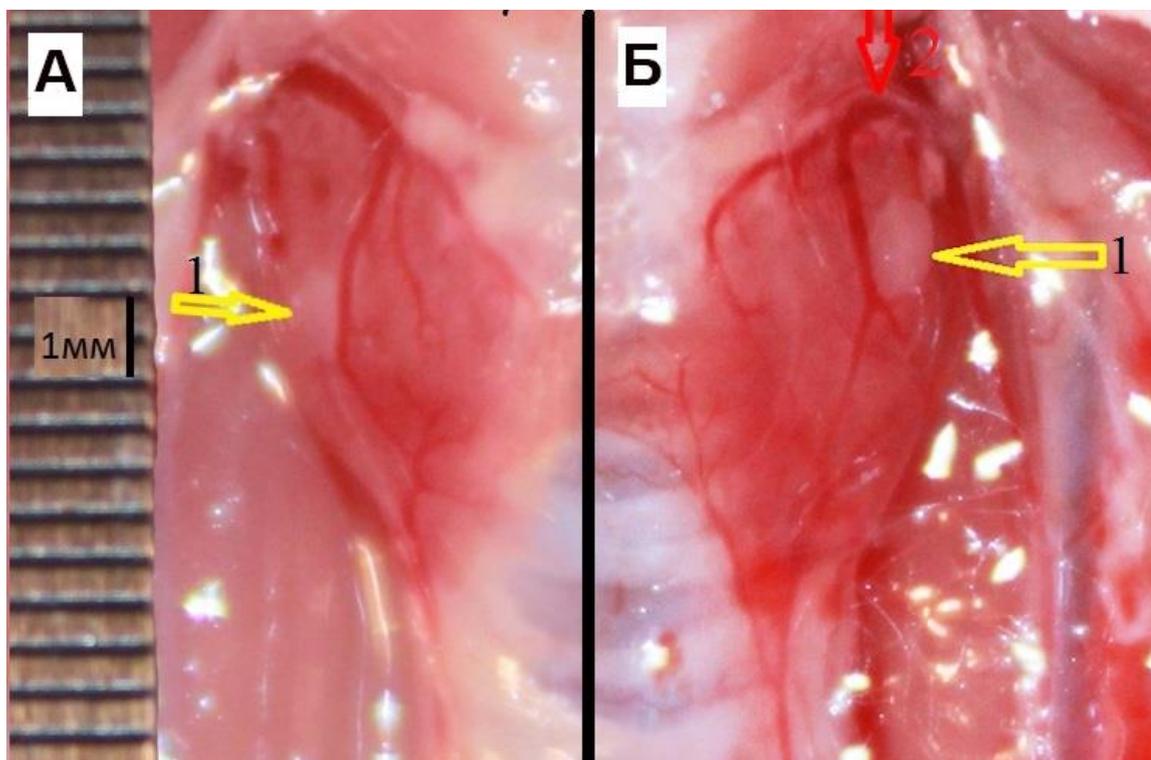


**Рисунок 25** – Крыса-самка линии Wistar. Гортань отведена кпереди и влево, введен раствор метиленовой синей в левый желудочек сердца: **1** – правая доля щитовидной железы (*lobus dexter glandulae thyroidea*); **2** – правая ОЩЖ (*glandula parathyroidea dextra*); **3** – пищевод (*esophagus*); **4** – трахея (*trachea*); **5** – каудальная щитовидная артерия (*arteria thyroidea caudalis dextra*); **6** – возвратный гортанный нерв (*nervus laryngeus recurrens dexter*); **7** – краниальная щитовидная артерия (*arteria thyroidea cranialis*); **8** – общая сонная артерия (*arteria carotis communis*).



**Рисунок 26** – Крыса-самка линии Wistar. Удалены грудино-щитовидные мышцы с обеих сторон, введен раствор метиленовой синей в левый желудочек сердца: **1** – правая ОЩЖ (*glandula parathyroidea dextra*); **2** – общая сонная артерия (*arteria carotis communis*); **3** – блуждающий нерв (*nervus vagus*); **4** – краниальный гортанный нерв (*nervus laryngeus cranialis*); **5** – краниальная щитовидная артерия (*arteria thyroidea cranialis dextra*); **6** – краниальная щитовидная вена (*vena thyroidea cranialis dextra*).

*A. thyroidea cranialis* (рисунок 27) кровоснабжает краниальные полюсы боковых долей и краниальный край перешейка щитовидной железы, к каудальному краю перешейка подходят висцеральные ветви (*a. thyroidea caudalis*). Артерии щитовидной железы образуют анастомозы с сосудами гортани, трахеи, пищевода и окружающих мышц.

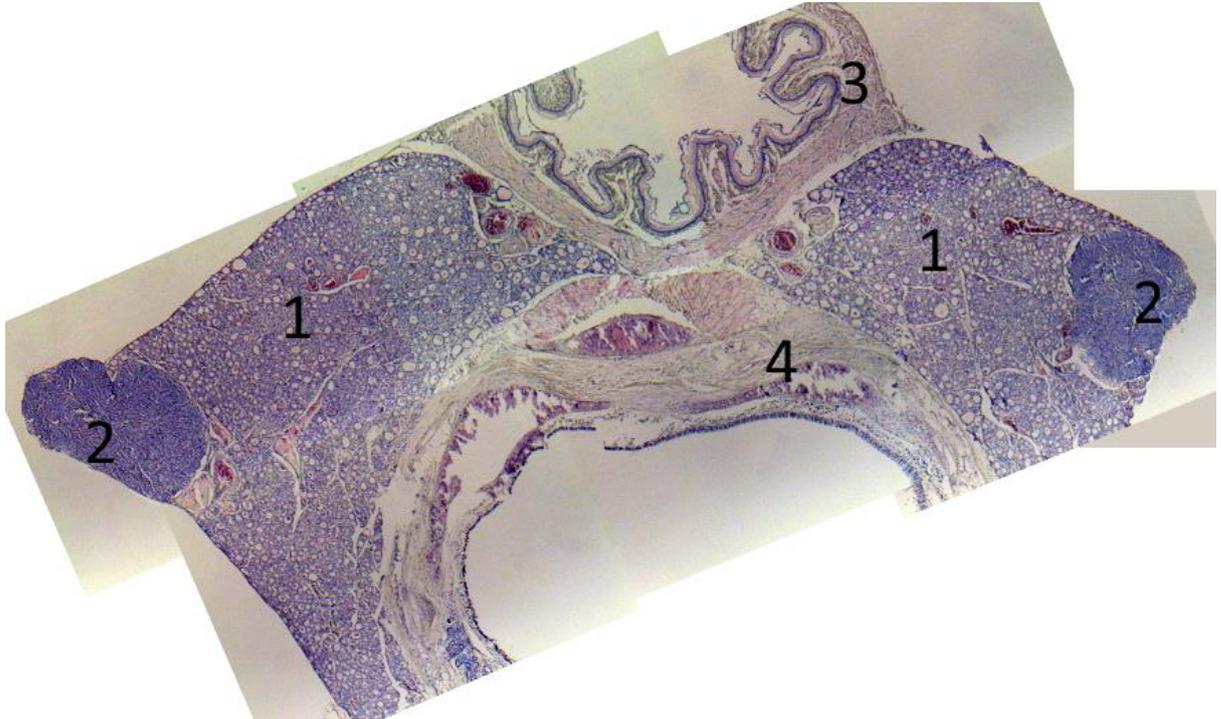


**Рисунок 27** – Крыса-самка линии Wistar: **А** – возраст 6 месяцев (**1** – ОЩЖ погружена в ткань щитовидной железы); **Б** – возраст 10 месяцев (**1** – ОЩЖ с четкими границами, возвышается над поверхностью щитовидной железы; **2** – краниальная щитовидная артерия *arteria thyroidea cranialis*).

Венозный отток осуществляется по венам, идущим параллельно артериям (*vv. thyroideae cran. et caud.*). Иннервация железы осуществляется ветвями краниального гортанного нерва (*n. laryngeus cran.*) (рисунок 26).

Околощитовидные железы (*gl. parathyroideae*) (рисунки 25, 26, 28) – парные округлые образования до 1–1,2 мм в диаметре, желто-кремового цвета, располагаются в верхней трети обеих долей щитовидной железы по латерокраниальным поверхностям. Кровоснабжение происходит из *a. thyroidea cran.*, при локализации

желез в средней трети долей щитовидной железы частично из *a. thyroidea caud.* Венозный отток осуществляется в соответствующие артериям вены.



**Рисунок 28** – Крыса-самка линии Wistar. Расположение и структура ОЩЖ в органокомплексе: **1** – щитовидная железа; **2** – ОЩЖ; **3** – пищевод; **4** – трахея. Ув.  $\times 20$ .

При исследовании анатомии ОЩЖ крыс-самок разного возраста нами выявлены варианты особенности их строения (таблица 18).

В молодом возрасте (6 месяцев) ОЩЖ определяются под фиброзной капсулой щитовидной железы и полностью погружены в её паренхиму, не дифференцируются (рисунок 27А). С увеличением возраста (8 месяцев) соединительнотканная капсула становится выраженной, ОЩЖ появляется на латерокраниальной поверхности ткани щитовидной железы, несколько отесняя ветви *a. thyroidea cranialis*. У крыс-самок десятимесячного возраста ОЩЖ ограничены выраженной соединительно-тканной капсулой, лежат на собственной капсуле щитовидной железы, приподнимаясь над её поверхностью (рисунки 26, 27Б), ветви *a. thyroidea cranialis* огибают ОЩЖ.

**Таблица 18** – Результаты исследования анатомических особенностей щитовидной и околощитовидной желез самок-крыс линии Wistar, согласно литературным данным

Литературный источник, характеристика животного	Локализация: поверхность доли ЩЖ	Локализация: треть доли ЩЖ	Размеры ОЩЖ	Выраженность капсулы ОЩЖ, отношение к ЩЖ (правая / левая)	Кровоснабжение ОЩЖ	Венозный отток от ОЩЖ	Добавочная ОЩЖ
Ноздрачев А. Д., 2001 ( <i>Rattus norvegicus forma domesticus</i> , самцы, самки)	Латеральная поверхность краниального полюса	Кр/3	Очень маленькие	Не описано	Не описано	Не описано	Редко, % не указан
Halloran B. et al., 2002 (Fischer 344, самцы)	Не описано		Увеличивался объем желез с возрастом после периода полового созревания	Увеличение объема за счет увеличения числа клеток, отношение ОЩЖ к ЩЖ не описано	Не описано		Нет
Murakami T., 1987 (Wistar, самцы)	Латеро-краниальная поверхность	Кр/3, 1 – ср/3 1 – кауд/3	–	–	Из краниальной щитовидной артерии, редко – из каудальной щитовидной артерии и смешанное	В соответствующую артерии вену (чаще – краниальная щитовидная вена)	Нет

**Примечание** (здесь и далее): **кр/3** – краниальная треть; **ср/3** – средняя треть, **кауд/3** – каудальная треть.

**Таблица 19** – Результаты собственного исследования анатомических особенностей щитовидной и околотщитовидной желез самок-крыс линии Wistar

Возраст животного	Локализация: поверхность доли ЩЖ	Локализация: треть доли ЩЖ		Размеры ОЩЖ		Выраженность капсулы ОЩЖ, отношение к ЩЖ (правая / левая)		Кровоснабжение ОЩЖ		Добавочная ОЩЖ
		Кр/3	Кр/3	0,9	0,9	Слабо выражена, в толще ЩЖ	Слабо выражена, в толще ЩЖ	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	
6 мес	Латеро-краниальная поверхность, несколько вентрально	Кр/3	Кр/3	0,9	0,9	Слабо выражена, в толще ЩЖ	Слабо выражена, в толще ЩЖ	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
6 мес		Кр/3	Кр/3	1,0	1,0	Слабо выражена, в толще ЩЖ, ветви <i>a. thyr. cr</i> над ОЩЖ	Слабо выражена, в толще ЩЖ, ветви <i>a. thyr. cr</i> над ОЩЖ	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
6 мес		Кр/3	Кр/3	0,9	0,9	В толще ЩЖ, пальпаторно определяется	Слабо выражена	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
8 мес	Латеро-краниальная поверхность	Кр/3	Кр/3	1,0	1,0	Незначительно выступает на ЩЖ, сосуды сбоку	Слабо выражена	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
8 мес		Кр/3	Ср/3	1,0	1,0	Не выступает, хорошо визуализируется	Не выступает, хорошо визуализируется	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i> , слева + ветви <i>a. thyroidea caudalis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i> , слева + <i>v. thyroidea caudalis</i>	Нет
8 мес		Кр/3	Кр/3	1,0	1,0	Не выступает, хорошо визуализируется	Не выступает, хорошо визуализируется	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
10 мес		Кр/3	Кр/3	1,1	1,1	Выражена, несколько выступает над ЩЖ, сосуды сбоку	Не выступает, хорошо визуализируется	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
10 мес		Кр/3	Кр/3	1,0	1,0	Выражена, лежит на капсуле ЩЖ	Выражена, лежит на капсуле ЩЖ	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
10 мес		Кр/3	Кр/3	1,0	1,0	Выражена, лежит на капсуле ЩЖ	Выражена, лежит на капсуле ЩЖ	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет
10 мес		Кр/3	Кр/3	1,1	1,2	Выражена, лежит на капсуле ЩЖ	Выражена, лежит на капсуле ЩЖ	Ветви <i>a. thyroidea cranialis</i>	<i>v. thyroidea cranialis</i>	Нет

Для проведения эффективной паратиреоидэктомии необходимо удаление околощитовидной железы с сохранением капсулы органа. При полном погружении ОЩЖ в ткань щитовидной железы тотальная паратиреоидэктомия возможна только с обязательной резекцией щитовидной железы. Удаляемый объем щитовидной железы может составлять до 50–60 %, что требует мобилизации щитовидной железы и поиска *nn. laryngeus recurrens* с целью сохранения их целостности. Также при резекции щитовидной железы в таком объеме не представляется возможным сохранить ветви *a. thyroidea cranialis*, идущие в толще паренхимы щитовидной железы над околощитовидными железами, что влечет за собой необходимость дополнительного гемостаза (при помощи различных методов коагуляции либо лигирования с прошиванием паренхимы щитовидной железы) и нарушение кровоснабжения оставляемой ткани верхнего полюса щитовидной железы. С увеличением возраста животного за счет приподнимания ОЩЖ над поверхностью щитовидной железы и появлением выраженной капсулы необходимый объем резецируемой ткани щитовидной железы при паратиреоидэктомии уменьшается, появляется возможность сохранить ветви *a. thyroidea cranialis* и избежать мобилизации задней поверхности щитовидной железы, где появится необходимость визуализации *nn. laryngeus recurrens*.

Таким образом, проведенное топографо-анатомическое исследование щитовидной и околощитовидной желез крыс-самок линии Wistar выявило, что щитовидная железа (*gl. thyroidea*) состоит из двух боковых долей бобовидной формы, правой и левой (*lobus dextra et sinistra*) и тонкого перешейка (*istmus glandularis*), пирамидальная доля отсутствует. Перешеек щитовидной железы лежит спереди от трахеи на уровне от 1-го до 3-го или от 2-го до 4-го ее хрящей. Боковые доли заднелатеральными поверхностями соприкасаются с фасциальными влагалищами общих сонных артерий (*aa. carotis communis*). Заднемедиальные поверхности боковых долей прилежат к гортани (*larynx*), трахее (*trachea*), трахеопищеводной борозде (*sul. tracheaesophagealis*), а также к пищеводу. Кровоснабжение щитовидной железы осуществляется ветвями каудальных и краниальных щитовидных артерий (*aa. thyroideae cranialis dexstra et sinistra* и *aa. thyroideae caudalis dexstra et sinistra*). Венозный отток осуществляется по венам, идущим параллельно артери-

ям (*vv. thyroideae cran. et caud.*). Иннервация щитовидной железы осуществляется ветвями краниального гортанного нерва (*n. laryngeus cran.*). Возвратные гортанные нервы (*nn. laryngeus recurrens dextra et sinistra*) поднимаются в трахеопищеводной борозде справа и слева, лежат вне фиброзной капсулы щитовидной железы. ОЩЖ крыс-самок линии Wistar (*gl. parathyroideae*) – округлые образования до 0,9–1,2 мм в диаметре, желто-кремового цвета – располагаются по одной в верхней трети обеих долей щитовидной железы по латерокраниальным поверхностям. Кровоснабжение происходит из *a. thyroidea cran.*, при локализации желез в средней трети долей щитовидной железы – частично из *a. thyroidea caud.* Венозный отток осуществляется в соответствующие артериям вены. Вентрально щитовидную и ОЩЖ прикрывают грудино-подъязычные, грудино-щитовидные мышцы (*mm. sternohyoidei, sternothyroidei*).

У десятимесячных самок отмечено наличие выраженной капсулы околощитовидной железы, выбухание околощитовидной железы над поверхностью щитовидной железы с четкими границами.

Таким образом, для доступа к щитовидной и околощитовидным железам необходимо тупым путем развести грудино-подъязычные мышцы по срединной линии и мобилизовать латеро-краниальные поверхности щитовидной железы от грудино-щитовидных мышц с обеих сторон. Выявленная особенность строения ОЩЖ у 10-месячных животных позволяет уменьшить объем резецируемой ткани щитовидной железы при паратиреоидэктомии, сохранить ветви *a. thyroidea cranialis* и снизить риск повреждения *nn. laryngeus recurrens*.

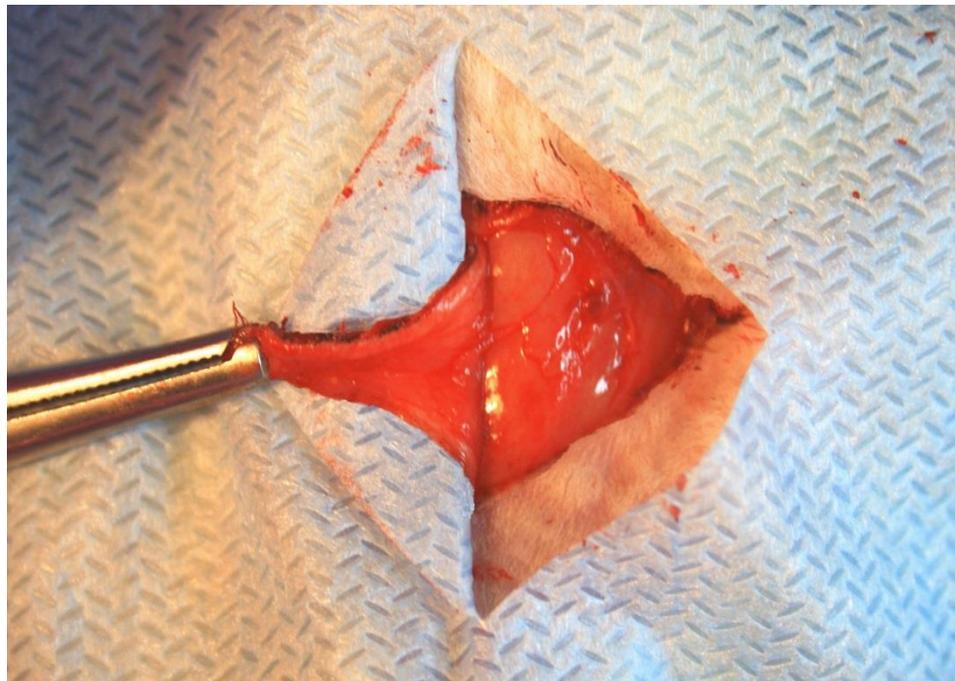
На этом основании для выполнения паратиреоидэктомии с возможностью визуального контроля удаления полного объема ткани околощитовидной железы и сохранением максимального объема интактной ткани щитовидной железы следует выбирать крыс-самок линии Wistar в возрасте не менее 10 месяцев и предложенный нами анатомически обоснованный доступ к околощитовидным железам.

#### 4.2. Результаты разработки способа моделирования послеоперационного гипопаратиреоза с использованием микрохирургической техники и клея «Сульфакрилат»

Моделирование гипокальциемии достигается удалением ОЩЖ с сохранением щитовидной железы. Отличительными приемами разработанного нами способа ПТЭ явились:

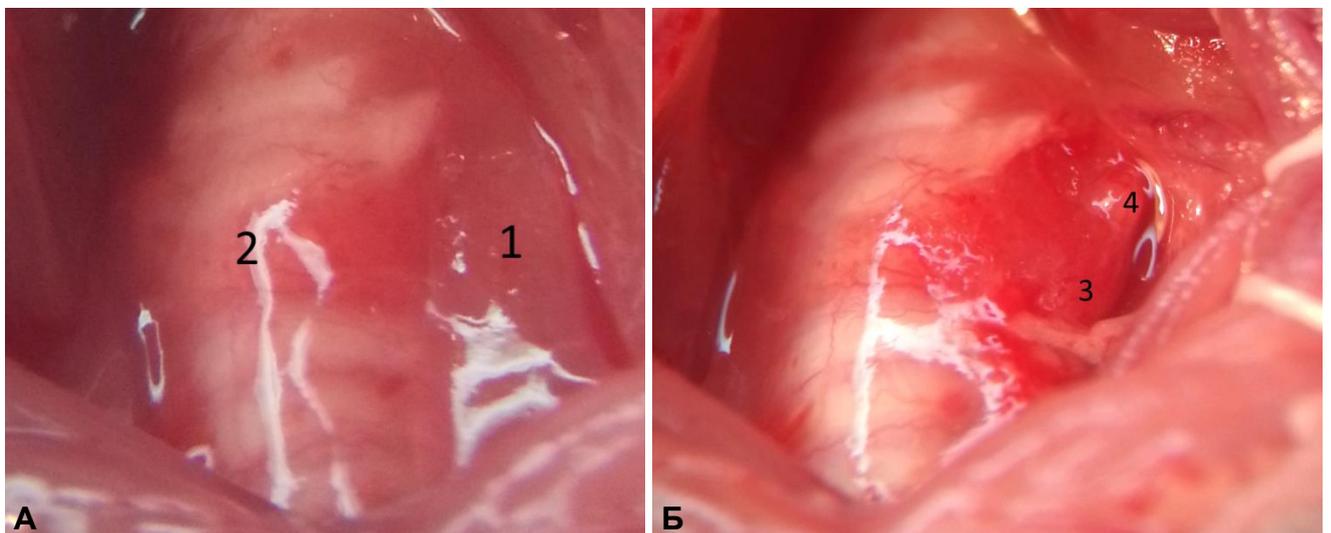
- угловой разрез кожи с формированием «косынкообразного» лоскута;
- мобилизация структур шеи с использованием микрохирургической техники и операционного микроскопа;
- ПТЭ путем резекции в пределах ткани щитовидной железы на 0,1 мм от капсулы ОЩЖ;
- нанесение на раневую поверхность щитовидной железы медицинского клея «Сульфакрилат».

После подготовки операционного поля выполняли угловой разрез кожи, формировали кожный лоскут косынкообразной формы, угол которого обращен к правой боковой поверхности шеи, который отводили на зажиме вправо (рисунок 29).



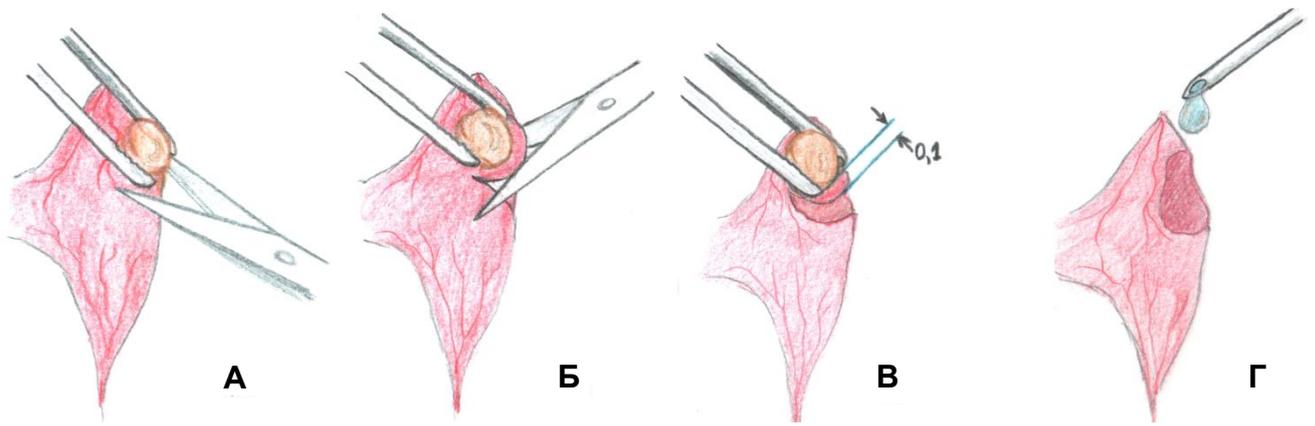
**Рисунок 29** – Крыса-самка линии Wistar. Угловой разрез кожи со сформированным кожным лоскутом косынкообразной формы, отведенным на зажиме вправо.

Попеременно тупым и острым путем, с использованием ножниц и пинцета, мобилизовали слюнные железы в бессосудистой зоне. Тупым путем разделяли грудино-подъязычные мышцы по срединной линии и отводили на держалках в верхних и нижних третях в противоположные стороны. Визуализировали гортань и трахею. Подводили операционный микроскоп, устанавливали увеличение  $\times 12,5$  (рисунок 30А). При помощи микрохирургических инструментов (пинцет, ножницы) мобилизовали боковые поверхности обеих долей щитовидной железы от щито-грудинных мышц и сосудисто-нервных пучков шеи, визуализировали ОЩЖ с обеих сторон по дорсолатеральным поверхностям верхних третей боковых долей щитовидной железы (рисунок 30Б).



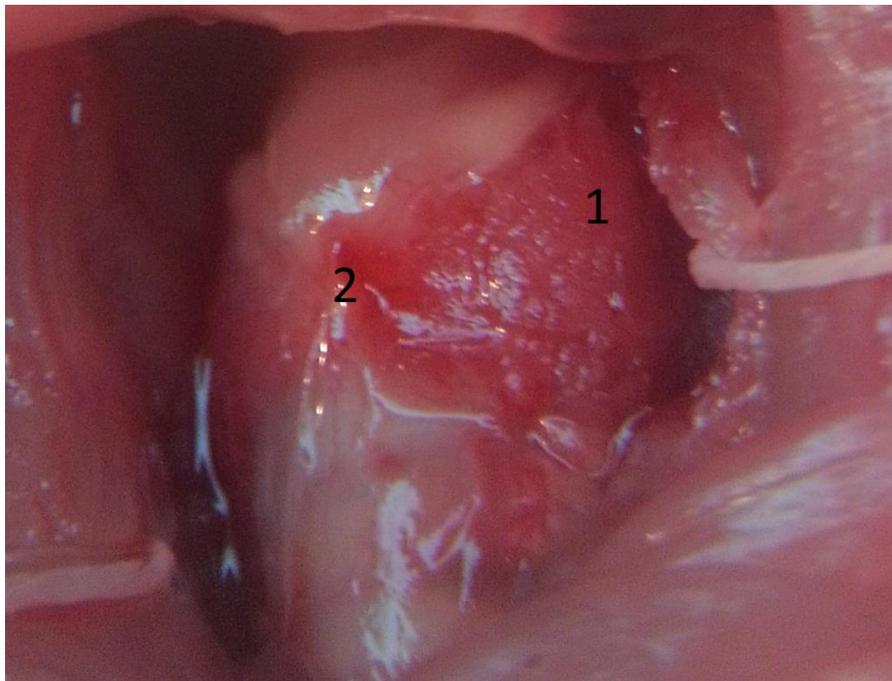
**Рисунок 30** – Крыса-самка линии Wistar. А – этап мобилизации щитовидной железы: щито-грудинная мышца прикрывает левую долю щитовидной железы (**1** – щито-грудинная мышца; **2** – перешеек щитовидной железы); Б – этап мобилизации и выведения в операционное поле левой доли щитовидной железы и левой околощитовидной железы (**3** – левая доля щитовидной железы; **4** – левая ОЩЖ). Ув.  $\times 12,5$ .

Пинцетом за фиброзную капсулу подтягивали кверху околощитовидную железу (рисунок 31А), ножницами отсекали околощитовидную железу (рисунок 31Б) без нарушения целостности ее капсулы, резецируя при этом щитовидную железу вглубь на расстояние 0,1 мм от капсулы околощитовидной железы (рисунок 31В).



**Рисунок 31** – Этапы паратиреоидэктомии по предложенному способу: **А** – иммобилизация околощитовидной железы; **Б** – ОЩЖ приподнята за капсулу пинцетом, рассечение тканей щитовидной железы с дорсолатерального края; **В** – иссечение околощитовидной железы из тканей щитовидной железы в пределах 0,1 мм; **Г** – нанесение клея «Сульфакрилат» на поверхность дефекта щитовидной железы.

После этого на поверхность дефекта ткани щитовидной железы наносили 0,01 мл клея «Сульфакрилат» (рисунок 31Г), который равномерно тонкой пленкой распределялся по поверхности дефекта (рисунок 32).



**Рисунок 32** – Крыса-самка линии Wistar: **1** – место удаления левой ОЩЖ, дефект ткани щитовидной железы покрыт пленкой клея «Сульфакрилат»; **2** – перешеек щитовидной железы. Ув.  $\times 12,5$ .

Формирование на этапе доступа косынообразного кожного лоскута позволяет избежать нахождения кожных швов непосредственно над зоной оперативного вмешательства, что исключает травматизацию области щитовидной железы животным в послеоперационный период.

Применение операционного микроскопа и микрохирургической техники при мобилизации анатомических структур шеи позволяет визуализировать капсулу ОЩЖ, избежать повреждения кровеносных сосудов и нервов.

Резекция ткани щитовидной железы, прилежащей к капсуле ОЩЖ на 0,1 мм, обеспечивает удаление полного объема ткани ОЩЖ ввиду сохранения капсулы последней.

Нанесение медицинского клея «Сульфакрилат» обеспечивает надежный гемостаз раневой поверхности щитовидной железы.

Таким образом, применение углового разреза кожи с формированием косынообразного лоскута, мобилизация структур шеи с использованием микрохирургической техники и операционного микроскопа, ПТЭ путем резекции в пределах ткани щитовидной железы на 0,1 мм от капсулы ОЩЖ, нанесение на раневую поверхность щитовидной железы медицинского клея «Сульфакрилат» обеспечивают полное удаление ОЩЖ с сохранением капсулы, минимальную травматизацию щитовидной железы, сохранность важных анатомических образований в зоне вмешательства, надежный гемостаз.

#### ***4.2.1. Оценка летальности, выживаемости при паратиреоидэктомии разработанным способом***

Для оценки тяжести течения гипопаратиреоза в условиях ПТЭ в раннем послеоперационном периоде нами были оценены показатели летальности в обеих группах (таблица 20).

При исследовании летальности у животных в первой серии исследований в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу летальность регистрировали с 21-х суток (таблица 20), всего погибли 4 крысы, и к 30-м суткам эксперимента летальность составила 40 %. В то же время в группе 1.1 летальность начинали регистри-

ровать со 2-х суток, всего погибло 7 животных, и летальность к 30-м суткам составила 70 %.

**Таблица 20** – Показатели летальности и выживаемости в 1-й серии исследований

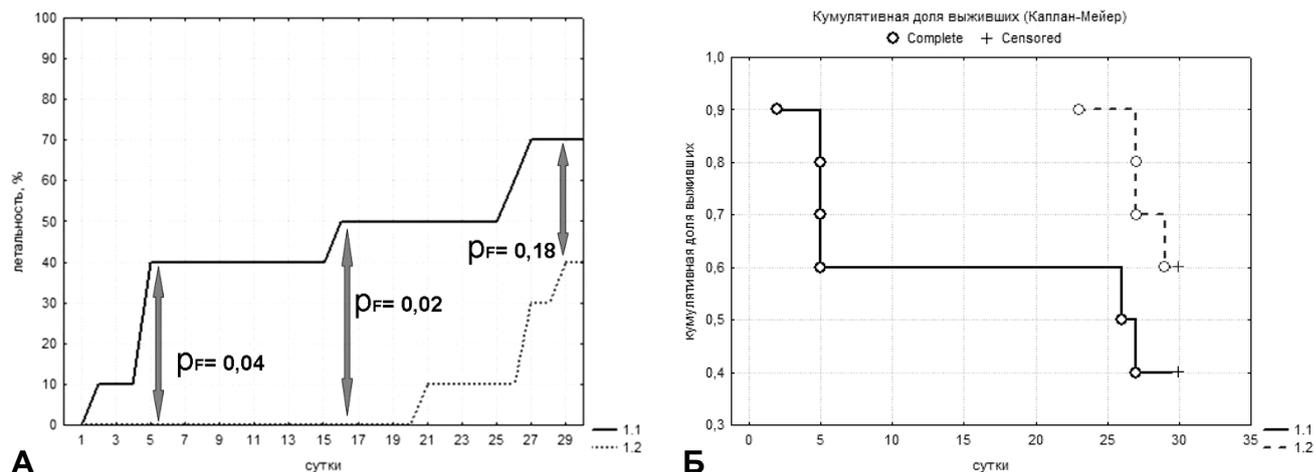
Группы	Количество умерших животных							Живы / погибли к 30-м суткам	Летальность, %	Выживаемость	Стандартная ошибка
	2-е сутки	5-е сутки	16-е сутки	21-е сутки	26-е сутки	27-е сутки	29-е сутки				
1.1	1	3	1		1	1		3 / 7	70 %	0,4	0,15
1.2				1		2	1	6 / 4	40 %	0,6	0,15

**Примечание: 1.1** – разрушение ОЦЖ с использованием электрокоагуляции; **1.2** – паратиреоидэктомия по оригинальному способу.

В динамике исследования летальности у животных в первой серии исследований (рисунок 33А) установлено, что в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу летальность не выявляли до 21-х суток эксперимента, и в раннем послеоперационном периоде с 5-х суток летальность в группе 1.2 была значимо ниже по сравнению с таковой в группе 1.1 ( $p_F = 0,04$ ;  $p_F = 0,02$ ) до 20-х суток, далее увеличилась и к 30-м суткам составила 40 %, что значимо не отличалось от значения в группе 1.1 ( $p_F = 0,18$ ).

Таким образом, установлено, что ПТЭ по оригинальному способу приводит к меньшей летальности в раннем послеоперационном периоде на 5-е сутки по сравнению с разрушением ткани ОЦЖ при помощи электрокоагуляции ( $p_F = 0,04$ ), выявленная закономерность сохраняется до 20-х суток исследования, что можно связать с отсутствием осложнений операции, которые в раннем послеоперационном периоде приводят к летальному исходу у животных. В отдаленном периоде, с 21-х суток, существенных отличий в группах не выявлено, однако в группе с моделированием гипокальциемии по оригинальному способу количество умерших животных было меньше, чем в группе сравнения.

Данные по выживаемости животных в эксперименте представлены в таблице 20 и на рисунке 33Б.



**Рисунок 33** – Летальность (**А**) и кумулятивная доля выживших животных (**Б**) в первой серии исследований. Значимость отличий ( $p$ ) рассчитана при помощи точного метода Фишера.

При исследовании выживаемости на 30-е сутки у животных в группе 1.2 после ПТЭ по оригинальному способу значимых отличий от показателя в группе 1.1 не выявлено ( $p = 0,1$ ).

При исследовании выживаемости на 26-е сутки у животных в группе 1.2 после ПТЭ по оригинальному способу показатель был значимо выше по сравнению с таковым в группе 1.1 ( $p = 0,01$ ).

Таким образом, разработанный способ ПТЭ позволяет снизить 20-суточную летальность и повысить выживаемость в течение 26 суток.

#### **4.2.2. Оценка уровня паратиреоидного гормона и ионизированного кальция при паратиреоидэктомии разработанным способом**

Для оценки эффективности ПТЭ нами были оценены уровень ПТГ и ионизированного кальция сыворотки крови (таблица 21).

При исследовании уровня ПТГ через 3 суток в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу (таблица 21) выявляли значимое снижение уровня ПТГ по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,02$ ). Через 14 суток уровень ПТГ в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу существенно не менялся ( $p_W = 0,8$ ) и оставался существенно пониженным

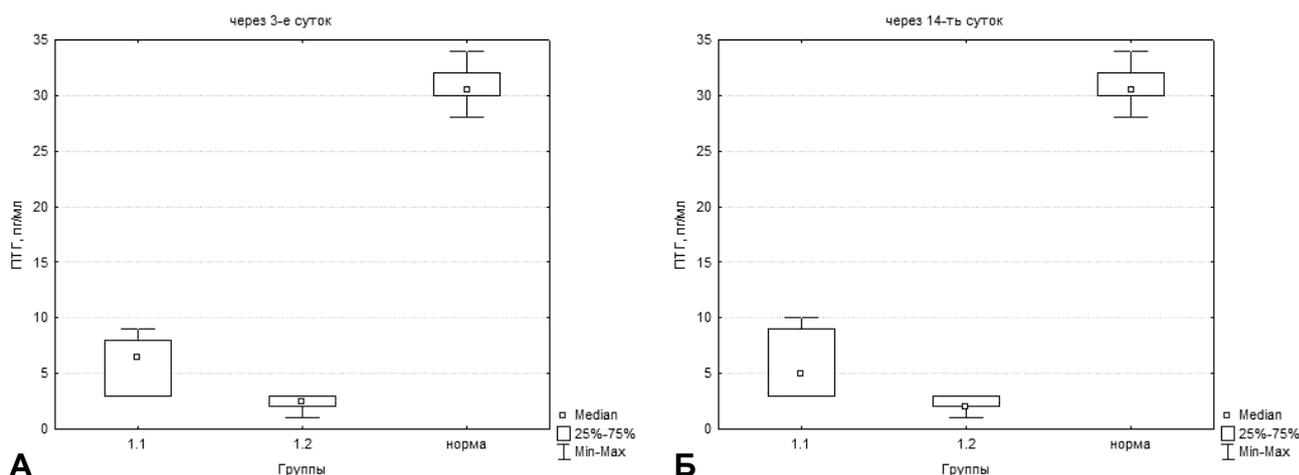
по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ). Отметим, что при сравнении с группой 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ изучаемый показатель был значительно ниже в группе 1.2 ( $p_U = 0,008$ ).

**Таблица 21** – Результаты сравнительного анализа уровня ионизированного кальция и ПТГ у животных в первой серии исследований (медиана, квантили)

Показатель	Сутки	Группа 1.1	Группа 1.2
ПТГ, пг/мл	3-и сутки	6,5 (3,0; 8,0)*	2,5 (2,0; 3,0)*: ▲
	14-е сутки	5,0 (3,0; 9,0)*	2,0 (2,0; 3,0)*: ▲
	норма	30,5 (30,0; 32,0)	
Ионизированный кальций, ммоль/л	3-и сутки	0,85 (0,77; 0,91)*	0,94 (0,93; 0,97)*: ▲
	14-е сутки	0,70 (0,66; 0,87)*: #	0,60 (0,55; 0,61)*: #: ▲
	норма	1,22 (1,21; 1,25)	

**Примечание:** \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормальным показателем; ▲ – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 1.1; # – значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с предыдущим показателем.

В динамике исследования уровня ПТГ в венозной крови животных в первой серии исследований (рисунок 34) установлено резкое снижение показателя в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу в 12,2 раза через 3 суток; далее показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,8$ ) и через 14 суток был снижен в 15,25 раза по сравнению с нормальным. В то же время при исследовании уровня ПТГ в венозной крови животных первой серии исследований в группе 1.1 отмечено снижение показателя в 4,7 раза через 3 суток, показатель значимо не менялся ( $p_W = 0,7$ ) и был снижен в 6,1 раза через 14 суток по сравнению с нормальным показателем. Отметим, что в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ показатели имели широкий диапазон варьирования – от 3 до 10 пг/мл, что свидетельствует о нестабильности модели и невозможности контролирования удаления необходимого объема ткани.

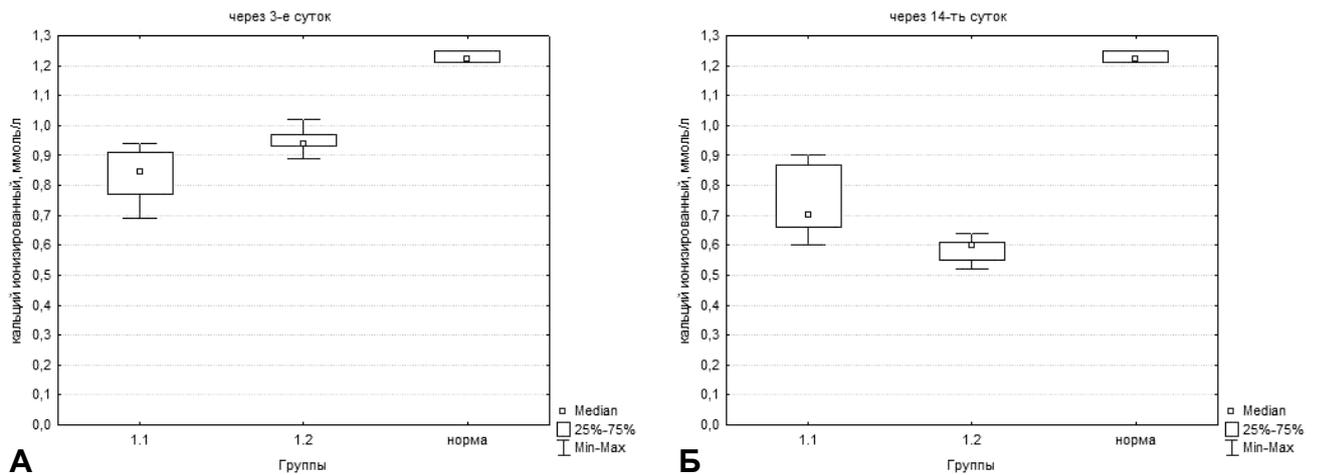


**Рисунок 34** – Уровень ПТГ в венозной крови животных в первой серии исследований в динамике эксперимента: **А** – 3-и сутки исследования; **Б** – 14-е сутки исследования.

При исследовании уровня ионизированного кальция в венозной крови животных в первой серии исследований в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу (таблица 21) выявляли существенное снижение показателя в сравнении с нормальным значением ( $p_U = 0,003$ ). Отметим, что показатель был выше по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,02$ ). Через 14 суток эксперимента уровень ионизированного кальция в группе 1.2 с паратиреоидэктомией по оригинальному способу значительно снизился по сравнению с таковым через 3 суток эксперимента ( $p_W = 0,028$ ), оставался существенно пониженным в сравнении с нормальным значением ( $p_U = 0,003$ ) и был ниже по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,015$ ).

В динамике исследования уровня ионизированного кальция в венозной крови животных в первой серии исследований (рисунок 35) установлено существенное снижение показателя в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу в 1,3 раза через 3 суток по сравнению с нормальным показателем, далее показатель существенно снизился ( $p_W = 0,03$ ) и через 14 суток был ниже в 2 раза по сравнению с нормальным. Различие между максимальным и минимальным значениями уровня ионизированного кальция в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу составило 0,13 ммоль/л через 3 суток и существенно не менялось – через 14 суток оно составило 0,12 ммоль/л. В то же время при исследовании уровня ионизированного кальция в

венозной крови животных в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ отмечено снижение показателя в 1,43 раза через 3 суток, далее показатель снизился ( $p_w = 0,046$ ) и через 14 суток был ниже в 1,74 раза по сравнению с нормальным показателем. Различие между максимальным и минимальным значением составило 0,25 и 0,3 ммоль/л соответственно, что говорит о невозможности стандартизации модели; использование данной модели приведет к трудностям при оценке результатов исследования эффективности способов коррекции изучаемого патологического состояния.



**Рисунок 35** – Уровень ионизированного кальция в венозной крови животных первой серии исследований в динамике эксперимента: **А** – 3-и сутки исследования; **Б** – 14-е сутки исследования.

Таким образом, установлено, что после ПТЭ по оригинальному способу через 3 суток уровень ПТГ снижается в 12,2 раза по сравнению с нормальным показателем, и сохраняется низким до 14-х суток эксперимента. Гипокальциемия развивается на 3-и сутки. Степень тяжести гипокальциемии у всех животных одинакова: через 3 суток отмечается легкая гипокальциемия, через 14 суток – тяжелая.

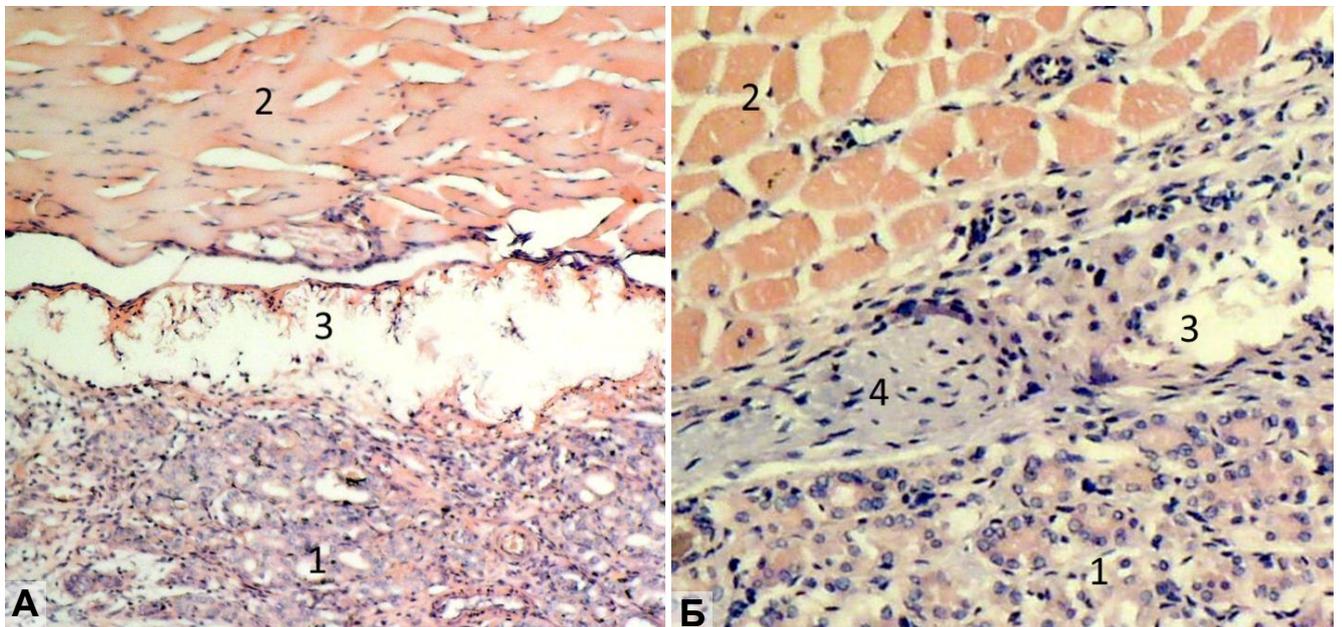
При этом при разрушении ткани ОЩЖ с использованием электрокоагуляции уровень ПТГ ниже нормы на протяжении всего срока наблюдения. Уровень ионизированного кальция снижается через 3 суток, сохраняется пониженным до 14-х суток, однако степень тяжести гипокальциемии различная у животных на одну точку забора – от легкой до тяжелой.

ПТЭ по оригинальному способу позволяет достичь низкого уровня ПТГ в крови и добиться устойчивой гипокальциемии тяжелой степени к 14-м суткам исследования.

#### 4.2.3. Оценка морфологических изменений в области оперативного вмешательства при паратиреоидэктомии разработанным способом

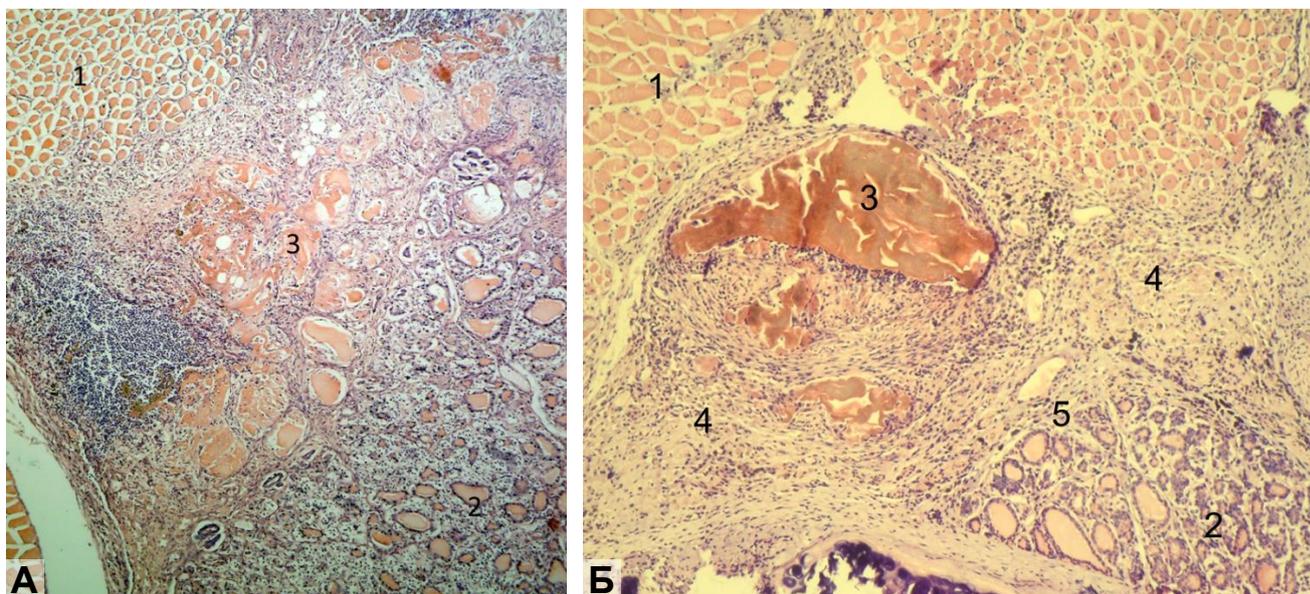
Для оценки воспалительных изменений, контроля полноты ПТЭ нами оценены результаты патоморфологического исследования тканей в области оперативного вмешательства.

При гистологическом исследовании органокомплекса в области оперативного вмешательства через 3 суток эксперимента у животных группы 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу на светооптическом уровне выявлена щитовидная железа, волокна скелетной мышцы без признаков некроза, полость, содержащая массы коралловидной формы (клей «Сульфакрилат») с минимальной реакцией лейкоцитов по периферии (рисунок 36А). При исследовании через 14 суток эксперимента у животных группы 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу определены щитовидная железа с сохраненными фолликулами и формирующаяся «тонкая» соединительнотканная капсула, волокна скелетной мышцы с сосудами, полость с небольшим количеством клея «Сульфакрилат» (рисунок 36Б).



**Рисунок 36** – Организация и инкапсуляция области оперативного вмешательства с использованием клея «Сульфакрилат» у животных в группе 1.2 с ПТЭ по оригинальному способу: **А** – через 3 суток эксперимента (об. 10×, ок. 10×); **Б** – через 14 суток эксперимента (об. 20×, ок. 10×); **1** – щитовидная железа; **2** – скелетная мышца; **3** – полость с клеем «Сульфакрилат»; **4** – соединительная ткань. Окраска гематоксилином и эозином.

При гистологическом исследовании органокомплекса в зоне оперативного вмешательства через 3 суток эксперимента у животных из группы 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ выявлен коагуляционный некроз ткани поверхностных отделов щитовидной железы и прилежащих волокон скелетной мышцы с наличием демаркационной зоны воспаления в виде экссудата из лейкоцитов с сохранившимися участками ткани щитовидной железы и прилежащих волокон скелетной мышцы (рисунок 37А). Через 14 суток эксперимента у животных этой группы при гистологическом исследовании выявлено наличие большого объема развивающейся соединительной ткани с проникновением фибробластов в строму щитовидной железы, коагуляционный некроз скелетной мышцы, диффузная инфильтрация лейкоцитами (рисунок 37Б).



**Рисунок 37** – Организация и инкапсуляция очагов ткани с коагуляционным некрозом в области оперативного вмешательства у животных в группе 1.1: **А** – через 3 суток эксперимента; **Б** – через 14 суток эксперимента; **1** – скелетная мышца; **2** – щитовидная железа; **3** – очаги коагуляционного некроза тканей; **4** – соединительная ткань; **5** – распространение фибробластов в строму щитовидной железы. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10×, ок. 10×.

Таким образом, при гистологическом исследовании тканей в области оперативного вмешательства у животных с ПТЭ по оригинальному способу через 3 суток выявляли щитовидную железу и волокна скелетной мышцы без признаков некроза,

полость, содержащую массы кораллоподобной формы (клей «Сульфакрилат») с минимальной реакцией лейкоцитов по периферии; через 14 суток – щитовидную железу с сохраненными фолликулами и формирующейся «тонкой» соединительнотканной капсулой, волокна скелетной мышцы с сосудами, полость с небольшим количеством клея «Сульфакрилат» без признаков перифокального воспаления и уменьшением рубцового процесса в зоне вмешательства без массивных деструктивных изменений, которые наблюдались в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ.

#### **4.2.4. Оценка функции щитовидной железы после паратиреоидэктомии по разработанному способу**

С целью оценки функции щитовидной железы при моделировании гипоальциемии в условиях ПТЭ были оценены уровни ТТГ, Т3св. и Т4св., представленные в таблице 22.

**Таблица 22** – Результаты сравнительного анализа уровня ТТГ, Т3св. и Т4св. у животных в первой серии исследований (медиана, квантили)

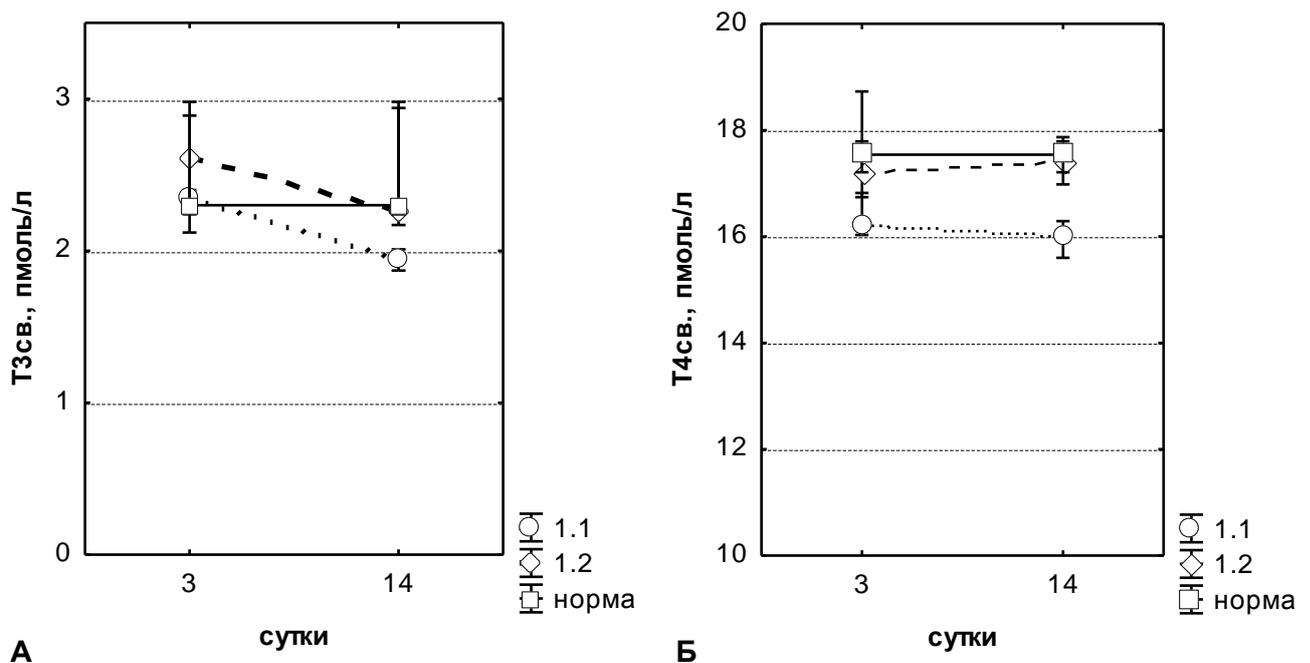
Показатель	Сутки	Группа 1.1	Группа 1.2
ТТГ, мкМЕ/мл	3	0,131 (0,129; 0,134)	0,131 (0,127; 0,133)
	14	0,135 (0,125; 0,136)	0,133 (0,127; 0,133)
	норма	0,132 (0,128; 0,137)	
Т3св., пмоль/л	3	2,35 (2,12; 2,40)	2,62 (2,28; 2,89)
	14	1,94 (1,87; 2,01)*:#	2,3 (2,24; 2,95) <sup>▲</sup>
	норма	2,30 (2,24; 2,98)	
Т4св., пмоль/л	3	16,19 (16,03; 16,82)*	17,18 (16,74; 18,73) <sup>▲</sup>
	14	15,99 (15,60; 16,29)*	17,54 (17,28; 17,64) <sup>▲</sup>
	норма	17,54 (17,21; 17,79)	

**Примечание:** \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормальным показателем; <sup>▲</sup> – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 1.1; # – значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с предыдущим показателем.

При исследовании уровня ТТГ в обеих группах значимых изменений, по сравнению с нормальным показателем, через 3 и 14 суток не выявлено.

При исследовании уровня ТЗсв. через 3 суток в группе 1.2 с паратиреоидэктомией по оригинальному способу (таблица 22) выявляли отсутствие значимых изменений по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,7$ ) и значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,2$ ). Через 14 суток уровень ТЗсв. в группе 1.2 с паратиреоидэктомией по оригинальному способу существенно не менялся ( $p_W = 0,9$ ) и оставался в пределах нормальных значений ( $p_U = 0,8$ ), тогда как в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ изучаемый показатель через 14 суток был значимо ниже по сравнению с группой 1.2 ( $p_U = 0,004$ ) и с нормальным показателем ( $p_U = 0,004$ ).

В динамике исследования уровня ТЗсв. в венозной крови животных в первой серии исследований (рисунок 38А) установлено отсутствие значимых изменений в группе 1.2 с паратиреоидэктомией по оригинальному способу через 3 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,8$ ); далее показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,9$ ) и через 14 суток был в пределах нормальных значений ( $p_U = 0,9$ ). В то же время при исследовании уровня ТЗсв. в венозной крови животных отмечено отсутствие значимых изменений по сравнению с нормальным показателем, в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ через 3 суток, далее показатель значимо снизился ( $p_W = 0,03$ ) и через 14 суток был ниже нормального показателя в 1,2 раза ( $p_U = 0,004$ ).



**Рисунок 38** – Уровень ТЗсв. (А) и Т4св. (Б) в венозной крови животных первой серии исследований в динамике эксперимента.

При исследовании уровня Т4св. через 3-е суток в группе 1.2 с паратиреоидэктомией по оригинальному способу (таблица 22) установлено отсутствие значимых изменений по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,6$ ), повышение по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,04$ ). Через 14 суток уровень Т4св. в группе 1.2 с паратиреоидэктомией по оригинальному способу существенно не менялся ( $p_W = 0,5$ ) и оставался в пределах нормальных значений ( $p_U = 0,9$ ) и повышенным по сравнению с аналогичным показателем в группе 1.1 ( $p_U = 0,004$ ), тогда как в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ изучаемый показатель через 14 суток был значимо ниже по сравнению с таковым в группе 1.2 ( $p_U = 0,004$ ) и с нормальным показателем ( $p_U = 0,004$ ).

В динамике исследования уровня Т4 св. в венозной крови животных в первой серии исследований (рисунок 38Б) установлено отсутствие значимых изменений в группе 1.2 с паратиреоидэктомией по оригинальному способу через 3 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,6$ ); далее показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,5$ ) и через 14 суток был в пределах нормальных значений ( $p_U = 0,9$ ). В то же время при исследовании уровня Т4св. в венозной крови животных первой серии исследований отмечено снижение показателя в 1,08 раза в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ через 3 суток, далее показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,2$ ), и через 14 суток был ниже нормального показателя в 1,1 раза ( $p_U = 0,004$ ).

Таким образом, у животных с ПТЭ по оригинальному способу через 3 и 14 суток после оперативного вмешательства уровни Т3св., Т4св. и ТТГ находились в пределах нормальных значений, что говорит о сохранении нормальной функции щитовидной железы в раннем послеоперационном периоде. При этом разрушение ткани ОЩЖ при помощи электрокоагуляции вызывает гипотиреоидное состояние в течение 14 суток.

### 4.3. Результаты исследований патогенетических механизмов при моделировании гипопаратиреоза по оригинальному способу в условиях сохраненного тиреоидного статуса

#### 4.3.1. Оценка показателей воспаления и неспецифической резистентности при моделированном гипопаратиреозе

Для оценки воспалительной реакции в условиях гипопаратиреоза нами были оценены общее число лейкоцитов и лейкоцитарная формула. Результаты исследования представлены в таблице 23.

**Таблица 23** – Результаты сравнительного анализа количества лейкоцитов, изменений в лейкоцитарной формуле венозной крови у животных в первой серии исследований (медиана, квартили)

Показатель	Сутки	Экспериментальные группы	
		Группа 1.1	Группа 1.2
Лейкоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	3-и	15,8 (14,9; 16,2)*	14,2 (13,2; 14,9)*
	14-е	15,9 (15,6; 16,1)*	11,7 (11,2; 11,8)*; ▲; °
	норма	4,2 (3,5; 4,5)	
Палочкоядерные нейтрофилы (%)	3-и	1,0 (0; 2,0)	0,5 (0; 1,0)
	14-е	0 (0; 0)	0 (0; 0)
	норма	0 (0; 1,0)	
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	3-и	43,5 (42,0; 45,0)*	40,0 (38,0; 41,0)*; ▲
	14-е	42,5 (39,0; 44,0)*	39,5 (36,0; 40,0)*
	норма	35,5 (32,0; 36,0)	
Эозинофилы (%)	3-и	2,5 (1,0; 4,0)	1,0 (0; 1,0)
	14-е	1,0 (0; 2,0)	0,5 (0; 1,0)
	норма	2,0 (1,0; 3,0)	
Моноциты (%)	3-и	2,5 (1,0; 5,0)	4,0 (2,0; 5,0)
	14-е	2,5 (1,0; 4,0)	5,0 (4,0; 6,0)
	норма	4,0 (2,0; 7,0)	
Лимфоциты (%)	3-и	50,5 (48,0; 54,0)*	56,5 (53,0; 57,0)
	14-е	52,0 (51,0; 56,0)*	55,5 (54,0; 57,0)
	норма	59,0 (56,0; 61,0)	

**Примечание:** \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормальным показателем; ▲ – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 1.1; ° – значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с предыдущим показателем.

При исследовании общего числа лейкоцитов у животных в первой серии исследований в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу (таблица 23) через 3 суток выявлено существенное повышение общего числа лейкоцитов по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и отсутствие значимых различий с аналогичным показателем в группе 1.1 ( $p_U = 0,9$ ). Через 14 суток показатель общего числа лейкоцитов в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу существенно снизился ( $p_W = 0,02$ ), но был повышен по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и понижен по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,003$ ). Отметим, что в группе 1.1 показатель общего числа лейкоцитов через 3 суток эксперимента был существенно повышен по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и существенно не менялся по сравнению с показателем предыдущего срока исследования ( $p_W = 0,6$ ).

В динамике исследования общего числа лейкоцитов у животных в первой серии исследований выявлено повышение показателя в 3,7 раза через 3 суток в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу по сравнению с нормальным показателем, далее показатель значимо снизился ( $p_W = 0,02$ ) и через 14 суток был повышен в 2,75 раза по сравнению с нормальным показателем. В то же время в группе 1.1 установлено повышение общего числа лейкоцитов в 3,71 раза через 3 суток, показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,6$ ) и через 14 суток был повышен в 3,34 раза по сравнению с нормальным показателем.

При исследовании лейкоцитарной формулы через 3 суток у животных в первой серии исследований в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу (таблица 23) выявлено повышение доли сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,02$ ) и ее снижение по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,02$ ). Через 14 суток доля сегментоядерных нейтрофилов в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу существенно не менялась ( $p_W = 0,17$ ) и оставалась повышенной по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,04$ ) и имела тенденцию к значимому понижению по сравнению с группой 1.1 ( $p_U = 0,07$ ). Отметим, что в груп-

пе 1.1 доля сегментоядерных нейтрофилов через 3 суток была значительно повышена в сравнении с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и существенно не менялась через 14 суток ( $p_W = 0,6$ ).

В динамике исследования сегментоядерных нейтрофилов у животных в первой серии исследований выявлено повышение показателя в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу через 3 суток на 12,7 %, по сравнению с нормальным показателем, далее показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,17$ ) и через 14 суток был повышен на 9,9 %, по сравнению с нормальным показателем. При этом в группе 1.1 доля сегментоядерных нейтрофилов была повышена на 22,5 % через 3 суток, существенно не изменялась ( $p_W = 0,6$ ) и через 14 суток была повышена на 19,7 %, по сравнению с нормальным показателем.

При исследовании доли лимфоцитов в венозной крови животных в первой серии исследований (таблица 23) в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу установлено отсутствие значимых изменений показателя, по сравнению с нормальным показателем, через 3 и 14 суток ( $p_U = 0,089$ ) и повышение по сравнению с группой 1.1 с тенденцией к значимости ( $p_U = 0,06$  и  $p_U = 0,07$ ). В то же время в группе 1.1 через 3 суток процент лимфоцитов был понижен по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,012$ ), существенно не менялся и через 14 суток был пониженным по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,01$ ).

В динамике исследования доли лимфоцитов в венозной крови животных в первой серии исследований установлено отсутствие значимых изменений показателя в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу через 3 и 14 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_W = 0,7$ ). Отметим, что при исследовании уровня в венозной крови животных в первой серии исследований в группе 1.1 отмечено снижение показателя на 14,4 % через 3 суток по сравнению с нормальным показателем, показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,5$ ) и через 14 суток эксперимента был снижен на 11,9 % по сравнению с нормальным показателем.

Процентное соотношение палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов значимо не отличалось в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза

по оригинальному способу от нормального показателя и значений в группе 1.1 ( $p_U > 0,05$ ).

Для оценки показателя фагоцитарной активности нейтрофилов в условиях гипопаратиреоза нами были оценены фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, нитросиний тетразолий тест спонтанный (НСТ<sub>сп.</sub>), НСТ<sub>инд.</sub> (таблица 24).

**Таблица 24** – Результаты сравнительного анализа изменений показателей фагоцитоза, НСТ-теста венозной крови у животных в первой серии исследований (медиана, квартили)

Показатель	Сутки	Экспериментальные группы	
		Группа 1.1	Группа 1.2
ФИ (%)	3-и	73,5 (69,0; 76,0)*	73,0 (71,0; 76,0)*
	14-е	67,0 (61,0; 69,0) <sup>°</sup>	59,5 (58,0; 62,0)*; <sup>°</sup>
	норма	67,0 (65,0; 70,0)	
ФЧ	3	2,3 (2,1–2,9)*	2,7 (2,2–3,0)*
	14	1,7 (1,6–1,8) <sup>°</sup>	1,6 (1,5–1,6)*; <sup>°</sup>
	Норма	1,8 (1,8–1,9)	
НСТ <sub>сп.</sub> (%)	3	15,0 (10,0; 19,0)*	13,0 (9,0; 16,0)*
	14	12,0 (10,0; 15,0)*	5,0 (4,0; 6,0) <sup>▲</sup> ; <sup>°</sup>
	Норма	4,0 (4,0; 5,0)	
НСТ <sub>инд.</sub> (%)	3	20,5 (20,0; 22,0)*	19,0 (16,0; 23,0)*
	14	22,5 (22,0; 24,0)*	10,5 (10,0; 12,0) <sup>▲</sup> ; <sup>°</sup>
	Норма	7,0 (5,0; 9,0)	

**Примечание:** \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормальным показателем; <sup>▲</sup> – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 1.1; <sup>°</sup> – значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с предыдущим показателем.

При исследовании фагоцитарной активности через 3 суток в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу (таблица 24) выявляли значимое повышение ФИ по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,01$ ) и отсутствие существенных различий со значением данного показателя в группе 1.1 ( $p_U = 0,8$ ). Через 14 суток ФИ в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу существенно снизился ( $p_W = 0,03$ ) и был существенно ниже нормального показателя ( $p_U = 0,01$ ). Отметим, что при сравне-

нии с группой 1.1 показатель был ниже с тенденцией к значимости ( $p_U = 0,07$ ), при этом в группе 1.1 выявлено повышение ФИ через 3 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,04$ ) и его нормализация через 14 суток ( $p_U = 0,8$ ).

В динамике исследования фагоцитарной активности нейтрофилов в венозной крови животных в первой серии исследований установлено повышение показателя на 6 % в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу через 3-е суток по сравнению с нормальным показателем, далее показатель значимо снизился ( $p_W = 0,03$ ) и через 14 суток был ниже нормального показателя на 7 %. В то же время при исследовании ФИ нейтрофилов в венозной крови животных в первой серии исследований в группе 1.1 отмечено повышение показателя на 6,5 % через 3 суток по сравнению с нормальным показателем, через 14 суток показатель существенно снизился ( $p_W = 0,03$ ) и не имел различий с нормальным показателем.

При исследовании поглотительной способности нейтрофилов у животных в первой серии исследований в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу (таблица 24) выявлено повышение ФЧ через 3 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,02$ ), далее показатель существенно снизился ( $p_W = 0,02$ ) и через 14 суток был понижен по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,004$ ). При этом в группе 1.1 отмечено повышение ФЧ через 3 суток ( $p_U = 0,003$ ), далее показатель снизился ( $p_W = 0,02$ ) и через 14 суток значимо не отличался от нормального показателя ( $p_U = 0,1$ ).

В динамике исследования поглотительной способности нейтрофилов в венозной крови животных в первой серии исследований в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу установлено повышение ФЧ через 3 суток в 1,5 раза по сравнению с нормальным показателем, далее показатель значимо снизился ( $p_W = 0,02$ ) и был снижен через 14 суток в 1,13 раза по сравнению с нормальным показателем. При этом в группе 1.1 отмечено повышение ФЧ в 1,28 раза через 3 суток, его снижение ( $p_W = 0,02$ ) и отсутствие различий по сравнению с нормальным показателем – через 14 суток.

При исследовании кислородзависимой биоцидности нейтрофилов у животных в первой серии исследований через 3 суток в группе 1.2 с моделированием

гипопаратиреоза по оригинальному способу (таблица 24) установлено существенное повышение  $\text{HCT}_{\text{сп.}}$  по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,007$ ), далее показатель снижался ( $p_W = 0,04$ ) и через 14 суток был в пределах нормальных значений ( $p_U = 0,4$ ) и был существенно понижен по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,003$ ). В то же время в группе 1.1  $\text{HCT}_{\text{сп.}}$  через 3 суток был значительно повышен по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ), значимо не менялся ( $p_W = 0,9$ ) и был повышен через 14 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и со значением в группе 1.2 ( $p_U = 0,003$ ).

В динамике исследования кислородзависимой биоцидности нейтрофилов в венозной крови животных в первой серии исследований установлено резкое повышение показателя  $\text{HCT}_{\text{сп.}}$  в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу в 3,25 раза через 3 суток по сравнению с нормальным показателем, далее показатель значимо снижался ( $p_W = 0,04$ ) и не имел значимых различий по сравнению с нормальным показателем через 14 суток. В то же время в группе 1.1 отмечено резкое повышение  $\text{HCT}_{\text{сп.}}$  в 3,75 раза через 3 суток, через 14 суток показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,9$ ) и был повышен в 3 раза по сравнению с нормальным показателем.

Подобная динамика выявлена при исследовании функционального резерва нейтрофилов.

При исследовании функционального резерва нейтрофилов у животных первой серии исследований в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу (таблица 24) установлено резкое повышение  $\text{HCT}_{\text{инд.}}$  по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и отсутствие значимых изменений по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,3$ ) через 3-е суток, далее показатель существенно снизился ( $p_W = 0,02$ ) и через 14 суток был в пределах нормальных значений ( $p_U = 0,4$ ) и существенно понижен по сравнению со значением в группе 1.1 ( $p_U = 0,003$ ). В то же время в группе 1.1 через 3 суток  $\text{HCT}_{\text{инд.}}$  был значительно повышен по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ), значимо не менялся ( $p_W = 0,2$ ) и через 14 суток был повышен по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,0038$ ) и со значением в группе 1.2 ( $p_U = 0,003$ ).

В динамике исследования функционального резерва нейтрофилов в венозной крови животных в первой серии исследований в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу установлено резкое повышение показателя  $\text{HCT}_{\text{инд.}}$  в 1,6 раза через 3 суток и его нормализация ( $p_{\text{W}} = 0,02$ ) через 14 суток эксперимента, тогда как в группе 1.1 через 3-е суток отмечено резкое повышение  $\text{HCT}_{\text{инд.}}$  в 1,7 раза, через 14 суток показатель значимо не менялся ( $p_{\text{W}} = 0,2$ ) и был повышен в 1,9 раза по сравнению с нормальным показателем.

Таким образом, в группе 1.2 с моделированием гипопаратиреоза по оригинальному способу в раннем послеоперационном периоде выявлено повышение общего количества лейкоцитов. Через 14 суток отмечено снижение общего числа лейкоцитов, что свидетельствует о регрессии воспаления. Показатели фагоцитарной активности и поглотительной способности нейтрофилов были повышены через 3 суток, далее снизились и были понижены через 14 суток. При оценке состояния кислородзависимого механизма бактерицидности нейтрофилов выявлено восстановление показателя степени активации через 14 суток и сохранение функционального резерва.

Установлено, что в группе 1.1 с электрокоагуляцией ОЩЖ повышается общее число лейкоцитов, которое сохраняется и через 14 суток после операции, что говорит о продолжающемся воспалении. Выявлена высокая активность фагоцитоза и поглотительная активность нейтрофилов через 3 суток с восстановлением их через 14 суток эксперимента. Через 3 суток отмечено повышение показателей степени активации НАДФ-Н-оксидазной системы и отсутствие значимого снижения через 14 суток при сохранении резервных возможностей внутриклеточных систем фагоцитов.

#### ***4.3.2. Характеристика лабораторных изменений у животных при моделировании гипопаратиреоза по оригинальному способу через 30 суток эксперимента***

После установления преимуществ моделирования гипопаратиреоза по разработанному способу по сравнению со способом разрушения ОЩЖ при помощи электрокоагуляции, мы изучили изменения лабораторных показателей через 30 суток после паратиреоидэктомии по оригинальному способу. Результаты представлены в таблице 25.

**Таблица 25** – Результаты исследования показателей воспаления, неспецифической резистентности, паратиреоидного статуса и ионизированного кальция у животных через 30 суток после паратиреоидэктомии по оригинальному способу

Показатель	Группа 1.2	Интактные животные
Кальций ионизированный (мМ)	0,42 (0,38; 0,44)*: °	1,22 (1,21; 1,25)
ПТГ (пг/мл)	2,0 (1,0; 3,0)*	30,5 (30,0; 32,0)
Лейкоциты ( $\times 10^9$ /л)	9,9 (9,2; 10,2)*: °	4,3 (3,5; 4,5)
Палочкоядерные нейтрофилы (%)	1,0 (0; 1,0)	0 (0; 1,0)
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	36,0 (30,0; 39,0)	35,5 (32,0; 36,0)
Эозинофилы (%)	1,0 (0; 2,0)	2,0 (1,0; 3,0)
Моноциты (%)	3,5 (2,0; 6,0)	4,0 (2,0; 7,0)
Лимфоциты (%)	58,5 (56,0; 63,0)	59,0 (56,0; 61,0)
ФИ (%)	60 (57,0; 62,0)	67,0 (65,0; 70,0)
ФЧ	1,6 (1,5; 1,7)*	1,8 (1,8; 1,9)
НСТ <sub>сп.</sub> (%)	1,5 (1,0; 2,0)*: °	4,0 (4,0; 5,0)
НСТ <sub>инд.</sub> (%)	3,5 (2,0; 8,0)*: °	12,0 (10,0; 14,0)

**Примечание:** \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни, по сравнению с интактными животными; ° – значимые различия по критерию Вилкоксона, по сравнению с исследованием через 14 суток ( $p < 0,05$ ).

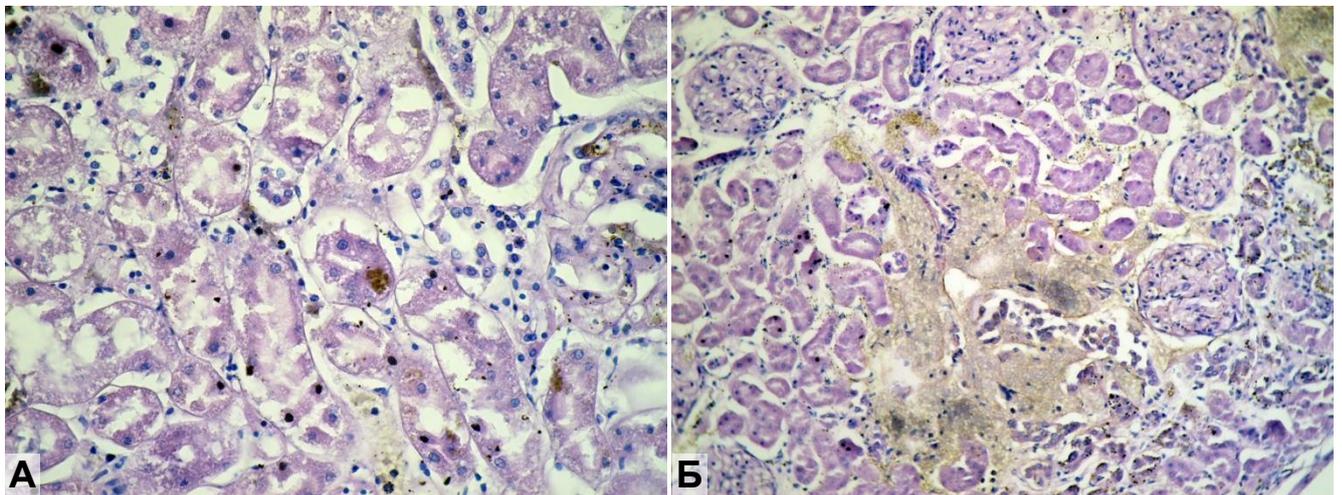
Через 30 суток после паратиреоидэктомии по оригинальному способу выявлено сохранение сниженного уровня ПТГ ( $p_U = 0,004$ ) и усугубление гипокальциемии ( $p_U = 0,003$ ) (значимое снижение ионизированного кальция по сравнению с исследованием через 14 суток,  $p_W = 0,027$ ). При анализе результатов исследования показателей воспаления, неспецифической резистентности, у животных с гипопаратиреозом в условиях сохраненного тиреоидного статуса отмечено снижение общего числа лейкоцитов по сравнению с исследованием через 14 суток ( $p_W = 0,028$ ), при этом показатель остается выше значений интактных животных ( $p_U = 0,004$ ), сохранение пониженного ФЧ ( $p_U = 0,034$ ), а также значимое снижение показателей НСТ<sub>сп.</sub> и НСТ<sub>инд.</sub> по сравнению с исследованием через 14 суток ( $p_W = 0,027$ ; 0,046), значения находятся ниже показателей интактных животных ( $p_U = 0,004$ ; 0,019).

Таким образом, через 30 суток экспериментальная модель гипопаратиреоза на крысах по оригинальному способу с сохраненным тиреоидным статусом характеризуется выраженным снижением уровней ПТГ, ионизированного кальция, снижением неспецифической резистентности и наличием воспалительной реакции.

### ***4.3.3. Патоморфологические изменения в тканях органов погибших животных при моделировании гипопаратиреоза по оригинальному способу***

Для оценки патологических изменений в органах у погибших животных с моделированным гипопаратиреозом по оригинальному способу нами проведено патоморфологическое исследование.

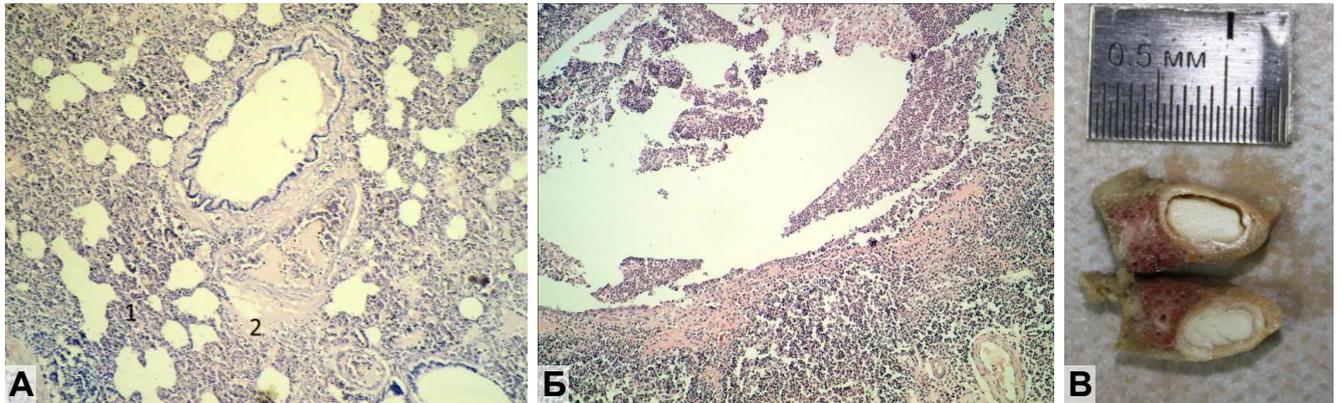
При морфологическом исследовании почек крыс, погибших на 21-е сутки, отмечали отёк, расширение мезангия клубочков, вакуолизацию и отек клеток эпителия канальцев нефронов (рисунок 39А). На 29-е сутки выявляли уменьшение размера клубочков, дистрофические изменения клеток эпителия нефронов, кровоизлияния (рисунок 39Б).



**Рисунок 39** – Морфологические изменения в почках животных после моделирования гипокальциемии по оригинальному способу. **А** – смерть на 21-е сутки. Гидропическая дистрофия клеток эпителия нефронов. Окраска гематоксилином и эозином, об. 20×, ок. 10×. **Б** – смерть на 29-е сутки. Кровоизлияние в паренхиму коры почки. Окраска гематоксилином и эозином, об. 10×, ок. 10×.

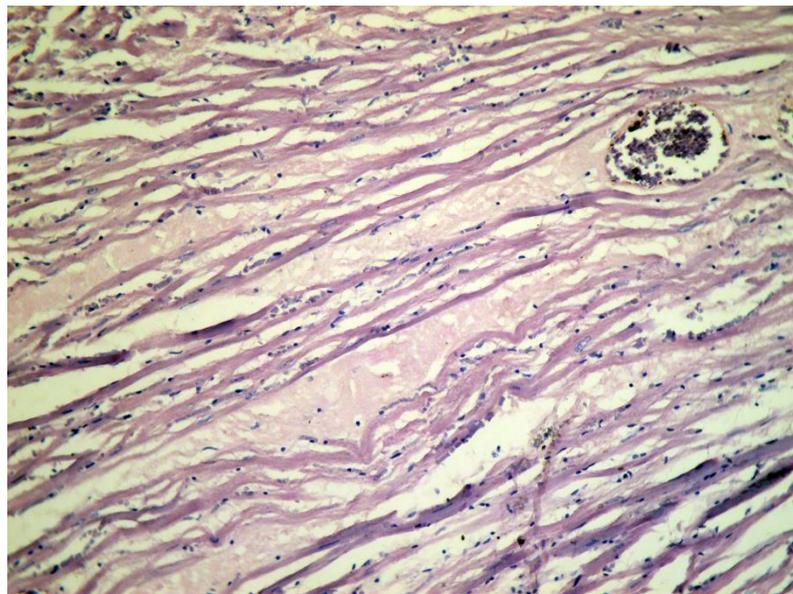
Морфологические изменения в легких крыс, погибших на 21-е сутки после моделирования гипопаратиреоза по оригинальному способу, проявлялись признаками бронхоспазма, утолщением межальвеолярных перегородок с инфильтрацией паренхимы лимфоцитами, макрофагами (рисунок 40А). При заборе материала у крыс, погибших на 29-е сутки после операции, при аутопсии в ткани легкого отмечали наличие абсцессов (рисунок 40Б). При световой микроскопии обнаружи-

вали выраженную межзубчатую пневмонию с массивными очагами некрозов и участками абсцедирования (рисунок 40В).



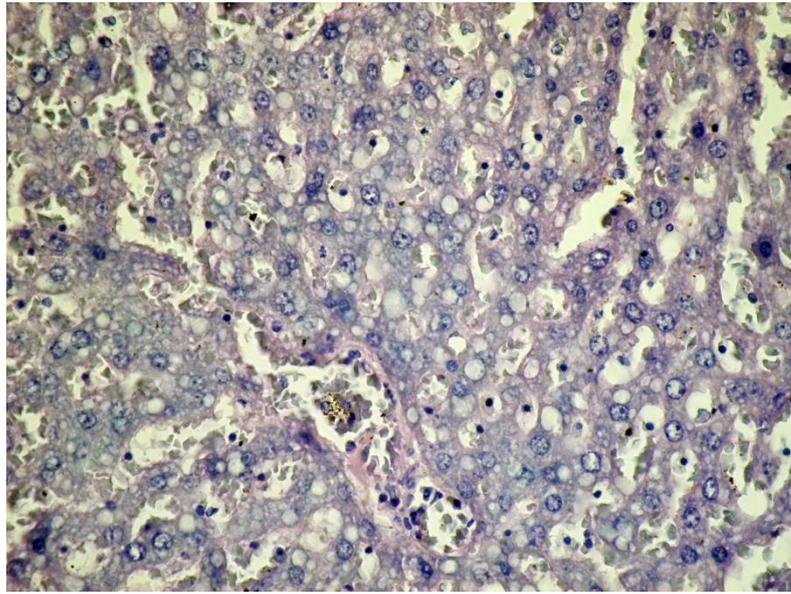
**Рисунок 40** – Морфологические изменения в легких крыс, погибших после моделирования гипокальциемии по оригинальному способу. **А** – смерть на 21-е сутки. Межузчатая пневмония: **1** – расширение межальвеолярных перегородок, дистелектазы; **2** – отек. **Б** – смерть на 27-е сутки. Абсцедирующая пневмония. Окраска гематоксилином и эозином, об. 4×, ок. 10×. **В** – макроскопическая картина абсцесса легкого (смерть на 29-е сутки).

При исследовании миокарда выявляли периваскулярное скопление жидкости, отек стромы, разобщение кардиомиоцитов, извитой ход мышечных волокон (рисунок 41).



**Рисунок 41** – Морфологические изменения в миокарде крыс, погибших после моделирования гипокальциемии по оригинальному способу. Смерть на 29-е сутки. Отёк стромы; дистрофические изменения кардиомиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, об. 10×, ок. 10×.

При микроскопии печени выявляли признаки дистрофии гепатоцитов (рисунок 42).



**Рисунок 42** – Морфологические изменения в печени крыс, погибших после моделирования гипокальциемии по оригинальному способу. Смерть на 29-е сутки. Жировая дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, об. 20×, ок. 10×.

Таким образом, при морфологическом исследовании тканей органов погибших животных в условиях тяжелой некорригированной гипокальциемии в отдаленном послеоперационном периоде развивались бронхоспазмы, нарушения дыхательной функции, что приводило к развитию воспалительных изменений в тканях легкого – от межлочечковой пневмонии до формирования абсцессов легких.

Изменения в почках в условиях тяжелой некорригированной гипокальциемии в отдаленном послеоперационном периоде характеризовались отеком, расширением мезангия клубочков, вакуолизацией и отеком клеток эпителия канальцев нефронов, уменьшением размера клубочков, дистрофическими изменениями клеток эпителия нефронов, наличием кровоизлияний в паренхиме почки, что свидетельствует о грубых электролитных нарушениях, приводящих к морфологическим признакам почечной недостаточности.

В миокарде выявляли дистрофические изменения кардиомиоцитов, извитой ход мышечных волокон, что свидетельствует о грубых электролитных нарушениях, приводящих к морфологическим признакам сердечной недостаточности.

В тканях печени выявляли дистрофические изменения, что свидетельствовало о печеночной недостаточности.

Таким образом, в условиях тяжелой некорригированной гипокальциемии в отдаленном послеоперационном периоде развивается полиорганная недостаточность, приводящая к гибели животных.

**Резюме.** При разработке способа моделирования гипокальциемии в условиях ПТЭ, приближенной по своим характеристикам к клиническому процессу, с формированием устойчивой тяжелой гипокальциемии и сохранением тиреоидного статуса нами за основу была взята известная модель.

Проведенное топографо-анатомическое исследование выявило особенность строения ОЩЖ у самок в зависимости от возраста. Установлено, что к возрасту 10 месяцев у самок формируется выраженная капсула ОЩЖ с выбуханием над поверхностью щитовидной железы и четкими границами, ветви *a. thyroidea cranialis* визуализируются в паренхиме щитовидной железы с огибанием ОЩЖ. Выявленная особенность позволяет рекомендовать крыс самок линии Wistar десятимесячного возраста для ПТЭ.

Установлено что при угловом разрезе кожи с формированием косынкообразного лоскута при доступе к ОЩЖ удается сместить кожный шов от области щитовидной железы, что позволяет улучшить течение репаративных процессов и предотвратить вовлечение щитовидной железы в формирование рубца.

Выявлено, что удаление ОЩЖ с резекцией 0,1 мм прилежащей ткани щитовидной железы с использованием микрохирургической техники обеспечивает устойчивое снижение уровня ПТГ, кальция крови. За счет такого объема операции исключена возможность регенерации ОЩЖ.

Нанесение клея «Сульфакрилат» обеспечило надежный гемостаз раневой поверхности щитовидной железы, явилось дополнительной профилактикой раневых осложнений за счет антисептических свойств клея. Модель была воспроизведена в 100 % случаев.

Установлено, что после ПТЭ по оригинальному способу через 3 суток уровень ПТГ существенно снижается по сравнению с нормальным показателем и со-

храняется низким до 30-х суток эксперимента. Гипокальциемия развивается на 3-и сутки. Степень тяжести гипокальциемии у всех животных одинакова: через 3 суток отмечается легкая гипокальциемия, через 30 суток – тяжелая. В группе животных с разрушением ткани ОЩЖ электрокоагуляцией степень тяжести гипокальциемии была различна – от легкой до тяжелой степени.

При гистологическом исследовании тканей в области оперативного вмешательства у животных с ПТЭ по оригинальному способу выявляли щитовидную железу с сохраненными фолликулами и формирующейся «тонкой» соединительнотканной капсулой, волокна скелетной мышцы с сосудами, полость с небольшим количеством клея «Сульфакрилат» без признаков перифокального воспаления и уменьшением рубцового процесса в зоне вмешательства при массивных деструктивных, воспалительных изменениях с очагами некроза щитовидной железы в группе контроля с электрокоагуляцией ОЩЖ.

Установлено, что у животных с ПТЭ по оригинальному способу через 3 и 14 суток после оперативного вмешательства уровни ТЗсв., Т4св., ТТГ находились в пределах нормальных значений, что говорит о сохранении нормальной функции щитовидной железы в раннем послеоперационном периоде. При этом разрушение ткани ОЩЖ при помощи электрокоагуляции вызывает гипотиреоидное состояние в течение 14 суток.

У животных с ПТЭ по оригинальному способу через 3 и 14 суток после оперативного вмешательства выявляли более низкие показатели воспаления по сравнению с животными группы контроля, которые характеризовались существенным понижением общего числа лейкоцитов, доли сегментоядерных нейтрофилов и увеличением лимфоцитов.

Установлено, что ПТЭ по оригинальному способу приводит к меньшей летальности в раннем послеоперационном периоде на 5-е сутки по сравнению с разрушением ткани ОЩЖ при помощи электрокоагуляции ( $p_F = 0,04$ ), выявленная закономерность сохраняется до 20-х суток исследования, что можно связать с отсутствием осложнений операции, которые в раннем послеоперационном периоде приводят к летальному исходу у животных, в отдаленном периоде с 21-х суток

существенных отличий в группах не выявлено, однако в группе с моделированием гипокальциемии по оригинальному способу количество умерших животных было меньше, чем в группе сравнения. К 30-м суткам летальность составила 40 %.

В патогенезе гипопаратиреоза с тяжелой некорригированной гипокальциемией и сохраненным тиреоидным статусом в отдаленном послеоперационном периоде развивается полиорганная недостаточность: в легких – бронхоспазмы, развитие воспалительных изменений – от межочечной пневмонии до формирования абсцессов; изменения в почках в условиях тяжелой некорригированной гипокальциемии в отдаленном послеоперационном периоде характеризовались отёком, расширением мезангия клубочков, вакуолизацией и отеком клеток эпителия канальцев нефронов, уменьшением размера клубочков, дистрофическими изменениями клеток эпителия нефронов, наличием кровоизлияний в паренхиме почки; в миокарде выявляли дистрофические изменения кардиомиоцитов, извитой ход мышечных волокон; в тканях печени выявляли дистрофические изменения.

Сочетание нескольких приемов позволило смоделировать стойкий гипопаратиреоз с тяжелой гипокальциемией при отсутствии летальности, связанной с осложнениями операции, со снижением показателей воспалительной реакции, улучшением течения регенеративного процесса в зоне оперативного вмешательства.

В результате первой серии исследований разработан способ моделирования ПОГПТ с контролируемыми параметрами, отличительными приемами которого явились отбор животных по половозрастному критерию, использование углового разреза кожи с формированием косынообразного лоскута, ПТЭ с резекцией ткани щитовидной железы на 0,1 мм, применение клея «Сульфакрилат».

Возникшие метаболические нарушения после ПТЭ разработанным способом характеризуются стойким снижением уровня ПТГ в 15 раз, по сравнению с нормальным показателем, тяжелой гипокальциемией, сохранением тиреоидного статуса, снижением неспецифической резистентности через 30 суток. В патогенезе гипопаратиреоза развиваются изменения в легких в виде бронхоспазма с формированием абсцедирующей пневмонии, в почках – отек и деструкция эпителия

клубочков, в миокарде – дистрофические изменения, что приводит к развитию полиорганной недостаточности, к 30-м суткам летальность составляет 40 %.

В эксперименте на крысах установлено, что через 30 суток после моделирования гипопаратиреоза по оригинальному способу в условиях сохраненного тиреоидного статуса одним из ключевых механизмов исхода метаболических нарушений является снижение неспецифической резистентности организма. Следующим этапом нашей работы была разработка патогенетически обоснованного способа коррекции гипопаратиреоза с тяжелой гипокальциемией в условиях сохраненного тиреоидного статуса.

## ГЛАВА 5. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ГИПОПАРАТИРЕОЗА АУТОТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ОКОЛОЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Для решения поставленной задачи была проведена вторая серия исследований с использованием 54 крыс-самок линии Wistar в возрасте 10 месяцев. Всем животным было выполнено моделирование гипопаратиреоза по оригинальному способу. Затем, в зависимости от способа воздействия, животные были распределены на группы следующим образом: группа № 2.1 ( $n = 18$ ) – проведена заместительная терапия альфакальцидолом и препаратами кальция; группа № 2.2 ( $n = 18$ ) – проведена АТ фрагмента ОЩЖ в широчайшую мышцу спины; группа № 2.3 ( $n = 18$ ) – выполнена АТ КК ОЩЖ в широчайшую мышцу спины. На первом этапе была выполнена серия исследований *in vitro* по получению КК ОЩЖ для трансплантации.

### 5.1. Результаты стендовых исследований *in vitro*

#### *Дезагрегация ткани околощитовидной железы*

Для выделения клеток ОЩЖ нами были использованы способы, представленные в таблице 26.

На первом этапе нами был использован способ механической дезагрегации ОЩЖ. При исследовании мазков-отпечатков после механической дезагрегации ткани ОЩЖ определяли конгломераты клеток (по 100 и более) и клеточный детрит. Полученную таким путем взвесь трудно стандартизировать по составу и разделить на фракции ввиду больших размеров фрагментов. Минимальное количество полученных клеток из одной пары ОЩЖ составило  $0,1 \times 10^4$ . Жизнеспособность изолированных клеток во взвеси, полученной методом механической дезагрегации, составила 41,5 (41–44) %. Отсутствие диссоциации крупных конгломератов клеток приводило к большой потере клеток при механической дезагрегации, поэтому да-

лее нами был применен способ выделения клеток с использованием трипсинизации ткани ОЩЖ. Выход изолированных клеток составил  $0,6 (0,5-0,7) \times 10^4$  на две ОЩЖ при содержании жизнеспособных клеток 74,0 (74,0–76,0) %.

**Таблица 26** – Сравнительная эффективность способов выделения клеток ОЩЖ (медиана, нижний и верхний квартили)

Способ выделения клеток	<i>n</i>	Удельный вес жизнеспособных клеток (%)	Кол-во клеток, полученных из одной пары ОЩЖ ( $\times 10^4$ )
Механическая дезагрегация ткани ОЩЖ	32	41,5 (41,0; 44,0)*	0,10 (0,09; 0,12)*
Трипсинизация ткани ОЩЖ	32	64,5 (59,0; 67,0)*	0,65 (0,60; 0,80)*
Комбинированный способ дезагрегации (разработанный)	128	99,5 (98,0; 100,0)	1,00 (0,95; 1,00)

**Примечание:** \* – значимые различия показателя ( $p_U < 0,05$ ) по сравнению с комбинированным методом дезагрегации.

Учитывая небольшой выход клеток и низкую жизнеспособность при использовании известных методик дезагрегации ткани, нами была разработана собственная методика получения клеток ОЩЖ, в основу которой были положены протоколы для получения бычьих клеток ОЩЖ М. L. Brandi et al. (1986) и клеток островков Лангерганса С. А. Лепеховой (2007) с использованием комбинированной диссоциации с применением коллагеназы на начальном этапе.

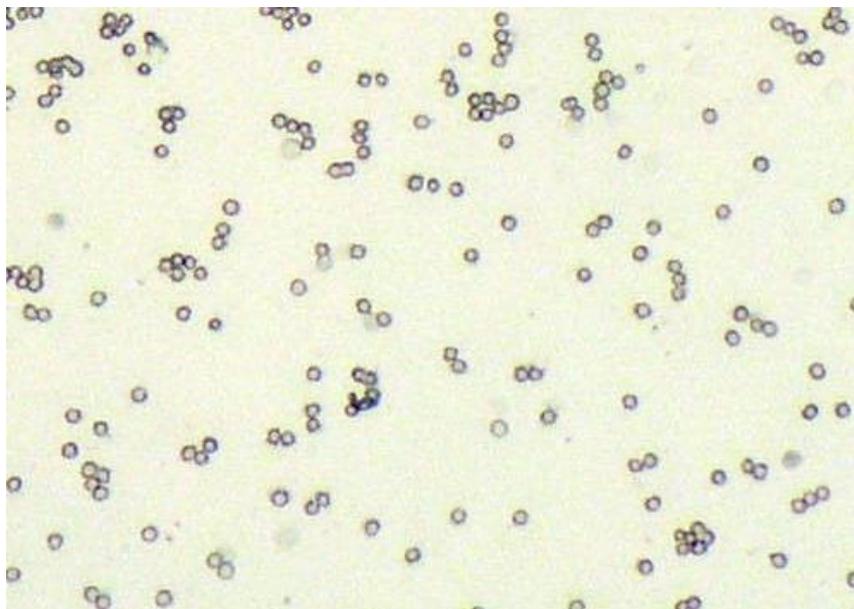
Используя разработанную методику, добивались выделения жизнеспособных изолированных клеток и клеточных фрагментов (не более 10 клеток в ассоциации) ОЩЖ кроликов, поскольку культивирование более крупных конгломератов клеток сопровождается некрозом клеток центральной области. Данная степень диссоциации позволяет облегчить подсчет клеток в камере Горяева и стандартизировать полученную взвесь клеток по составу и количеству.

Центрифугированием клеток достигали очистки клеточной суспензии и удаления клеточного детрита, элементов периферической крови, крупных фрагментов, поврежденных клеток. Выбранный способ дезагрегации позволил получить взвесь изолированных клеток и микрофрагментов по 2–4 клетки.

В результате применения разработанной методики количество выделенных клеток составило  $1,00 \times 10^4$  (0,95; 1,00) с жизнеспособностью 99,5 % (98,0–

100,0 %), что существенно выше по сравнению с методами механической дезагрегации ( $p_U = 0,003$  и  $p_U = 0,003$  соответственно) и трипсинизации ОЦЖ ( $p_U = 0,004$  и  $p_U = 0,003$  соответственно).

При цитологическом исследовании биоматериала, полученного по модифицированной нами методике, сразу после выделения состав клеточной суспензии был представлен темными и светлыми клетками, с единичными более крупными клетками (ацидофильными). Иногда клетки располагались группами по 2–5, встречались апоптозные тела. Ядра клеток расположены преимущественно в центре гомогенной цитоплазмы (рисунок 43).



**Рисунок 43** – Клетки ОЦЖ после выделения из органа. Нативный мазок, без окраски. Об. 100×, ок. 10×.

Следующим этапом исследований *in vitro* был подбор рациональных условий для культивирования полученной взвеси клеток ОЦЖ.

### ***Оптимизация pH среды для культивирования клеток***

Как известно из работы С. А. Лепеховой, снижение pH рабочих растворов ниже 7,2 (расчетная величина pH стандартных питательных сред RPMI, 199, Хенкса) после погружения в них взвеси выделенных клеток сопровождается уменьшением количества жизнеспособных клеток. В этой связи отдельная серия экспе-

риментов *in vitro* в нашей работе была посвящена поиску оптимального рН среды для клеточного культивирования.

Для выявления оптимального уровня рН нами были произведены 2 серии стендовых экспериментов, в которых производили инкубацию клеток ОЩЖ в течение 1 часа в стандартных условиях. В процессе инкубации происходило изменение рН раствора в сторону защелачивания. После инкубации производили оценку степени жизнеспособности взвеси клеток ОЩЖ кроликов. Полученные результаты исследования жизнеспособности клеток при культивировании в средах с различной рН представлены в таблице 27.

**Таблица 27** – Изменение рН питательной среды после размещения в ней выделенных клеток и показатель их жизнеспособности во взвеси после инкубации в термостате при 37 °С в течение 1 часа (медиана, нижний и верхний квартили)

Исходное значение рН питательной среды	рН среды после размещения клеточной взвеси ( $n = 6$ )	Жизнеспособность, через 2 часа культивирования (%)
7,10	7,30 (7,29; 7,31)	74,0 (70,0; 85,5)
7,30	7,41 (7,38; 7,42)	91,0 (87,0; 98,5)
7,50	7,60 (7,59; 7,61)	57,5 (50,5; 64,0)

**Примечание:** показатель жизнеспособности и объем внесенных клеток до инкубации был одинаковым во всех сериях наблюдений.

Нами было выявлено повышение рН в среднем на 0,2 при исходных значениях рН среды 7,1. При повышении рН питательной среды до 7,5 ее защелачивание после размещения клеток было менее выраженным ( $\Delta$ рН = 0,1), однако привело к более значимому снижению доли жизнеспособных клеток.

Максимальная жизнеспособность клеток была установлена при исходном рН среды 7,3,  $\Delta$ рН составила 0,11. Следовательно, исходный показатель рН среды для культивирования с учетом закономерного защелачивания среды должен составлять 7,3.

### ***Культивирование клеток околотитовидной железы***

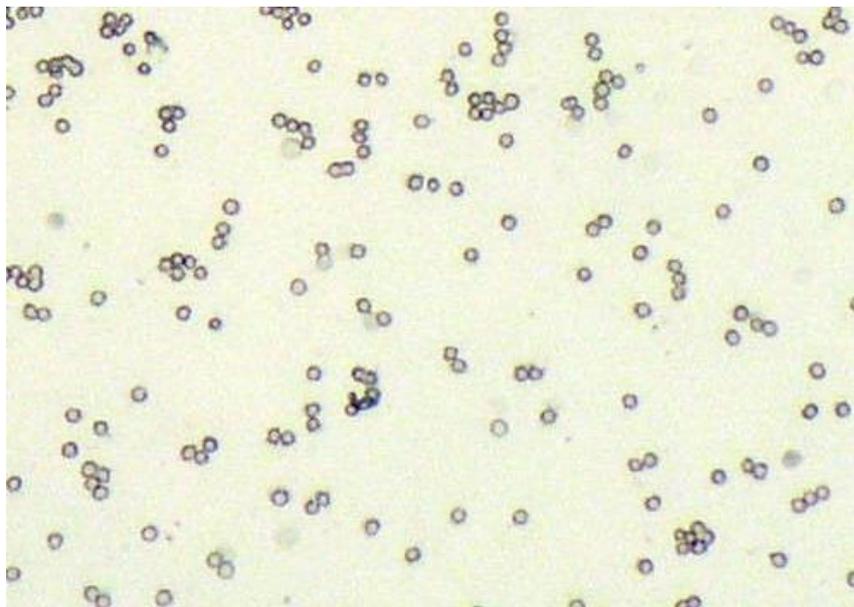
Среда для культивирования клеток ОЩЖ крысы с рН раствора, равной 7,3. Состав среды: среда RPMI 1640 является основой; трансферрин – 1 мкг/мл; глу-

тамин – 0,3 мкг/мл; сыворотка эмбриональная телячья кат. № K055 – 1 мл на 10 мл среды. рН среды составлял 7,3 (добивались титрованием стерильным раствором HCl, непосредственно перед применением).

В процессе 3-суточного культивирования количество выделенных клеток ОЩЖ было увеличено на 50,9 % (50,0–52,4 %). Длительность культивирования была выбрана на основании известных данных о приобретении клетками в культуре к 3-м суткам культивирования максимальной пролиферативной активности, клетки формировали крупные конгломераты и практически достигали монослоя [63].

При цитологическом исследовании по окончании культивирования (рисунок 44) в препарате обнаруживали преимущественно ассоциации, состоящие из светлых и темных клеток, единичных более крупных (ацидофильных) клеток. Встречались и разрозненные клетки. Ядра всех клеток и цитоплазма имели четкие контуры. Апоптозных тел не выявляли.

Таким образом, нами была получена культура клеток ОЩЖ, состоящая преимущественно из светлых клеток с содержанием  $4,05 (3,80–4,30) \times 10^4$  клеток в 1 мл взвеси и удельным весом жизнеспособных клеток 99 % (98; 100).



**Рисунок 44** – Клетки ОЩЖ крысы после культивирования в течение трех суток. Группы клеток, состоящие из темных, светлых и ацидофильных клеток. Натив. Об. 10×, ок. 10×.

Во взвеси выделенных из ОЩЖ клеток наибольшее количество было изолированных друг от друга клеток, составившее 92,5 % (90,5; 95,0); после культивирования преобладали клеточные ассоциации, изолированных клеток было 40,0 % (36,0; 45,0) ( $p_w = 0,011$ ).

При исследовании питательной среды после культивирования клеток ОЩЖ уровень ПТГ составил 753,0 пг/мл (690,0; 764,4), что свидетельствовало о сохраненной функциональной активности клеток.

Полученный в результате выделения из ОЩЖ комбинированным методом дезагрегации и культивированием в течение 3 суток клеточный материал будет обозначен как культура клеток ОЩЖ. Разработанную технологию использовали для получения КК ОЩЖ, полученных от крыс.

### ***Получение препарата и аутотрансплантация***

Трансплантацию производили путем инъекции в край широчайшей мышцы спины справа. Количество трансплантируемых клеток ОЩЖ крысы, составило  $2 \times 10^4$  в 0,5 мл взвеси, что определено на основе работ С. А. Лепеховой [1]. Область трансплантации определена с учетом анатомических и поведенческих особенностей крысы и количества вводимого объема взвеси КК ОЩЖ.

## **5.2. Влияние аутотрансплантации культуры клеток околощитовидной железы на метаболические нарушения при гипопаратиреозе**

### ***5.2.1. Оценка летальности и выживаемости при коррекции гипопаратиреоза разработанным способом***

Для оценки течения ПОГПТ нами были оценены показатели летальности в группах в течение 30 суток. Характеристика показателей летальности и выживаемости представлена в таблице 28.

При исследовании летальности у животных во второй серии исследований в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу летальность регистрировали с 28-х суток (таблица 28). Всего погибла 1 крыса, и к 30-м суткам эксперимента летальность составила 10 %. В то же время в группе 2.1 летальность начинали регистрировать

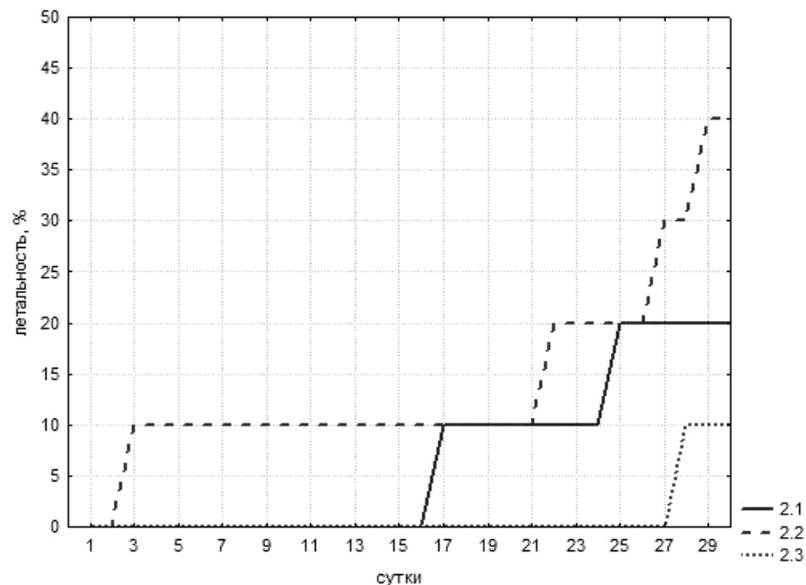
с 17-х суток, всего погибло 2 животных, и летальность к 30-м суткам составила 20 %. В группе 2.2 летальность начинали регистрировать с 3-х суток, всего погибло 4 крысы, и летальность к 30-м суткам составила 40 %.

**Таблица 28** – Показатели летальности и выживаемости во второй серии исследований

Группы	Количество умерших животных, сутки							Живы / погибли к 30-м суткам	Летальность, %	Выживаемость	Стандартная ошибка
	3	17	22	25	27	28	29				
2.1		1		1				8 / 2	20 %	0,8	0,12
2.2	1		1		1		1	6 / 4	40 %	0,6	0,15
2.3						1		9 / 1	10 %	0,9	0,09

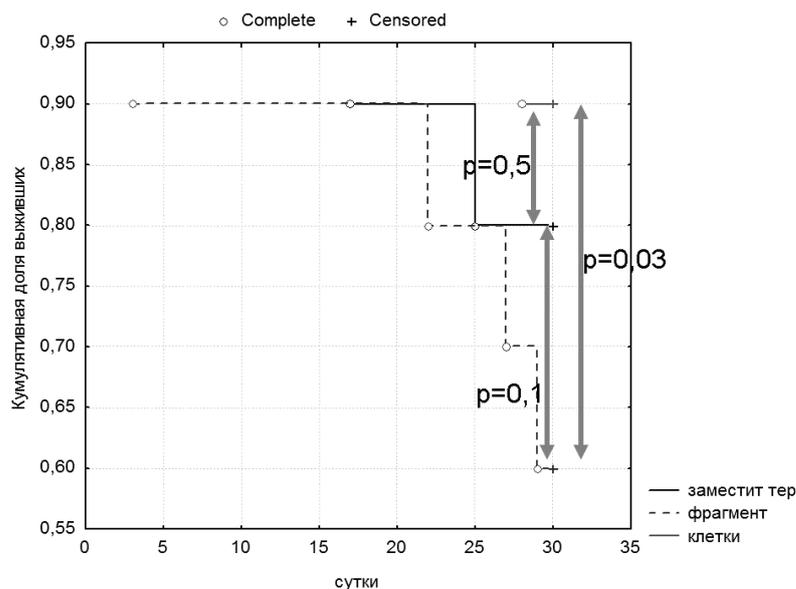
**Примечание:** 2.1 – заместительная терапия; 2.2 – аутотрансплантация фрагментов ОЦЖ; 2.3 – аутотрансплантация культуры клеток ОЦЖ.

В динамике исследования летальности у животных во второй серии исследований (рисунок 45) установлено, что в группе 2.3 с АТ КК ОЦЖ в мышцу летальность не выявляли до 28-х суток эксперимента, значимых различий в летальности между группами не было ( $p_F > 0,05$ ).



**Рисунок 45** – Летальность животных во второй серии исследований.

Показатель выживаемости был рассчитан по методу Каплана – Мейера (рисунок 46).



**Рисунок 46** – Кумулятивная доля выживших животных во второй серии исследований, Значимость отличий ( $p$ ) рассчитана при помощи F-критерия Кокса.

При исследовании выживаемости у животных во второй серии исследований в группе 2.3 с АТ КК ОЦЖ в мышцу кумулятивная доля выживших составила 0,9, была значимо выше по сравнению с аналогичным показателем в группе 2.2 ( $p = 0,03$ ) и не имела значимых отличий по сравнению с показателем в группе 2.1 ( $p = 0,5$ ).

Таким образом, выживаемость повышалась при коррекции гипопаратиреоза АТ КК ОЦЖ по сравнению с таковой при АТ фрагмента и не отличалась от таковой при заместительной терапии альфакальцидолом и кальция глюконатом.

### ***5.2.2. Оценка эффективности аутотрансплантации культуры клеток околицитовидной железы после паратиреоидэктомии в условиях сохраненного тиреоидного статуса***

Эффективность АТ КК ОЦЖ оценивали по уровню ПТГ и ионизированного кальция в сыворотке животных. Результаты исследований представлены в таблице 29.

При исследовании уровня ПТГ в сыворотке венозной крови в группе 2.3 через 3 суток после трансплантации культуры аутологичных клеток ОЦЖ в мышцу (таблица 29) выявлено существенно снижение ПТГ по сравнению с

нормальным значением ( $p_U = 0,003$ ), при этом показатель был существенно выше по сравнению с таковым в группах 2.1 ( $p_U = 0,004$ ) и 2.2 ( $p_U = 0,07$ ). Через 14 суток уровень ПТГ в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу значительно повысился ( $p_W = 0,02$ ), существенно не отличался от нормального показателя ( $p_U = 0,052$ ) и был выше по сравнению с показателями в группах 2.1 ( $p_U = 0,003$ ) и 2.2 ( $p_U = 0,009$ ). При исследовании уровня ПТГ в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу через 30 суток выявлено повышение показателя по сравнению с предыдущим сроком исследования ( $p_W = 0,04$ ), уровень ПТГ существенно не отличался от нормального показателя ( $p_U = 0,7$ ), был значительно выше по сравнению с показателем в группах 2.2 ( $p_U = 0,01$ ) и 2.1 ( $p_U = 0,003$ ).

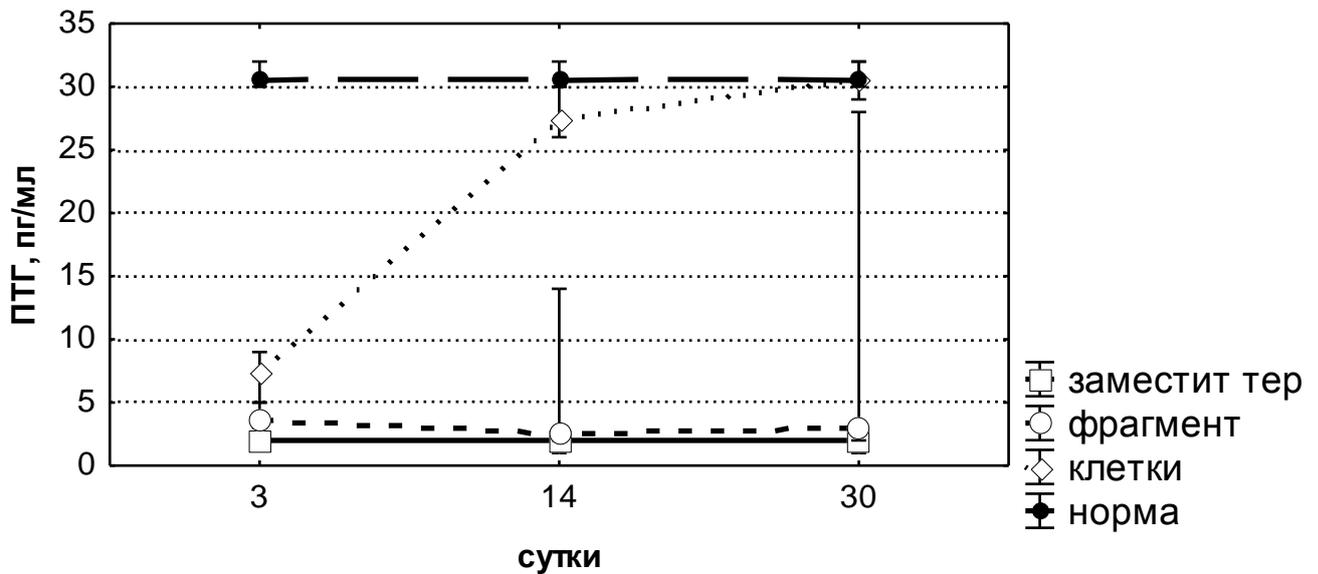
**Таблица 29** – Результаты сравнительного анализа уровня ионизированного кальция и ПТГ у животных во второй серии исследований (медиана, квартили)

Показатель	Сутки	Экспериментальные группы		
		2.1	2.2	2.3
ПТГ, пг/мл	3-и	2,0 (2,0; 3,0)*; ▲	3,5 (3,0; 5,0)*; #	7,5 (5,0; 9,0)*; ▲; #
	14-е	2,0 (1,0; 3,0)*	2,5 (2,0; 14,0)*	27,5 (26,0; 30,0)▲; #
	30-е	2,0 (1,0; 3,0)*	3,0 (2,0; 28,0)*	30,5 (29,0; 32,0)▲; #
	норма	30,5 (30,0; 32,0)		
Кальций ионизированный, ммоль/л	3-и	0,92 (0,88; 1,01)*	0,89 (0,85; 0,97)*	0,93 (0,80; 0,96)*
	14-е	1,18 (1,12; 1,23)▲	0,73 (0,61; 0,96)*; #	1,22 (1,19; 1,23)▲
	30-е	1,25 (1,20; 1,31)▲	0,61 (0,48; 1,19)*; #	1,23 (1,20; 1,25)▲
	норма	1,22 (1,21; 1,25)		

**Примечание:** \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормальным показателем; # – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 2.1; ▲ – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 2.2.

В динамике исследования уровня ПТГ в сыворотке венозной крови животных во второй серии исследований (рисунок 47) установлено резкое снижение показателя в группе 2.3 в 4 раза через 3 суток по сравнению с нормальным показателем, затем уровень ПТГ в группе 2.3 повысился ( $p_W = 0,02$ ) и значительно не отличался от нормального показателя через 14 и 30 суток ( $p_U = 0,52$  и  $p_U = 0,7$  соответственно). В то же время при исследовании уровня ПТГ в венозной крови животных второй серии исследований установлено резкое снижение в группе 2.2 в

8,7 раз, 12,2 раза и 10,2 раза через 3, 14 и 30 суток соответственно по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ,  $p_U = 0,003$  и  $p_U = 0,04$  соответственно); в группе 2.1 установлено резкое снижение уровня ПТГ в 15,3 раза через 3 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ), далее показатель существенно не менялся ( $p_W = 0,9$  и  $p_W = 0,6$  соответственно).

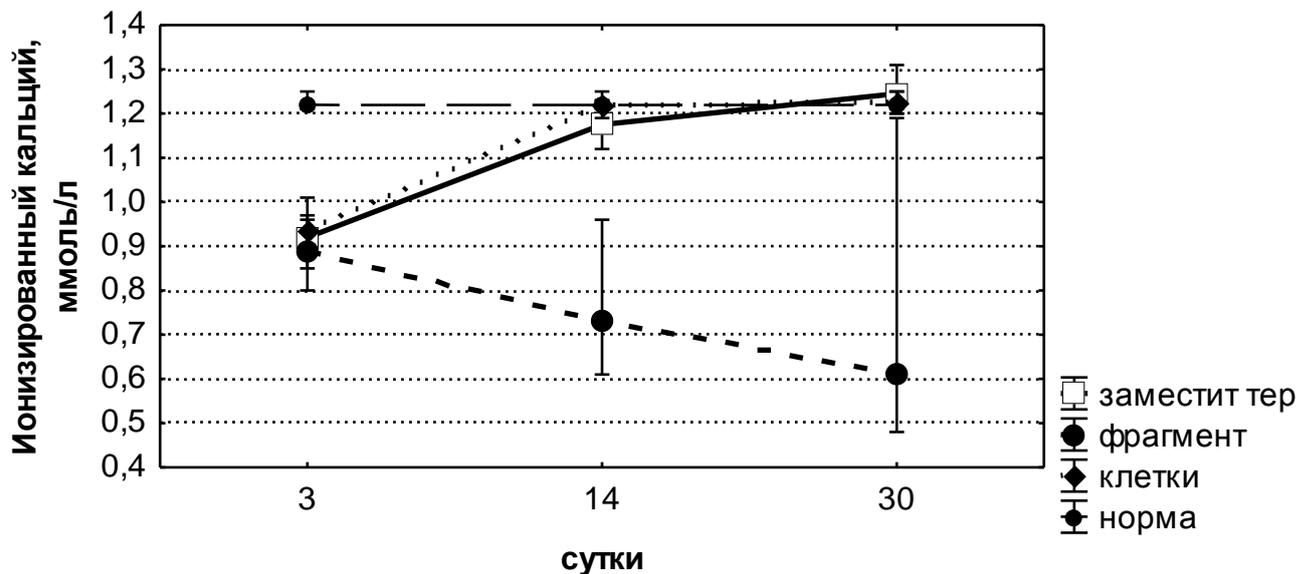


**Рисунок 47** – Уровень ПТГ в сыворотке венозной крови животных во второй серии в динамике эксперимента.

При исследовании уровня ионизированного кальция в сыворотке венозной крови животных в группе 2.3 через 3 суток после АТ КК ОЦЖ в мышцу (таблица 29) установлено значимое снижение уровня ионизированного кальция по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ); по сравнению с показателями в группах 2.1 и 2.2 существенных отличий не выявлено ( $p_U = 0,7$  и  $p_U = 1,0$  соответственно). Через 14 суток уровень ионизированного кальция группе 2.3 с АТ КК ОЦЖ в мышцу повысился ( $p_W = 0,02$ ) и существенно не отличался от нормального показателя ( $p_U = 0,5$ ) и показателя в группе 2.1 ( $p_U = 0,5$ ), был значимо выше показателя в группе 2.2 ( $p_U = 0,01$ ). При исследовании уровня ионизированного кальция через 30 суток в группе 2.3 с АТ КК ОЦЖ в мышцу показатель значимо не изменялся по сравнению с предыдущим сроком исследования ( $p_W = 0,9$ ) и существенно не отличался от нормального

показателя ( $p_U = 0,6$ ) и показателя в группе 2.1 ( $p_U = 0,4$ ), был значимо выше показателя в группе 2.2 ( $p_U = 0,01$ ).

В динамике исследования уровня ионизированного кальция в венозной крови животных первой серии исследований (рисунок 48) установлено снижение показателя в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу на 0,29 ммоль/л через 3 суток по сравнению с нормальным показателем, далее показатель в группе значимо повысился ( $p_W = 0,02$ ) и существенно не отличался от нормального показателя через 14 и 30 суток ( $p_U = 0,5$  и  $p_U = 0,6$  соответственно). При этом в динамике исследования уровня ионизированного кальция в сыворотке венозной крови животных второй серии исследований выявлено снижение показателя в группе 2.2 через 3 суток на 0,33 ммоль/л ( $p_U = 0,003$ ), на 0,49 ммоль/л через 14 суток ( $p_U = 0,003$ ) и в 2 раза – через 30 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ); установлено снижение уровня ионизированного кальция в группе 2.1 через 3 суток по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ), затем показатель повысился ( $p_W = 0,04$ ) и через 14 и 30 суток значимо не отличался от нормального ( $p_U = 0,2$ ;  $p_U = 0,8$ ).



**Рисунок 48** – Уровень ионизированного кальция в сыворотке венозной крови животных во второй серии в динамике эксперимента.

Таким образом, в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу отмечается нормализация уровней ПТГ и ионизированного кальция через 11 суток после трансплантации и сохраняется в пределах нормальных значений через 30 суток после моделирования гипокальциемии. В то же время в группе 2.2 с АТ фрагмента ОЩЖ нормализация уровней ПТГ и ионизированного кальция отмечена у 2 животных через 30 суток (33 %). В группе 2.1 с проведением заместительной терапии препаратами альфакальцидол и кальция глюконат уровень ПТГ оставался значительно сниженным на протяжении всего срока наблюдения, уровень ионизированного кальция нормализовался через 14 суток после моделирования гипокальциемии и сохранялся в пределах нормальных значений через 30 суток.

### ***5.2.3. Результаты исследования влияния ауотрансплантации культуры клеток околотитовидной железы на показатели воспаления***

Для оценки влияния АТ КК ОЩЖ на показатели воспаления при гипопаратиреозе нами были оценены общее число лейкоцитов и лейкоцитарная формула, результаты представлены в таблице 30.

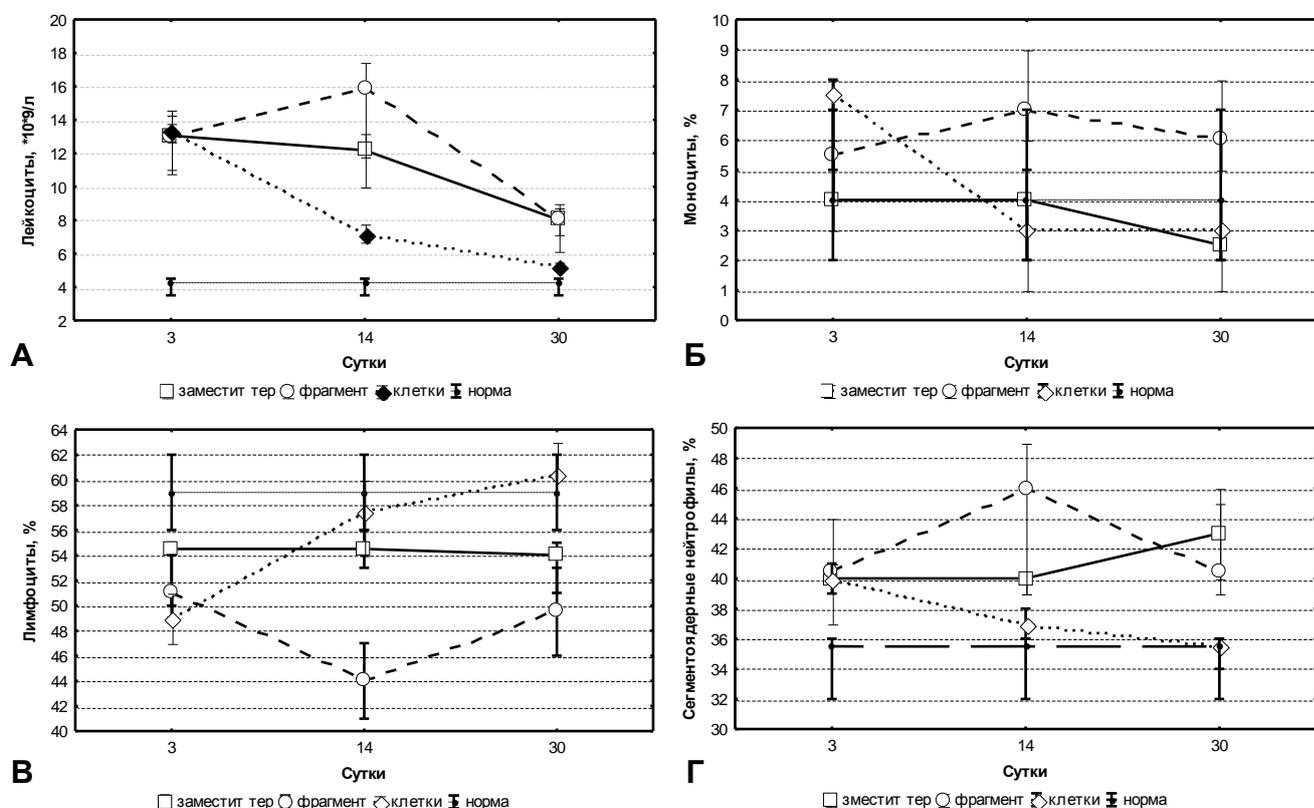
При исследовании общего числа лейкоцитов в группе 2.3 через 3 суток после трансплантации культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу выявлено существенное повышение общего числа лейкоцитов по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и отсутствие значимых различий по сравнению с показателями в группах 2.2 ( $p_U = 0,8$ ) и 2.1 ( $p_U = 1,0$ ). Через 14 суток в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу общее число лейкоцитов существенно снизилось ( $p_W = 0,02$ ), оставалось значимо выше по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$ ) и было существенно ниже по сравнению с показателями в группах 2.2 ( $p_U = 0,004$ ) и 2.1 ( $p_U = 0,004$ ). При исследовании общего числа лейкоцитов через 30 суток в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу отмечено снижение показателя по сравнению с предыдущим сроком исследования ( $p_W = 0,02$ ), показатель был выше по сравнению с нормальным ( $p_U = 0,003$ ) и ниже по сравнению с показателями в группах 2.2 ( $p_U = 0,006$ ) и 2.1 ( $p_U = 0,003$ ).

**Таблица 30** – Результаты сравнительного анализа количества лейкоцитов, изменений в лейкоцитарной формуле венозной крови у животных во второй серии исследований (медиана, квартили)

Показатель	Сутки	Экспериментальные группы		
		2.1	2.2	2.3
Лейкоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	3-и	13,1 (10,8; 14,6)*	12,9 (11,1; 14,3)*	13,3 (12,7; 13,8)*
	14-е	12,2 (11,8; 13,2)*	15,9 (10,0; 17,5)*	7,1 (6,7; 7,8)*; #; ▲; °
	30-е	8,0 (7,2; 9,0)*; °	8,1 (6,2; 8,8)*; °	5,3 (5,3; 5,5)*; #; ▲; °
	норма	4,3 (3,5; 4,5)		
Палочкоядерные нейтрофилы (%)	3-и	0 (0; 1,0)	0 (0; 1,0)	0 (0; 1,0)
	14-е	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
	30-е	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
	норма	0 (0; 1,0)		
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	3-и	40,0 (40,0; 41,0)*	40,5 (37,0; 44,0)*	40,0 (39,0; 41,0)*
	14-е	40,0 (39,0; 40,0)*	46,0 (39,0; 49,0)*	37,0 (36,0; 38,0)▲; °
	30-е	43,0 (40,0; 46,0)*	40,5 (39,0; 45,0)*	35,5 (34,0; 36,0)#; ▲
	норма	35,5 (32,0; 36,0)		
Эозинофилы (%)	3-и	1,5 (1,0; 2,0)	1,5 (1,0; 2,0)	3,0 (2,0; 5,0)
	14-е	2,0 (2,0; 3,0)	4,5 (3,0; 5,0)	2,5 (2,0; 3,0)
	30-е	0,5 (0; 1,0)	3,0 (1,0; 5,0)	1,5 (1,0; 2,0)
	норма	2,0 (1,0; 3,0)		
Моноциты (%)	3-и	4,0 (3,0; 6,0)	5,5 (4,0; 8,0)	7,5 (5,0; 8,0)
	14-е	4,0 (1,0; 4,0)▲	7,0 (6,0; 9,0)#	3,0 (2,0; 5,0)#; ▲
	30-е	2,5 (1,0; 4,0)▲	6,0 (5,0; 8,0)#	3,0 (2,0; 3,0)#; ▲
	норма	4,0 (2,0; 7,0)		
Лимфоциты (%)	3-и	54,5 (50,0; 55,0)*	51,0 (49,0; 54,0)*	49,0 (47,0; 51,0)*
	14-е	54,5 (53,0; 56,0)*; ▲	44,0 (41,0; 47,0)*; °	57,5 (54,0; 60,0)▲; °
	30-е	54,0 (51,0; 55,0)*	49,5 (46,0; 53,0)*	60,5 (60,0; 63,0)▲; °
	норма	59,0 (56,0; 61,0)		

**Примечание:** \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормальным показателем; # – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 2.1; ▲ – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 2.2; ° – значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с предыдущим показателем.

В динамике исследования общего числа лейкоцитов в венозной крови животных второй серии исследований (рисунок 49А) установлено резкое повышение показателя в 3 раза в группе 2.3 через 3 суток после трансплантации культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу по сравнению с нормальным значением ( $p_U = 0,003$ ), далее показатель снизился в 1,9 раза через 14 суток ( $p_W = 0,02$ ) и в 1,3 раза через 30 суток по сравнению с предыдущим сроком исследования ( $p_W = 0,02$ ). На протяжении всего срока наблюдения общее число лейкоцитов было выше по сравнению с нормальным показателем ( $p_U < 0,05$ ). В динамике исследования общего числа лейкоцитов отмечено резкое повышение показателя в 3 раза в группах 2.2 и 2.1 по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,003$  и  $p_U = 0,003$  соответственно), далее в обеих группах показатель значимо не менялся ( $p_W = 0,34$  и  $p_W = 0,46$  соответственно) и был выше нормального значения в 3,75 раза в группе 2.2 и в 2,8 раза – в группе 2.3. Общее число лейкоцитов снизилось в группах 2.2 и 2.3 через 30 суток ( $p_W = 0,02$  и  $p_W = 0,02$  соответственно) и было выше, по сравнению с нормальным значением, в 1,9 раза в группе 2.2 ( $p_U = 0,003$ ) и в 1,9 раза – в группе 2.1 ( $p_U = 0,003$ ).



**Рисунок 49** – Общее число лейкоцитов (А), доля моноцитов (Б), сегментоядерных нейтрофилов (В) и лимфоцитов (Г) в венозной крови животных во второй серии исследований в динамике эксперимента.

При исследовании доли палочкоядерных нейтрофилов в группе 2.3 с трансплантацией культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу значимых изменений, в сравнении с нормальным показателем, не выявлено.

При исследовании доли сегментоядерных нейтрофилов в группе 2.3 через 3 суток после трансплантации культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу (таблица 30) установлено повышение показателя по сравнению с нормальным значением ( $p_U = 0,006$ ) и отсутствие значимых отличий по сравнению с показателями в группах 2.2 ( $p_U = 1,0$ ) и 2.1 ( $p_U = 0,8$ ). При исследовании доли сегментоядерных нейтрофилов в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ через 14 суток выявлено снижение показателя по сравнению с предыдущим сроком исследования ( $p_W = 0,04$ ) и отсутствие существенных различий по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,1$ ). По сравнению с показателем в группе 2.1 доля сегментоядерных нейтрофилов в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу была ниже с тенденцией к значимости ( $p_U = 0,052$ ) и существенно ниже по сравнению с показателем в группе 2.2 ( $p_U = 0,01$ ). Через 30 суток доля сегментоядерных нейтрофилов в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу значимо не изменилась ( $p_W = 0,07$ ) и не отличалась от нормального показателя ( $p_U = 1,0$ ), была существенно ниже по сравнению с показателями в группах 2.2 ( $p_U = 0,007$ ) и 2.1 ( $p_U = 0,003$ ).

В динамике исследования доли сегментоядерных нейтрофилов в венозной крови животных во второй серии исследований установлено (рисунок 49В) повышение показателя в группе 2.3 через 3 суток после трансплантации аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу, по сравнению с нормальным значением, на 4,5 %, далее показатель значимо снизился ( $p_W = 0,04$ ) и через 14 и 30 суток не имел значимых отличий от нормального показателя. В то же время в группах 2.2 и 2.1 через 3 суток выявлено повышение, по сравнению с нормальным показателем, доли сегментоядерных нейтрофилов на 5 % и 4,5 % соответственно, которое значимо не менялось через 14 ( $p_W = 0,2$  и  $p_W = 1,0$  соответственно) и 30 ( $p_W = 0,4$  и  $p_W = 0,3$  соответственно) суток.

При исследовании доли моноцитов в группе 2.3 с трансплантацией культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу значимых изменений, в сравнении с нормальным показателем, не выявлено (рисунок 49Б).

При исследовании доли лимфоцитов в группе 2.3 через 3 суток после трансплантации культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу (таблица 30) установлено значимое снижение показателя по сравнению с нормальным значением ( $p_U = 0,005$ ), при этом отсутствовали значимые отличия по сравнению с показателем в группах 2.2 ( $p_U = 0,2$ ) и 2.1 ( $p_U = 0,06$ ). При исследовании доли лимфоцитов в группе 2.3 с аутотрансплантацией культуры клеток ОЩЖ в мышцу через 14 суток выявлено повышение показателя по сравнению с предыдущим сроком исследования ( $p_W = 0,04$ ) и отсутствие существенных различий по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,4$ ). По сравнению с показателем в группе 2.1 доля сегментоядерных нейтрофилов в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу значимых отличий не имела ( $p_U = 0,2$ ) и была существенно выше по сравнению с показателем в группе 2.2 ( $p_U = 0,003$ ). Через 30 суток доля лимфоцитов в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу повысилась ( $p_W = 0,03$ ) и не отличалась от нормального показателя ( $p_U = 0,3$ ), была существенно выше по сравнению с показателями в группах 2.2 ( $p_U = 0,004$ ) и 2.1 ( $p_U = 0,003$ ).

В динамике исследования доли лимфоцитов в венозной крови животных во второй серии исследований установлено (рисунок 49Г) снижение показателя в группе 2.3 через 3 суток после трансплантации аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу, по сравнению с нормальным значением, на 10 %, далее показатель значительно повысился через 14 суток ( $p_W = 0,04$ ) и находился в пределах нормальных значений ( $p_U = 0,3$ ), через 30 суток показатель повысился ( $p_W = 0,03$ ) и также значимом не отличался от нормального показателя ( $p_U = 0,3$ ). В то же время в группе 2.2 через 3 суток выявлено повышение доли сегментоядерных нейтрофилов на 8 % по сравнению с нормальным показателем, далее показатель снизился ( $p_W = 0,03$ ) и через 14 и 30 суток был ниже нормального показателя. При этом в группе 2.1 через 3 суток выявлено снижение доли лимфоцитов на 4,5 % и отсутствие значимых изменений через 14 ( $p_W = 0,7$ ) и 30 суток ( $p_W = 0,8$ ).

Таким образом, под влиянием аутотрансплантации культуры клеток околотитовидных желез при коррекции гипопаратиреоза в условиях сохраненного ти-

реоидного статуса происходит значимое уменьшение лейкоцитоза, восстановление лейкоцитарной формулы, что свидетельствует регрессии воспаления.

#### ***5.2.4. Результаты исследования влияния аутотрансплантации культуры клеток околотитовидной железы на показатели неспецифической резистентности организма***

Учитывая роль кальция в регуляции иммунного ответа и известные данные о влиянии избыточной концентрации ПТГ на состояние иммунного статуса, мы посчитали необходимым, исследование показателей иммунного ответа 1-го порядка у животных после паратиреоидэктомии по разработанному способу и различных методах коррекции гипопаратиреоза в раннем послеоперационном периоде в условиях сохраненного тиреоидного статуса.

Динамика исследования показателей иммунного ответа 1-го уровня через 3, 14 и 30 суток представлена в таблице 31.

При исследовании ФИ у животных в группе 2.3 с трансплантацией культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу (таблица 31) установлено отсутствие значимых отличий, по сравнению с нормальным показателем, через 3, 14 и 30 суток ( $p_U = 0,2$ ,  $p_U = 0,7$  и  $p_U = 0,7$  соответственно). Значимые отличия выявлены через 14 суток по сравнению с показателем в группах 2.1 ( $p_U = 0,03$ ) и 2.2 ( $p_U = 0,04$ ), где выявлено существенное снижение показателя по сравнению с нормальным значением ( $p_U = 0,04$  и  $p_U = 0,03$  соответственно).

При исследовании ФЧ у животных в группе 2.3 с трансплантацией культуры аутологичных клеток ОЩЖ в мышцу (таблица 31) установлено отсутствие значимых отличий, по сравнению с нормальным показателем, через 3, 14 и 30 суток ( $p_U = 0,8$ ,  $p_U = 0,1$  и  $p_U = 0,6$  соответственно). При исследовании через 14 и 30 суток ФЧ в группе 2.3 с аутотрансплантацией культуры клеток ОЩЖ в мышцу было значимо выше по сравнению с показателем в группах 2.1 ( $p_U = 0,01$  и  $p_U = 0,005$  соответственно) и 2.2 ( $p_U = 0,004$  и  $p_U = 0,06$  соответственно).

**Таблица 31** – Результаты сравнительного анализа изменений показателей фагоцитов, НСТ-теста венозной крови у животных во второй серии исследований (Me (Q25; Q75))

Показатель	Сутки	Экспериментальные группы				
		1.2	2.1	2.2	2.2 ФТ	2.3
ФИ (%)	3-и	73 (71,0; 76,0)*	63,5 (59,0; 70,0) <sup>◇</sup>	68,5 (61,0; 71,0)	62,5 (57,0; 68,0)	69,0 (67,0; 72,0)
	14-е	59,5 (58,0; 62,0)*; <sup>○</sup>	53,5 (52,0; 58,0)*; <sup>○</sup>	60,5 (60,0; 61,0)*	61,0 (60,0; 62,0)	64,0 (61,0; 68,0) <sup>#; ▲</sup>
	30-е	60 (57,0; 62,0)	59,5 (54,0; 66,0)	61,5 (60,0; 66,0)	66,0 (62,0; 70,0)	66,5 (65,0; 68,0) <sup>#</sup>
	норма	67,0 (65,0; 70,0)				
ФЧ	3-и	2,7 (2,2; 3,0)*	2,4 (1,8; 2,7)	1,9 (1,7; 2,1) <sup>◇</sup>	1,9 (1,8; 2,0)	1,9 (1,7; 2,1)
	14-е	1,6 (1,5; 1,6)*; <sup>○</sup>	1,8 (1,5; 1,9)	1,6 (1,5; 1,6)*	1,6 (1,5; 1,6)*	1,9 (1,9; 2,0) <sup>◇; #; ▲; △</sup>
	30-е	1,6 (1,5; 1,7)*	1,5 (1,3; 1,6)*; <sup>▲; △</sup>	1,6 (1,5; 1,8) <sup>#</sup>	1,9 (1,8; 1,9) <sup>#</sup>	1,9 (1,8; 2,0) <sup>◇; #</sup>
	норма	1,8 (1,8; 1,9)				
НСТ <sub>сп.</sub> (%)	3-и	13,0 (9,0; 16,0)*	2,5 (1,0; 4,0) <sup>◇</sup>	3,5 (2,0; 5,0) <sup>◇</sup>	3,5 (3,0; 4,0) <sup>◇</sup>	4,5 (4,0; 6,0) <sup>◇</sup>
	14-е	5,0 (4,0; 6,0) <sup>○</sup>	1,5 (1,0; 2,0)*; <sup>◇</sup>	1,5 (1,0; 2,0)*; <sup>◇</sup>	1,5 (1,0; 2,0)*; <sup>◇</sup>	3,5 (3,0; 4,0) <sup>◇; #; ▲; △</sup>
	30-е	1,5 (1,0; 2,0)*; <sup>○</sup>	1,0 (0; 2,0)*; <sup>△</sup>	2,0 (1,0; 4,0)*	4,0 (4,0; 4,0) <sup>◇; #</sup>	4,5 (3,0; 5,0) <sup>◇; #; ▲</sup>
	норма	4,0 (4,0; 5,0)				
НСТ <sub>инд.</sub> (%)	3-и	19,0 (16,0; 23,0)*	6,5 (3,0; 9,0)*; <sup>◇</sup>	7,5 (5,0; 10,0)*; <sup>◇</sup>	7,5 (6,0; 9,0) <sup>◇</sup>	9,5 (8,0; 11,0) <sup>◇</sup>
	14-е	10,5 (10,0; 12,0) <sup>○</sup>	1,5 (1,0; 5,0)*; <sup>◇</sup>	3,0 (2,0; 4,0)*; <sup>◇</sup>	2,5 (2,0; 3,0)*; <sup>◇</sup>	7,5 (6,0; 9,0)*; <sup>◇; #; ▲; △</sup>
	30-е	3,5 (2,0; 8,0)*; <sup>○</sup>	2,0 (2,0; 2,0)*; <sup>◇; ▲; △</sup>	5,0 (3,0; 8,0)*; <sup>#</sup>	9,0 (8,0; 10,0) <sup>#</sup>	11,0 (10,0; 14,0) <sup>◇; #; ▲; ○</sup>
	норма	12,0 (10,0; 14,0)				

**Примечание:** 1.2 – моделирование гипопаратиреоза по оригинальному способу (модель); 2.1 – модель + медикаментозная коррекция гипокальциемии; 2.2 – модель + аутотрансплантация фрагментов ОЦЖ; 2.2 ФТ – функционирующий трансплантат фрагментов ОЦЖ; 2.3 – модель + аутотрансплантация культуры клеток ОЦЖ; \* – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормальным показателем; <sup>◇</sup> – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 1.2; <sup>#</sup> – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 2.1; <sup>▲</sup> – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 2.2; <sup>△</sup> – значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с группой 2.2 ФТ; <sup>○</sup> – значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с предыдущим показателем.

В динамике исследования ФИ, ФЧ в венозной крови животных во второй серии исследований установлено, что в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу отсутствовали значимые колебания значений по сравнению с нормальным значением, и показатели значимо не менялись ( $p_W = 0,2$  и  $p_W = 0,7$  соответственно).

При исследовании НСТ<sub>сп.</sub> в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу установлено отсутствие значимых отличий, по сравнению с нормальным показателем, через 3, 14 и 30 суток ( $p_U = 0,6$ ,  $p_U = 0,1$  и  $p_U = 0,6$  соответственно). Значимые отличия выявлены через 14 и 30 суток по сравнению с показателем в группах 2.1 ( $p_U = 0,02$  и  $p_U = 0,003$  соответственно) и 2.2 ( $p_U = 0,006$  и  $p_U = 0,01$  соответственно), где выявлено существенное снижение показателя, по сравнению с нормальным значением, на 14-е ( $p_U = 0,01$  и  $p_U = 0,004$  соответственно) и 30-е сутки ( $p_U = 0,003$  и  $p_U = 0,03$  соответственно).

При исследовании НСТ<sub>инд.</sub> через 3 суток в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу установлено отсутствие значимого изменения по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,1$ ), с тенденцией к значимости показатель был выше по сравнению с показателем в группе 2.1 ( $p_U = 0,06$ ). Через 14 суток в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу НСТ<sub>инд.</sub> незначительно снизился ( $p_W = 0,2$ ) и был ниже по сравнению с нормальным показателем ( $p_U = 0,02$ ), при этом показатель был значимо выше по сравнению с показателем в группах 2.1 ( $p_U = 0,005$ ) и 2.2 ( $p_U = 0,01$ ). Через 30 суток в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу показатель значимо повысился ( $p_W = 0,02$ ) и значимо не отличался от нормального показателя ( $p_U = 1,0$ ), был выше по сравнению с показателем в группах 2.1 ( $p_U = 0,002$ ) и 2.2 ( $p_U = 0,005$ ).

В динамике исследования НСТ<sub>инд.</sub> в венозной крови животных во второй серии исследований установлено снижение показателя в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ в мышцу через 14 суток на 4,5 % по сравнению с нормальным показателем, далее показатель повысился ( $p_W = 0,02$ ) и через 30 суток был в пределах нормальных значений.

Наиболее значимые изменения отмечены через 14 суток, в связи с чем, этот срок выбран для оценки взаимосвязи уровней ПТГ, ионизированного кальция и

способа коррекции послеоперационного гипопаратиреоза. Согласованность изменений исследованных параметров при гипопаратиреозе в условиях сохраненного тиреоидного статуса, оцененная с использованием непараметрической корреляции, представлена в таблице 32.

**Таблица 32** – Характер зависимости между исследованными признаками у животных во второй серии исследований через 14 суток эксперимента (Spearman R, *p*)

	Лейкоциты	ФИ	ФЧ	НСТ <sub>сп.</sub>	НСТ <sub>инд.</sub>	Ca <sup>++</sup>	ПТГ	Эритроциты
Лейкоциты	1,000	-0,507 <i>p</i> = 0,004	-0,571 <i>p</i> = 0,001	-0,533 <i>p</i> = 0,002	-0,595 <i>p</i> < 0,001	-0,544 <i>p</i> = 0,001	-0,785 <i>p</i> << 0,001	0,129 <i>p</i> = 0,494
ФИ	-0,507 <i>p</i> = 0,004	1,000	0,264 <i>p</i> = 0,158	0,442 <i>p</i> = 0,14	0,499 <i>p</i> = 0,004	0,345 <i>p</i> = 0,061	0,502 <i>p</i> = 0,004	-0,067 <i>p</i> = 0,722
ФЧ	-0,571 <i>p</i> = 0,001	0,264 <i>p</i> = 0,158	1,000	0,119 <i>p</i> = 0,530	0,127 <i>p</i> = 0,502	0,549 <i>p</i> = 0,001	0,585 <i>p</i> < 0,001	-0,368 <i>p</i> = 0,045
НСТ <sub>сп.</sub>	-0,533 <i>p</i> = 0,002	0,442 <i>p</i> = 0,14	0,119 <i>p</i> = 0,530	1,000	0,814 <i>p</i> <<< 0,001	0,023 <i>p</i> = 0,903	0,295 <i>p</i> = 0,113	-0,098 <i>p</i> = 0,603
НСТ <sub>инд.</sub>	-0,595 <i>p</i> < 0,001	0,499 <i>p</i> = 0,004	0,127 <i>p</i> = 0,502	0,814 <i>p</i> <<< 0,001	1,000	0,042 <i>p</i> = 0,824	0,406 <i>p</i> = 0,025	-0,108 <i>p</i> = 0,568
Ca <sup>++</sup>	-0,544 <i>p</i> = 0,001	0,345 <i>p</i> = 0,061	0,549 <i>p</i> = 0,001	0,023 <i>p</i> = 0,903	0,042 <i>p</i> = 0,824	1,000	0,691 <i>p</i> < 0,001	-0,041 <i>p</i> = 0,826
ПТГ	-0,785 <i>p</i> << 0,001	0,502 <i>p</i> = 0,004	0,585 <i>p</i> < 0,001	0,295 <i>p</i> = 0,113	0,406 <i>p</i> = 0,025	0,691 <i>p</i> < 0,001	1,000	-0,076 <i>p</i> = 0,688
Эритроциты	0,129 <i>p</i> = 0,494	-0,067 <i>p</i> = 0,722	-0,368 <i>p</i> = 0,045	-0,098 <i>p</i> = 0,603	-0,108 <i>p</i> = 0,568	-0,041 <i>p</i> = 0,826	-0,076 <i>p</i> = 0,688	1,000

Тестирование факторов, связанных с показателями иммунного ответа 1-го порядка через 14 суток в многофакторном нелинейном анализе позволило разработать устойчивые модели, доказывающие влияние ПТГ и ионизированного кальция на показатели неспецифической резистентности (таблицы 33, 34, 35, 36).

**Таблица 33** – Характер регрессионной связи между фагоцитарной активностью, уровнем паратиреоидного гормона и кислородзависимой биоцидностью фагоцитов

$\sqrt{\text{ФИ}} = \sqrt{\text{ПТГ}} + \sqrt{\text{НСТ}_{\text{сп.}}}$			
Описательная статистика			
Признак ( $n = 30$ )	Me	Q <sub>25</sub>	Q <sub>75</sub>
ФИ (кв. корень)	61,0	59,0	67,0
ПТГ	3,5	2,0	28,0
НСТ <sub>сп.</sub>	3,0	2,0	4,0
Описание модели		СО	$p$
Коэффициент регрессии	0,67	0,29	0,0004
Коэффициент детерминации	0,44		
Признаки	В	СОВ	$p$
ПТГ	0,09	0,03	0,005
НСТ спонт	0,28	0,12	0,02
Пара признаков	$r$	$p$	
ФИ – ПТГ	0,50	0,004	
ФИ – НСТ <sub>спонт.</sub>	0,44	0,14	
ПТГ – НСТ <sub>спонт.</sub>	0,29	0,11	

**Примечание** (здесь и далее): Me – медиана; Q – квартиль; СО – стандартное отклонение; В – регрессионные коэффициенты; СОВ – стандартная ошибка регрессионного коэффициента;  $r$  – корреляционные коэффициенты (Спирмена);  $p$  – уровень значимости.

**Таблица 34** – Характер регрессионной связи между уровнем ионизированного кальция, числом эритроцитов и интенсивностью фагоцитоза

$\text{ФЧ} = \text{Кальций ионизированный}^{**2} + \text{Эритроциты}^{**2}$			
Описательная статистика			
Признак ( $n = 30$ )	Me	Q <sub>25</sub>	Q <sub>75</sub>
ФЧ	1,75	1,60	1,90
Кальций ионизированный	1,14	0,61	1,23
Эритроциты	5,61	5,14	6,12
Описание модели		СО	$p$
Коэффициент регрессии	0,60	0,15	0,002
Коэффициент детерминации	0,36		
Признаки	В	СО	$p$
Кальций ионизированный	0,15	0,05	0,006
Эритроциты	-0,009	0,004	0,02
Пара признаков	$r$	$p$	
ФЧ – Кальций ионизированный	0,55	0,001	
ФЧ – Эритроциты	-0,37	0,04	
Кальций ионизированный – Эритроциты	-0,04	$p = 0,8$	

**Таблица 35** – Характер регрессионной связи между уровнем паратиреоидного гормона, числом эритроцитов и интенсивностью фагоцитоза

$\text{ФЧ} = \text{ПТГ}^{**2} + \text{Эритроциты}^{**2}$			
Описательная статистика			
Признак ( $n = 30$ )	Me	Q <sub>25</sub>	Q <sub>75</sub>
ФЧ	1,75	1,60	1,90
ПТГ	3,5	2,0	28,0
Эритроциты	5,61	5,14	6,12
Описание модели		CO	<i>p</i>
Коэффициент регрессии	0,65	0,14	0,0006
Коэффициент детерминации	0,41		
Признаки	B	CO	<i>p</i>
ПТГ	0,0002	0,00006	0,001
Эритроциты	-0,009	0,003	0,01
Пара признаков	<i>r</i>	<i>p</i>	
ФЧ – ПТГ	0,59	0,001	
ФЧ – Эритроциты	-0,37	0,045	
ПТГ – Эритроциты	-0,08	0,7	

**Таблица 36** – Характер регрессионной связи между уровнем паратиреоидного гормона, кислород-зависимой биоцидностью и функциональным резервом фагоцитов

$\text{НСТ}_{\text{инд.}} = \text{НСТ}_{\text{сп.}}^{**2} + \text{ПТГ}^{**2}$			
Описательная статистика			
Признак ( $n = 30$ )	Me	Q <sub>25</sub>	Q <sub>75</sub>
НСТ <sub>инд.</sub>	7,5	3,0	11,0
НСТ <sub>сп.</sub>	3,0	2,0	4,0
ПТГ	3,5	2,0	28,0
Описание модели		CO	<i>p</i>
Коэффициент регрессии	0,80	2,62	0,0000008
Коэффициент детерминации	0,64		
Признаки	B	CO	<i>p</i>
НСТ <sub>сп.</sub>	0,25	0,04	0,000009
ПТГ	0,003	0,001	0,01
Пара признаков	<i>r</i>	<i>p</i>	
НСТ <sub>инд.</sub> – НСТ <sub>сп.</sub>	0,81	0,00000004	
НСТ <sub>инд.</sub> – ПТГ	0,4	0,025	
НСТ <sub>сп.</sub> – ПТГ	0,3	0,1	

Установленные связи ПТГ, ионизированного кальция и показателей иммунного ответа 1-го порядка заставили разделить крыс на подгруппы в зависимости

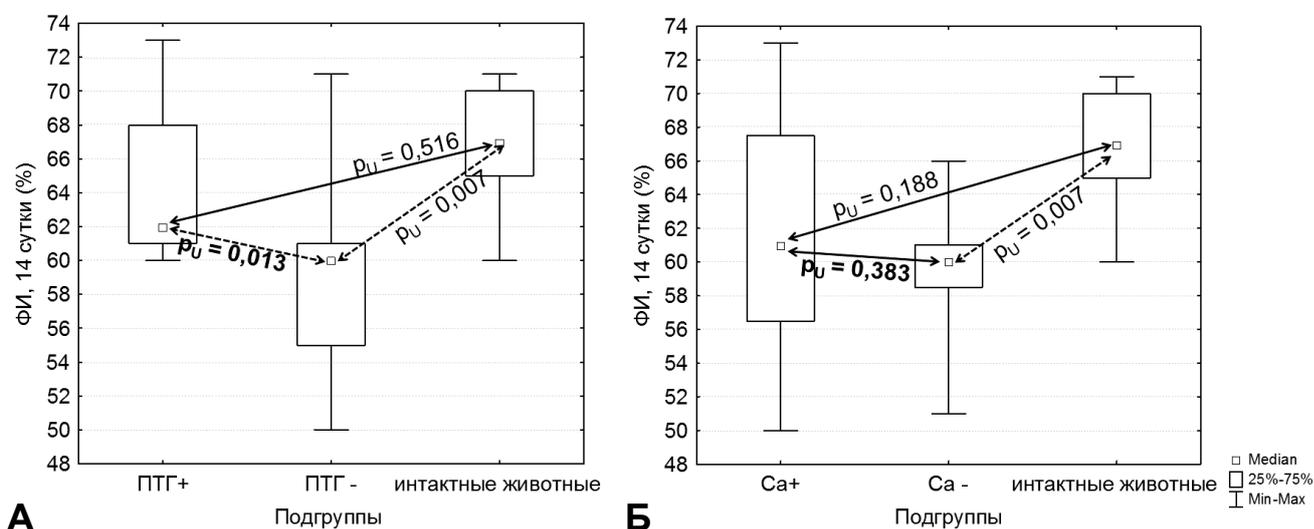
от эффективности коррекции гипопаратиреоза, оцененной по уровням ПТГ и ионизированного кальция через 14 суток. Данные представлены в таблице 37.

**Таблица 37** – Характеристика подгрупп, разделенных в зависимости от эффективности коррекции гипопаратиреоза и гипокальциемии

Характеристика подгрупп	Подгруппы			
	ПТГ «+»	ПТГ «-»	Ca <sup>++</sup> «+»	Ca <sup>++</sup> «-»
Количество (n)	7	17	12	12
Уровень показателя, Ме	27,0	2,0	1,2	0,6

**Примечание:** ПТГ – паратиреоидный гормон; Ca<sup>++</sup> – ионизированный кальций.

Оказалось, что в подгруппе ПТГ «+» значение ФИ значимо выше, чем при ПТГ «-» и не отличается от показателя интактных животных (рисунок 50А), что подтверждает предикторные свойства ПТГ в отношении активности фагоцитоза. Для уровня ионизированного кальция таких зависимостей не выявлено (рисунок 50Б), что не позволяет говорить о причинно-следственных связях числа активных фагоцитов с уровнем ионизированного кальция.



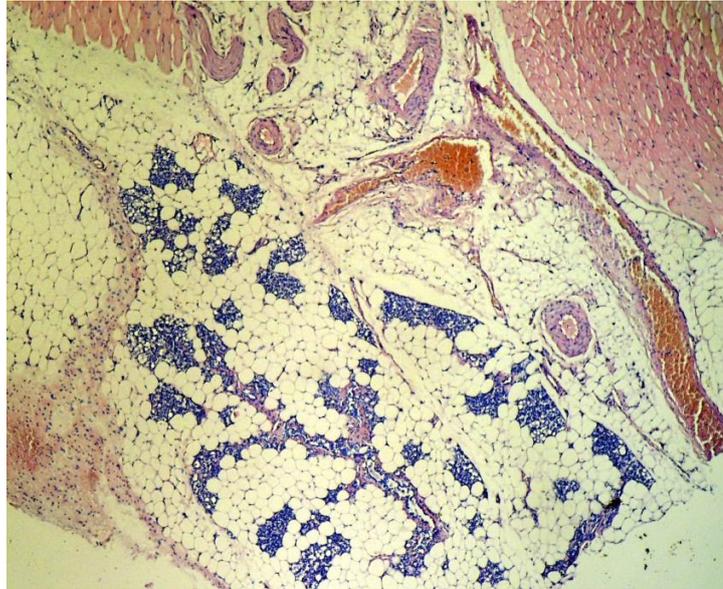
**Рисунок 50** – Результаты сравнения фагоцитарного индекса в подгруппах в зависимости от эффективности коррекции гипопаратиреоза.

Таким образом, ключевым механизмом восстановления неспецифической резистентности при коррекции послеоперационного гипопаратиреоза установлено восстановление активности фагоцитоза посредством восстановления уровня ПТГ.

### ***5.2.5. Морфологическое исследование тканей в области трансплантации***

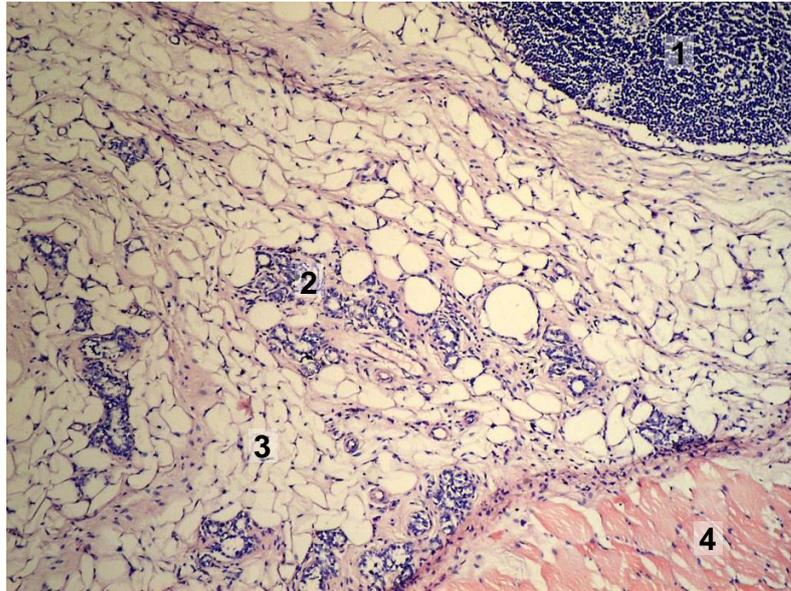
Для оценки динамики структуры трансплантированного материала проведено исследование области АТ КК ОЩЖ и фрагментов ткани ОЩЖ.

При световой микроскопии области трансплантации через 14 суток в группе 2.3 с АТ КК ОЩЖ определяли наличие органоидных структур из клеток ОЩЖ (рисунок 51).



**Рисунок 51** – Крыса, группа 2.3, 14-е сутки исследования, световая микроскопия тканей в области трансплантации аутологичных клеток ОЩЖ. Окраска гематоксилином и эозином, ок. 10×, об. 10×.

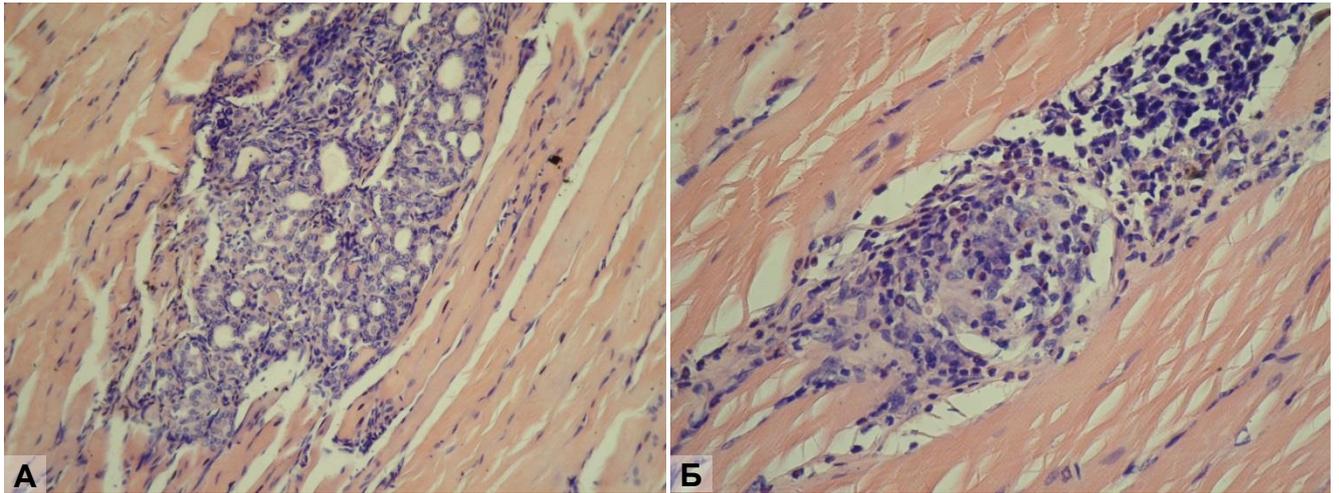
При световой микроскопии области трансплантации через 30 суток в группе 2.3 с ауто трансплантацией культуры клеток околощитовидной железы определяли наличие островков органоидных структур из клеток ОЩЖ, новообразованные сосуды, отсутствие реактивных изменений в ткани близлежащих лимфатических узлов, отсутствие лейкоцитарной инфильтрации (рисунок 52).



**Рисунок 52** – Ткани в области трансплантации аутологичных клеток околощитовидной железы через 30 суток; **1** – подмышечный лимфоузел; **2** – тубулярные и трабекулярные структуры из аутологичных клеток околощитовидной железы; **3** – жировая ткань; **4** – фрагмент широчайшей мышцы спины. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10×, об. 10×.

***Исследование области трансплантации фрагмента околощитовидной железы в мышцу***

При световой микроскопии области трансплантации через 30 суток в группе 2.2 с АТ фрагментов ОЩЖ в мышцу определяли у 2 из 6 животных наличие ткани ОЩЖ между волокнами скелетной мышцы, отсутствие лейкоцитарной инфильтрации (рисунок 53А). У 4 животных в области трансплантации фрагментов ткани ОЩЖ определялось наличие инфильтрации, отсутствие клеток и структуры ткани ОЩЖ (рисунок 53Б).



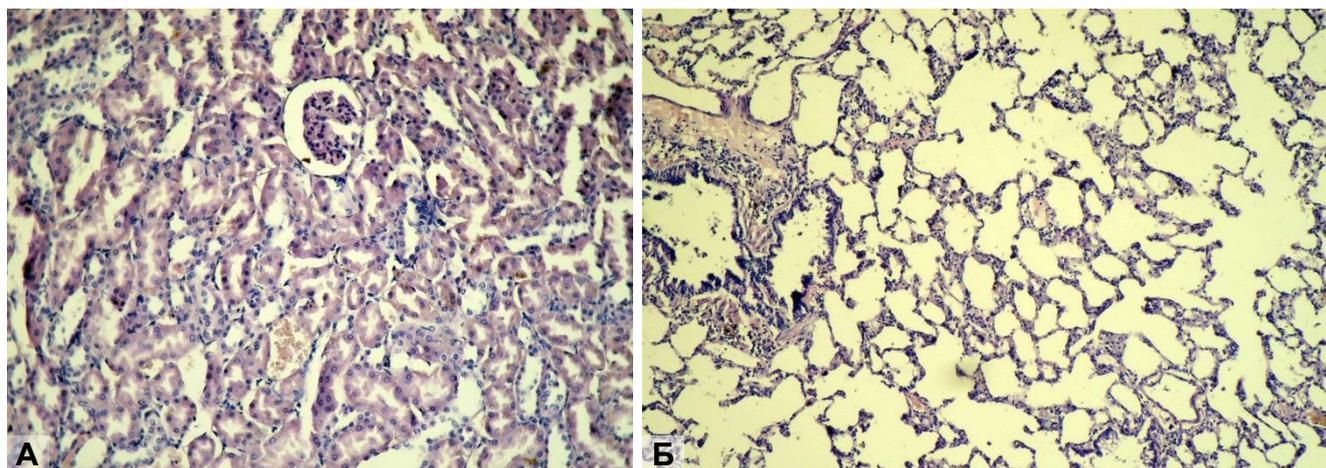
**Рисунок 53** – Ткани в области трансплантации фрагмента ОЦЖ в мышцу через 14 суток: **А** – прижившийся фрагмент ткани ОЦЖ; **Б** – некроз ткани ОЦЖ с реакцией макрофагов, лимфоцитов, наличие фибробластов. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10×. Об. 10×.

Таким образом, все трансплантаты КК ОЦЖ через 30 суток формировали органоидные структуры с морфологическими признаками функциональной активности. В то время как приживляемость трансплантированного фрагмента составила 33 %.

#### ***5.2.6. Морфологическая оценка эффектов трансплантации культуры аутологичных клеток околицитовидной железы***

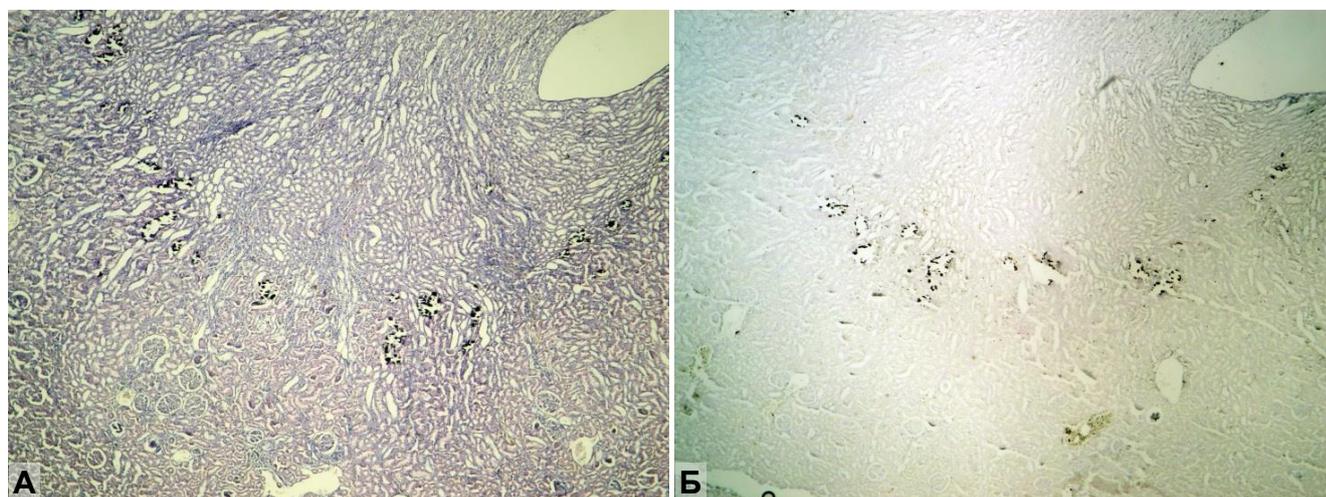
Для оценки состояния органов животных с моделированным гипопаратиреозом и коррекцией различными методами нами оценены данные патоморфологического исследования легких и почек животных на 30-е сутки исследования.

При морфологическом исследовании органов животных в группе 2.3 с трансплантацией культуры аутологичных клеток ОЦЖ выявляли сохранение нормального строения ткани почек и легких (рисунок 54).



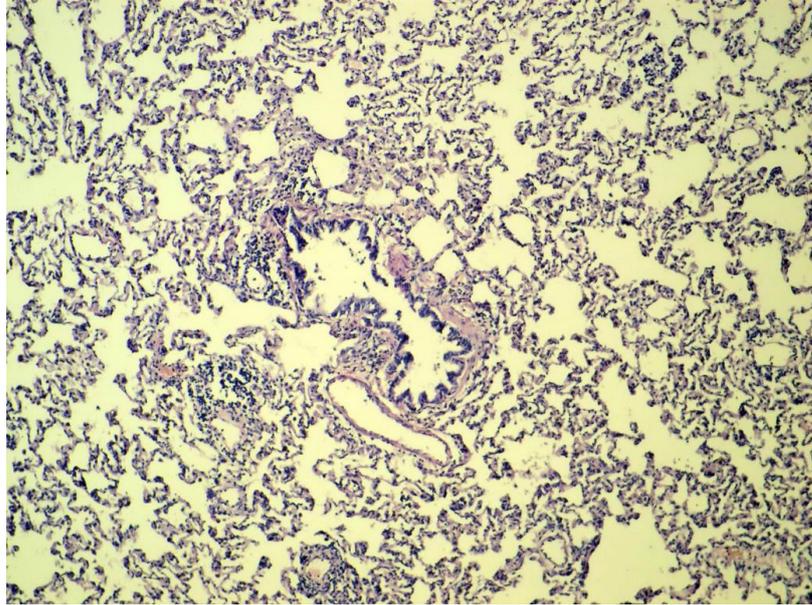
**Рисунок 54** – Морфологическая структура почки (А) и легких (Б) животных с аутотрансплантацией культуры клеток ОЦЖ, 30-е сутки. Окраска гематоксилином и эозином, об. 4×, ок. 10×.

При морфологическом исследовании почек животных в группе 2.1 с коррекцией гипокальциемии альфакальцидолом и препаратами кальция на 30-е сутки отмечали сохранение структуры паренхимы почек, наличие отложения извести в субкортикальном слое (рисунок 55). Данные изменения выявляли у всех животных группы 2.1 через 30 суток в разной степени выраженности, через 3 и 14 суток, а также у животных групп 2.2 и 2.3 известковых отложений в паренхиме почек не выявляли.



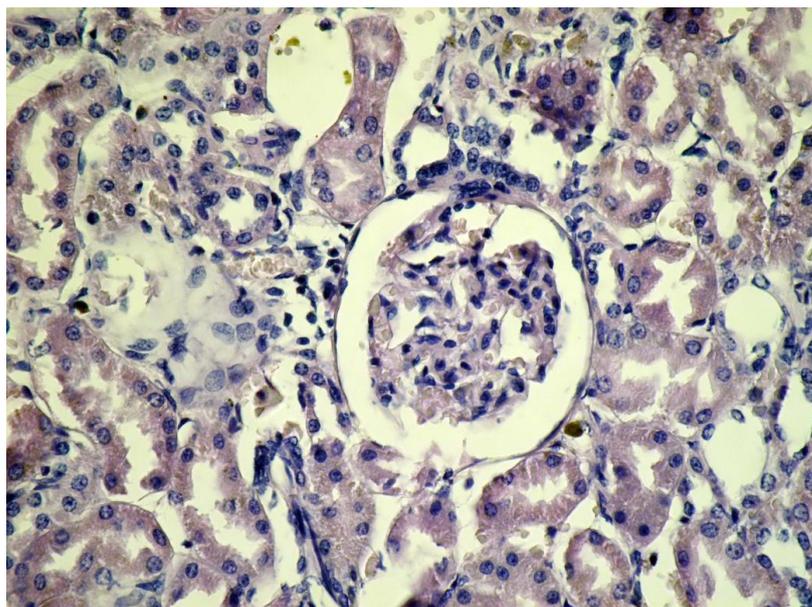
**Рисунок 55** – Морфологические изменения в почке животных с коррекцией альфакальцидолом и кальцием, 30-е сутки. Известковые отложения в субкортикальном слое паренхимы почек: А – окраска гематоксилином и эозином; Б – окраска по методу Косса. Об. 4×, ок. 10×.

Морфологические изменения в легких животных в группе 2.2 с АТ фрагмента ОЦЖ проявлялись признаками бронхоспазма (рисунок 56), у части животных выявляли признаки межочечной пневмонии.



**Рисунок 56** – Морфологические изменения в легких крыс с аутотрансплантацией фрагмента ОЦЖ, 30-е сутки. Об. 10×, ок. 10×.

Морфологические изменения почек в группе 2.2 с АТ фрагмента ОЦЖ у животных с нефункционирующим трансплантатом проявлялись дистрофическими изменениями клеток эпителия нефронов, уменьшением размера клубочков (рисунок 57).



**Рисунок 57** – Морфологические изменения в почках крыс с аутотрансплантацией фрагмента ОЦЖ, 30-е сутки. Об. 20×, ок. 10×.

Таким образом, усовершенствованная технология получения КК ОЩЖ позволяет получать клеточный материал из 0,06 г в количестве  $2 \times 10^4$  в 0,5 мл с жизнеспособностью 99 % (98; 100), продуцирующие ПТГ 753,0 (690,0; 764,4) пг/мл на 3-и сутки культивирования. В культуре преобладают клеточные ассоциации, преимущественно из светлых клеток.

Установлено, что трансплантированные культивированные аутологичные клетки ОЩЖ через 11 суток после трансплантации формируют органоидные структуры с новообразованными сосудами без перифокальной воспалительной реакции, с сохранением структуры через 30 суток, что свидетельствует о высокой жизнеспособности и функциональной активности пересаженных клеток. В то же время приживляемость трансплантированного фрагмента составила 33 %.

При оценке эффективности коррекции гипопаратиреоза АТ КК ОЩЖ, по данным летальности/выживаемости, установлено, что при оценке летальности значимых различий не выявлено по сравнению с группами контроля, однако выживаемость при АТ КК ОЩЖ составила 90 %, что было существенно выше к 30-м суткам по сравнению с животными группы 2.2, которым выполняли АТ фрагмента ОЩЖ (60 %), и не отличалось от аналогичного показателя в группе с заместительной терапией альфакальцидолом и глюконатом кальция.

Выявлено, что при АТ КК ОЩЖ происходит нормализация уровней ПТГ и ионизированного кальция через 11 суток после трансплантации и сохраняется в пределах нормальных значений через 30 суток после моделирования. При АТ фрагмента ОЩЖ нормализация уровней ПТГ и ионизированного кальция отмечена у 33 % животных через 30 суток. В группе 2.1 с проведением заместительной терапии препаратами альфакальцидол и кальция глюконат уровень ПТГ оставался значительно сниженным на протяжении всего срока наблюдения, уровень ионизированного кальция нормализовался через 14 суток после моделирования гипокальциемии и сохранялся в пределах нормальных значений через 30 суток.

При анализе показателей воспаления установлено, что АТ КК ОЩЖ в мышцу при моделировании гипопаратиреоза способствует существенному снижению общего числа лейкоцитов по сравнению с АТ фрагмента ОЩЖ и замести-

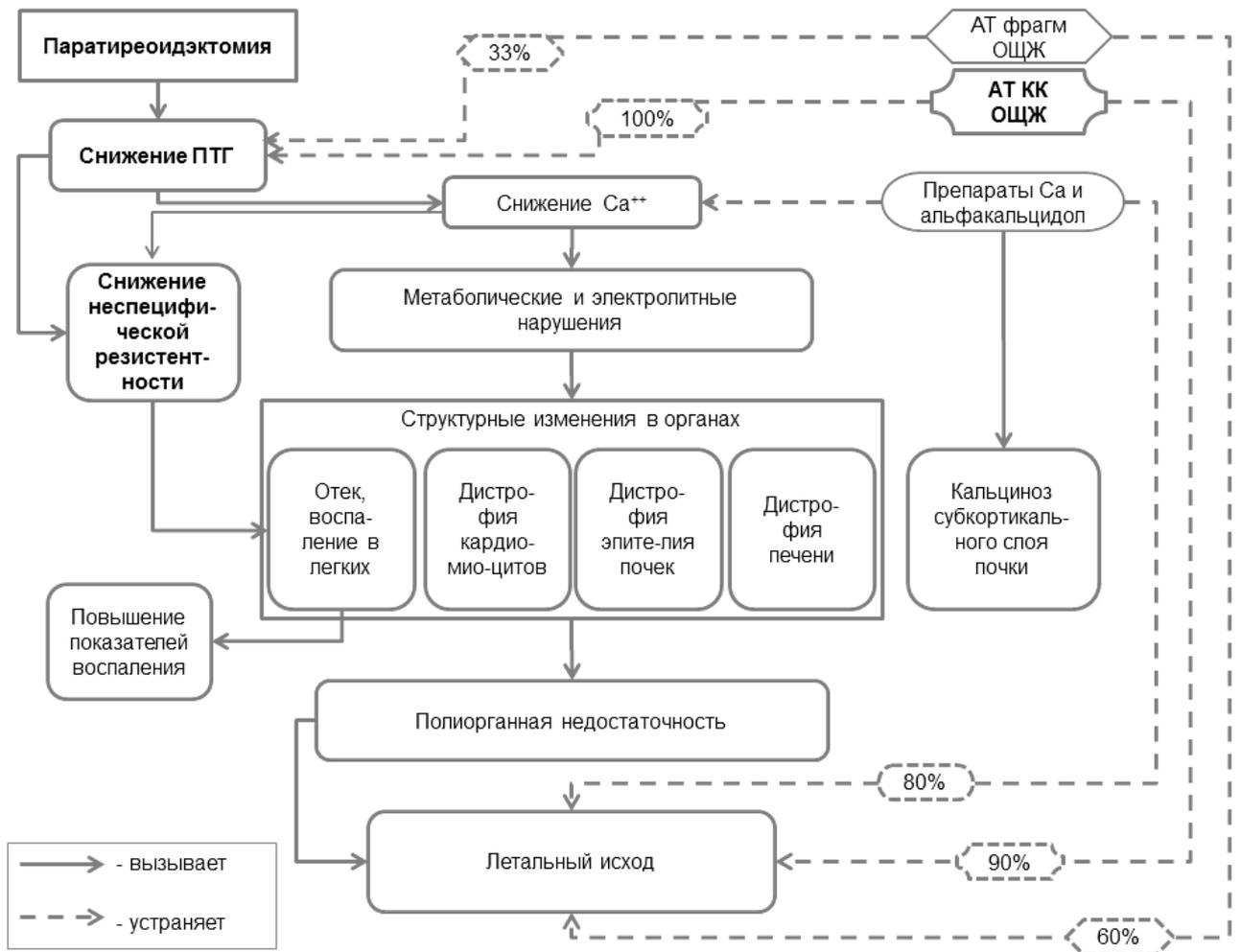
тельной терапией и нормализации лейкоцитарной формулы через 14 и 30 суток после ПТЭ.

При оценке фагоцитоза у животных после АТ КК ОЦЖ в мышцу выявлено отсутствие изменений показателей активности и интенсивности фагоцитоза на 3-и, 14-е и 30-е сутки, сохранение в пределах нормальных значений на протяжении 30 суток показателя кислородзависимого механизма бактерицидности нейтрофилов, снижение показателя функционального резерва нейтрофилов через 14 суток и его восстановление через 30 суток. В то же время через 30 суток после АТ фрагмента ОЦЖ у животных сохранялся сниженный показатель интенсивности фагоцитоза, кислородзависимой бактерицидности и функционального резерва нейтрофилов. У животных с заместительной терапией гипокальциемии через 30 суток выявлено снижение показателей кислородзависимой бактерицидности и функционального резерва нейтрофилов.

Выявлено, что трансплантация культуры аутологичных клеток ОЦЖ приводит к сохранению нормального строения ткани почек и легких через 30 суток. Заместительная терапия послеоперационной гипокальциемии приводит к уменьшению тяжести морфологических изменений, характерных для ПОГПТ, при этом к 30-м суткам эксперимента выявляется кальциноз субкортикального слоя паренхимы почек. Морфологические изменения в легких животных с АТ фрагмента ОЦЖ проявлялись признаками бронхоспазма с межуточной пневмонией, дистрофическими явлениями эпителия нефронов, уменьшением размера клубочков.

Таким образом, установлено, что саногенез ПОГПТ под влиянием трансплантированной культуры аутологичных клеток ОЦЖ реализуется посредством восстановления к 14-м суткам уровня ПТГ, ионизированного кальция, иммунологических показателей 1-го уровня, сохранением неспецифической резистентности, отсутствия изменений в паренхиме почек, легких, миокарде.

В концептуальной схеме отражены сано- и патогенетические механизмы коррекции гипопаратиреоза различными способами (рисунок 58).



**Рисунок 58** – Концептуальная схема коррекции экспериментального послеоперационного гипопаратиреоза в условиях сохраненного тиреоидного статуса различными способами.

Таким образом, установлено, что саногенез ПОГПТ под влиянием трансплантированной культуры аутологичных клеток ОЩЖ реализуется посредством восстановления к 14-м суткам уровня ПТГ, ионизированного кальция, иммунологических показателей 1-го уровня, сохранением неспецифической резистентности, отсутствия изменений в паренхиме почек, легких, миокарде.

Саногенные эффекты трансплантации аутологичных культивированных клеток ОЩЖ реализуются за счет восстановления уровня ПТГ, которое приводит к восстановлению нормокальциемии и отсутствию развития полиорганной недостаточности вследствие метаболических нарушений и к нормализации неспецифической резистентности за счет восстановления фагоцитоза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хирургическое лечение вторичного ГПТ у пациентов, находящихся на ЗПТ, можно отнести к одной из наиболее спорных междисциплинарных проблем современной нефрологии, эндокринологии и хирургии.

Актуальность нашего исследования поддерживается высокой частотой распространенности ГПТ среди пациентов, находящихся на ЗПТ [4, 7], отсутствием эффективных методов профилактики и лечения вторичного гиперпаратиреоза без использования хирургического вмешательства [101, 109, 152], сохранением дискуссии об объеме хирургического вмешательства [132, 139, 143, 150, 167, 172, 183, 187] и целесообразности трансплантационной коррекции ПОГПТ [132].

Основной задачей хирургического лечения вторичного ГПТ у пациентов, находящихся на ЗПТ, является выбор такого объема операции, который, с одной стороны, позволил бы минимизировать возможность персистенции или рецидива заболевания, а с другой, гарантировал бы отсутствие негативных последствий перенесенного вмешательства. Одним из возможных негативных последствий некоторые авторы рассматривают ПОГПТ [92, 117, 158]. Однако эта точка зрения не является общепринятой.

Существующие противоречия в литературе инициировали наше исследование, направленное на сравнительную оценку различных объемов хирургических вмешательств при вторичном ГПТ, оценку последствий недостаточности функции ОЩЖ и ее коррекции. Исследование включило в себя анализ результатов хирургического лечения вторичного ГПТ 34 пациентов, находящихся на ЗПТ, и экспериментальное обоснование трансплантационной коррекции ПОГПТ с использованием 144 крыс линии Wistar.

Анализируя результаты хирургического лечения наших пациентов, мы столкнулись с тем, что очень сложно выбрать критерии оценки эффективности оперативных вмешательств, что связано с различной трактовкой целевых уровней ПТГ, диагностических критериев ПОГПТ. Мы остановились на критериях KDIGO

(2009). В соответствии с этими критериями оказалось, что рецидив ГПТ выявляется в 8 % наблюдений, персистенция ГПТ – в 26 %, ПОГПТ – в 43 %, целевой уровень ПТГ достигнут у 23 % больных. При сравнении наших данных с литературными источниками мы выявили большую частоту развития ПОГПТ, которая, по сообщениям различных авторов, выявляется в диапазоне от 0 % [50] до 38 % [85, 130, 172], и меньшую частоту достижения целевых значений вне зависимости от вида хирургического вмешательства, которая, по данным исследования E. R. Gagné et al., составила 38 % после СПТЭ и 32 % после ТПТЭ без значимых отличий между группами [172]. Полученные данные объясняются тем, что авторы использовали в качестве критерия ПОГПТ выявление уровня ПТГ ниже 12 пг/мл, целевых значений ПТГ – от 15 до 300 пг/мл.

При детальном анализе отдаленных результатов нами получены следующие данные. Рецидив ГПТ установлен в 3 наблюдениях: в первом случае источником рецидива было эктопическое расположение ОЩЖ (в щитовидной железе) в сочетании с распространенным паратиреоматозом; в двух случаях источник рецидива ГПТ на момент окончания исследования не был уточнен. В одном случае рецидив развился после ТПТЭ I, в двух – после СПТЭ. Персистенция ГПТ выявлена в 9 наблюдениях. В 5 случаях персистенция установлена после СПТЭ, в 4 – при ТПТЭ. Источником персистенции ГПТ после ТПТЭ II оказался трансплантат на предплечье (2 наблюдения), после ТПТЭ I – добавочная нижняя левая ОЩЖ. Персистенции ГПТ после ТПТЭ II отличной от зоны трансплантации этиологии не выявлено. Подобные результаты были получены M. Rothmund et al. в ходе рандомизированного исследования результатов хирургического лечения 34 пациентов с вторичным ГПТ: частота рецидивов и персистенций с источником на шее после СПТЭ составила 23,5 %, после ТПТЭ с АТ – 0 % [167]. Анализ причин персистенции гиперпаратиреоза свидетельствует о низкой эффективности СПТЭ. Мнения об эффективности СПТЭ в литературе расходятся. Часть авторов сообщают о высокой доле рецидивов и персистенций после СПТЭ [139, 167]. Другие авторы указывают на эффективность СПТЭ [172, 187], в том числе при использовании интраоперационного определения ПТГ [183]. По нашим данным, ТПТЭ I

снижает абсолютный риск персистенции заболевания на 14 %, ТПТЭ II – на 22 % (ЧБНЛ, соответственно, составляет 7,1 и 4,5).

Частота развития ПОГПТ после СПТЭ составила 31,25 %, после ТПТЭ – 50 % ( $p > 0,2$ ). По литературным данным не выявлены статистически значимые зависимости между видом операции и ее исходом, в частности, по частоте развития ПОГПТ [80, 143, 172, 187, 189].

Целевой уровень ПТГ достигнут у 4 больных после СПТЭ и у 4 больных после ТПТЭ. Таким образом, мы доказали, что достижение целевых значений ПТГ не зависит от вида хирургического вмешательства ( $p > 0,95$ ). Медиана времени достижения целевых значений составила 2,5 (1; 8,5) месяца после операции. Медиана длительности наблюдения больных в целевых значениях ПТГ составила 25 (9–52) месяцев. У 3 пациентов рецидив ГПТ развился после нескольких лет наблюдения с целевыми значениями ПТГ. Эти наблюдения подтверждают данные о том, что с увеличением сроков наблюдения после операции увеличивается количество рецидивов заболевания [130]. Рецидивы ГПТ после достижения целевых значений были связаны с наличием эктопированных ОЩЖ и с прогрессированием патологических изменений в «оставленных» макроскопически не измененных ОЩЖ при эксплорации во время первичной операции ОЩЖ, данные причины определяют и другие авторы [159, 164, 181].

Общая частота эктопического расположения ОЩЖ в нашем исследовании составила 13,8 %, что несколько ниже литературных данных, где эктопии ОЩЖ выявляются в 16,5 % случаев, при этом в 2,1 % случаев эктопированные ОЩЖ становятся причиной развития персистенции или рецидива ГПТ, требующего повторного оперативного вмешательства [181]. В нашей работе представлены два клинических наблюдения эктопированных ОЩЖ, ставших причиной персистенции и рецидива заболевания.

В первом случае нами описана крайне редкая локализация эктопии ОЩЖ в аорто-легочное окно [65]. Отсутствие возможности проведения компьютерной или магнитно-резонансной томографии (в связи с клаустрофобией пациентки) стало причиной сомнений в выборе хирургического доступа. Исходя из вероятности расположения эктопированной в грудной клетке аденомы, операция начата с выполне-

ния цервикотомии, ревизии переднего и заднего средостения из шейного доступа. Этот выбор основан на мнении M. Iacobone et al. (2010): более 80 % медиастинальных паратиром могут быть удалены при ревизии верхних отделов средостения из шейного доступа, использование стернотомии сдерживается более высоким риском послеоперационных осложнений, особенно при выраженных костно-минеральных нарушениях [186]. Дооперационная топическая диагностика аорто-легочной локализации могла существенно повлиять на выбор хирургической тактики. Теоретически существовала возможность провести эндоваскулярную эмболизацию питающих опухоль сосудов либо снизить травматичность операции за счет выполнения видео-ассистированной миниторакотомии (именно этот доступ был использован на 5-е сутки послеоперационного периода для удаления гематомы средостения, при этом ложе опухоли оказалось хорошо доступным для выполнения хирургических манипуляций). В то же время имеющиеся в литературе сообщения о малоинвазивных вмешательствах при аорто-легочной локализации паратиромы оставляют сомнения в их эффективности [122]. Выполнение же стернотомии во всех наблюдениях сопровождалось удалением опухоли [116, 122]. Отсутствие данных о точной локализации опухоли определило целесообразность выполнения стернотомии. Эффективность этого доступа для удаления медиастинальной опухоли редкой локализации подтверждается и представленным клиническим наблюдением. Осложненное течение послеоперационного периода подтверждает мнение о травматичности стернотомии, особенно в условиях нарушений гомеостаза при вторичном ГПТ.

Представленный в работе случай рецидива заболевания в результате развития паратиреоматоза также заслуживает детального рассмотрения [66]. Развитие паратиреоматоза связывают с интраоперационным обсеменением зоны первичной операции при раздавливании ткани ОЦЖ. При вторичном ГПТ процесс усугубляется наличием гипокальциемии, стимулирующей пролиферацию паратиреоцитов. В то же время высокая частота (до 50 %) выявления паратиреоматоза при центральной шейной диссекции клетчатки на первичных операциях по поводу почечного ГПТ при диализном стаже от 7 до 17 лет не позволяет исключить дизонтогенетические причины развития заболевания, в том числе и у нашей больной [16]. При гистологи-

ческом исследовании материала первой операции у данной пациентки изменения, расцененные как добавочная нижняя ОЩЖ, отражают наличие первичного паратиреоматоза. При первичной операции была нарушена целостность верхней левой ОЩЖ, в течение первых двух лет после субтотальной ПТЭ у больной сохранялась гипокальциемия, практически не проводилась терапия витамином D. Сочетание этих факторов послужило причиной развития рецидива ГПТ. Мы не выполняли диссекции центральной клетчатки шеи и средостения у этой больной на первой операции. По нашим данным, частота развития паратиреоматоза составила 3,8 %.

Учитывая двухстороннее распространение опухолей в клетчатке шеи, плотные сращения с окружающими тканями, макроскопические признаки инвазии в щитовидную железу, распространение опухолевых образований по ходу лимфатических коллекторов левой половины шеи, операция выполнена с иссечением центральной и левой боковой клетчаток шеи, верхней частью тимуса, тиреоидэктомией. Учитывая сохранность правого возвратного гортанного нерва, было принято решение о резекции гортанной ветви левого, сращенной с опухолевым узлом. Основанием для резекции стали невозможность исключения злокачественного новообразования в ходе выполнения операции и ограниченная возможность в медикаментозной терапии у пациентки. В результате операции удалось удалить все макроскопически видимые ткани шеи и верхнего средостения, вовлеченные в опухолевый процесс. Аутотрансплантация ткани ОЩЖ не проводилась в связи с отсутствием перспективы трансплантации почки у больной. Непременным условием стойкого эффекта операции у больной остается адекватная медикаментозная коррекция минерально-костных нарушений. Анализ клинического наблюдения показывает, что сочетание интраоперационного нарушения целостности капсулы ОЩЖ, длительного диализного стажа и недостаточной медикаментозной коррекции минерально-костных нарушений после ПТЭ повышают вероятность развития заболевания. Возможность проведения консервативной терапии кальцимитетиками рассматривается в качестве альтернативы хирургическому лечению, однако исследований, подтверждающих преимущества консервативной терапии, нет. Эффективность хирургического вмешательства связана с широким иссечением вовлеченных в паратиреоматоз органов, клетчатки и

мышц. Известными методами профилактики вторичного паратиреоматоза считаются сохранение целостности капсул удаляемых ОЩЖ и адекватная медикаментозная коррекция гипокальциемии и недостатка витамина D. В качестве одного из методов профилактики вторичного паратиреоматоза при первичном хирургическом вмешательстве по поводу вторичного ГПТ можно рассматривать ТПТЭ, дополненную центральной диссекцией клетчатки шеи и верхнего средостения, верхних рогов тимуса.

В пользу выполнения расширенного объема ТПТЭ выступают и результаты изучения механизмов персистенции и рецидива гиперпаратиреоза после хирургического лечения. Нами был проведен анализ результатов патогистологического исследования операционного материала в зависимости от наличия или отсутствия функциональной автономии ОЩЖ и вида выполненного хирургического вмешательства.

Анализ частоты выявления различных морфологических изменений ОЩЖ у пациентов, оперированных по поводу вторичного ГПТ, при наличии и отсутствии гиперкальциемии как признака функциональной автономии свидетельствует о преобладании частоты выявления аденом при гиперкальциемии ( $p = 0,03$ ) и тенденции к снижению частоты выявления изолированной ДГ ( $p = 0,06$ ). Не выявлено статистически значимых различий в частоте выявления аденомы и ее отсутствии при гиперкальциемии, в то время как при отсутствии функциональной автономии (оцененной по уровню кальция) частота выявления аденом оказалась статистически значимо низкой, а частота изолированной гиперплазии – высокой. Полученные данные согласуются с мнением о том, что у пациентов с вторичным ГПТ, резистентным к терапии максакальцитолом, при патогистологическом исследовании удаленных ОЩЖ выявляется по крайней мере одна ДОГ ОЩЖ или аденома ОЩЖ [87]. Эти данные подтверждают связь ДОГ и аденомы ОЩЖ с развитием функциональной автономии. Однако в нашем исследовании ДОГ, которую некоторые авторы рассматривают как выявление микроаденом на фоне гиперплазии [153], выявлялась при обоих вариантах клинического проявления ГПТ с подобной частотой ( $p > 0,9$ ). Выявленные нами зависимости подтверждают роль аденомы ОЩЖ в развитии функциональной автономии. В то же время статистически незначимое различие в частоте формирования функциональной автономии при ДОГ оставляет ме-

сто для дискуссии в отношении терминологии «третичного» ГПТ. Выявление всех возможных морфологических проявлений заболевания при наличии функциональной автономии и без нее подтверждает отсутствие целесообразности разделения ГПТ на «вторичный» или «третичный» по существующим критериям [22].

В доступной литературе имеются единичные сообщения об анализе результативности операции в зависимости от морфологического субстрата вторичного ГПТ. Так, E. R. Gagné et al. при анализе результатов хирургического лечения 49 пациентов выявили, что ДОГ чаще ассоциирована с персистенцией или рецидивом заболевания по сравнению с ДГ, при этом отсутствовали различия в зависимости от вида операции – ТПТЭ или СПТЭ [172]. В нашем исследовании оценка исхода хирургического вмешательства методом Каплана – Мейера не выявила различий в проявляемости персистенции, рецидива заболевания и достижения целевых значений ПГТ в зависимости от наличия или отсутствия ДГ, аденомы ОЩЖ ( $p > 0,1$  и  $p > 0,5$  соответственно), что объясняет отсутствие публикаций о результатах подобного анализа. В то же время нами установлено увеличение свободной от развития ПОГПТ выживаемости при выявлении ДОГ ОЩЖ ( $p = 0,02$ ). Свободная от рецидива выживаемость оказалась значимо выше при отсутствии гиперкальциемии до операции ( $p = 0,04$ ), зависимость сохранялась при включении в модель вида операции ( $p = 0,02$  – модель пропорциональных интенсивностей Кокса).

Таким образом, для прогнозирования результатов хирургического лечения имеет значение выявление у пациентов гиперкальциемии и/или наличия ДОГ ОЩЖ. Неблагоприятным признаком с точки зрения развития рецидива заболевания можно считать наличие гиперкальциемии на момент операции, а с точки зрения развития ПОГПТ – отсутствие ДОГ ОЩЖ.

Полученные данные позволяют считать, что клинико-морфологические особенности заболевания влияют на исход хирургического вмешательства *вне зависимости от его вида*. В этой связи попытки дифференцировать объем операции в зависимости от морфологического субстрата или наличия функциональной автономии можно считать бесперспективными, а термин «третичный ГПТ» нецелесообразно выделять при обсуждении хирургической тактики.

Кроме того, нами установлено, что гиперплазия при вторичном ГПТ не всегда происходит во всех ОЦЖ одновременно, часть желез сохраняет нормальное морфологическое строение. В литературе, посвященной изучению морфологического субстрата вторичного ГПТ после оперативного лечения, мы не нашли упоминания о выявлении неизменных ОЦЖ. Авторы сообщают о том, что патологические изменения затрагивают все имеющиеся ОЦЖ у пациентов при хирургическом лечении вторичного ГПТ, у части пациентов отмечается неравномерное увеличение массы желез [115, 134, 142]. При небольшом весе ОЦЖ выявляется, как правило, ДГ. У пациентов, длительно получавших консервативную терапию вторичного ГПТ, в небольших по размеру ОЦЖ чаще выявляется ДОГ [148]. В нашем исследовании нормальные ОЦЖ выявлены у 8 % больных – у 2 пациентов с функционирующим почечным трансплантатом и у 1 пациента, находящегося на программном гемодиализе. Наличие ОЦЖ нормального строения у пациентов после трансплантации почки можно объяснить мнением об инволюции гиперплазии ОЦЖ, связанной с восстановлением почечной функции [160, 197]. В доступной литературе мы не нашли объяснения выявлению нормальных ОЦЖ среди патологически измененных в операционном материале пациентов с вторичным ГПТ, получающих ЗПТ программным гемодиализом. Данная находка может быть объяснена отсутствием полного понимания патогенеза ГПТ у пациентов с хронической почечной недостаточностью.

С точки зрения хирургической тактики, выявленная несинхронность морфологических изменений в ОЦЖ определяет объективные трудности интраоперационной визуализации всех (или всех измененных) ОЦЖ и обосновывает необходимость превентивного удаления клетчатки в зоне возможного расположения ОЦЖ. Первое упоминание о необходимости применения такого объема операции при вторичном ГПТ мы нашли в работе J. Malmaeus. Автор пришел к такому мнению после выявления высокой частоты эктопированных ОЦЖ [134]. Однако работ по сравнительному анализу такого объема операций со стандартными ТПТЭ и СПТЭ нет.

Учитывая высокую частоту добавочных и эктопированных ОЦЖ, широкое распространение должно было приобрести использование интраоперационного определения ПТГ. По некоторым данным, эта методика позволяет прогнозировать

результат операции с точностью до 92 % [130], однако она не является общепринятой. По результатам анкетирования хирургических центров, менее половины хирургов используют интраоперационный мониторинг интактного ПТГ, а эффективность этого метода подтверждена лишь по сообщениям 40 % из них [91]. В нашей клинике этот метод не был доступен во время анализируемого периода.

Целесообразность выполнения ТПТЭ с диссекцией центральной клетчатки шеи, верхнего средостения и верхних рогов тимуса основана также на сопоставимом риске послеоперационных осложнений. В нашем исследовании послеоперационной летальности и раневых септических осложнений не было. Осложнением операции в раннем послеоперационном периоде установлен односторонний парез гортани: транзиторный – в 4 наблюдениях, стойкий (связанный с резекцией ВГН) – в 1 наблюдении. Частота осложнений в нашем исследовании была подобной при всех вариантах операции ( $p > 0,5$ ), что согласуется с данными L. E. Kuo et al., после анализа результатов 236 ТПТЭ и 662 СПТЭ [151]. Частота развития стойкого пареза гортани в нашем исследовании составила 2,8 %, что несколько выше в сравнении с данными M. Rothmund, P. K. Wagner и M. R. Diaconescu et al. (2,2 % и 2,3 % соответственно) и объясняется меньшим числом наблюдений [168, 180, 192]. По литературным данным, суммарная частота парезов гортани колеблется от 0 % до 6,5 %, однако в исследованиях не приводились данные о доле симультанных операциях на щитовидной железе [168, 182, 184, 189]. Суммарная частота парезов гортани, по нашим данным, оказалась выше и составила 13,9 %. При анализе частоты осложнения единственным фактором, значимо повышающим риск развития пареза гортани, нами определено выполнение симультанной геми- или тиреоидэктомии ( $p = 0,028$ ).

Частота геморрагических осложнений в нашем исследовании составила 2,8 % и не превышала значения из сообщений других авторов – от 2,3 % до 4,3 % (кровотечение, гематома шеи, требующая хирургического дренирования) [143, 168, 180, 183, 189]. Стоит отметить, что в нашем исследовании отсутствовали геморрагические осложнения, связанные с вмешательством на шее. Осложнение было представлено напряженной медиастинальной гематомой, которая развилась после стернотомии при удалении эктопированной в аорто-легочное окно аденомы.

Таким образом, проведенный анализ результатов хирургического лечения почечного гиперпаратиреоза позволяет заключить, что отсутствие синхронности в морфологических изменениях ОЩЖ и неизбежное прогрессирование ГПТ под воздействием неустраняемых патогенных факторов (ХБП) приводит к персистенции и рецидиву заболевания, которые определяют неблагоприятный исход лечения. Единственным хирургическим вмешательством, позволяющим удалить все, в том числе и не выявляемые при интраоперационной ревизии ОЩЖ, является тотальная ПТЭ. Необходимым условием выполнения такой операции является удаление ОЩЖ всех возможных локализаций, доступных из шейного доступа (включая доли щитовидной железы с установленной эктопией, центральную клетчатку шеи и верхнего средостения, верхние рога тимуса). Данный объем операции имеет сопоставимый риск послеоперационных осложнений в сравнении с СТПЭ и стандартной ТПТЭ.

При выполнении радикальных с точки зрения развития персистенции и рецидива операций с источником на шее неизбежно развитие ПОГПТ. Это определяет поиск аргументов в пользу его патогенетической коррекции и целесообразности проведения данной коррекции. Существующая точка зрения об эффективности медикаментозной коррекции ПОГПТ у больных ХПП, находящихся на заместительной терапии, не является общепринятой [2], как нет и единого мнения об эффективности и целесообразности аутотрансплантации фрагментов ОЩЖ во время операции.

По нашим данным, трансплантированные фрагменты ОЩЖ функционировали лишь у 50 % больных, а у 20 % из них функция трансплантата была избыточной, что согласуется с данными литературы [128]. Оценка паратиреоидного статуса пациентов после ТПТЭ с АТ фрагментов ткани ОЩЖ показала, что 4 из 18 больных имели целевые значения ПТГ ( $p > 0,1$ ). У 1/3 больных, получивших эффективную трансплантацию, выявляется избыточная функция трансплантата уже в первый месяц после операции. При АТ фрагментов ткани ОЩЖ ПОГПТ выявлен у 8 из 18 больных (44 %), что также выше литературных данных и может быть объяснено различием в критериях оценки ПОГПТ.

Исследование функции трансплантата ОЩЖ при помощи упрощенного теста Казановы выполнено 11 из 18 пациентов, которым была проведена АТ фраг-

мента ткани ОЩЖ после ТПТЭ. Наличие функционально активного трансплантата ОЩЖ установлено у 4 (36 %) больных, перенесших АТ фрагмента ткани ОЩЖ. При этом целевые значения ПТГ установлены у 1 пациента.

Неудовлетворенность этим результатом и отсутствие единой позиции в отношении значения гипопаратиреоза для организма пациента стали побудительным мотивом для выполнения экспериментального раздела исследования.

Для разработки патогенетически обоснованного способа коррекции ПОГПТ нами было проведено экспериментальное исследование, на первом этапе которого была разработана животная модель метаболических нарушений после паратиреоидэктомии с использованием микрохирургической техники в условиях сохраненного тиреоидного статуса [58].

К усовершенствованию модели гипопаратиреоза нас подвигло наличие недостатков существующих общепринятых способов моделирования. Так, классический способ паратиреоидэктомии с лигированием питающих сосудов, вылуциванием ОЩЖ из-под капсулы щитовидной железы пинцетом и гемостаз прошиванием может быть выполнен только на крупных лабораторных животных (способ описан для собак) [27], что не позволяет стандартизировать получаемые результаты ввиду нелинейности животных. При использовании мелких линейных лабораторных животных наиболее часто используют разрушение ОЩЖ с помощью электрокоагуляции. Применение электрокоагуляции решает проблему гемостаза, однако влечет за собой значительное повреждение щитовидной железы, высокую летальность животных в течение первых суток после операции и возможность регенерации ткани ОЩЖ, которая возникает вследствие отсутствия визуального контроля глубины повреждения ОЩЖ [62].

В исследованиях по анатомии ОЩЖ крыс-самок разного возраста нами выявлены варианты особенности их строения, доказано, что для работы необходимо использовать крыс-самок в возрасте 10 месяцев, ОЩЖ которых имеют выраженную капсулу и возвышаются над поверхностью щитовидной железы [47]. В. Halloran et al. в своем исследовании выявили, что с возрастом (после периода полового созревания у крыс-самцов F344) происходит увеличение объема желез за счет увеличения коли-

чества клеток, однако ими не были описаны различия в топографо-анатомическом отношении ОЩЖ к щитовидной железе у крыс разных возрастов [147].

На основании выявленных нами анатомических особенностей для выполнения паратиреоидэктомии с возможностью визуального контроля удаления полного объема ткани околощитовидной железы и сохранением максимального объема интактной ткани щитовидной железы следует выбирать крыс самок линии Wistar в возрасте не менее 10 месяцев и предложенный нами анатомически обоснованный доступ к околощитовидным железам.

Отличительными приемами разработанного нами способа паратиреоидэктомии явились угловой разрез кожи с формированием «косынкообразного» лоскута мобилизация структур шеи с использованием микрохирургической техники и операционного микроскопа, паратиреоидэктомия путем резекции в пределах ткани щитовидной железы на 0,1 мм от капсулы околощитовидной железы, нанесение на раневую поверхность щитовидной железы медицинского клея «Сульфакрилат». Установлено что при угловом разрезе кожи с формированием косынкообразного лоскута при доступе к околощитовидным железам удается сместить кожный шов от области щитовидной железы, что позволило улучшить течение репаративных процессов и предотвратило вовлечение щитовидной железы в формирование рубца.

Выявлено, что удаление ОЩЖ с резекцией 0,1 мм прилежащей ткани щитовидной железы с использованием микрохирургической техники обеспечивает устойчивое снижение уровня паратиреоидного гормона в 15 раз ( $p_U = 0,003$ ), ионизированного кальция крови – в 2 раза по сравнению с нормальным показателем, различие между максимальным и минимальным значениями уровня ионизированного кальция после паратиреоидэктомией по оригинальному способу составило 0,13 ммоль/л через 3 суток и существенно не менялось: через 14 суток – 0,12 ммоль/л. Одинаковая степень тяжести гипокальциемии у всех животных позволяет с большей точностью оценить эффекты заместительной терапии [48].

Нанесение клея «Сульфакрилат» обеспечило надежный гемостаз раневой поверхности щитовидной железы, явилось дополнительной профилактикой раневых осложнений за счет антисептических свойств клея. При гистологическом ис-

следовании тканей в области оперативного вмешательства у животных с паратиреоидэктомией по оригинальному способу выявляли щитовидную железу с сохраненными фолликулами и формирующейся «тонкой» соединительнотканной капсулой, волокна скелетной мышцы с сосудами, полость с небольшим количеством клея «Сульфакрилат» без признаков перифокального воспаления и уменьшением рубцового процесса в зоне вмешательства при массивных деструктивных, воспалительных изменениях с очагами некроза щитовидной железы в группе контроля с электрокоагуляцией околощитовидных желез [38].

После паратиреоидэктомии по оригинальному способу через 3 и 14 суток после оперативного вмешательства уровни ТЗсв., Т4св. и ТТГ находились в пределах нормальных значений, что говорит о сохранении нормальной функции щитовидной железы в раннем послеоперационном периоде и исключает влияние гипотиреоза на изучаемые явления. При этом мы показали, что при разрушении ОЩЖ при помощи электрокоагуляции в течение 14 суток животное находится в гипотиреоидном состоянии.

Установлено, что ПТЭ по оригинальному способу приводит к меньшей летальности в раннем послеоперационном периоде на 5-е сутки по сравнению с разрушением ткани ОЩЖ при помощи электрокоагуляции ( $p_F = 0,04$ ), и выявленная закономерность сохраняется до 20-х суток исследования, что можно связать с отсутствием ранних осложнений операции, которые приводят к летальному исходу у животных. В отдаленном периоде, с 21-х суток, летальность связана с моделируемым состоянием, 30-суточная летальность составила 40 %. Возникшие метаболические нарушения после паратиреоидэктомии разработанным способом характеризуются стойким снижением уровня ПТГ в 15 раз, по сравнению с нормальным показателем, гипокальциемией тяжелой степени, сохранением тиреоидного статуса, снижением поглотительной способности нейтрофилов к 14-м суткам [10].

В патогенезе гипопаратиреоза с тяжелой некорригированной гипокальциемией в условиях сохраненного тиреоидного статуса в отдаленном послеоперационном периоде выявлено развитие полиорганной недостаточности.

Бронхоспазм является одним из симптомов гипокальциемии [73]. После моделирования гипопаратиреоза по разработанному нами способу морфологические

признаки бронхоспазма выявляли у животных через 3 суток после паратиреоидэктомии, что в отсутствие заместительной терапии приводило в дальнейшем к развитию воспалительных изменений в легких – от межочечной пневмонии до формирования абсцессов. Изменения в почках в условиях тяжелой некорригированной гипокальциемии в отдаленном послеоперационном периоде характеризовались отёком, расширением мезангия клубочков, вакуолизацией и отеком клеток эпителия канальцев нефронов, уменьшением размера клубочков, дистрофическими изменениями клеток эпителия нефронов, наличием кровоизлияний в паренхиме почки. В миокарде выявляли дистрофические изменения кардиомиоцитов, извитой ход мышечных волокон. В тканях печени выявляли дистрофические изменения.

Следующим этапом исследования стала разработка патогенетически обоснованного способа коррекции гипопаратиреоза с гипокальциемией тяжелой степени при сохраненном тиреоидном статусе животного [56].

Клеточные технологии активно используются в коррекции органной недостаточности [51, 60, 170]. Предложены различные протоколы получения и культивирования клеток ОЩЖ [83, 95, 120, 146, 166, 176]. Мы не встретили исследований эффективности трансплантации культуры аутологичных клеток ОЩЖ с целью коррекции гипопаратиреоза.

Усовершенствованная технология получения КК ОЩЖ позволяет получать клеточный материал из 0,06 г в количестве  $2 \times 10^4$  в 0,5 мл с жизнеспособностью 99 % (98; 100), продуцирующие ПТГ, что доказано определением ПТГ в культуральной среде в значении 753,0 (690,0; 764,4) пг/мл на 3-и сутки культивирования. В культуре преобладают клеточные ассоциации, преимущественно из светлых клеток.

Установлено, что трансплантированные культивированные аутологичные клетки ОЩЖ через 14 суток формируют органоидные структуры с новообразованными сосудами без перифокальной воспалительной реакции, с сохранением структуры через 30 суток, что свидетельствует о высокой жизнеспособности и функциональной активности пересаженных клеток. Тогда как приживляемость трансплантированных фрагментов ткани ОЩЖ составила 33 %.

При оценке эффективности коррекции гипопаратиреоза АТ КК ОЩЖ, по данным летальности/выживаемости, установлено, что при оценке летальности не выявлено значимых различий по сравнению с группами контроля, однако выживаемость при АТ КК ОЩЖ составила 90 %, что к 30-м суткам было существенно выше по сравнению с группой 2.2, где выполняли АТ фрагментов ткани ОЩЖ (60 %) и не отличалась от аналогичного показателя в группе с заместительной терапией альфакальцидолом и глюконатом кальция.

Выявлено, что при АТ КК ОЩЖ происходит нормализация уровней ПТГ и ионизированного кальция через 11 суток после трансплантации с сохранением их в пределах нормальных значений через 30 суток после моделирования. При АТ фрагментов ткани ОЩЖ нормализация уровней ПТГ и ионизированного кальция отмечена у 33 % животных через 30 суток. В группе 2.1 с проведением заместительной терапии препаратами альфакальцидол и кальция глюконат уровень ПТГ оставался значительно сниженным на протяжении всего срока наблюдения, уровень ионизированного кальция нормализовался через 14 суток после моделирования гипокальциемии и сохранялся в пределах нормальных значений через 30 суток.

Для оценки влияния трансплантации культуры клеток используют изучение показателей неспецифической резистентности организма [9]. Нами при анализе показателей воспаления установлено, что АТ КК ОЩЖ в мышцу при моделировании гипопаратиреоза способствует существенному снижению общего числа лейкоцитов, по сравнению с АТ фрагмента и заместительной терапией и нормализацией лейкоцитарной формулы, через 14 и 30 суток после ПТЭ.

Роль ПТГ в регуляции фагоцитоза до конца не изучена [118]. Известно, что избыток ПТГ при вторичном ГПТ ассоциирован с нарушением функции фагоцитирующих клеток, их миграции, уменьшением фагоцитарной и бактерицидной активности, ингибированием хемотаксиса. [135, 165]. Преимущественно авторы объясняют эти нарушения повышенным накоплением внутриклеточного кальция [102]. Однако состояние фагоцитоза при гипопаратиреозе и различных видах его коррекции освещено недостаточно.

При оценке фагоцитоза у животных после АТ КК ОЩЖ в мышцу выявлено отсутствие изменений показателей активности и интенсивности фагоцитоза на 3-и, 14-е и 30-е сутки, сохранение в пределах нормальных значений на протяжении 30 суток показателя кислородзависимого механизма бактерицидности нейтрофилов, снижение показателя функционального резерва нейтрофилов через 14 суток и его восстановление через 30 суток. В то же время через 30 суток после АТ фрагмента ОЩЖ у животных сохранялся сниженный показатель интенсивности фагоцитоза, кислородзависимой бактерицидности и функционального резерва нейтрофилов. У животных с медикаментозной коррекцией гипокальциемии через 30 суток выявлено снижение показателей кислородзависимой бактерицидности и функционального резерва нейтрофилов. В таблице 38 представлено влияние различных способов коррекции гипопаратиреоза на эффекты паратиреоидэктомии.

**Таблица 38** – Характеристика влияния коррекции гипопаратиреоза различными способами на изменение показателей неспецифической резистентности после паратиреоидэктомии в условиях сохраненного тиреоидного статуса

Паратиреоидэктомия без коррекции*	Устраняет эффект**	Не влияет**
Снижение ФИ через 14 суток	АТ КК ОЩЖ АТ фр ОЩЖ «+»	ЗТ АТ фр ОЩЖ «-»
Снижение ФЧ через 14 суток	АТ КК ОЩЖ ЗТ	АТ фр ОЩЖ «+» АТ фр ОЩЖ «-»
Снижение ФЧ через 30 суток	АТ КК ОЩЖ АТ фр ОЩЖ «+»	ЗТ АТ фр ОЩЖ «-»
Повышение НСТ <sub>сп.</sub> через 3 суток	АТ КК ОЩЖ АТ фр ОЖ «+» АТ фр ОЩЖ «-» ЗТ	
Снижение НСТ <sub>сп.</sub> через 30 суток	АТ КК ОЩЖ АТ фр ОЩЖ «+»	ЗТ АТ фр ОЩЖ «-»
Снижение НСТ <sub>инд.</sub> через 30 суток	АТ КК ОЩЖ АТ фр ОЩЖ «+»	ЗТ АТ фр ОЩЖ «-»

**Примечание:** \* – относительно показателей интактных животных ( $p_U < 0,05$ );  
\*\* – относительно показателей животных после паратиреоидэктомии без коррекции ( $p_U < 0,05$ ); АТ КК ОЩЖ – аутотрансплантация культуры клеток околощитовидных желез; АТ фр ОЩЖ «+» – эффективная аутотрансплантация фрагментов ткани околощитовидных желез; АТ фр ОЩЖ «-» – неэффективная аутотрансплантация фрагментов ткани околощитовидных желез; ЗТ – заместительная терапия альфакальцидолом и кальция глюконатом.

Выявлено, что трансплантация культуры аутологичных клеток ОЩЖ приводит к сохранению нормального строения ткани почек и легких через 30 суток.

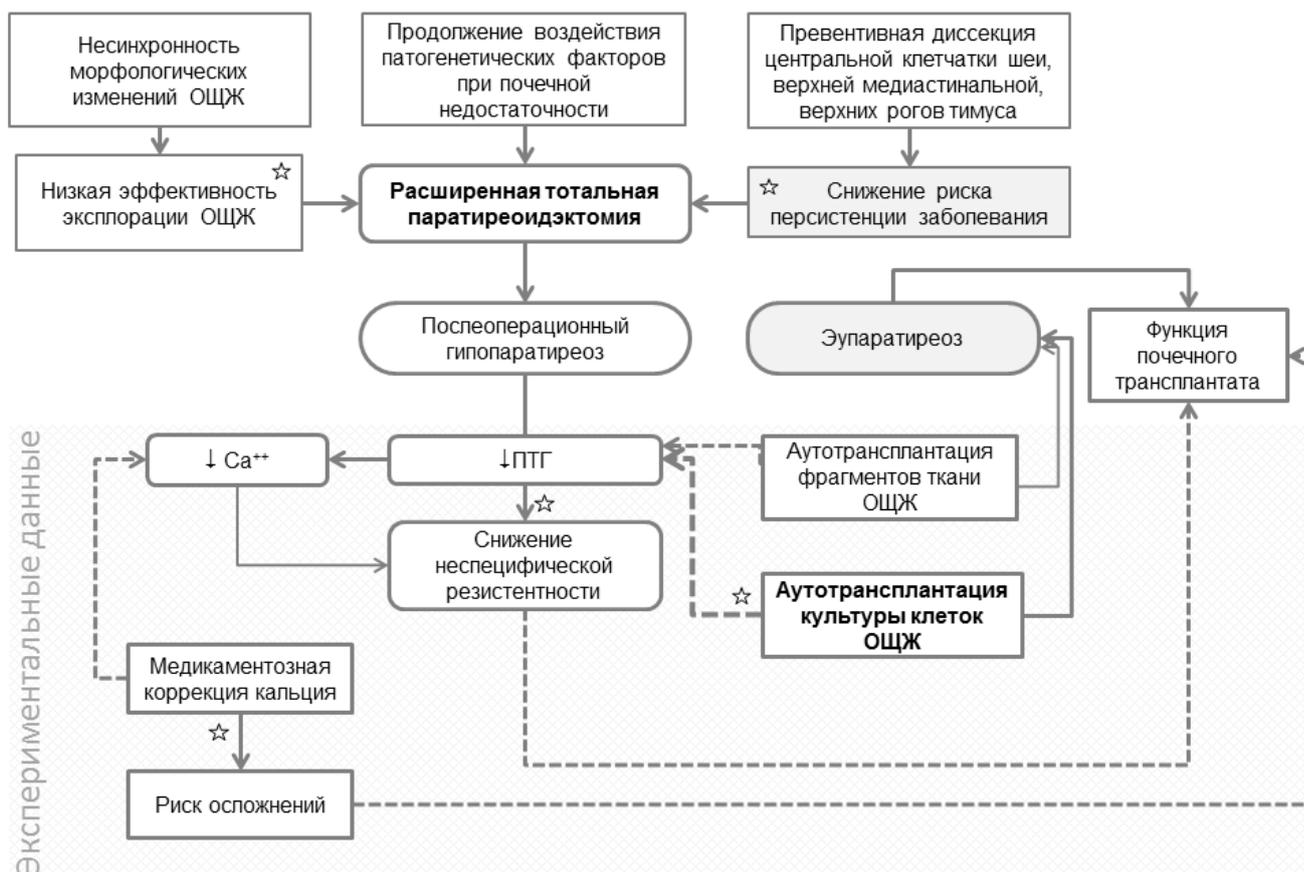
Заместительная терапия послеоперационной гипокальциемии приводит к уменьшению тяжести морфологических изменений. При исследовании течения гипопаратиреоза у пациентов с длительной медикаментозной коррекцией препаратами кальция и альфакальцидолом описаны различные побочные эффекты [75, 111, 125]. В литературе встречаются противоречивые мнения о роли альфакальцидола в кальцификации стенок сосудов [6, 39, 162, 123, 157]. Нами выявлен кальциноз субкортикального слоя паренхимы почек при терапии гипопаратиреоза в течение 30 дней с нормокальциемией, что указывает на возможность раннего развития побочных эффектов при медикаментозном лечении ПОГПТ и повышение вероятности невозможности быстрой и адекватной коррекции дозы препаратов заместительной терапии.

Морфологические изменения в легких животных с АТ фрагмента ОЩЖ проявлялись признаками бронхоспазма с межуточной пневмонией, дистрофическими явлениями эпителия нефронов, уменьшением размера клубочков.

Таким образом, установлено, что саногенез ПОГПТ под влиянием трансплантированной культуры аутологичных клеток ОЩЖ реализуется посредством восстановления к 11-м суткам после трансплантации уровня ПТГ, ионизированного кальция, иммунологических показателей 1-го уровня, сохранением неспецифической резистентности, отсутствия изменений в паренхиме почек, легких, миокарде.

Выявленные закономерности послужили основанием для создания концептуальной схемы патогенетического обоснования использования тотальной паратиреоидэктомии и трансплантации культуры аутологичных клеток ОЩЖ (рисунок 59).

Медикаментозная коррекция послеоперационной гипокальциемии приводит к уменьшению тяжести морфологических изменений, характерных для ПОГПТ, при этом к 30-м суткам эксперимента выявляется кальциноз субкортикального слоя паренхимы почек.



**Примечание:**

→ - Положительное влияние;

-----> - Отрицательное влияние;

☆ - Собственные данные

**Рисунок 59** – Концептуальная схема патогенетического обоснования использования тотальной паратиреоидэктомии и трансплантации культуры аутологичных клеток ОЩЖ.

Созданы теоретические предпосылки для трансляции результатов экспериментальных исследований трансплантационной коррекции гипопаратиреоза, вызванного удалением ОЩЖ, в клиническую практику. Клинико-экспериментальное обоснование использования ТПТЭ с иссечением центральной клетчатки шеи, верхнего средостения и верхних рогов вилочковой железы с АТ КК ОЩЖ может быть использовано при планировании трансляционных исследований, направленных на улучшение отдаленных результатов хирургического лечения вторичного ГПТ у пациентов, находящихся на ЗПТ.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

СахР	– кальциево-фосфорное произведение
FGF23	– фактор роста фибробластов 23
А	– аденома
АТ	– аутотрансплантация
АТПП	– аллотрансплантация трупной почки
ВГН	– возвратный гортанный нерв
ГПТ	– гиперпаратиреоз
ДГ	– диффузная гиперплазия
ДОГ	– диффузно-очаговая гиперплазия
ЗПТ	– заместительная почечная терапия
КК	– культура клеток
НСТ <sub>сп.</sub>	– ниторосиний тетразолий тест спонтанный
НСТ <sub>инд.</sub>	– ниторосиний тетразолий тест индуцированный
ОЩЖ	– околощитовидная железа
ПАПД	– постоянный амбулаторный перитонеальный диализ
ПГ	– программный гемодиализ
ПОГПТ	– послеоперационный гипопаратиреоз
ПТГ	– паратиреоидный гормон
ПТЭ	– паратиреоидэктомия
СПТЭ	– субтотальная паратиреоидэктомия
ТПТЭ	– тотальная паратиреоидэктомия
ФИ	– фагоцитарный индекс
ФЧ	– фагоцитарное число
ХБП	– хроническая болезнь почек
ЧБНЛ	– число больных с неблагоприятным исходом лечения
ЩФ	– щелочная фосфатаза

## ВЫВОДЫ

**1.** Отсутствие сопряженности и синхронности клинико-морфологических признаков заболевания затрудняет интраоперационную эксплорацию ОЩЖ на шее, что определяет необходимость выполнения расширенного объема операции. Эффективность интраоперационной эксплорации ОЩЖ составляет 81 %. В 14 % наблюдений установлены эктопированные ОЩЖ, 80 % из них доступны для удаления из шейного доступа.

**2.** Сравнительный анализ хирургических вмешательств показал преимущества расширенной паратиреоидэктомии. Тотальная паратиреоидэктомия с ауто-трансплантацией и субтотальная паратиреоидэктомия не имеют различий по частоте достижения целевых значений ПТГ ( $p > 0,95$ ). Частота персистенции заболевания с источником, доступным для удаления из шейного доступа, при СПТЭ составила 26 %; при ТПТЭ, основанной на эксплорации ОЩЖ, – 11 % (ЧБНЛ = 6 в сравнении с СПТЭ); при ТПТЭ, основанной на удалении ОЩЖ всех возможных локализаций, доступных из шейного доступа (включая доли щитовидной железы с установленной эктопией, центральную клетчатку шеи и верхнего средостения, верхние рога тимуса), – 0 % (ЧБНЛ = 4 в сравнении с СПТЭ). Частота рецидива заболевания при СПТЭ составила 12 %, при ТПТЭ – 5 % (ЧБНЛ = 14). Частота ПОГПТ при СПТЭ составила 31 %, при ТПТЭ – 50 % (ЧБНЛ = 5).

**3.** Разработанная модель послеоперационного гипопаратиреоза характеризуется сохранением тиреоидного статуса ( $p > 0,95$  при сравнении с показателями интактных животных), 100%-й воспроизводимостью, стойким снижением паратиреоидного гормона ( $p = 0,003$ ), тяжелой гипокальциемией ( $p = 0,003$ ), наличием воспалительной реакции и снижением неспецифической резистентности организма, 40%-й летальностью через 30 суток. После паратиреоидэктомии метаболические нарушения приводят к развитию изменений в легких (в виде бронхоспазма с формированием абсцедирующей пневмонии), почках (отек и деструкция эпителия клубочков) и миокарде (дистрофические изменения). Ключевым механизмом па-

тогенеза исхода метаболических нарушений установлено нарушение неспецифической резистентности со снижением активности и интенсивности фагоцитоза, выявляемого через 14 суток.

4. Усовершенствованная технология получения 3-суточной культуры аутологических клеток ОЩЖ крысы позволяет получить функционально активный материал для трансплантации с жизнеспособностью 99,5 %, что превышает аналогичные показатели при использовании трипсинизации ( $p = 0,003$ ).

5. Эффективность ауотрансплантации культивированных клеток околотитовидной железы, подготовленных по разработанной технологии, превосходит ауотрансплантацию фрагментов ткани околотитовидной железы и является патогенетически обоснованным методом коррекции послеоперационного гипопаратиреоза. Коррекция послеоперационного экспериментального гипопаратиреоза с сохраненным тиреоидным статусом ауотрансплантацией культуры клеток околотитовидных желез сопровождается повышением выживаемости по сравнению с ауотрансплантацией фрагментов (0,9 и 0,6 соответственно,  $p = 0,03$ ). Ключевым механизмом саногенеза гипопаратиреоза установлено высокая частота приживления с сохранением неспецифической резистентности и показателей фагоцитоза (отсутствие снижения фагоцитарного индекса, фагоцитарного числа, спонтанного НСТ-теста, индуцированного НСТ-теста по сравнению с интактными животными через 3 суток после трансплантации,  $p > 0,05$ ). Саногенные эффекты клеточной трансплантации реализуются посредством восстановления гормонального статуса, обмена кальция, сохранением неспецифической резистентности (на протяжении 30 суток), отсутствием изменений в паренхиме почек, легких, миокарде (к 30-м суткам).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

**1.** При выполнении тотальной паратиреоидэктомии у больных вторичным гиперпаратиреозом, которые находятся на заместительной почечной терапии, целесообразно выполнение удаления центральной клетчатки шеи и верхнего средостения, верхних рогов тимуса.

**2.** Тотальная паратиреоидэктомия при вторичном гиперпаратиреозе у больных, находящихся на заместительной почечной терапии, должна сопровождаться аутотрансплантацией околощитовидной железы.

**3.** Для моделирования послеоперационного гипопаратиреоза рекомендуется:

а) использовать крыс-самок линии Wistar в возрасте 10 месяцев;

б) с целью предотвращения формирования рубца с вовлечением щитовидной железы для органосохранения начинать доступ к ОЩЖ с углового разреза кожи с формированием косынкаобразного лоскута;

в) выполнять резекцию ткани щитовидной железы при экстирпации ОЩЖ с использованием микрохирургической техники в пределах 0,1 мм вглубь паренхимы щитовидной железы;

г) использовать медицинский клей «Сульфакрилат», нанесение которого эффективно для гемостаза раневой поверхности щитовидной железы.

**4.** При ПОГПТ у крыс для трансплантации необходимо использовать высоко жизнеспособную 3-суточную культуру клеток ОЩЖ, продуцирующую паратиреоидный гормон.

**5.** Проведение медикаментозной коррекции ПОГПТ при наличии функции почек несет риск осложнений, так как в эксперименте через 30 суток терапии препаратами кальция и витамина Д (в дозе 0,05 мг и 0,006 мкг на 100 г массы тела животного соответственно) выявляется кальциноз субкортикального слоя паренхимы почек.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арбошкин, В. А. Новый способ профилактики и коррекции пострезекционной гипергликемии в эксперименте / В. А. Арбошкин, С. А. Лепехова, О. А. Гольдберг // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 4. – С. 13–14.
2. Аюшеева, А. В. Послеоперационный гипопаратиреоз, способы профилактики и коррекции / А. В. Аюшеева, Е. А. Ильичева, С. А. Лепехова // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 1 (89). – С. 160–164.
3. Бащинский, С. Е. Как следует представлять данные рандомизированных контролируемых исследований / С. Е. Бащинский // Междунар. журн. мед. практики. – 1997. – № 1. – С. 7–11.
4. Бикбов, Б. Т. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998–2011 гг. (отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии. Часть первая) / Б. Т. Бикбов, Н. А. Томилина // Нефрология и диализ. – 2014. – Т. 16 (1). – С. 11–127.
5. Боровиков, В. П. STATISTICA – Статистический анализ и обработка данных в среде Windows / В. П. Боровиков, И. П. Боровиков. – М. : Информ.-изд. дом «Филинь», 1997. – 608 с.
6. Бузоева, М. Р. Изменения функции почек под влиянием внутрижелудочного введения хлорида никеля в условиях измененного кальциевого гомеостаза / М. Р. Бузоева // Вестник новых медицинских технологий (электр. изд.). – 2013. – Т. 1. – С. 58.
7. Ветчинникова, О. Н. Гиперпаратиреоз при хронической болезни почек / О. Н. Ветчинникова // Эффективная фармакотерапия. – 2013. – № 46. – С. 26–39.
8. Ветчинникова, О. Н. Цинакалцет в лечении вторичного (почечного) гиперпаратиреоза (результаты одноцентрового исследования) / О. Н. Ветчинникова, А. В. Ватазин, Е. Ю. Полякова // Лечащий врач. – 2012. – Т. 1. – С. 54.
9. Влияние ксенотрансплантации культуры клеток печени на изменения неспецифической резистентности организма при остром токсическом повреждении

печени / С. А. Лепехова, К. А. Апарцин, Л. В. Зарицкая, О. Н. Постовая и др. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – Т. 90, № 7. – С. 101–104.

10. Влияние различных способов удаления околощитовидных желез на показатели неспецифической резистентности / А. В. Аюшеева, Л. В. Зарицкая, С. А. Лепехова, Е. В. Батунова и др. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2014. – Т. 129, № 6. – С. 78–81.

11. Волков, М. М. Рентгенологическая оценка кальцификации брюшной аорты у больных с хронической болезнью почек, получающих гемодиализ. Частота выявления и ассоциированные факторы / М. М. Волков, А. В. Смирнов // Нефрология. – 2010. – Т. 14, № 3. – С. 37–45.

12. Герасимчук, Р. Малоинвазивный метод коррекции вторичного гиперпаратиреоза при хронической болезни почек / Р. Герасимчук, А. Земченков, С. Кондаков // Врач. – 2009. – Т. 11. – С. 15–22.

13. Гиперфосфатемия у пациентов с хронической болезнью почек на диализе: риски и возможности коррекции / А. Ю. Земченков, Р. П. Герасимчук, К. А. Вишневский, Г. А. Земченков // Клиническая нефрология. – 2013. – № 4. – С. 13–20.

14. Гланц, С. Медико-биологическая статистика : Пер. с англ. / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

15. Дедов, И. И. Эндокринология. Национальное руководство. Краткое издание / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 752 с.

16. Евменова, Т. Д. Расширенная паратиреоидэктомия, как эффективный способ лечения вторичного гиперпаратиреоза / Т. Д. Евменова, Л. Г. Лямина // Вестник Кузбасского научного центра. – 2011. – № 13. – С. 73–74.

17. Евстигнеева, Л. П. Показатели эффективности препаратов для лечения остеопороза / Л. П. Евстигнеева, О. М. Лесняк // Научно-практическая ревматология. – 2011. – № 1. – С. 62–65.

18. Зурнаджянц, В. А. Перспективы послеоперационной коррекции гиперпаратиреоза / В. А. Зурнаджянц, Д. А. Чернухин // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16 (1). – С. 47.

19. Иммунологические методы исследований : Пер. с англ. / Под ред. И. Лефковитса, Б. Пернуса. – М. : Мир, 1988. – 530 с.
20. Интраоперационные способы гемостаза при операциях на печени / Г. Ц. Дамбаев, А. Н. Байков, Е. В. Семичев, М. Н. Шписман и др. // Бюл. сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 89–92.
21. Клей медицинский : пат. 2156140 Рос. Федерация / А. Г. Толстикова, Г. А. Толстикова, А. И. Воробьева и др. ; заявл. 17.11.1999, опубл. 20.09.2000.
22. Клинико-морфологические параллели почечного гиперпаратиреоза / Е. А. Ильичева, А. В. Аюшеева, Е. В. Рожанская, С. А. Папешина и др. // Матер. 22-го (24) Росс. симп. с междунар. участием «Эндокринная хирургия 2003–2014 гг». – СПб., 2014. – С. 166.
23. Культура животных клеток. Методы : Пер. с англ. / Под ред. Р. Фрешни. – М. : Мир, 1989. – 333 с.
24. Лепехова, С. А. Методология экспериментальных исследований в хирургии (лекция) / С. А. Лепехова // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – Т. 3 (97). – С. 109–115.
25. Лепехова, С. А. Программа стандартных операционных процедур: лабораторные животные (прием, содержание, уход и контроль здоровья животных в вивариях медицинского учреждения) : учеб. пособие / С. А. Лепехова. – Иркутск : НЦРВХ СО РАМН ; ИГМУ, 2012. – 96 с.
26. Лечение вторичного гиперпаратиреоза, рефрактерного к альфакальцитодолу, у пациентов, получающих заместительную почечную терапию программным гемодиализом / Л. В. Егшатын, Л. Я. Рожинская, Н. С. Кузнецов и др. // Эндокринная хирургия. – 2012. – Т. 2. – С. 27–41.
27. Лопухин, Ю. М. Экспериментальная хирургия / Ю. М. Лопухин. – М., 1971. – 346 с.
28. Лян, Н. И. Новые технологии в хирургии околощитовидных желез / Н. И. Лян, О. С. Попов, М. М. Ларионов // Медицина и образование в Сибири. – 2014. – № 4. – С. 46.

29. Матяшин, И. М. Справочник хирургических операций / И. М. Матяшин, А. М. Глузман. – Киев. : Здоров'я, 1979. – 312 с.

30. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках ; 5-я ред. / Пер. Н. В. Зеленецкого. – СПб. : Лань. – 2013. – 400 с.

31. Меркулов, Г. А. Курс патологогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Ленинград : Медицина, 1969. – 423 с.

32. Михайлова, Н. А. Селективный активатор витамин-D-рецепторов парикальцитол и его место в лечении хронической болезни почек. Обзор литературы / Н. А. Михайлова // Лечащий врач. – 2011. – № 2. – С. 82.

33. Мохов, Е. М. Персистирующий тяжелый третичный гиперпаратиреоз после тотальной паратиреоидэктомии, резистентный к медикаментозному лечению / Е. М. Мохов, А. А. Сутягин // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2013. – Т. 2 (19). – С. 260–263.

34. Назаренко, Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – М. : Медицина, 2000. – 544 с.

35. Национальные рекомендации по минеральным и костным нарушениям при хронической болезни почек Российское диализное общество (май 2010 г.) / В. М. Ермоленко, Г. В. Волгина, В. А. Добронравов, Л. Я. Рожинская и др. // Нефрология и диализ. – 2011. – Т. 13 (1). – С. 33–51.

36. Ноздрачев, А. Д. Анатомия крысы (лабораторные животные) / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков ; под ред. А. Д. Ноздрачева. – СПб. : Лань, 2001. – 464 с.

37. Осиков, М. В. Роль гиперпаратиреоза в формировании иммунного статуса при хронической почечной недостаточности (экспериментальное исследование) / М. В. Осиков, Д. А. Черепанов, О. Г. Гизенгер // Вестник ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура». – 2015. – Т. 15, № 2. – С. 45–51.

38. Оценка влияния медицинского клея на основе цианокрилата на течение раневого процесса в зоне оперативного вмешательства после выполнения паратиреоидэктомии у мелких лабораторных животных / А. В. Аюшеева, С. А. Лепехова,

Е. А. Ильичева, О. А. Гольдберг и др. // Материалы II Всеросс. Конгр. с участием стран СНГ «Инновационные технологии в эндокринологии». – М., 2014. – С. 457.

39. Оценка сосудистой кальцификации у пациентов на гемодиализе по боковому снимку брюшной аорты. Обзор литературы и результаты пилотного исследования / А. Ю. Земченков, Р. П. Герасимчук, Г. А. Земченков, В. Ю. Ряснянский // Клиническая нефрология. – 2013. – № 1. – С. 29–36.

40. Пластика брюшной стенки синтетическими эндопротезами с помощью клея в эксперименте / В. В. Паршиков, В. А. Ходак, В. В. Петров, А. В. Дворников и др. // Современные технологии в медицине. – 2013. – Т. 5, № 2. – С. 14–19.

41. Плейотропные эффекты паратиреоидэктомии и агониста кальций-чувствительного рецептора цинакальцета / Л. В. Егшатын, Л. Я. Рожинская, Н. С. Кузнецов, М. Ш. Шамхалова // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2013. – Т. 9, № 2. – С. 152–157.

42. Плечев, В. В. Использование бактерицидно-герметизирующих эффектов антибиотика и биополимера «Сульфакрилат» в хирургическом лечении аневризм брюшной аорты / В. В. Плечев, А. И. Шестаков, Р. М. Гарипов // Креативная хирургия и онкология. – 2010. – № 4. – С. 47–48.

43. Полухина, Е. В. Использование чрескожного введения этанола под контролем ультразвука в лечении вторичного гиперпаратиреоза / Е. В. Полухина, Д. В. Езерский // Диагностическая и интервенционная радиология. – 2015. – Т. 9, № 1-1. – С. 11–19.

44. Практическая вирусология: Пер. с нем. / Под ред. Г. Старке. – М. : Колос, 1970. – 352 с.

45. Применение клеевой композиции «Сульфакрилат» в хирургии параселлярных менингиом / М. С. Кваша, В. В. Кондратюк, З. М. Никифорак, В. Н. Ключка // Украинский нейрохирургический журнал. – 2014. – № 3. – С. 84–87.

46. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2002. – 312 с.

47. Результаты исследования топографической анатомии щитовидной и околощитовидной желез крысы / А. В. Аюшеева, О. А. Гольдберг, Е. А. Ильичева, С. А. Лепехова и др. // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 1 (95). – С. 64–69.

48. Результаты моделирования послеоперационного гипопаратиреоза / А. В. Аюшеева, С. А. Лепехова, О. А. Гольдберг, Е. А. Ильичева и др. // 81-я Всеросс. Байкальская науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием «Актуальные вопросы современной медицины» : сб. статей. – Иркутск, 2014. – С. 7–14.

49. Результаты паратиреоидной аллотрансплантации / В. Я. Хрыщанович, С. И. Третьяк, А. Н. Харламова, В. А. Кондратович и др. // Новости хирургии. – 2013. – Т. 21, № 6. – С. 68–77.

50. Результаты хирургического лечения вторичного гиперпаратиреоза с применением паратиреоидной аутотрансплантации / А. М. Писаренко, Ю. Е. Демидчик, О. В. Ильинчик, В. Я. Хрыщанович и др. // Новости хирургии. – 2014. – Т. 22, № 5. – С. 582–588.

51. Саногенные эффекты ксенотрансплантации клеток печени при остром токсическом повреждении печени / С. А. Лепехова, К. А. Апарцин, М. В. Прокопьев, О. А. Гольдберг // Анналы хирургической гепатологии. – 2005. – Т. 10, № 2. – С. 203b–204.

52. Семерчев, Г. Г. Влияние экспериментального гипопаратиреоза на содержание и организацию циркадианного ритма норадреналина в миокарде / Г. Г. Семерчев, Т. И. Джандарова, Т. С. Поддубная // Бюл. медицинских интернет-конференций. – 2011. – Т. 1 (7). – С. 32–34.

53. Слепцов, И. В. Хирургическое лечение вторичного гиперпаратиреоза [Электронный ресурс] / И. В. Слепцов, Р. А. Черников, К. Ю. Новокшенов. – Режим доступа: <http://www.nephro.ru/content/files/presentations/51/2838023a778dfaecd212708f721b788.swf>.

54. Состояние иммунокомпетентных органов в условиях гормонального дисбаланса / Т. Л. Смирнова, В. Е. Сергеева, В. С. Судеева и др. // Международный журнал по иммунореабилитации. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 235b–236.

55. Спицин, В. В. Морфологические аспекты регенерационных процессов во внутренних органах на фоне применения клея «Сульфакрилат» / В. В. Спицин // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2014. – Т. 3, № 2 (10). – С. 9–13.

56. Способ коррекции послеоперационного гипопаратиреоза: Приоритетная справка RU № 2015104687/15 от 11.02.2015 / Аюшеева А. В., Лепехова С. А., Гольдберг О. А., Ильичева Е. А., Курганский И. С., Каргин А. Г.

57. Способ лечения вторичного гиперпаратиреоза: Патент на изобретение RUS № 2430691 от 07.06.2010 / Попов О. С., Дыгай А. М., Удут В. В., Жданов В. В., Ларионов М. М., Лян Н. И., Галян А. Н., Тихонов В. И., Байков А. Н.

58. Способ моделирования пострезекционной гипокальциемии: Приоритетная справка RU № 2014114131/14 от 09.04.2014 / Аюшеева А. В., Гольдберг О. А., Лепехова С. А., Ильичева Е. А., Курганский И. С., Андаева Т. М.

59. Стандарт оказания медицинской помощи больным гипопаратиреозом : Прил. к Приказу Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 11.03.2005. – № 213.

60. Трансплантация островков Лангерганса для профилактики пострезекционной гипергликемии в эксперименте / В. А. Арбошкин, С. А. Лепехова, О. А. Гольдберг, А. А. Кравченко // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 6-1. – С. 153–155.

61. Третьяк, С. И. Перспективы трансплантации парашитовидных желез / С. И. Третьяк, В. Я. Хрыщанович, А. В. Романович // Медицинские новости. – 2007. – № 3. – С. 14–18.

62. Функционально-морфологическая характеристика почек и состояние антиоксидантной системы у крыс с экспериментальной гипокальциемией / И. Г. Джиоев, А. В. Козаев, Б. Н. Кабоева, Р. Э. Козаев // Фундаментальные исследования. – 2013. – Т. 7. – С. 301–304.

63. Харламова, А. Н. Особенности длительного культивирования клеток парашитовидной железы человека / А. Н. Харламова, В. Я. Хрыщанович, С. И. Третьяк // Военная медицина. – 2014. – № 1 (30). – С. 106–109.

64. Хирургическая эндокринология: руководство / Под ред. А. П. Калинина, Н. А. Майстренко, П. С. Ветшева. – СПб. : Питер, 2004. – 960 с.

65. Хирургическое лечение персистирующего третичного гиперпаратиреоза, вызванного эктопированной в аорто-легочное окно паратиромой / Е. А. Ильичева, А. В. Аюшеева, В. Н. Махутов, А. В. Гринчук и др. // Эндокринная хирургия. – 2014. – № 3. – С. 27–34.

66. Хирургическое лечение рецидивного третичного гиперпаратиреоза, вызванного распространенным паратиреоматозом. Обзор литературы и клиническое наблюдение / Е. А. Ильичева, А. В. Аюшеева, В. А. Сеницын, Е. В. Рожанская и др. // Нефрология и диализ. – 2015. – № 1. – С. 89-99.

67. Хорошилов, С. Е. Проблема кальция в фосфатсвязывающей терапии минерально-костных нарушений при хронической болезни почек у больных, получающих лечение программным гемодиализом / С. Е. Хорошилов // Клиническая нефрология. – 2014. – № 1. – С. 36–41.

68. Хрыщанович, В. Я. Сравнительный анализ материалов, применяемых для иммуноизоляции клеток при трансплантации / В. Я. Хрыщанович, С. И. Третьяк // Новости хирургии. – 2012. – Т. 20, № 3. – С. 100–116.

69. Цуцаева, А. А. Криоконсервация культивируемых клеток животных / А. А. Цуцаева, Т. Ф. Петренко // Методы культивирования клеток. – Л., 1988. – С. 63–69.

70. Юшкова, Л. Н. Влияние гипо- и гиперпаратиреоза на особенности организации циркадианных ритмов состава периферической крови и красного костного мозга в процессе адаптации к изменению режима освещения (Экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Юшкова Людмила Николаевна. – Ставрополь, 2009. – 22 с.

71. A novel non-surgical, minimally invasive technique for parathyroid auto-transplantation: A case report / E. Aysan, U. Kilic, O. Gok, B. Altud et al. // *Pediatr. Transplant.* – 2014. – Vol. 19 (2). – P. 37–40.

72. Adams, D. H. From immunosuppression to tolerance / D. H. Adams, A. Sanchez-Fueyo, D. Samuel // *J. Hepatol.* – 2015. – Vol. 62 (1). – P. 170–185.

73. Al-Azem, H. Hypoparathyroidism / H. Al-Azem, A. A. Khan // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 26 (4). – P. 517–522.

74. Allotransplantation of cryopreserved parathyroid tissue for severe hypocalcemia in a renal transplant recipient / S. M. Flechner, E. Berber, M. Askar, B. Stephany et al. // *Am. J. Transplant.* – 2010. – Vol. 10 (9). – P. 2061–2065.

75. Allotransplantation of cultured human parathyroid cells: present status and perspectives / T. Tołłoczko, B. Woźniewicz, A. Sawicki, A. Górski // *Transplant. Proc.* – 1997. – Vol. 29 (1-2). – P. 998–1000.

76. Allotransplantation of cultured parathyroid progenitor cells without immunosuppression: clinical results / I. Nawrot, B. Wozniewicz, T. Tolloczko, A. Sawicki et al. // *Transplantation.* – 2007. – Vol. 83 (6). – P. 734–740.

77. Allotransplantation of rat parathyroid glands: effects of organ culture and transplantation into the adrenal gland / S. C. Kukreja, P. A. Johnson, G. Ayala, E. N. Bowser et al. // *Experientia.* – 1979. – Vol. 35 (4). – P. 559–560.

78. Assessing the site of recurrence in patients with secondary hyperparathyroidism by a simplified Casanova autograftectomy test / K. Schlosser, H. Sitter, M. Rothmund, A. Zielke // *World J. Surg.* – 2004. – Vol. 28 (6). – P. 583–588.

79. Association between parathyroid hormone levels and inflammatory markers among US adults [Электронный ресурс] / C. Shih-Ping, L. Chien-Liang, L. Tsang-Pai, H. Yi-Chiung et al. // *Mediators of Inflammation.* – 2014. – Vol. 2014. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/709024>.

80. Autotransplant tissue selection criteria with or without stereomicroscopy in parathyroidectomy for treatment of renal hyperparathyroidism / M. N. Ohe, R. O. Santos, M. C. Neves, A. B. Carvalho et al. // *Braz. J. Otorhinolaryngol.* – 2014. – Vol. 80 (4). – P. 318–324.

81. Barreira, C. E. Análise da ultra-estrutura do tecido paratireóideo humano em solução para preservação de tecidos: tese de doutorado [Электронный ресурс] / C. E. Barreira, C. R. Cernea. – São Paulo, 2010. – 94 p. – Режим доступа: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5132/tde-28052010-115506/en.php>.

82. Biological potency of a fluorinated vitamin D analogue in hypoparathyroidism / K. Nakatsuka, Y. Imanishi, Y. Morishima, K. Sekiya et al. // *Bone Miner.* – 1992. – Vol. 16 (1). – P. 73–81.

83. Björklund, P. Culture of parathyroid cells / P. Björklund, P. Hellman // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 806. – P. 43–53.

84. Blood vascular architecture of the rat parathyroid glands: a scanning electron microscopic study of corrosion casts / T. Murakami, H. Hinenova, T. Taguchi, A. Ohtsuka et al. // *Arch. Histol. Jap.* – 1987. – Vol. 50 (5). – P. 495–504.

85. Chou, F. F. Hypoparathyroidism after total parathyroidectomy plus subcutaneous autotransplantation for secondary hyperparathyroidism – many side effects? / F. F. Chou, S. Y. Chi, K. C. Hsieh // *World J. Surg.* – 2010. – Vol. 34 (10). – P. 2350–2354.

86. Clinical course after total parathyroidectomy without autotransplantation in patients with end-stage renal failure / S. Stracke, P. M. Jehle, D. Sturm, M. H. Schoenberg et al. // *Am. J. Kidney Dis.* – 1999. – Vol. 33 (2). – P. 304–311.

87. Clinical features and hyperplastic patterns of parathyroid glands in hemodialysis patients with advanced secondary hyperparathyroidism refractory to maxacalcitol treatment and required parathyroidectomy / Y. Tominaga, S. Matsuoka, T. Sato, N. Uno et al. // *Ther. Apher. Dial.* – 2007. – Vol. 11 (4). – P. 266–273.

88. Cost effectiveness of paricalcitol versus cinacalcet with low-dose vitamin D for management of secondary hyperparathyroidism in haemodialysis patients in the USA / A. Sharma, T. S. Marshall, S. S. Khan et al. // *Clin. Drug Investig.* – 2014. – Vol. 34 (2). – P. 107–115.

89. Cost per responder analysis in patients with secondary hyperparathyroidism on dialysis treated with cinacalcet / V. Belozeroff, A. Lee, S. Tseng et al. // *J. Med. Econ.* – 2013. – Vol. 16 (9). – P. 1154–1162.

90. Cunningham, J. Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic options / J. Cunningham, F. Locatelli, M. Rodriguez // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2011. – Vol. 6. – P. 913–921.

91. Current trends in surgery for renal hyperparathyroidism (RHPT)-an international survey / P. Riss, R. Asari, C. Scheuba, B. Niederle // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2013. – Vol. 398 (1). – P. 121–130.

92. Decreased renal transplant function after parathyroidectomy / A. Schwarz, G. Rustien, S. Merkel et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2007. – Vol. 22 (2). – P. 584–591.

93. Decreases in parathyroid gland volume after cinacalcet treatment in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism / M. Ichii, E. Ishimura, S. Okuno et al. // *Nephron. Clin. Pract.* – 2010. – Vol. 115 (3). – P. 195–202.

94. Definitive treatment for persistent hypoparathyroidism in a kidney transplant patient: parathyroid allotransplantation / N. M. Torregrosa, J. M. Rodríguez, S. Llorente, M. D. Balsalobre et al. // *Thyroid.* – 2005. – Vol. 15 (11). – P. 1299–1302.

95. Differentiated bovine parathyroid cells cultured for more than 140 population doublings show both parathyroid hormone synthesis and growth regulation by calcium ion concentration / M. L. Brandi, L. A. Fitzpatrick, S. Fedak, G. D. Aurbach et al. // *Prog. Clin. Biol. Res.* – 1986. – Vol. 226. – P. 265–275.

96. Diniz, H. The role of fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease-mineral and bone disorder / H. Diniz, J. M. Frazão // *Nefrologia.* – 2013. – Vol. 33 (6). – P. 835–844.

97. Directed trans-differentiation of thymus cells into parathyroid-like cells without genetic manipulation / K. M. Woods Ignatoski, E. L. Bingham, L. K. Frome, G. M. Doherty // *Tissue Eng Part C Methods.* – 2011. – Vol. 17 (11). – P. 1051–1059.

98. Dusilová Sulková, S. Vitamin D metabolism and current options for therapeutic activation of vitamin D receptor in patients with chronic kidney disease or renal failure / S. Dusilová Sulková // *Vnitr. Lek.* – 2012. – Vol. 58 (11). – P. 839–849.

99. Effect of cinacalcet availability and formulary listing on parathyroidectomy rate trends / J. P. Lafrance, H. Cardinal, M. Leblanc, F. Madore et al. // *BMC Nephrol.* – 2013. – Vol. 14. – P. 100.

100. Effect of cinacalcet treatment on vascular arterial stiffness among peritoneal dialysis patients with secondary hyperparathyroidism / K. M. Chow, C. C. Szeto, B. C. Kwan et al. // *Nephrology (Carlton).* – 2014. – Vol. 19 (6). – P. 339–344.

101. Effect of lanthanum carbonate versus calciumbased phosphate binders in dialysis patients: a meta-analysis / C. J. Zhai, X. S. Yu, Q. L. Sun, L. Li et al. // *Clin. Nephrol.* – 2014. – Vol. 82 (12). – P. 372–378.

102. Effects of parathyroid hormone on immune function / A. S. Geara, M. R. Castellanos, C. Bassil, G. Schuller-Levis et al. // *Clin. Dev. Immunol.* – 2010. – doi: 10.1155/2010/418695.

103. Effects of time on ultrastructural integrity of parathyroid tissue before cryopreservation / C. E. Barreira, C. R. Cernea, L. G. Brandao, M. R. Custodio et al. // *World J. Surg.* – 2011. – Vol. 35 (11). – P. 2440–2444.

104. Endoscopic total parathyroidectomy and partial parathyroid tissue autotransplantation for patients with secondary hyperparathyroidism: a new surgical approach / Y. Sun, H. Cai, J. Bai, H. Zhao et al. // *World J. Surg.* – 2009. – Vol. 33 (8). – P. 1674–1679.

105. Exploring the effect of parathyroidectomy for tertiary hyperparathyroidism after kidney transplantation / E. Kandil, S. Florman, H. Alabbas, O. Abdullah et al. // *Am. J. Med. Sci.* – 2010. – Vol. 339 (5). – P. 420–424.

106. Fisiopatologia, diagnóstico e tratamento do hiperparatireoidismo secundário / R. O. Santos, M. N. Ohe, M. Abrahão, O. Cervantes // In : *Tratado de tireóide e paratireóides* ; M. B. Carvalho (ed.). – Rio de Janeiro: Rubio, 2007. – P. 613–621.

107. Four gland parathyroidectomy without reimplantation in patients with chronic renal failure / R. N. Saunders, R. Karoo, M. S. Metcalfe, M. L. Nicholson // *Postgrad. Med. J.* – 2005. – Vol. 81 (954). – P. 255–258.

108. Guller, U. Recurrent hyperparathyroidism in kidney failure patients after total parathyroidectomy and autotransplantation. Case report and review of the literature / U. Guller, C. Schonholzer, S. Martinoli // *Swiss Surg.* – 2000. – Vol. 6 (4). – P. 179–181.

109. Hage, M. P. Parathyromatosis: a rare yet problematic etiology of recurrent and persistent hyperparathyroidism / M. P. Hage, I. Salti, G. El-Hajj Fuleihan // *Metabolism.* – 2012. – Vol. 61 (6). – P. 762–775.

110. Hamano, T. Kidney and bone update: the 5-year history and future of CKD-MBD. Pharmacoeconomics in the field of CKD-MBD / T. Hamano // *Clin. Calcium.* – 2012. – Vol. 22 (7). – P. 1043–1049.

111. Harris, V. W. Postoperative hypoparathyroidism: Medical and surgical therapeutic options / V. W. Harris, S. Jan De Beur // *Thyroid*. – 2009. – Vol. 19. – P. 967–973.

112. He, X. Preliminary observation of the brain as a site for parathyroid gland allotransplantation in rats / X. He, C. Yao, Y. Zhu // *Proc. Chin. Acad. Med. Sci. Peking Union Med. Coll.* – 1990. – Vol. 5 (4). – P. 226–227.

113. Head, J. R. Immune privilege in the testis. I. Basic parameters of allograft survival / J. R. Head, W. B. Neaves, R. E. Billingham // *Transplantation*. – 1983. – Vol. 36 (4). – P. 423–431.

114. Heterotransplantation of human parathyroid glands into nude mice / Y. Tanaka, H. Funahashi, T. Imai, J. Tobinaga et al. // *Endocrine J.* – 1995. – Vol. 42 (1). – P. 9–14.

115. Histopathological study of the parathyroid gland in renal hyperparathyroidism / Y. Tominaga, H. Takagi, H. Suzuki, T. Kondo // *Nihon Geka Gakkai Zasshi*. – 1985. – Vol. 86 (5). – P. 630–639.

116. Hyperparathyroidism: a rare mediastinal presentation of an ectopic adenoma / M. Meyer, G. L. Timmerman, J. C. Vander Woude, F. C. Lovrien // *S. D. Med.* – 2014. – Vol. 67 (3). – P. 101–103.

117. Hypoparathyroidism associated with severe mineral bone disease postrenal transplantation, treated successfully with recombinant PTH / A. Mahajan, M. Narayanan, G. Jaffers, L. Concepcion // *Hemodial. Int.* – 2009. – Vol. 13 (4). – P. 547–550.

118. Impaired phagocytosis in dialysis patients: studies on mechanisms / J. M. Alexiewicz, M. Smogorzewski, G. Z. Fadda, S. G. Massry // *Am. J. Nephrol.* – 1991. – Vol. 11 (2). – P. 102–111.

119. Improved long-term survival of dialysis patients after near-total parathyroidectomy / J. Sharma, P. Raggi, N. Kutner, J. Bailey et al. // *J. Am. Coll. Surg.* – 2012. – Vol. 214 (4). – P. 400–408.

120. Inhibition of cell growth retains differentiated function of bovine parathyroid cells in monolayer culture / P. Nygren, R. Larsson, H. Johansson, E. Gylfe et al. // *Bone Miner.* – 1988. – Vol. 4 (2). – P. 123–132.

121. Initial parathyroid surgery in 606 patients with renal hyperparathyroidism / R. Schneider, E. P. Slater, E. Karakas, D. K. Bartsch et al. // *World J. Surg.* – 2012. – Vol. 36 (2). – P. 318–326.

122. Intrapericardial parathyroid adenoma / K. L. Long, C. Y. Lee, C. Ramaiah, D. A. Sloan // *J. Surg. Case Rep.* – 2013. – Vol. 2013 (8). – doi: 10.1093/jscr/rjt064.

123. Is abdominal aortic calcification score a cost-effective screening tool to predict atherosclerotic carotid plaque and cardiac valvular calcification in patients with end-stage renal disease? / G. P. Shantha, A. A. Kumar, A. Mancha et al. // *Indian J. Nephrol.* – 2012. – Vol. 22 (6). – P. 431–437.

124. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease – Mineral and Bone Disorder (CKD – MBD) // *Kidney Int.* – 2009. – Vol. 113. – P. 1–130.

125. Kowdley, K. V. Cognitive impairment and intracranial calcification in chronic hypoparathyroidism / K. V. Kowdley, B. M. Coull, E. S. Orwoll // *Am. J. M. Sci.* – 1999. – Vol. 317 (5). – P. 273–277.

126. L'ingegnerizzazione tissutale delle cellule paratiroidi / F. Iovino, G. Armano, P. P. Auriemma, R. Sergio et al. // *G. Chir.* – 2010. – Vol. 31, N 6/7. – P. 312–315.

127. Lahey, F. H. The transplantation of parathyroids in partial thyroidectomy / F. H. Lahey // *Surg. Ginecol. Obstet.* – 1926. – Vol. 62. – P. 508–509.

128. Long-term function of parathyroid subcutaneous autoimplantation after presumed total parathyroidectomy in the treatment of secondary hyperparathyroidism. A clinical retrospective study / G. Conzo, C. Della Pietra, E. Tartaglia, C. Gambardella et al. // *Int. J. Surg.* – 2014. – Vol. 12 (1). – P. 165–169.

129. Long-term functionality of cryopreserved parathyroid autografts: a 13-year prospective analysis / M. S. Cohen, W. G. Dilley, S. A. Wells Jr et al. // *Surgery.* – 2005. – Vol. 138. – P. 1033–1041.

130. Long-term outcome after total parathyroidectomy for the management of secondary hyperparathyroidism / S. Stracke, F. Keller, G. Steinbach et al. // *Nephron. Clin. Pract.* – 2009. – Vol. 111 (2). – P. 102–109.

131. Long-term outcomes following “presumed” total parathyroidectomy for secondary hyperparathyroidism of chronic kidney disease / G. Conzo, A. Perna, G. Candela et al. // *G. Chir.* – 2012. – Vol. 33 (11-12). – P. 379–382.

132. Long-term outcomes of total parathyroidectomy with or without autoimplantation for hyperparathyroidism in chronic kidney disease: a meta-analysis / X. Jia, R. Wang, C. Zhang, M. Cui et al. // *Ther. Apher. Dial.* – 2015. – May 6. – doi: 10.1111/1744-9987.12310.

133. Magnabosco, F. F. Surgical treatment of secondary hyperparathyroidism: a systematic review of the literature / F. F. Magnabosco, M. R. Tavares, F. L. Montenegro // *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* – 2014. – Vol. 58 (5). – P. 562–571.

134. Malmaeus, J. Secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure / J. Malmaeus // *Scand. J. Urol. Nephrol. Suppl.* – 1983. – Vol. 70. – P. 1–63.

135. Massry, S. Dysfunction of polymorphonuclear leukocytes in uremia: role of parathyroid hormone / S. Massry, M. Smogorzewski // *Kidney Int. Suppl.* – 2001. – Vol. 78. – P. 195–196.

136. McQuay, H. J. Using numerical results from systematic reviews in clinical practice / H. J. McQuay, R. A. Moore // *Ann Intern Med.* – 1997. – Vol. 126 (9). – P. 712–720.

137. Nascimento Júnior, C. P. Perfil funcional do auto-enxerto de tecido paratireóideo em pacientes submetidos à paratireoidectomia total por hiperparatireoidismo secundário à doença renal crônica: tese de doutorado / C. P. Nascimento Júnior. – São Paulo, 2011. – 100 p.

138. Nature of calcemic effect of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in experimental hypoparathyroidism / E. Hefti, U. Trechsel, H. Fleisch, J. P. Bonjour // *Am. J. Physiol.* – 1983. – Vol. 244 (4). – P. 313–316.

139. Nicholson, M. L. Parathyroidectomy in chronic renal failure: comparison of three operative strategies / M. L. Nicholson, P. S. Veitch, J. Feehally // *J. R. Coll. Surg. Edinb.* – 1996. – Vol. 41 (6). – P. 382–387.

140. Nunes, P. Demaurex N. The role of calcium signaling in phagocytosis / P. Nunes, N. Demaurex // *J Leukoc Biol.* – 2010. – Vol. 88 (1). – P. 57–68.

141. Ogg, C. S. Total parathyroidectomy in treatment of secondary (renal) hyperparathyroidism / C. S. Ogg // Br. Med. J. – 1967. – Vol. 4 (5575). – P. 331–334.

142. Optical and ultrastructural morphology in hyperparathyroidism during dialysis / E. Schiaffino, C. Zogno, C. Schmid, F. Mangili et al. // Pathologica. – 1992. – Vol. 84 (1092). – P. 445–458.

143. Outcomes of total parathyroidectomy with autotransplantation versus subtotal parathyroidectomy with routine addition of thymectomy to both groups: single center experience of secondary hyperparathyroidism / G. Sakman, C. K. Parsak, M. Balal, G. Seydaoglu et al. // Balkan. Med. J. – 2014. – Vol. 31 (1). – P. 77–82.

144. Parathyroid allotransplantation as permanent treatment in a renal transplant patient / I. Belda González, J. M. del Moral, N. M. Pérez, J. B. Soto et al. // Cir. Esp. – 2012. – Vol. 90 (3). – P. 202–203.

145. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats. The effects of calcium, phosphate, and vitamin D / T. Naveh-Many, R. Rahamimov, N. Livni, J. Silver // J. Clin. Invest. – 1995. – Vol. 96 (4). – P. 1786–1793.

146. Parathyroid cells cultured in collagen matrix retain calcium responsiveness: importance of three-dimensional tissue architecture / C. S. Ritter, E. Slatopolsky, S. Santoro, A. J. Brown // J. Bone Miner. Res. – 2004. – Vol. 19 (3). – P. 491–498.

147. Parathyroid gland volume increases with postmaturational aging in the rat / B. Halloran, P. Udén, Q. Y. Duh, S. Kikuchi et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2002. – Vol. 282 (3). – P. 557–563.

148. Parathyroid pathology in hyperparathyroidism secondary to chronic renal failure / J. Malmaeus, L. Grimelius, H. Johansson, G. Akerström et al. // Scand. J. Urol. Nephrol. – 1984. – Vol. 18 (2). – P. 157–166.

149. Parathyroid xenotransplantation without immunosuppression in experimental hypoparathyroidism: long-term *in vivo* function following microencapsulation with a clinically suitable alginate / C. Hasse, T. Bohrer, P. Barth, B. Stinner et al. // World J. Surg. – 2000. – Vol. 24 (11). – P. 1361–1366.

150. Parathyroidectomy and survival among Japanese hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism / H. Komaba, M. Taniguchi, A. Wada, K. Iseki et al. // *Kidney Int.* – 2015. – Mar 18. – doi: 10.1038/ki.2015.72.

151. Parathyroidectomy in dialysis patients / L. E. Kuo, H. Wachtel, G. Karakousis, D. Fraker et al. // *J. Surg. Res.* – 2014. – Vol. 190 (2). – P. 554–558.

152. Parathyroidectomy rates among United States dialysis patients: 1990–1999 / B. Kestenbaum, S. L. Seliger, D. L. Gillen, H. Wasse et al. // *Kidney International.* – 2004. – Vol. 65 (1). – P. 282–288.

153. Pathomorphological features of parathyroid gland in secondary and tertiary hyperparathyroidism / R. P. Tkachenko, E. G. Kurik, A. S. Gubar, N. I. Belemets // *Morphologia.* – 2014. – Vol. 8 (2). – P. 67–71.

154. Percutaneous ethanol (PEIT) and calcitriol (PCIT) injection therapy are ineffective in treating severe secondary hyperparathyroidism / J. E. de Barros Gueiros, M. C. Chammas, R. Gerhard, C. F. da Silva Dias Boilesen et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2004. – Vol. 19 (3). – P. 657–663.

155. Phosphate binders for the treatment of hyperphosphatemia in chronic kidney disease patients on dialysis: a comparison of safety profiles / F. Locatelli, L. del Vecchio, L. Violo, G. Pontoriero // *Expert. Opin. Drug. Saf.* – 2014. – Vol. 13 (5). – P. 551–561.

156. Predictors of early post-operative hypocalcemia after parathyroidectomy for secondary hyperparathyroidism / M. Hamouda, N. B. Dhia, S. Aloui, S. El Mhamedi et al. // *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* – 2013. – Vol. 24 (6). – P. 1165–1169.

157. Prognostic value of aortic stiffness and calcification for cardiovascular events and mortality in dialysis patients: outcome of the calcification outcome in renal disease (CORD) study / F. Verbeke, W. van Biesen, E. Honkanen et al. // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2011. – Vol. 6 (1). – P. 153–159.

158. Prospective study on dialysis patients after total parathyroidectomy without autoimplant / H. W. Chan, K. H. Chu, S. K. Fung et al. // *Nephrology (Carlton).* – 2010. – Vol. 15 (4). – P. 441–447.

159. Recurrent hyperparathyroidism after total parathyroidectomy due to multiple ectopic parathyroid glands in a patient with long-term haemodialysis / O. Janko,

R. Hubmann, J. Zazgornik, W. Maschek et al. // *Wien Med. Wochenschr.* – 2001. – Vol. 151 (13-14). – P. 288–290.

160. Reduced parathyroid functional mass after successful kidney transplantation / H. Bonarek, P. Merville, M. Bonarek, K. Moreau et al. // *Kidney Int.* – 1999. – Vol. 56 (2). – P. 642–649.

161. Regression of calcinosis following treatment with radiofrequency thermoablation for severe secondary hyperparathyroidism in a hemodialysis patient / R. Wang, T. Jiang, Z. Chen, J. Chen // *Intern. Med.* – 2013. – Vol. 52 (5). – P. 583–587.

162. Relation of oral 1alpha-hydroxy vitamin D3 to the progression of aortic arch calcification in hemodialysis patients / T. Ogawa, H. Ishida, M. Akamatsu, N. Matsuda et al. // *Heart Vessels.* – 2010. – Vol. 25 (1). – P. 1–6.

163. Resultados funcionais do auto-implante de paratireóides em loja única no tratamento do hiperparatireoidismo secundário / C. T. Caliseo, S. R. C. L. Santos, C. P. Nascimento Júnior, S. S. Arap et al. // *Rev. Col. Bras. Cir.* – 2011. – Vol. 38 (2). – P. 85–89.

164. Results of reoperations for persistent or recurrent secondary hyperparathyroidism in hemodialysis patients / J. F. Henry, A. Denizot, J. Audiffret, G. France // *World J. Surg.* – 1990. – Vol. 14 (3). – P. 303–307.

165. Ricken, K. H. Hypoparathyroidismus following L-asparaginase and vaccinia virus infection. Effect of hypocalcemia on phagocytosis and the function of lymphocytes / K. H. Ricken // *Med. Klin.* – 1975. – Vol. 70 (47). – P. 1905–1909.

166. Ridgeway, R. D. Characteristics of bovine parathyroid cell organoids in culture / R. D. Ridgeway, J. W. Hamilton, R. R. MacGregor // *In Vitro Cell Dev. Biol.* – 1986. – Vol. 22 (2). – P. 91–99.

167. Rothmund, M. Subtotal parathyroidectomy versus total parathyroidectomy and autotransplantation in secondary hyperparathyroidism: a randomized trial / M. Rothmund, P. K. Wagner, C. Scharck // *World J. Surg.* – 1991. – Vol. 15 (6). – P. 745–750.

168. Rothmund, M. Total parathyroidectomy and autotransplantation of parathyroid tissue for renal hyperparathyroidism. A one- to six-year follow-up / M. Rothmund, P. K. Wagner // *Ann. Surg.* – 1983. – Vol. 197 (1). – P. 7–16.

169. Russell, P. S. Parathyroid transplants in rats a comparison of their survival time with that of skin grafts / P. S. Russell, R. F. Gittes // *J. Exp. Med.* – 1959. – Vol. 109 (6). – P. 571–588.

170. Scarritt, M. E. A review of cellularization strategies for tissue engineering of whole organs / M. E. Scarritt, N. C. Pashos, B. A. Bunnell // *Front. Bioeng. Biotechnol.* – 2015. – Vol. 3. – P. 43.

171. Secondary and tertiary hyperparathyroidism: the utility of ioPTH monitoring / S. C. Pitt, R. Panneerselvan, H. Chen, R. S. Sippel // *World J. Surg.* – 2010. – Vol. 34 (6). – P. 1343–1349.

172. Short- and long-term efficacy of total parathyroidectomy with immediate autografting compared with subtotal parathyroidectomy in hemodialysis patients / E. R. Gagné, P. Ureña, S. Leite-Silva, J. Zingraff et al. // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 1992. – Vol. 3 (4). – P. 1008–1017.

173. Short-and long-term impact of subtotal parathyroidectomy on the achievement of bone and mineral parameters recommended by clinical practice guidelines in dialysis patients: a 12-year single-center experience / W. C. Tsai, Y. S. Peng, J. Y. Yang et al. // *Blood Purif.* – 2013. – Vol. 36 (2). – P. 116–121.

174. Silver, J. Regulation of PTH synthesis and secretion relevant to the management of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease / J. Silver, R. Levi // *Kidney Int. Suppl.* – 2005. – Vol. 95. – P. 8–12.

175. Situação do hiperparatireoidismo secundário autônomo no Brasil: dados do Censo Brasileiro de Paratireoidectomia / R. B. Oliveira, E. M. Silva, D. M. F. Charpinel, J. E. B. Gueiros et al. // *J. Bras. Nefrol.* – 2011. – Vol. 33 (4). – P. 457–462.

176. Stimulating parathyroid cell proliferation and PTH release with phosphate in organ cultures obtained from patients with primary and secondary hyperparathyroidism for a prolonged period / K. Nakajima, K. Umino, Y. Azuma, S. Kosaka et al. // *J. Bone Miner. Metab.* – 2009. – Vol. 27 (2). – P. 224–233.

177. Subcutaneous injection is a simple and reproducible option to restore parathyroid function after total parathyroidectomy in patients with secondary hyperparathy-

roidism / J. C. Ng, W. Wang, M. J. Chua, M. S. Tan et al. // *Surgery*. – 2014. – Vol. 155 (4). – P. 682–688.

178. Successful allotransplantation of microencapsulated parathyroids in rats / C. Hasse, J. Schrezenmeir, B. Stinner, C. Scharck et al. // *World J. Surg.* – 1994. – Vol. 18 (4). – P. 630–634.

179. Successful intracerebroventricular allotransplantation of parathyroid tissue in rats without immunosuppression / C. Z. Yao, J. Ishizuka, C. M. Townsend Jr, J. C. Thompson // *Transplantation*. – 1993. – Vol. 55 (2). – P. 251–253.

180. Surgical management of renal hyperparathyroidism: a preliminary series report / M. R. Diaconescu, M. Glod, I. Costea, M. Grigorovici et al. // *Chirurgia (Bucur.)*. – 2011. – Vol. 106 (1). – P. 51–57.

181. Surgical significance of supernumerary parathyroid glands in renal hyperparathyroidism / M. Numano, Y. Tominaga, K. Uchida, A. Orihara et al. // *World J. Surg.* – 1998. – Vol. 22 (10). – P. 1098–1103.

182. Surgical treatment of hyperparathyroidism in renal transplant patients / J. Bellamy, G. Benoit, C. Hiesse, B. Charpentier // *Prog. Urol.* – 1994. – Vol. 4 (4). – P. 509–515.

183. Surgical treatment of renal hyperparathyroidism. Experience in 71 patients / B. D. Pulgar, C. A. Jara, V. G. González, D. H. González // *Rev. Med. Chil.* – 2015. – Vol. 143 (2). – P. 190–196.

184. Surgical treatment of secondary hyperparathyroidism in patients with chronic renal failure / M. Hamouda, N. Ben Dhia, S. Aloui, I. Gorsane et al. // *Nephrol. Ther.* – 2011. – Vol. 7 (2). – P. 105–110.

185. Temporal trends and risk factors for parathyroidectomy in the Swedish dialysis and transplant population – a nationwide, population-based study 1991–2009 / S. Akaberi, N. Clyne, G. Sterner et al. // *BMC Nephrol.* – 2014. – Vol. 8. – P. 15–75.

186. The results of surgery for mediastinal parathyroid tumors: a comparative study of 63 patients / M. Iacobone, I. Mondì, G. Viel, M. Citton et al. // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2010. – Vol. 395 (7). – P. 947–953.

187. Total parathyroidectomy versus subtotal parathyroidectomy in the treatment of tertiary hyperparathyroidism / T. M. Hsieh, C. K. Sun, Y. T. Chen, F. F. Chou // *Am. Surg.* – 2012. – Vol. 78 (5). – P. 600–606.

188. Total parathyroidectomy with presternal intramuscular autotransplantation in renal patients: a prospective study of 66 patients / R. O. Santos, M. N. Ohe, A. B. Carvalho, M. C. Neves et al. // *J. Osteoporos.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 631243.

189. Total parathyroidectomy with trace amounts of parathyroid tissue autotransplantation as the treatment of choice for secondary hyperparathyroidism: a single-center experience / Q. He, D. Zhuang, L. Zheng, Z. Fan et al. // *BMC Surg.* – 2014. – Vol. 14. – P. 26.

190. Total parathyroidectomy without autotransplantation as a standard procedure in the treatment of secondary hyperparathyroidism / S. Ockert, F. Willeke, A. Richter, J. Jonescheit et al. // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2002. – Vol. 387 (5-6). – P. 204–209.

191. Total parathyroidectomy without autotransplantation for renal hyperparathyroidism: experience with a qPTH-controlled protocol / K. Lorenz, J. Ukkat, C. Sekulla, O. Gimm et al. // *World J. Surg.* – 2006. – Vol. 30 (5). – P. 743–751.

192. Total parathyroidectomy without autotransplantation in the management of “refractory” renal hyperparathyroidism / M. R. Diaconescu, M. Glod, I. Costea, M. Grigorovici et al. // *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.* – 2011. – Vol. 115 (1). – P. 105–110.

193. Transient hyperthyroidism after surgery for secondary hyperparathyroidism: a common problem / G. Rudofsky, M. Tsioga, P. Reismann, C. Leowardi et al. // *Eur. J. Med. Res.* – 2011. – Vol. 16 (8). – P. 375–380.

194. Treatment of secondary hyperparathyroidism with ultrasonographically guided percutaneous radiofrequency thermoablation / G. Carrafiello, D. Lagana, M. Mangini et al. // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* – 2006. – Vol. 16. – P. 112–116.

195. Viability of cryopreserved parathyroid tissue: when is continued storage versus disposal indicated? / M. A. Guerrero, D. B. Evans, J. E. Lee, R. Bao et al. // *World J. Surg.* – 2008. – Vol. 32 (5). – P. 836–839.

196. Vitamin D metabolism and activity as well as genetic variants of the vitamin D receptor (VDR) in chronic kidney disease patients / D. Santoro, D. Caccamo, G. Gagliostro et al. // *J. Nephrol.* – 2013. – Vol. 26 (4). – P. 636–644.

197. Wang, Q. Parathyroid cell proliferation in the rat: effect of age and of phosphate administration and recovery / Q. Wang, S. Palnitkar, A. M. Parfitt // *Endocrinology.* – 1996. – Vol. 137 (11). – P. 4558–4562.

198. What can we learn from a statistically inconclusive trial? Consensus conference on the EVOLVE study results / F. Locatelli, P. Messa, A. Bellasi, M. Cozzolino et al. // *G. Ital. Nefrol.* – 2013. – Vol. 30 (5). – Pii: gin/30.5.4. PMID: 24402624.