

КРОВЕПАРАЗИТАРНАЯ ИНФЕКЦИЯ КАК ПРИЧИНА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

А.В. Терлецкий, Л.Г. Ахмерова, Е.В. Евтушенко

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Резюме. Исследования архивного цитологического материала, полученного врачами-цитологами за ряд лет в ходе выполнения тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии при аутоиммунном тиреоидите и доброкачественных образованиях щитовидной железы человека (киста и зоб), позволили обнаружить одновременное присутствие в разных сочетаниях патоморфологических признаков обоих состояний в препаратах долей щитовидной железы. В этой связи возник вопрос о возможной общей этиологии вышеуказанных процессов. Исследованиями цитологического материала при аутоиммунном тиреоидите и доброкачественных образованиях щитовидной железы человека (киста и зоб), окрашенных изначально в медицинских лабораториях по Романовскому–Гимзе, выявлена гемоспоридийная (кровепаразитарная) инфекция. В процессе длительного детального изучения мазков с цитологическим материалом удалось проследить эволюцию развития гемоспоридий в тироцитах щитовидной железы. Для уточнения локализации ДНК тироцитов и гемоспоридийной инфекции после изучения всего массива мазков было решено окрасить (перекрасить) выборочный ряд оригинальных архивных мазков реактивом Шиффа по Фельгену. Метод окрашивания мазков по Романовскому–Гимзе является адсорбционным, что позволило повторно использовать эти же мазки для окраски реактивом Шиффа по Фельгену, где краситель фуксин после гидролиза ДНК соляной кислотой встраивается в ДНК и окрашивает ее в малиново-сиреневый цвет. Окрашивание ДНК по Фельгену позволило в «медузоподобных» структурах из содержимого кист, являющихся, по всей вероятности, экзоэритроцитарной стадией развития гемоспоридий, локализовать находящуюся в них и некоторых эритроцитах паразитарную ДНК. При аутоиммунном тиреоидите удалось локализовать ядерную ДНК тироцитов и паразитарную ДНК в виде точечных включений и диффузно распределенной в цитоплазме тироцитов, а также ДНК в эритроцитах крови в виде ядер разных размеров, окрашенных в малиново-сиреневый цвет. При узловом зобе удалось локализовать ядерную ДНК тироцитов, и ДНК гемоспоридий в виде точечных включений и диффузно распределенной в цитоплазме тироцитов. ДНК гемоспоридий в эритроцитах крови проявилась в виде ядер разных размеров, окрашенных в малиново-сиреневый цвет, неокрашенная протоплазма кровепаразитарной инфекции выявлялась в виде светлой полосы вокруг ядер в эритроцитах. Ядерный материал гемоспоридий в эритроцитах был раз-

Адрес для переписки:

Терлецкий Александр Витальевич
630090, Россия, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 8/2,
Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН.
Тел.: 8 (383) 363-90-42 (служебн.); 8 952 905-03-28,
8 913 717-99-42 (моб.). Факс: 8 (383) 363-90-78.
E-mail: terletsky@mcb.nsc.ru; terletsky_1@mail.ru

Contacts:

Alexander V. Terletsky
630090, Russian Federation, Novosibirsk, Acad. Lavrentieva pr., 8/2,
Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS.
Phone: +7 (383) 363-90-42 (служебн.); +7 952 905-03-28,
+7 913 717-99-42 (моб.). Fax: +7 (383) 363-90-78.
E-mail: terletsky@mcb.nsc.ru; terletsky_1@mail.ru

Библиографическое описание:

Терлецкий А.В., Ахмерова Л.Г., Евтушенко Е.В. Кровепаразитарная инфекция как причина возникновения воспалительных реакций и доброкачественных образований щитовидной железы человека // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 1. С. 155–161. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-155-161

Citation:

Terletsky A.V., Akhmerova L.G., Evtushenko E.V. Blood parasite infection causing inflammatory reactions and benign formations in human thyroid gland // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 155–161. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-155-161

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных научных исследований по теме 0310–2019–0003.

ных размеров, что может свидетельствовать о разных видах и/или генерациях возбудителя. Внутриклеточное развитие гемоспоридийной инфекции при зобе в тироцитах приводит к выраженной гиперплазии цитоплазмы и ее вакуолизации, ядра тироцитов при этом деформируются, вакуолизируются, уменьшаются в размерах и деградируют (с высокой вероятностью мутаций и делеций в ДНК), достигая преднеопластического уровня.

Ключевые слова: киста щитовидной железы, аутоиммунный тиреоидит, узловой зоб, кровепаразитарная (гемоспоридийная) инфекция.

BLOOD PARASITE INFECTION CAUSING INFLAMMATORY REACTIONS AND BENIGN FORMATIONS IN HUMAN THYROID GLAND

Terletsky A.V., Akhmerova L.G., Evtushenko E.V.

Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. A retrospective examining of cytology specimens obtained and verified by a fine-needle aspiration biopsy from patients with autoimmune thyroiditis and benign thyroid gland (cyst and goiter) formations allowed to note that in thyroid lobes they coincided in various combinations, thus rising a question about their potential etiological relation. In particular, a hemosporidian (blood parasitic) infection was found while analyzing cytology specimens from patients with autoimmune thyroiditis and benign thyroid gland (cyst and goiter) tumors pre-stained by Romanowsky–Giemsa dye. An evolution of developing intra-thyocyte hemosporidia was tracked during a long-term detailed analysis of cytology specimens noted above. A panel of select specimens was stained (re-stained) with Schiff reagent according to the Feulgen method to clarify position of thyrocyte DNA and hemosporidian pathogens. Owing to an absorption approach, Romanowsky–Giemsa method allowed to repeatedly use specimens pre-stained with Schiff reagent according to the Feulgen method, wherein fuchsin was incorporated into DNA molecules after they were hydrolyzed by hydrochloric acid to stain specimens into magenta-lilac color. It allowed to identify a parasitic DNA inside developing hemosporidia most probably at exoerythrocytic stage and some erythrocytes cyst-based medusiform structures. Such technique used to stain specimens from patients with autoimmune thyroiditis allowed to localize the thyrocyte nuclear DNA as well as punctate and diffuse cytoplasmic inclusions of parasitic DNA, including magenta-lilac nuclei of different sizes inside erythrocytes. Thyrocyte nuclear DNA as well as punctate and diffuse hemosporidian DNA were distinguished in nodular goiter. Moreover, hemosporidian DNA was identified in a form of magenta-lilac multi-size nuclei inside erythrocytes. In contrast, unstained hemosporidian protoplasm was revealed as light-colored band around erythrocyte nuclei. The intra-erythrocyte nuclear hemosporidian material of different sizes may evidence about various species and/or pathogen generations. Intra-thyrocyte development of hemosporidian infection in patients with goiter results in marked cytoplasmic hyperplasia and its vacuolization associated with thyrocyte nuclear deformation, vacuolization, decreased size and degradation (with highly probability of mutations and deletions), reaching a pre-neoplastic level.

Key words: autoimmune thyroiditis, cyst, nodular goiter, hemosporidian infection.

Введение

Существуют разные предположения о причинах доброкачественных и злокачественных заболеваний щитовидной железы, однако до сих пор этиология остается невыясненной [12].

Настораживающими моментами для нас при исследовании документированного врачами-цитологами архивного цитологического материала явились описания к мазкам с одновременным присутствием в долях щитовидной железы в разных сочетаниях аутоиммунного тиреоидита, кисты, узлового зоба, а также фолликулярного, папиллярного и медулярного раков. Невольно возник вопрос об их возможной этиологической взаимосвязи, как о «звеньях одной цепи». На первом этапе исследования мы изучали только мазки с воспалительными и доброкачественными образованиями в щитовидной железе.

Ранее было показано, что в цитологических мазках после тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии (ТАПБ) щитовидной железы в фолликулярном эпителии при неопухольевых процессах выявляли пигментированные тироциты, цитоплазма которых содержала мелкую пигментную зернистость (липофусцин, гемосидерин) [2]. Причина появления и нахождения пигментной зернистости в тироцитах, к сожалению, не была объяснена. При этом объективно видимые включения в эритроцитах крови, попадающих при ТАПБ в мазок, врачи-цитологи воспринимали как дефекты окрашивания мазков.

Данная информация послужила основанием провести на первом этапе наших исследований ретроспективное сравнительное микроскопическое исследование цитологического материала с конкретными диагнозами за 2007–2014 гг. (аутоиммунный тиреоидит, киста щитовидной

железы в сравнении с узловым зобом) с целью выяснения причины данных явлений.

По нашему предположению такое появление внутриклеточных пигментов крови в тироцитах могло быть следствием гемоспоридийной инфекции крови — ее шизогональной стадии.

Было отмечено, что в теле мерозоитов *Babesia caballi* депонируется белок гемоглобин, который используется, вероятнее всего, для питания в период нахождения паразита в плазме крови [25]. Не исключается присутствие гемоглобина в теле мерозоида и после внедрения в клетки паренхиматозных органов.

Рутинное цитологическое исследование после ТАПБ проводят при 400-кратном увеличении (ок. 10, об. 40) и основное внимание обращают на структурные изменения клеточного состава в ткани щитовидной железы, что является основным в интерпретации и постановке диагноза. Для выявления внутриклеточных структур такого увеличения недостаточно.

Материалы и методы

В данном цитологическом исследовании мазков ТАПБ щитовидной железы был изучен материал, полученный от 5 человек с диагнозом «Киста», от 30 человек с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) и от 375 человек с узловым зобом (УЗ). Весь цитологический материал, подлежащий исследованию, изначально в условиях медицинских лабораторий был окрашен по Романовскому–Гимзе.

Исследования мазков проводили на микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss) с иммерсией при увеличении микроскопа 1000 (Окуляр PL $\times 10/18 \infty$, объектив CP-ACHROMAT $\times 100/1.25 \text{ oil}, \infty/0.17$). Фотографии делали камерой Olympus SP-310. Основное внимание обращали на внутриклеточные структуры в тироцитах и клетках крови.

Для уточнения локализации ДНК в тироцитах после изучения всего массива мазков было решено окрасить ряд оригинальных архивных мазков после ТАПБ реактивом Шиффа по Фельгену. Реактив Шиффа — фуксинсернистая кислота — является характерным реактивом на альдегиды. На свойстве реактива Шиффа взаимодействовать с альдегидными группами основана реакция Фельгена. В молекуле ДНК альдегидные группы связаны, их необходимо предварительно освободить. При слабом кислотном гидролизе нуклеиновых кислот (вследствие отщепления пуринов и пиримидинов от дезоксирибозофосфата) появляются свободные альдегидные группы, образующие ярко окрашенный комплекс при взаимодействии с фуксином (реакция Фельгена). Реактив Шиффа окрашивает только ядра и хромосомы

в красновато-фиолетовый цвет, цитоплазма остается совершенно неокрашенной. Реакция Фельгена указывает на присутствие ДНК, она может быть использована для констатации наличия или отсутствия ядер в клетках, их размеров, формы, местоположения, а интенсивность окрашивания может дать косвенные представления о количественных изменениях ДНК.

В процессе гидролиза ДНК в течении 8 мин в 1 н. растворе соляной кислоты при температуре 60°C в мазках, окрашенных по Романовскому–Гимзе, основной краситель (метиленовая синь) отходил с мазков в раствор соляной кислоты, окрашивая его в синий цвет. Мазки промывали в дистиллированной воде, быстро ополаскивали в холодном 1 н. растворе соляной кислоты и переносили в реактив Шиффа на 16 ч при температуре от 0 до 4°C (время экспозиции выбрано опытным путем). Не споласкивая, мазки последовательно помещали в три порции сернистой воды на 2 мин в каждую. Препараты промывали в дистиллированной воде по 10 мин и сушили на воздухе.

Такое перекрашивание оригинальных архивных мазков позволяет точно идентифицировать место ядерной ДНК тироцитов и ДНК возможных внутриклеточных инфекций в цитоплазме тироцитов и в эритроцитах крови. Эритроциты, первоначально окрашенные эозином, сохраняют свой цвет без изменения.

Результаты

В мазках из содержимого кист, окрашенных по Романовскому–Гимзе, были выявлены эритроциты и «медузоподобные» структуры синего цвета размером от 5 до 20 мкм и более. Другие эритроциты, окрашенные эозином в оранжевый цвет, содержали внутриклеточные (эндоглобулярные) включения (рис. 1, вклейка).

При АИТ (рис. 2–5, вклейка) и УЗ (рис. 6–13, вклейка) в фолликулярных клетках выявлена мелкая базофильная зернистость 0,1–1,0 мкм, свидетельствующая о кислом характере структуры. В тироцитах удалось отследить эволюцию этой зернистости. В отдельных тироцитах может находиться от одного и более мелких включений до заполнения ими всей цитоплазмы клетки с приобретением ею шаровидной формы. В цитоплазме тироцитов можно увидеть крупные круглые образования (от 5 до 10 мкм) подобные шизогонии базофильно окрашенных включений. Мелкая базофильная зернистость при микроскопии отмечается не только в цитоплазме, но и на ядрах и внутри вакуолей ядер тироцитов. Из-за внутриклеточной базофильной зернистости цитоплазма клетки гиперплазируется, ее размер становится по сравнению с размером ядра больше в 15–25 раз. В клетках, цитоплазма кото-

рых заполнена множественными базофильными включениями, не завершается цитокинез, поэтому в тироците может быть 2 и более ядер с выраженным полиморфизмом. В последующем базофильная зернистость покидает клетку, и в клетке остается вакуолизованная гиперплазированная цитоплазма с деструктурированным и вакуолизованным ядром. Присутствие в узловых образованиях щитовидной железы подобных тироцитов свидетельствует об отсутствии их литической гибели, возможно, из-за выключенного апоптоза. Деструкция цитоплазмы и ядра тироцита, естественно, снижает его секреторную функцию. Микроскопическое исследование с иммерсией эритроцитов крови в проходящем свете, попадающих в мазок при ТАПБ, показало наличие в эритроцитах при АИТ (рис. 14–16, вклейка) и УЗ (рис. 17–21, вклейка) беспигментных эндоглобулярных включений, эритроциты были цитоадгезированы и вакуолизованы, что более свойственно для кровепаразитарных инфекций крови (бабезии, тейлерии — отряд *Piroplasmida*, класс *Sporozoa*, тип *Apicomplexa*, подцарство *Protozoa*).

В результате окрашивания цитологических мазков ТАПБ по Фельгену реактивом Шиффа удалось:

- в «медузоподобных» структурах из содержимого кист, являющихся, по всей вероятности, экзоэритроцитарной стадией развития гемоспоридий, локализовать находящуюся в них и некоторых эритроцитах паразитарную ДНК (рис. 22, вклейка);
- при аутоиммунном тиреоидите локализовать ядерную ДНК тироцитов и паразитарную ДНК в виде точечных включений и диффузно распределенной в цитоплазме тироцитов, а также ДНК в эритроцитах крови в виде ядер разных размеров, окрашенных в малиново-сиреневый цвет (рис. 23–26, вклейка);
- при узловом зобе также локализовать ядерную ДНК тироцитов и ДНК гемоспоридий в виде точечных включений и диффузно распределенной в цитоплазме тироцитов. Отмечена деформация, деградация, вакуолизация и уменьшение ядер тироцитов под воздействием развития гемоспоридий (рис. 27–31, вклейка). ДНК гемоспоридий в эритроцитах крови проявилась в виде ядер разных размеров, окрашенных в малиново-сиреневый цвет (рис. 32, 33, вклейка).

Окрашенная по Фельгену ДНК, выявленная в эритроцитах крови, однозначно свидетельствует о наличии кровепаразитарной инфекции. Наличие ДНК в эритроцитах без пигмента гемозоина характерно для бабезий и тейлерий. Не исключено наличие в мазках еще не изученного вида гемоспоридий. Выявление ДНК в эритро-

цитах с пигментом гемозоином свойственно малярийному плазмодию. В нашем исследовании пигмент гемозоин в эритроцитах отсутствовал, что позволило исключить в образцах наличие малярийного плазмодия. Ядерный материал гемоспоридий в эритроцитах был разных размеров, что может свидетельствовать о разных видах и/или генерациях возбудителя. Неокрашенная специальным красителем протоплазма кровепаразитарной инфекции выявлялась в виде светлой полосы вокруг ядер в эритроцитах.

Обсуждение

Как было показано ранее на животных, для гемоспоридий сем. *Piroplasmidae* местом шизогонии являются эндотелий кровеносных и лимфатических сосудов, а также клетки паренхиматозных органов, и только потом происходит заражение эритроцитов крови [6]. В легких, в местах локализации колоний экзоэритроцитарной стадии развития (*Babesia equi*), отмечены поражения в виде узлов размерами от 5 мм и более [11]. На пике инвазии гемоспоридий в кровяном русле может не быть, однако зараженность эритроцитов во внутренних органах может быть высокой [10].

Следует учитывать, что у двух видов бабезий (*Babesia equi* = *Theileria equi* и *Babesia microti*) начальная стадия жизненного цикла проходит в лимфоцитах и лимфоузлах, где образуются шизонты [29]. Развитие паразитов в лимфоидной ткани приводит к выраженной гиперплазии лимфатических узлов [30]. Увеличение лимфоузлов отмечали и при заражении другими видами гемоспоридий [20]. Поэтому перенос экзоэритроцитарной стадии развития может быть как из лимфоузла к месту формирования опухоли, так и наоборот.

При неопухолевых процессах [2] зернистость в цитоплазме тироцитов содержит липофусцин и гемосидерин — пигменты крови. Пигмент липофусцин принято считать нормальным компонентом клетки, отражающим преобладание процессов аутооксидации и пероксидации, направленных на поддержание внутриклеточного гомеостаза. Накопление липофусцина определяется снижением активности дыхательных ферментов и преобладании гликолиза, что отмечается при истощающих заболеваниях и повышении функциональной нагрузки на орган [8]. Как было показано на животных, развитие гемоспоридийной инфекции в крови приводит к нарушению окислительно-восстановительных процессов. По мере развития заболевания газовый и энергетический обмен повышается, а коэффициент утилизации кислорода, отражающий степень окислительно-восстановительных процессов в тканях на высоте инвазии, снижается [10].

Иллюстрации к статье «Кровепаразитарная инфекция как причина возникновения воспалительных реакций и доброкачественных образований щитовидной железы человека» (авторы: А.В. Терлецкий, Л.Г. Ахмерова, Е.В. Евтушенко) (с. 155–161) (1-й фрагмент; продолжение см. на с. II)

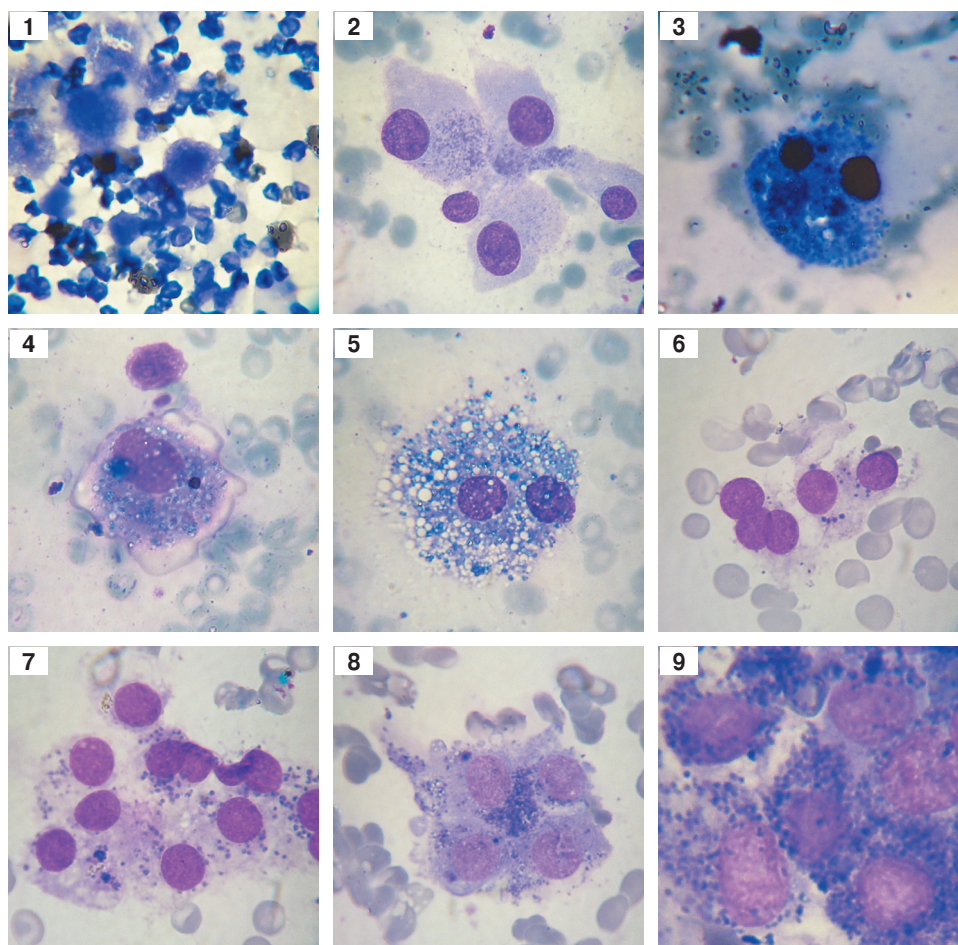


Рисунок 1. Киста. В содержимом кисты присутствуют «медузоподобные» структуры и эритроциты с эндоглобулярными включениями. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 1. A cyst. Note medusiform structures and erythrocytes containing endoglobular inclusions inside the cysts. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 2. Аутоиммунный тиреоидит. В цитоплазме тироцита присутствует мелкая базофильная зернистость. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 2. Autoimmune thyroiditis. A small basophilic punctation is found inside thyrocyte cytoplasm. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 3. Аутоиммунный тиреоидит. Цитоплазма тироцита заполнена базофильными включениями с двумя участками повышенной оптической плотности (шизогония). В эритроцитах присутствуют эндоглобулярные включения. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 3. Autoimmune thyroiditis. Thyrocyte cytoplasm is filled with basophilic inclusions with two high-optical density regions (schizogony). Endoglobular inclusions are observed inside erythrocytes. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 4. Аутоиммунный тиреоидит. Тироцит с базофильной зернистостью в цитоплазме. Отмечается начало вакуолизации в цитоплазме и ядре. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 4. Autoimmune thyroiditis. Thyrocytes containing basophilic punctation in the cytoplasm are observed. Note a vacuolization onset in the cytoplasm and nuclei. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 5. Аутоиммунный тиреоидит. Двухядерный тироцит с базофильной зернистостью в цитоплазме и ядре. Незавершенный цитокинез. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 5. Autoimmune thyroiditis. A binuclear thyrocyte with a basophilic punctation in the cytoplasm and nuclei is observed. Incomplete cytokinesis. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 6. Узловой зоб. Появление базофильной зернистости в цитоплазме тироцита. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 6. Nodular goiter. Basophilic punctation emerging in the thyrocyte cytoplasm. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 7. Узловой зоб. Тироциты с групповым скоплением базофильной зернистости в цитоплазме. Количество базофильной зернистости возрастает. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 7. Nodular goiter. Thyrocytes containing clustered basophilic punctation in the cytoplasm are observed. Note an increasing amount of basophilic punctation. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 8. Узловой зоб. Заполнение на половину цитоплазмы тироцита базофильной зернистостью. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 8. Nodular goiter. Note a thyrocyte cytoplasm half-filled with basophilic punctation. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 9. Узловой зоб. Заполнение всей цитоплазмы тироцита базофильной зернистостью. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 9. Nodular goiter. Note a thyrocyte cytoplasm fully filled with basophilic punctation. Romanowsky–Giemsa staining

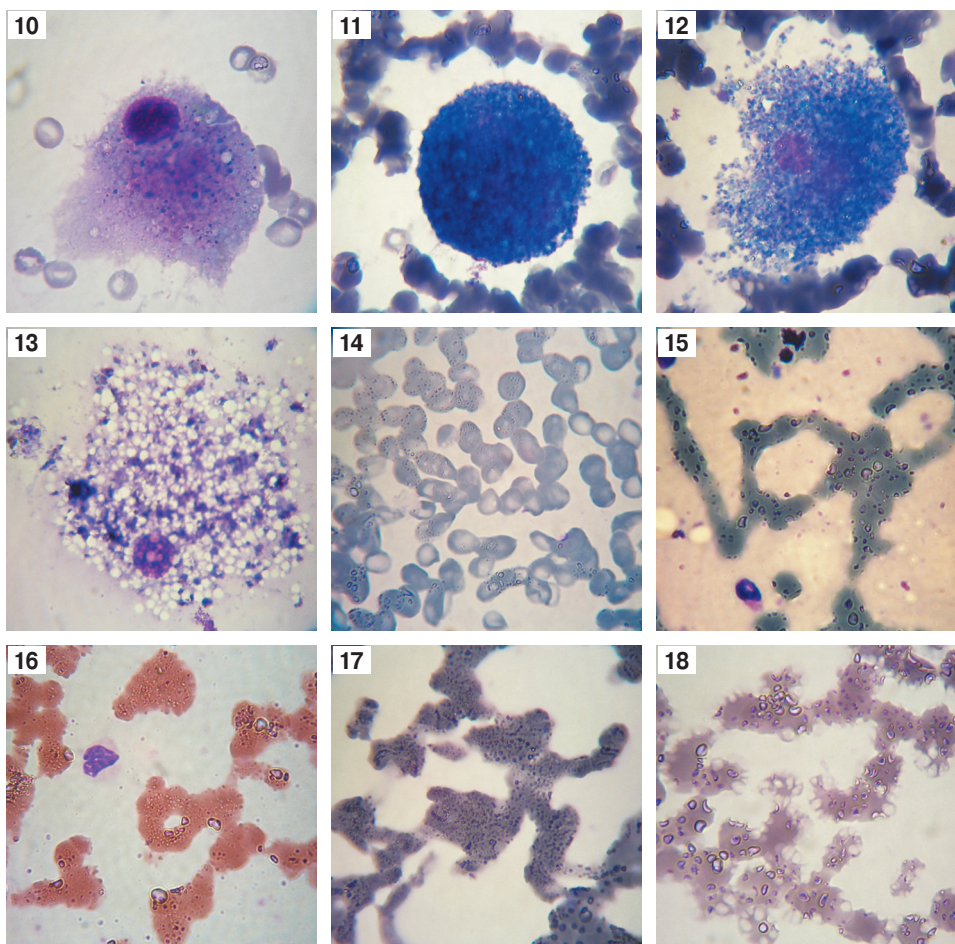


Рисунок 10. Узловой зоб. Вся цитоплазма тироцита и поверхность ядра заполнена базофильной зернистостью. Вакуоли в цитоплазме. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 10. Nodular goiter. Note that entire thyrocyte cytoplasm and nuclear surface are filled with basophilic punctation. Cytoplasmic vacuoles. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 11. Узловой зоб. Вся цитоплазма тироцита заполнена базофильной зернистостью. Клетка приобретает шаровидную форму. Эндоглобулярные включения такой же оптической плотности и окраски присутствуют в эритроцитах. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 11. Nodular goiter. Note that entire thyrocyte cytoplasm is filled with basophilic punctation. A spheroid cell shaping. Erythrocytes contain endoglobular inclusions of the same optical density and color. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 12. Узловой зоб. Выход базофильной зернистости из тироцита. Эндоглобулярные включения такой же оптической плотности и окраски присутствуют в эритроцитах. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 12. Nodular goiter. Basophilic punctation released from thyrocytes. Erythrocytes contain endoglobular inclusions of the same optical density and color. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 13. Узловой зоб. Базофильная зернистость покинула клетку. Видны вакуолизированная цитоплазма и ядро, цитоплазма гиперплазирована. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 13. Nodular goiter. Note that was fully released from thyrocytes. Vacuolated cytoplasm and nuclei, cytoplasm hyperplasia. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 14. Аутоиммунный тиреодит. Эритроциты крови с мелкими эндоглобулярными включениями. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 14. Autoimmune thyroiditis. Note blood erythrocytes contain small endoglobular inclusions. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 15. Аутоиммунный тиреодит. Эритроциты крови с эндоглобулярными включениями разных размеров. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 15. Autoimmune thyroiditis. Note blood erythrocytes contain endoglobular inclusions of various sizes. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 16. Аутоиммунный тиреодит. Выраженная цитoadгезия эритроцитов крови с эндоглобулярными включениями разных размеров. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 16. Autoimmune thyroiditis. A marked cytoadhesion observed for blood erythrocytes containing endoglobular inclusions of various sizes. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 17. Узловой зоб. Цитoadгезия эритроцитов крови с эндоглобулярными включениями. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 17. Nodular goiter. Note a cytoadhesion observed for blood erythrocytes containing endoglobular inclusions. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 18. Узловой зоб. Цитoadгезированные вакуолизированные эритроциты крови с эндоглобулярными включениями. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 18. Nodular goiter. Cytoadhesive vacuolated erythrocytes containing endoglobular inclusions. Romanowsky–Giemsa staining

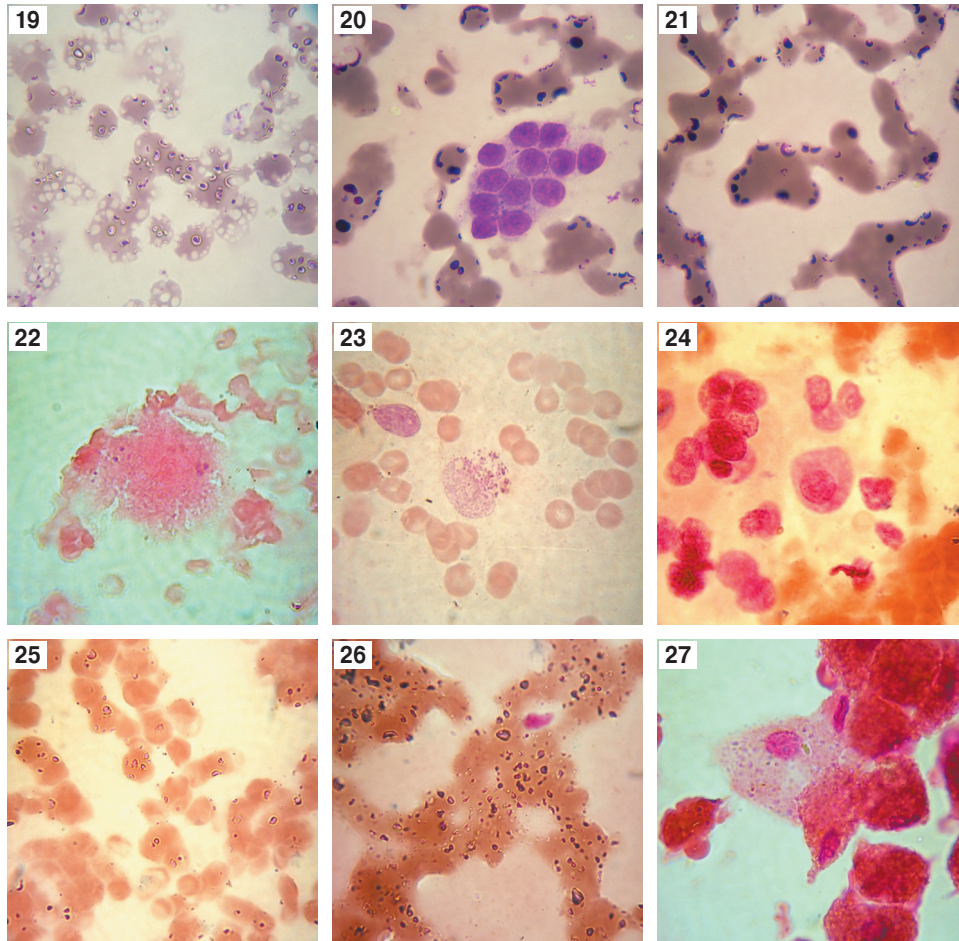


Рисунок 19. Узловой зоб. Цитоадгезированные вакуолизированные эритроциты крови с эндоглобулярными включениями. Видно синее ядро и окружающая его светлая протоплазма, типичная для гемоспоридийной инфекции крови. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 19. Nodular goiter. Cytoadhesive vacuolated erythrocytes containing endoglobular inclusions. Note a blue nucleus and surrounding light-colored protoplasm typical to hemosporidian infection. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 20. Узловой зоб. Цитоадгезированные эритроциты крови с эндоглобулярными включениями. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 20. Nodular goiter. Cytoadhesive vacuolated erythrocytes containing endoglobular inclusions. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 21. Узловой зоб. Цитоадгезированные эритроциты крови с эндоглобулярными включениями по центру или по периферии эритроцита. Окр. по Романовскому–Гимзе

Figure 21. Nodular goiter. Cytoadhesive vacuolated erythrocytes containing centered or peripheral endoglobular inclusions. Romanowsky–Giemsa staining

Рисунок 22. Киста. Экзоэритроцитарная форма гемоспоридий в «медузоподобных» образованиях. Окр. по Фельгену

Figure 22. A cyst. Note exoerythrocytic hemosporidia inside medusiform structures. Feulgen staining

Рисунок 23. Аутоиммунный тиреоидит. ДНК гемоспоридий в виде точек в цитоплазме тироцита. Окр. по Фельгену

Figure 23. Autoimmune thyroiditis. Punctate hemosporidian DNA observed in thyrocyte cytoplasm. Feulgen staining

Рисунок 24. Аутоиммунный тиреоидит. Диффузное распределение ДНК гемоспоридий в цитоплазме тироцита. Окр. по Фельгену

Figure 24. Autoimmune thyroiditis. A diffuse hemosporidian DNA distribution observed in thyrocyte cytoplasm. Feulgen staining

Рисунок 25. Аутоиммунный тиреоидит. Ядра (ДНК) гемоспоридий в эритроцитах крови. Окр. по Фельгену

Figure 25. Autoimmune thyroiditis. Hemosporidian nuclei (DNA) observed inside blood erythrocytes. Feulgen staining

Рисунок 26. Аутоиммунный тиреоидит. Цитоадгезия эритроцитов крови с ядрами (ДНК) гемоспоридий внутри. Окр. по Фельгену

Figure 26. Autoimmune thyroiditis. Hemosporidian nucleus (DNA)-containing erythrocyte cytoadhesion. Feulgen staining

Рисунок 27. Узловой зоб. Ядра (ДНК) гемоспоридий в тироцитах. Видна деформация и деградация ядер. Окр. по Фельгену

Figure 27. Nodular goiter. Hemosporidian nuclei (DNA) observed inside thyrocytes. Deformed and degraded nuclei are observed. Feulgen staining

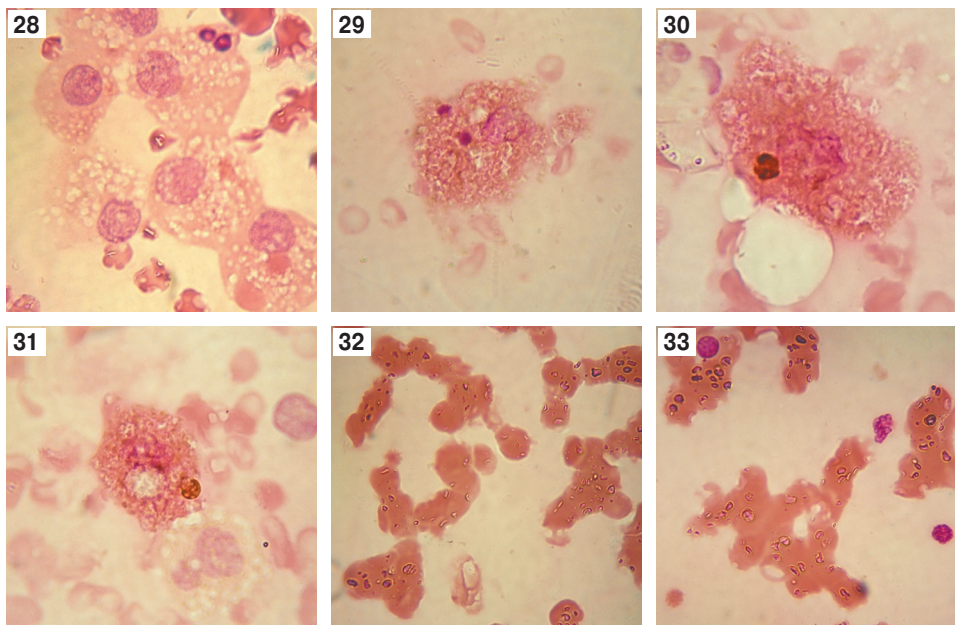


Рисунок 28. Узловой зоб. Вакуолизация ядер и цитоплазмы тироцитов. В цитоплазме видны два участка шизогонии гемоспоридий. Окр. по Фельгену

Figure 28. Nodular goiter. Thyrocyte vacuolated nuclei and cytoplasm are observed. Note two regions of hemosporeidian schizogony in the thyrocyte cytoplasm. Feulgen staining

Рисунок 29. Узловой зоб. Деградация ядра тироцита. Диффузное нахождение ДНК гемоспоридий в цитоплазме тироцита и участок шизогонии гемоспоридий. Окр. по Фельгену

Figure 29. Nodular goiter. Thyrocyte nucleus degradation. Diffuse hemosporeidian DNA inside thyrocyte cytoplasm and a region of hemosporeidian schizogony are observed. Feulgen staining

Рисунок 30. Узловой зоб. Деградация ядра тироцита. Диффузное нахождение ДНК гемоспоридий в цитоплазме тироцита и участок шизогонии гемоспоридий. Окр. по Фельгену

Figure 30. Nodular goiter. Thyrocyte nucleus degradation. Diffuse hemosporeidian DNA inside thyrocyte cytoplasm and a region of hemosporeidian schizogony are observed. Feulgen staining

Рисунок 31. Узловой зоб. Деградация ядра тироцита. Диффузное нахождение ДНК гемоспоридий в цитоплазме тироцита и участок шизогонии гемоспоридий. Окр. по Фельгену

Figure 31. Nodular goiter. Thyrocyte nucleus degradation. Diffuse hemosporeidian DNA inside thyrocyte cytoplasm and a region of hemosporeidian schizogony are observed. Feulgen staining

Рисунок 32. Узловой зоб. Ядра гемоспоридий в эритроцитах крови. Окр. по Фельгену

Figure 32. Nodular goiter. Note hemosporeidian nuclei inside blood erythrocytes. Feulgen staining

Рисунок 33. Узловой зоб. Цитоадгезия эритроцитов с ядрами гемоспоридий внутри. Окр. по Фельгену

Figure 33. Nodular goiter. Note hemosporeidian nucleus-positive erythrocyte cytoadhesion. Feulgen staining

Появление пигмента гемосидерина объясняется депонированием мерозоитами гемоспоридий в своей протоплазме белка гемоглобина в качестве энергетического материала для нахождения в плазме крови, при внедрении в эндотелий сосудов и клетки паренхиматозных органов, где происходит шизогония [25]. Находящийся в мерозоитах белок гемоглобин, естественно, будет давать положительную реакцию на пигменты крови. Возможно также развитие в процессе паразитирования гемоспоридий интраваскулярного гемолиза, вследствие разрушения эритроцитов, приводящего к накоплению гемосидерина в тироцитах.

Ультраструктурные особенности спорозитов и мерозоитов гемоспоридий таковы, что на апикальной части тела имеются роптрии и микронемы с протеолитическими ферментами. Данные органеллы позволяют им легко проникать через клеточные мембраны посредством их лизиса внутрь клеток для паразитирования.

Для бабезий свойственно образовывать из мембран эритроцитов тубулярные структуры (трубочки), позволяющие им длительно находиться в эритроците хозяина. Методами электронной микроскопии на мембранах пораженных эритроцитов выявлены перфорации — поры, или «метаболические окна» [24]. Через эти структуры происходит сброс метаболитов и антигенов за пределы эритроцитов. Наличие антигенов паразитов при премунисии в плазме крови вызывает постоянное антигенное возбуждение в иммунной системе [9]. Выброс через «метаболические окна» на поверхность эритроцита цитоадгезивных лигандов — антигенов VESA1 (variant erythrocyte surface antigen-1) приводит формированию выступов — knobов — на мембране эритроцита, посредством которых эритроциты адгезируются с эндотелием сосудов и другими эритроцитами. Это один из механизмов, с помощью которого паразит избегает иммунного ответа макроорганизма в селезенке. Цитоадгезия эритроцитов в сосудах может приводить к выраженной ишемии органов и тканей с включением механизма анаэробного гликолиза вплоть до полного тромбирования сосудов с развитием инсультов и инфарктов [13, 26].

Не исключено, что цитоадгезивные лиганды будут появляться не только на мембранах эритроцитов и инфицированного эндотелия сосудов, но и на мембранах клеток паренхиматозных органов, в которых развиваются гемоспоридии. Известно, что клетки щитовидной железы между собой соединяются при помощи пятен слипания терминальных пластинок и многочисленных десмосом, а также пальцевидных выступов (интердигитаций), входящих в соответствующие вдавления соседнего тироцита, таким образом связь клеток фолликулярного эпителия стано-

вится еще крепче, снаружи фолликулы покрыты базальной мембраной. Фолликулы отграничены тонкими прослойками рыхлой соединительной ткани, интенсивно снабженной гемо- и лимфососудистой сетью. Обильное кровоснабжение щитовидной железы обеспечивается сонной артерией, и по степени кровоснабжения щитовидная железа занимает одно из первых мест среди других органов [1, 3]. Вены щитовидной железы образуют сплетение с венами околощитовидной железы, имеющими лакунообразные расширения, которые могут быть удобным местом для задержки эритроцитов в этих местах и развития в них гемоспоридий.

Опухолевое проявление гемоспоридийной инфекции — это хроническое течение инвазии, при котором инфицированию подвержены эритроциты, клетки ретикулоэндотелиальной системы, паренхиматозных органов. Развивается анемия, гипоксия и интоксикация, что серьезно усугубляет процесс, и приводит к снижению функции противоопухолевого иммунитета [6, 7, 15, 33].

Внутриклеточное хроническое персистирование возбудителей болезней объясняется способностью патогена управлять процессом запрограммированной гибели клеток (апоптозом), направленным на поддержание жизни клетки, а, следовательно, на выживание возбудителя, что связывают с большинством заболеваний и в первую очередь — с аутоиммунными, онкологическими, нейротрофическими заболеваниями и некоторыми болезнями крови [5].

Развитие гемоспоридийной инфекции в щитовидной железе может приводить к гипофункции [23]. Не исключено, что на определенных стадиях развития некоторых видов и/или генераций гемоспоридий в тироцитах возможна и гиперфункция щитовидной железы.

Ранее Вирхов (1859), Шеррик с соавт. (1964), Косицкий (1962) высказали гипотезу о роли метастатической инфекции (или трансфекции ДНК) как фактора сигнально-опосредованного превращения нормальных клеток в опухолевые на новом месте, отвергая «заражение свободными отделившимися клетками» родоначальной неоплазмы [цит. по 4]. Полученные нами результаты согласуются с данной гипотезой.

Если ранее клиническое проявление кровепаразитарных (гемоспоридийных) инфекций связывали с укусами клещей, то сейчас известна роль «лучистых тельц» как определенной стадии жизненного цикла тейлерий и бабезий, возникающих из яйцевидной эритроцитарной стадии, называемой гамонтами, и передающихся кровососущими насекомыми [30]. Заражение гемоспоридиями (бабезиями из семейства *Piroplasmidae*) возможно при переливании донорской крови и ее продуктов [18, 19, 27, 34, 35], трансплацентарно [21, 22, 31, 32, 33], при пере-

садке органов и тканей [14, 16, 17], на экспериментальных животных (мышях) показан оральный путь заражения [28]. Не исключена вероятность полового пути заражения.

В нашей стране клиническое проявление гемоспоридийных (зоонозных и зооантропонозных) инфекций у человека по-прежнему считается предположительно возможным, а чаще — маловероятным заболеванием. Плановые исследования, диагностика и терапия больных, к сожалению, не проводятся.

Выводы

Исследованиями установлено, что первопричиной воспалений и доброкачественных опухолей щитовидной железы может являться внутриклеточная гемоспоридийная инфекция, развитие которой происходит в эритроцитах (бесполое бинарное деление) и тироцитах (шизогония).

Исследования мазков, окрашенных по Фельгену, показали, что при узловом зобе внутриклеточное развитие гемоспоридийной инфекции в тироцитах приводит к гиперплазии цитоплазмы и ее вакуолизации, ядра тироцитов при этом деформируются, вакуолизируются, уменьшаются в размерах и деградируют (с высокой вероятностью мутаций и делеций в ДНК), достигая преднеопластического уровня.

Доброкачественная с точки зрения патоморфологии опухоль может иметь злокачественный (неопластический) потенциал под воздействием гемоспоридий с дальнейшим проникновением гемоспоридий вглубь щитовидной железы с вовлечением в процесс других фолликулов и типов клеток. Отсутствие литической гибели инфицированных тироцитов можно объяснить способностью гемоспоридий управлять апоптозом клеток.

Хирургическое удаление доброкачественной опухоли не может гарантировать полного выздоровления, так как в крови и тканях остается гемоспоридийная инфекция, способная рецидивировать на прежнем месте или «метастазировать» на фоне хирургического стресса в другие органы и ткани с током крови в виде интра- и экзоэритроцитарной стадий развития с дальнейшей злокачественной трансформацией клеток на новом месте. Возможно усугубление процесса проявлением дополнительной клинической манифестации.

Планируем продолжить такое же цитологическое исследование документированного архивного материала со злокачественными опухолями щитовидной железы и в последующем определить молекулярно-генетическими методами видовую принадлежность гемоспоридийной инфекции.

Список литературы/References

1. Александровская О.В., Радостина Т.Н., Козлов Н.А. Цитология, гистология, эмбриология. М.: Агропромиздат, 1987. 448 с. [Aleksandrovskaya O.V., Radostina T.N., Kozlov N.A. Cytology, histology, embryology. Moscow: Agropromizdat, 1987. 448 p. (In Russ.)]
2. Воробьев С.Л. Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы (цитология для патологов, патология для цитологов). СПб.: Коста, 2014. 104 с. [Vorobyov S.L. Morphological diagnosis of thyroid diseases (cytology for pathologists, pathology for cytologists). St. Petersburg: Costa, 2014. 104 p. (In Russ.)]
3. Елисеева В.Г., Афанасьева Ю.И., Юрина Н.А. Гистология. М.: Медицина, 1983. 592 с. [Eliseeva V.G., Afanasyeva Yu.I., Yurina N.A. Histology. Moscow: Medicine, 1983. 592 p. (In Russ.)]
4. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Механизмы развития болезней и синдромов. СПб.: 2002. 507 с. [Zaichik A.Sh., Churilov L.P. Mechanisms of development of diseases and syndromes. St. Petersburg, 2002. 507 p. (In Russ.)]
5. Зигангирова Н.А., Гинцбург А.Л. Роль апоптоза в регуляции инфекционного процесса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2004. № 6. С. 106–113. [Zigangirova N.A., Ginzburg A.L. The role of apoptosis in the regulation of the infectious process. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2004, no. 6, pp. 106–113. (In Russ.)]
6. Колабский Н.А. О развитии гемоспоридий сем. Piroplasmidae в организме позвоночных животных // Сб. тр. Ленинградского ветеринарного института. Вып. XIV. 1954. С. 9–24. [Kolabsky N.A. On the development of hemosporidia of the family Piroplasmidae in the body of vertebrates. Proceedings of Leningrad Veterinary Institute, iss. XIV, 1954, pp. 9–24. (In Russ.)]
7. Крылов М.В. Пироплазмиды. Л.: Наука; 1981. 230 с. [Krylov M.V. Pyroplasmids. Leningrad: Nauka, 1981, 230 p. (In Russ.)]
8. Серов В.В., Пауков В.С. Ультраструктурная патология. М.: Медицина, 1975. 432 с. [Serov V.V., Paukov V.S. Ultrastructural pathology. Moscow: Medicine, 1975. 432 p. (In Russ.)]
9. Симоварт Ю., Пракс Я. Гематология и лейкозы сельскохозяйственных животных. Т. 1. Казань, 1969. 546 с. [Simovart Yu., Prax Ya. Hematology and leukemia of agricultural animals. Vol. 1. Kazan, 1969. 546 p. (In Russ.)]
10. Терентьев Ф.А., Марков А.А., Польшковский М.Д. Болезни овец. М., 1963. 520 с. [Terentyev F.A., Markov A.A., Polykovsky M.D. Diseases of sheep. Moscow, 1963. 520 p. (In Russ.)]
11. Трофимов И.Т. Протозойные болезни сельскохозяйственных животных (гемоспориозы и трипанозомозы). М., 1955. 237 с. [Trofimov I.T. Protozoan diseases of farm animals (hemosporidiosis and trypanosomiasis). Moscow, 1955. 237 p. (In Russ.)]
12. Шкурупий В.А., Полоз Т.Л. Цитоморфология фолликулярных опухолей щитовидной железы. Дифференциальная диагностика методом компьютерного анализа изображений и нейросетевых технологий. Новосибирск: Наука, 2009. 190 с. [Shkurupiy V.A., Poloz T.L. Cytomorphology of thyroid follicular tumors. Differentiated diagnostics using the method of computerized image analysis and neuronetwork technologies. Novosibirsk: Nauka, 2009. 190 p. (In Russ.)]

13. Allred D.R. Antigenic variation in babesiosis: is there more than one “why”. *Microb. Infect.*, 2001, vol. 3, pp. 481–491.
14. Ather I., Pourafshar N., Schain D., Gupte A., Casey M.J. Babesiosis: an unusual cause of sepsis after kidney transplantation and review of the literature. *Transpl. Infect. Dis.*, 2017, vol. 19, no. 5, doi: 10.1111/tid.12740
15. Auerbach M., Haubenstock A., Soloman G. Systemic babesiosis. Another cause of the hemophagocytic syndrome. *Am. J. Med.*, 1986, vol. 80, pp. 301–303.
16. Bade N.A., Yared J.A. Unexpected babesiosis in a patient with worsening anemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 2016, vol. 128, no. 7, pp. 1019. doi: 10.1182/blood-2016-05-717900
17. Brennan M.B., Herwaldt B.L., Kazmierczak J.J., Weiss J.W., Klein C.L., Leith C.P., He R., Oberley M.J., Tonnetti L., Wilkins P.P., Gauthier G.M. Transmission of *Babesia microti* parasites by solid organ transplantation. *Emerg. Infect. Dis.*, 2016, vol. 22, no. 11, pp. 1869–1876. doi: 10.3201/eid2211.151028
18. Dedd R. Y. Transmission of parasites by blood transfusion. *Vox Sang.*, 1998, vol. 74, pp. 161–163.
19. Dobroszycki J., Herwardt B. L., Boctor F., Miller J.R., Linden J., Eberhard M.L., Yoon J.J., Ali N.M., Tanowitz H.B., Graham F., Weiss L.M., Wittner M. A cluster of transfusion-associated babesiosis cases traced to a single asymptomatic donor. *JAMA*, 1999, vol. 281, no. 10, pp. 927–930.
20. Entrican H., Williams H., Cook I.A., Lancaster W.M., Clark J.C. Babesiosis in man: a case from Scotland. *Br. Med. J.*, 1979, vol. 2, 474 p.
21. Feder H.M., Lawlor M., Krause P.J. Babesiosis in pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, 2003, vol. 349, no. 2, pp. 195–196.
22. Fox L.M., Wingerter S., Ahmed A., Arnold A., Chou J., Rhein L., Levy O. Neonatal babesiosis: case report and review of the literature. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2006, vol. 25, no. 2, pp. 169–173.
23. Hatcher J.C., Greenberg P.D., Antique J., Jimenez-Lucho V.E. Severe babesiosis in Long Island: review of 34 cases and their complications. *Clin. Inf. Dis.*, 2001, vol. 32, no. 8, pp. 1117–1125.
24. Kawai S., Igarashi I., Abgaandorjiin A., Ikadai H., Omata Y., Saito A., Nagasawa H., Toyoda Y., Suzuki N., Matsuda H. Tubular structures associated with *Babesia caballi* in equine erythrocytes in vitro. *Parasitol. Res.*, 1999, vol. 85, pp. 171–175.
25. Kawai S., Igarashi I., Abgaandorjiin A., Miyazawa K., Ikadai H., Nagasawa H., Fujisaki K., Mikami T., Suzuki N., Matsuda H. Ultrastructural characteristics of *Babesia caballi* in equine erythrocytes in vitro. *Parasitol. Res.*, 1999, vol. 85, pp. 794–799.
26. Kjemtrup A.M., Conrad P.A. Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. *Int. J. Parasitol.*, 2000, vol. 30, pp. 1323–1337.
27. LeBel D.P. 2nd, Moritz E.D., O’Brien J.J., Lazarchick J., Tormos L.M., Duong A., Fontaine M.J., Squires J.E., Stramer S.L. Cases of transfusion-transmitted babesiosis occurring in nonendemic areas: a diagnostic dilemma. *Transfusion*, 2017, vol. 57, no. 10, pp. 2348–2354. doi: 10.1111/trf.14246
28. Malagon F., Tapia J.L. Experimental transmission of *Babesia microti* infection by the oral route. *Parasitol. Res.*, 1994, vol. 80, no. 8, pp. 645–648.
29. Mehlhorn H., Schein E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998. *Parasitol. Res.*, 1998, vol. 84, pp. 467–475.
30. Mehlhorn H., Schein E. The piroplasms: “A long story in short” or “Robert Koch has seen it”. *Eur. J. Protistol.*, 1993, vol. 29, pp. 279–293. doi: 10.1016/S0932-4739(11)80371-8
31. New D.L., Quinn J.B., Quresbi M.Z., Sigler S.J. Vertically transmitted babesiosis. *J. Pediatrics.*, 1997, pp. 163–164.
32. Raucher H.S., Jaffin H., Glass J.L. Babesiosis in Pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*, 1984, vol. 63, no. 3, pp. 7S–9S.
33. Rech A., Bittar C.M., Castro C.G. Jr., Azevedo K.R., Santos R.P., Machado A.R.L., Schwartzmann G., Goldani L., Brunetto A.L. Asymptomatic babesiosis in a child with hepatoblastoma. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 2004, vol. 26, no. 3, pp. 213.
34. Snyder E.L., Dodd R.Y. Reducing the risk of blood transfusion. *Hematology*, 2001, vol. 1, pp. 433–448.
35. Wei Q., Tsuji M., Zamoto A., Konsaki M., Matsui T., Shiota T., Telford III S.R., Ishihara C. Human babesiosis in Japan: isolation of *Babesia microti*-like parasites from an asymptomatic transfusion donor and from a rodent from an area where babesiosis is endemic. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, vol. 39, no. 6, pp. 2178–2183.

Авторы:

Терлецкий А.В., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск, Россия;
Ахмерова Л.Г., к.б.н., ученый секретарь Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск, Россия;
Евтушенко Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

Поступила в редакцию 14.05.2018
 Принята к печати 05.03.2019

Authors:

Terletsky A.V., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation;
Akhmerova L.G., PhD (Biology), Scientific Secretary, Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation;
Evtushenko E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation.

Received 14.05.2018
 Accepted 05.03.2019