

УДК: 611/71:612/1/2-008
КП
№ держреєстрації 0115U000685
Інв. №

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет
(СумДУ)

40007, Україна, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2, тел. (0542) 33 41 08

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з наукової роботи
д.ф-м.н., професор
_____ А.М. Черноус

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

**«Морфофункціональний моніторинг стану органів і систем організму
за умов порушення гомеостазу»
(проміжний)**

Начальник НДЧ,
к.ф-м.н., снс

Д.І. Курбатов

Керівник НДР,
д.мед.н., проф.

В.З. Сікора

2016

Рукопис закінчено 20 грудня 2016 року
Результати роботи розглянуто науковою радою,
протокол від 2016.12.23, № 4

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР, д.мед.н., професор, професор кафедри анатомії людини з курсами топографічної анатомії та оперативної хірургії, гістології, цитології та ембріології	2016.12.20	В.З. Сікора (вступ, розділ 1)
Професор кафедри анатомії людини з курсами топографічної анатомії та оперативної хірургії, гістології, цитології та ембріології, д.мед.н.	2016.12.20	Г.Ф. Ткач (розділ 1.4, 2, висновки)
Аспірант кафедри анатомії людини з курсами топографічної анатомії та оперативної хірургії, гістології, цитології та ембріології	2016.12.20	О.О. Тимошенко (розділ 3.5.1- 3.5.2)
Доцент кафедри патологічної анатомії, к.мед.н.	2016.12.20	Р.А. Москаленко (розділ 3.3-3.4)
Аспірант кафедри патологічної анатомії	2016.12.20	А.В. Резнік (розділ 3.1-3.2)
Студентка медичного інституту	2016.12.20	О.С. Максимова (розділ 3.5.3)
Студент медичного інституту	2016.12.20	Д.В. Муравський (розділ 3.5.4)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 271 с., 79 рис., 25 табл., 498 джерел, 36 додатків.

Об'єкт дослідження – процеси перебудови й динаміка змін хімічного складу посмугованих м'язів за умов нідмірного впливу на організм різних комбінацій солей важких металів та папілярний рак щитоподібної залози з біомінералізацією.

Мета роботи – виявити морфологічні особливості папілярного раку щитоподібної залози з біомінералізацією, з'ясувати патогенетичні особливості канцерогенезу на фоні біомінералізації, її діагностичне, прогностичне значення та визначення на макро-, мікро- та ультраструктурному рівнях особливостей морфологічної перебудови посмугованих м'язів та зміни їх хімічного складу за умов дії різних комбінацій солей важких металів у тварин різних вікових груп, а також з'ясування можливості корекції структурних змін препаратом Мексикор.

Методи дослідження – органометричний, гістологічний, гістоморфометричний, гістохімічний, імуногістохімічний, електронно-мікроскопічний, цитоморфометричний, математичний, статистичний, мікроелементний аналіз та рентгенівська дифракція.

Уперше на клінічному матеріалі проведено комплексне дослідження морфологічних особливостей патологічних тканин ПРЦЗ з біомінералізацією. Вперше був встановлений детальний фазовий та фізико-хімічний склад основних форм патологічних біомінералів у ЩЗ. Доповнено наукові дані щодо діагностичного та прогностичного значення біомінералізації ЩЗ. Завдяки використанню сучасних морфологічних методів дослідження (гістологічних, імуногістохімічних, гістохімічних, морфометрії, скануючої електронної мікроскопії, рентгенівської дифракції) показано, що біомінеральні депозити і реактивні зміни мікрооточення пухлинного процесу є важливими прогностичними ознаками у канцерогенезі. Детально досліджені імуногістохімічні особливості

мінералізованої тканини ПРЦЗ. Виявлено значення експресії *bax*, *OPN*, *VEGF* у морфогенезі біомінералізованої тканини ПРЦЗ та в оцінці перебігу злякисного процесу. Показано прогностичне значення біомінералізації при ПРЦЗ. Вперше досліджено морфогенез та діагностичне значення псамомних тілець при ПРЦЗ.

Також, уперше на значній кількості експериментального матеріалу проведене вивчення особливостей структури скелетних м'язів та специфіки вмісту хімічних елементів у них у щурів різних вікових груп за умов комбінованого впливу на організм солей міді, марганцю, хрому, свинцю, заліза та цинку у підгострому експерименті, що проявляється у поступових та поетапних перетвореннях сполучнотканинних прошарків, судин дрібного калібру, м'язових волокон та їх ультраструктурних компонентів. Уперше проведене вивчення впливу препарату Мексикор® на структурні особливості посмугованих м'язів за умов дії на організм солей важких металів у різних комбінаціях. Виявлений високий рівень протективності препарату та доведена можливість його застосування для профілактики і часткової корекції міопатичних процесів за умов впливу конкретних факторів зовнішнього середовища.

**ВАЖКІ МЕТАЛИ, ПОСМУГОВАНІ СКЕЛЕТНІ М'ЯЗИ,
ПАПІЛЯРНИЙ РАК, ЩИТОПОДІБНА ЗАЛОЗА, ЕЛЕКТРОННА
МІКРОСКОПІЯ, ІМУНОГІСТОХІМІЯ.**

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	7
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	13
1.1 Сучасні погляди на розвиток і біологію папілярного раку щитоподібної залози.....	13
1.2 Біомінералізація щитоподібної залози: поширення, патологія, механізми виникнення та діагностичне значення.....	26
1.3 Фактори пухлинного мікрооточення і їх можливий зв'язок з процесами біомінералізації.....	33
1.4 Морфологічні зміни скелетних м'язів за умов впливу зовнішніх факторів.....	37
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	48
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	63
3.1. Захворюваність на рак щитоподібної залози в Сумській області за 2004-2014 рр. та його клініко-морфологічна характеристика.....	63
3.2 Морфологічне дослідження папілярного раку щитоподібної залози за умов наявності та відсутності біомінералізації.....	68
3.2.1 Патогістологічний аналіз тканини папілярного раку щитоподібної залози.....	68
3.2.2 Морфологічний і фізико-хімічний аналіз мінеральної складової тканини папілярного раку щитоподібної залози.....	82
3.3 Імуногістохімічне дослідження папілярного раку щитоподібної залози за умов наявності та відсутності біомінералізації.....	88
3.4 Статистичний аналіз результатів залози за умов наявності та відсутності біомінералізації.....	107
3.5 Структурна перебудова посмугованих м'язів щурів за умов впливу на організм різних комбінацій солей важких металів у віковому аспекті	111
3.5.1 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різного віку за умов надмірного вживання солей цинку, міді та	

заліза.....	111
3.5.2 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різного віку за умов надмірного вживання солей марганцю, свинцю та міді.....	130
3.5.3 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різного віку за умов надмірного вживання солей цинку, хрому та свинцю.....	150
3.5.4 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різних вікових груп за умов надмірного вживання солей цинку, хрому, свинцю та препарату Мексикор.....	172
ВИСНОВКИ.....	183
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	186
ДОДАТОК А.....	237

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АІТ	– аутоімунний тиреоїдит
АЙТ	– апікальний йодний транспортер
АРЩЗ	– анапластичний рак щитоподібної залози
ВвПРЩЗ	– висококлітинний варіант папілярного раку щитоподібної залози
ВЗ	– вузловий зоб
ЗЗ	– змішаний зоб
ДсПРЩЗ	– дифузно-склеротичний варіант папілярного раку щитоподібної залози
ДТЗ	– дифузний токсичний зоб
КвПРЩЗ	– класичний варіант папілярного раку щитоподібної залози
МАПК	- мітоген-активована протеїнкіназа
МРЩЗ	– медулярний рак щитоподібної залози
ОПН	– остеопонтин
ПЕМ	– просвічуюча електронна мікроскопія
ПМЩЗ	– папілярна мікрокарцинома щитоподібної залози
ПРЩЗ	– папілярний рак щитоподібної залози
ПТ	– псамомні тільця
РЩЗ	– рак щитоподібної залози
СЕМ	– скануюча електронна мікроскопія
ТТГ	– тиреотропний гормон
ФА	– фолікулярна аденома
ФвПРЩЗ	– фолікулярний варіант папілярного раку щитоподібної залози
ФРЩЗ	– фолікулярний рак щитоподібної залози
УЗД	– ультразвукове дослідження
ЩЗ	- щитоподібна залоза
АВК	– артеріоло-венулярний коефіцієнт
АММ	– абсолютна маса м'яза
АОМ	– абсолютний об'єм м'яза
ВММ	– відносна маса м'яза
ДА	– діаметр артеріоли
ДВ	– діаметр венули
ДДМ	– довгий діаметр мітохондрії
ДДЯМ	– довгий діаметр ядра міосимпласта
ДК	– діаметр капіляра
ДМВ	– діаметр м'язового волокна
ДМСЧ	– діаметр м'яза в середній частині

ДМФ	– діаметр міофібрили
ДМЧ	– довжина м'язового черевця
КДМ	– короткий діаметр мітохондрії
КДЯМ	– короткий діаметр ядра міосимпласта
КЯМ	– кількість ядер міосимпласта
ОМ	– об'єм мітохондрії
ОЯМ	– об'єм ядра міосимпласта
ПМ	– площа мітохондрії
ПППВ	– площа поперечного перерізу м'язового волокна
ПППМ	– площа поперечного перерізу м'яза
ПЯМ	– площа ядра міосимпласта
Співвідн. I	– співвідношення I
ШЕ	– ширина ендомізю
ШП	– ширина перимізю
ЩМ	– щільність м'яза

ВСТУП

Сучасні масштаби забруднення навколишнього середовища набувають загрозливого характеру [241, 253, 390]. Новітній стан виробництва і зростаючий технічний пресинг біосфери сприяють тотальній контамінації ґрунтів, водоймищ та атмосфери, що негативно впливає на всі види живих організмів [265, 291, 362, 369, 409, 415, 421, 451, 482]. Особливо небезпечними є комбінації токсичних речовин, дія яких на живий організм може бути дуже небезпечною і частіше за все непередбачуваною [249, 442]. Адаптаційні та компенсаторні можливості біологічних систем на початкових етапах контакту із забруднювачами мають здатність до нівелювання їх впливу та підтримання сталості гомеостазу у тих рамках, що сприяють повноцінному функціонуванню цілісного організму [263, 429, 480]. Проте останнє стає неможливим зі збільшенням терміну експозиції полютантів або підвищенням їх концентрації [376]. Настає стан виснаження протекторних систем із поступовим переходом від стадії субкомпенсації до повної декомпенсації, що проявляється спочатку порушенням функції тканин та органів, а згодом і їх незворотною морфологічною перебудовою [269, 372, 383]. Таким чином, пряме чи непряме надходження до організму забруднювачів різної природи стає причиною розвитку захворювань або фоном для розвитку супутніх порушень функцій організму [318, 349].

Важкі метали є особливо небезпечними, зважаючи на їх токсичність і поширеність на території України та інших країн світу [230, 249, 371, 421]. Підвищення вмісту хрому, свинцю, цинку, заліза, міді та марганцю у воді певних районів Сумської області сягає критичних рівнів та перевищує гранично допустимі концентрації у десятки разів [236, 242].

Дослідниками всього світу впродовж останніх десятиліть проводиться ретельне вивчення різних механізмів патогенного впливу токсичних металів та їх солей на живі організми в цілому й на функціонування і

структуру окремих тканин, органів та систем. На сьогодні досить детально вивчена дія солей важких металів на органи дихальної, опорно-рухової, ендокринної, серцево-судинної, нервової та сечостатевої систем [345, 348, 372, 376, 436, 438, 441, 454].

Проте у світовій науковій літературі відверто бракує праць, які були б присвячені розгляду питань тривалого впливу важких металів на скелетні м'язи. Джерела часто суперечливі й потребують подальшого уточнення. Сьогодні, незважаючи на очевидну актуальність цього питання, залишається значна кількість невирішених питань структурної перебудови посмугованих м'язів за умов дії солей важких металів на органному, тканинному, клітинному та молекулярному рівнях, змін хімічного складу довільної мускулатури за умов мікроелементозів та особливостей усіх вищенаведених змін у різні вікові періоди розвитку живих організмів.

Захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) характеризуються надзвичайним поширенням серед населення і залежать від стану навколишнього середовища – забруднення поллютантами, радіонуклідами, йододефіциту, тощо [3, 14, 29, 47, 61]. Це обумовлює великі медичні та медико-соціальні проблеми у державі [61].

У ЩЗ кальцифікати зустрічаються як при доброякісній, так і за умов злоякісної патології, яка діагностується при ультразвуковому дослідженні органа. Отримана діагностична інформація про кальцифіковані об'єкти у ЩЗ часто пропускається клініцистами або їй надається мінімальне клінічне значення [108]. Проте існує багато повідомлень про високий ризик поєднання процесів біомінералізації (кальцифікації) з злоякісними пухлинами [85, 94, 115, 116, 200, 222]. Ризик виявлення злоякісної пухлини ЩЗ значно зростає у солітарних вузлах [108]. У жителів США пальповані вузли ЩЗ виявляються у 4-7% населення [132]. Поширеність вузлів, які випадково виявляються при автопсії або УЗД, у людей, які ніколи не страждали на захворювання ЩЗ, досягає 20-65% [122]. Вузли ЩЗ частіше

виявляються у жінок, співвідношення жінок та чоловіків, за різними оцінками, коливається від 1,2:1 до 4,3:1 і з віком збільшується [3, 10].

Згідно даних всесвітнього дослідження захворюваності і смертності від злоякісних пухлин GLOBOSCAN у 2012 році було виявлено 298 тис. нових випадків раку щитоподібної залози (РЩЗ), що склало 2,1% від загальної кількості злоякісних пухлин. РЩЗ суттєво частіше зустрічається у жінок, ніж у чоловіків (3:1), займаючи частку 3,5% загальної захворюваності на злоякісні пухлини. Найбільший високий рівень захворюваності на РЩЗ спостерігається у Північній Америці – 20 на 100 тис. населення серед жінок і 6,3 на 100 тис. серед чоловіків [47]. Частка РЩЗ також має виразну тенденцію до зростання і в Україні. Цей показник щорічно зростав на 6-7% у період 1989-2013 років, становлячи в останні роки 4,4-5,5 на 100 тис. населення [30]. При чому спостерігалися регіональні особливості, наприклад в Сумській області останні 3 роки відмічається значний ріст захворюваності на РЩЗ, досягши в 2014 році 15,1 випадків на 100 тис [23]. Надзвичайне поширення патології щитоподібної залози (ЩЗ) в Україні пов'язують з багатьма факторами - такими, як аварія на Чорнобильській АЕС, відсутність йодопрофілактики, важка екологічна ситуація в багатьох регіонах України, покращення інструментальної діагностики [3, 10, 12, 14, 23, 27, 29, 30]. Також впровадження Наказу Міністерства охорони здоров'я України №10 від 22.01.1996 року «Про створення національного канцер-реєстру України» забезпечило можливість отримувати уточнену інформацію про онкозахворюваність, в тому числі і про показники захворюваності на РЩЗ [10, 30].

Папілярний рак щитоподібної залози (ПРЩЗ) є найбільш поширеною формою раків цього органа, займаючи близько 70% у структурі захворюваності [58, 120, 122]. Незважаючи на те, що прогностично ПРЩЗ має сприятливий перебіг, в 5-20% випадків спостерігаються рецидиви, а близько 10% пацієнтів помирають від цієї

хвороби [117]. Загальне виживання для більшості хворих залежить від гістологічних особливостей пухлини та багатьох інших предикторів. Одним з таких прогностичних факторів ПРЦЗ є патологічна біомінералізація, яка особливо часто є першим «тривожним дзвоником» при ультразвуковому дослідженні (УЗД) ЩЗ. Саме для ПРЦЗ характерний такий прояв мінералізації, як псамомні тільця (ПТ), що практично використовується для діагностики [114].

Таким чином, існує цілий комплекс невирішених проблем, пов'язаних зі складністю диференційної діагностики патології ЩЗ, яка супроводжується процесами біомінералізації (кальцифікацією).

Виконання проекту може в перспективі мати важливе практичне значення, оскільки на підставі отриманих даних можлива розробка ефективних заходів профілактики надмірного надходження солей важких металів та своєчасної діагностики патології ЩЗ. Також, створити патогенетичну терапію захворювань, які супроводжуються акумуляцією СВМ в організмі.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні погляди на розвиток і біологію папілярного раку щитоподібної залози

За останні два десятиліття з'явилося багато спроб розвитку нового розуміння проблеми виникнення, механізму розвитку та лікування папілярного раку щитоподібної залози [120]. Нові можливості досліджень у молекулярній біології, впровадження тонкогілкової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ), технологічні прориви у радіологічній діагностиці дозволяють діагностувати пухлинний процес на ранніх стадіях [220]. Значне зростання захворюваності РЩЗ у всьому світі має широке підґрунтя, яке включає в себе не тільки технологічні аспекти. У більшості розвинутих країн та держав, що розвиваються, відбувається зростання тривалості життя популяції у цілому. Змінюються спосіб життя та навколишнє середовище. Підвищується виживаність онкохворих внаслідок покращення діагностики і лікування. Разом з тим мультифакторіальний вплив на організм людини деформує клініко-морфологічний ландшафт РЩЗ. Виявлення злоякісних мікропухлин щитоподібної залози на ранніх стадіях розвитку з низькою проліферативною активністю і неагресивним перебігом призводить до феномену, який описується як «гіпердіагностика» раку цього органа [214]. Не зважаючи на величину та проліферативний потенціал РЩЗ, за стандартами лікування всі пацієнти підлягають доволі агресивному лікуванню, яке включає радіоїодтерапію. Це призвело до бурхливого зростання витрат на лікування та догляд пацієнтів з РЩЗ, які лягли на плечі системи охорони здоров'я та хворих. Так, в одних лише США на лікування та догляд за хворими РЩЗ у 2013 році було витрачено 1,6 млрд. дол. США [124]. Таким чином, проблема РЩЗ потребує поглибленого вивчення у зв'язку із важливим соціально-економічним значенням.

Епідеміологія РЩЗ. Злоякісні пухлини ЩЗ становлять приблизно 1% від кількості всіх злоякісних пухлин [122]. Кожен рік виявляється близько 298 000 нових випадків РЩЗ (питому частка серед всіх пухлин - 2,1%) [47]. Також РЩЗ є найбільш поширеною злоякісною пухлиною ендокринної системи. Переважна більшість злоякісних епітеліальних пухлин ЩЗ характеризуються млявим, неагресивним перебігом, тому рівень 10-річної виживаності пацієнтів тримається близько 90-95% і ці пухлини спричиняють лише 0,2% смертей від раків всіх локалізацій [120, 121].

РЩЗ переважно уражує людей молодого та середнього віку, рідко зустрічається у дітей. Виключення складає РЩЗ індукований зовнішньою радіацією, що було досліджено на прикладі наслідків Чорнобильської катастрофи на території українського і білоруського Полісся, де серед дітей захворюваність на цей вид раку зросла в десятки разів [3, 217]. Вік встановлення діагнозу злоякісної пухлини ЩЗ корелює з частотою виявлення певного гістологічного типу пухлини. Так, для ПРЩЗ характерний вік встановлення діагнозу у 45-55 років, для фолікулярного (ФРЩЗ) і медулярного раку (МРЩЗ) – у 50-60 років, після 60-ти років зростає кількість низько- і недиференційованих форм [122].

Велика кількість досліджень показують, що жінки в 2-4 рази частіше страждають на РЩЗ, ніж чоловіки [131, 179]. Найвищі показники фіксуються у жителів Північної Америки (6,3 випадків на 100 тис у чоловіків, 20,0 випадків на 100 тис. у жінок) та регіону Океанії (3,4 випадків/100 тис. і 11,3/100 тис. відповідно) [47]. Ризик розвитку РЩЗ упродовж життя у жінок США складає 1:120, ризик смерті від цього захворювання – 1:1700 [189]. Одні з найвищих показників захворюваності на РЩЗ належать острівним популяціям, таким як жителі Ісландії, Японії, Філіппінам та Гавайям [47, 122, 189]. Епідеміологічні дослідження на Гавайських островах показали, що серед усіх немісцевих етнічних груп показник захворюваності на злоякісні пухлини ЩЗ був вищий, ніж серед корінного населення. Такі результати були справедливими і для іншого

острівного населення, за виключенням філіпінських жінок [122]. Причини коливання цих показників точно не встановлені.

В історичному аспекті для епідеміології РЩЗ парадигмальний злам наступив у середині 70-х років ХХ століття, коли у більшості країн почав рости показник захворюваності і, одночасно, знижуватися показник смертності [48, 189].

Морфологічні, клінічні і молекулярно-генетичні особливості обумовлюють поділ РЩЗ на чотири різні групи: ПРЩЗ, ФРЩЗ, МРЩЗ та анапластичний (недиференційований) рак (АРЩЗ) [6]. Найбільшу питому частку (70-80%) має ПРЩЗ, саме завдяки цій формі раку відбуваються всі кардинальні зрушення в епідеміології РЩЗ [58]. Для ПРЩЗ характерний зв'язок з йододефіцитом, що виявляється при порівнянні захворюваності на цю патологію серед жителів гірських районів (йододефіцитні зони) і приморських регіонів (достатня кількість йоду). Недостатність йоду може здійснювати вплив навіть на морфологію ПРЩЗ [217].

Значна кількість робіт була присвячена радіаційній етіології ПРЩЗ [101]. Етіологічний чинник іонізуючої радіації для ПРЩЗ детально вивчався на прикладах наслідків атомного бомбардування японських міст Хіросіми і Нагасакі в кінці II світової війни, катастрофи на Чорнобильській атомній електростанції у 1986 році та наслідків променевого лікування низькими дозами радіації доброякісних пухлин голови і шиї (лімфангіоми, гемангіоми, збільшений тимус або мигдалики, аденоїди) [145]. У дітей, молодше 15 років, було встановлено лінійну залежність від дози спожитої радіації. Найбільші зміни викликалися дозою 0,1 Грей, в той час як високі дози опромінення знижували ризик виникнення РЩЗ, можливо внаслідок прямої загибелі клітин [53]. Можливим механізмом розвитку пухлин після тривалого впливу низьких доз іонізуючої радіації називають розвиток стану відносного гіпотиреозу, внаслідок ушкодження тиреоїдних фолікулів. Це призводить до компенсаторного підвищення рівня секреції тиреотропного гормону (ТТГ). Вважається, що саме проліферативний

вплив ТТГ на ушкоджений фолікулярний епітелій здатний призвести до неопластичної трансформації [53].

Молекулярно-генетичні порушення при РЩЗ. Найбільш достовірними ознаками ПРЩЗ, які відрізняють його від інших гістологічних форм РЩЗ є зміни на генному рівні. Так, для РЩЗ характерна онкогенна трансформація генів RET/PTC (ген рецептора тирозинкінази), TRK (тирозинкіназа безпосередньо), BRAF, RAS та PAX8/PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) [151, 219]. Ці молекулярно-генетичні порушення мають високий вплив на діагностику і прогноз пухлини. ПРЩЗ є носієм точкових мутацій BRAF і RAS генів та перебудови гену RET/PTC, які всі призводять до порушення сигнального шляху мітоген-активованої протеїнкінази (МАПК). Ці взаємовиключаючі мутації зустрічаються в більш ніж 70% випадків ПРЩЗ [34, 194]. ФРЩЗ характеризується наявністю будь-якої з двох мутацій: або точкової мутації гену RAS, або перебудовою гену PAX8/PPAR γ . Ці мутації також є взаємовиключаючими та ідентифікуються приблизно в 75% ФРЩЗ [149].

Онкологічна перебудова гену RET/PTC є найпоширенішою генною альтерацією при ПРЩЗ в різних дослідженнях та географічних регіонах - до 80% [122]. Вперше мутація гену RET, яка пізніше названа RET/PTC, була описана в 1987 [178]. У залежності від варіанту перебудови гену, та його ушкодження може перебігати за типом інтрахромосомальної інверсії (RET/PTC 1 та RET/PTC 3), транслокації (RET/PTC 2) або злиття гена рецептора тирозинкінази з іншими незалежними генами [51]. При всіх зазначених перебудовах гену залишається неушкодженим домен тирозинкінази RET – рецептора, що дає змогу химерному RET/PTC білку активувати RAS-RAF-МАПК каскад, що ініціює канцерогенез у ЩЗ [51].

Відсоток мутацій змінюється у середньому від 20-30% у спорадичних випадках ПРЩЗ дорослих, до 45-60% у дітей та молодих людей, досягаючи максимуму у популяціях, які піддавалися впливу зовнішнього радіоактивного опромінення – 50-80% випадків [152].

Виділяють кілька варіантів RET/PTC мутацій, серед яких найбільш часто зустрічаються RET/PTC 1 (60-70%) та RET/PTC 3 (20-30%) [152]. Останній варіант мутації RET/PTC сильно корелює з радіаційним впливом: в перші 10 років після аварії на ЧАЕС це був домінуючий тип мутації серед дітей з ПРЩЗ [153]. Пов'язані з геном RET/PTC мутації здійснюють вплив на гістологічний фенотип ПРЩЗ. Так, мутація RET/PTC 1 характерна для класичного варіанту ПРЩЗ та мікрокарцином, в той же час RET/PTC 3 переважає у солідних та висококлітинних варіантах ПРЩЗ [152].

Перебудова гену TRK виявляється приблизно в 10% всіх випадків ПРЩЗ, при чому всі типи мутації цього гену зустрічаються з однаковою частотою [122].

RAS - мутація ПРЩЗ зустрічається менше, ніж у 10% випадків, вона пов'язана з активацією точкової мутації (N-RAS codon 61) [122]. Однак є повідомлення, що мутацію RAS - гену знаходять у 43% фолікулярного варіанту ПРЩЗ [122].

BRAF мутації при ПРЩЗ характеризуються точковим ураженням цього гену в нуклеотидній позиції 1799 (T1799A), де тимін заміщується аденином [148]. Це призводить до заміни в білку валіну на глютамінову кислоту в залишку 600 (V600E). Точкова мутація V600E веде до конститутивної активації BRAF - кінази і хронічної стимуляції МАПК каскаду, який є онкогенним для тироцитів [212]. Частота виявлення цієї мутації серед ПРЩЗ досягає 70% [34, 148]. Мутація гену BRAF характерна лише для ПРЩЗ, в інших типах РЩЗ вона не зустрічається. Патологія BRAF гену немає зв'язку з іншими мутаціями, які виявляються в ПРЩЗ – RET/PTC, RAS та інших білків, які мають відношення до активації сигнального шляху МАПК [151]. BRAF V600E мутація поєднується з специфічними гістологічними варіантами ПРЩЗ, такими як ВвПРЩЗ (70-80% пухлин), КвПРЩЗ (близько 60% пухлин) та ФвПРЩЗ (10% випадків) [121,151, 185, 193]. Ця точкова мутація часто виявляється в АРЩЗ, який походить з ПРЩЗ [43].

Встановлено, що мутація BRAF V600E є надійним прогностичним маркером для ПРЩЗ. Її зв'язок з агресивною поведінкою пухлини (рецидиви пухлини, позаорганне поширення, ВвПРЩЗ) був доведений багатьма дослідженнями, в які була залучена значна кількість пацієнтів. Також важливо, що мутація BRAF V600E є незалежним предиктором резистентності злоякісної пухлини ЩЗ до радіоїодтерапії (РЙТ). Це пояснюється тим, що активація білка BRAF призводить до пошкодження NIS та зниження засвоєння йоду [62]. Застосування визначення BRAF-мутації має важливе прогностичне значення для ПМЩЗ. Більшість ПМЩЗ, видалених хірургічним способом, мають сприятливий перебіг. Але деякі з них демонструють метастатичний фенотип, рецидиви і призводять пацієнта до смерті, тому і потребують більш агресивного лікування [131]. Таким чином, роль мутації гену BRAF у сприянні агресивного перебігу ПРЩЗ є повністю визначеною [177, 185, 193].

Необхідно зазначити, що нез'ясована генетична схильність до ПРЩЗ виявляється у нащадків хворих на цей тип РЩЗ [156]. Онкогенна перебудова у генах RAS, PPAR-PAX8, а також PTEN, тісно пов'язана з виникненням ФРЩЗ [122]. Мутація гену p53 часто виявляється в АРЩЗ [35].

Патоморфологія ПРЩЗ. Класичний варіант ПРЩЗ має виразну *макроскопічну картину*, що надає можливості запідозрити дану патологію навіть перед мікроскопічним дослідженням [21]. Проте також існують «некласичні» варіанти гістологічної структури ПРЩЗ, які значно урізноманітнюють варіативність макроскопічного дослідження. ПРЩЗ може виникати у будь-якій частині органа, без видимих переважань локалізації – будь це права чи ліва частки, перешийок чи додаткові часточки ЩЗ.

Величина пухлини в класичному ПРЩЗ може коливатися у широкому діапазоні: найбільш часто в середньому 2-3 см, але спостерігаються випадки доволі великих пухлин і пухлин до 1,0 см,

кількість яких стрімко збільшується [120]. Пухлинний вузол має білуватий або білувато-жовтий колір, щільний при пальпації. У деяких випадках пухлина має вигляд рубця, особливо при невеликих розмірах. Поверхня пухлини дрібнозерниста, з вибухаючими ділянками. Часто пухлина має вигляд кісти, заповненою бурою кров'янистою рідиною [31, 42]. ПРЦЗ, як правило, не має капсули, її інвазивність проявляється променястою інфільтрацією тканин навколо пухлинного вузла. Надзвичайно поширеною ознакою ПРЦЗ є присутність мінералізованих включень, які виявляються при макроскопічному дослідженні у вигляді твердих крихких утворень або характерного звуку при розрізанні пухлинної і навколопухлинної тканини [18, 32].

Мікроскопічно ПРЦЗ має ще більш виразні паттерни. Основною його гістологічною ознакою є присутність пухлинних папіл (сосочків). Пухлинний сосочок складається з центрального стовбура (ядра), який оточений кількома шарами пухлинних клітин та містить різну кількість судин за типом капілярів та синусоїдів. Пухлинний епітелій наповнений овальними ядрами, які мають специфічний «прозорий» вигляд. Такі ядра носять епонімічну назву «очі сирітки Енн», тому що нагадують «очі, повні сліз» [32, 48, 179]. Механізм утворення цього феномену до кінця не встановлений. В одній з версій походження прозорих ядер говориться про артефакти при забарвленні ядер гематоксилином (можливо, дефект фіксації тканини). Але той факт, що «освітлення» ядер відбувається не дифузно, а локально, то це пояснення виглядає непереконливим. Також ще у двох роботах робилися спроби пояснення цього феномену, але ці дослідження не відтворювалися в інших лабораторіях [120]. У першій роботі такий фенотип ядер пояснювався присутністю онкогену RET у клітинах ЩЗ [70]. В іншій роботі перетворення всередині ядер пояснювалися участю в цих процесах білка емерину [37]. Прозорі ядра виявляються у 80% випадків, ще приблизно у 80-85% випадків знаходять внутрішньоядерні включення цитоплазми [121]. Однією з найбільш достовірних ознак ПРЦЗ

є ядерні борозенки (nuclear grooves), які виявляються майже у всіх випадках цієї пухлини. Ядерні борозенки – це поздовжні перетяжки в ядрах ПРЩЗ, які особливо помітні в прозорих («скляних») ядрах. За даними електронно-мікроскопічних досліджень ядерні борозенки з високою вірогідністю є складками ядерної мембрани. Ці складки, очевидно, можуть також симулювати і внутрішньоядерні включення [122]. За останні декади спостережень діагностичне значення ядерних ознак ПРЩЗ знизилося і підлягало критиці [100, 185]. Нова редакція ВООЗ визначення і класифікації ПРЩЗ відображує цю тенденцію [122]. Прозорі «скляні» ядра також виявляються (щоправда не завжди) при аутоімунному тиреоїдиті (АІТ), ядерні борозенки також спостерігаються при тиреоїдиті Хашімото, аденоматозній гіперплазії, фолікулярних аденомах (наприклад, у частково гіалінізованій трабекулярній пухлині), вузловому зобі [122].

Зазвичай, явища мітозів доволі рідкісні у тканині ПРЩЗ, що цілком узгоджується з його індолентним (неагресивним) перебігом. Більшість клітин ПРЩЗ є кубічними або високо призматичними, що може відображати функціональну активність тироцитів як у нормі, так і при патології [144].

Для ПРЩЗ характерне лімфогенне метастазування. Першими уражуються лімфатичні вузли ділянки судинно-нервового пучка ший (глибока латеральна та яремна група) і передгортанні. Метастатичне ураження іноді буває двобічним. Морфологічно, метастази ПРЩЗ відрізняються від інших тим, що основну масу лімфатичного вузла займає колоїд з домішками крові, меншу частину – пухлинна тканина [21, 32]. Ураження ПРЩЗ лімфатичних судин призводить до розвитку регіональних метастазів у лімфатичні вузли та багатоцентрового росту пухлини в самій ураженій частці ЩЗ. Позаорганні (екстратиреоїдні) метастази доволі рідкісні, також, як ураження венозних судин [75]. Найбільш часто спостерігається метастатичне ураження легенів і кісток, переважно у пацієнтів з тривалим перебігом захворювання [21]. Для пояснення

мультифокальності росту ПРЩЗ існує думка про можливість проліферації незалежних пухлинних клонів [100, 199]. Обидві думки мають право на існування. Вважається більш вірогідним поширення пухлини через лімфогенні метастази. Метастази в регіональні лімфовузли є розповсюдженим явищем, за деякими даними цей показник досягає 50% [127]. У деяких випадках виявлення первинної пухлини в ЩЗ зумовлює серйозну проблему [4]. Цікаво, що виявлення метастазів у шийні лімфовузли суттєво не впливає на прогноз виживаності у пацієнтів до 45 років [127]. Серед віддалених метастазів ПРЩЗ найбільш часто віддає вторинні вогнища у легені та кістки [95]. Завдяки радіойодтерапії виживаність пацієнтів значна навіть у випадку численних віддалених метастазів за умов достатньої диференціації пухлин для поглинання йоду.

Незважаючи на успіхи в діагностиці і лікуванні ПРЩЗ, це захворювання ще представляє загрозу для популяції, особливо з огляду на велику поширеність патології. Поганими прогностичними ознаками для ПРЩЗ є похилий вік при встановленні діагнозу, чоловіча стать, великий розмір пухлини, екстраорганне поширення пухлини, низька диференціація з солідною будовою, анеуплоїдія пухлинних клітин та внутрішньосудинне ураження [141].

Деякі ПРЩЗ мають специфічні особливості, такі як певні паттерни росту, переважання типів клітин та стромальні реакції. Пухлини з переважанням певних особливостей виділяються в окремі гістологічні варіанти ПРЩЗ. На сьогодні немає чіткого уявлення про асоціацію певних гістологічних варіантів ПРЩЗ з більш агресивним перебігом. Найбільші підозри, щодо відмінного прогностичного значення від класичного варіанту ПРЩЗ (КвПРЩЗ), виникають при чотирьох гістологічних варіантах ПРЩЗ: фолікулярному, висококлітинному, дифузно-склеротичному та солідному [121].

Фолікулярний варіант ПРЩЗ (ФвПРЩЗ) раніше часто класифікувався як ФРЩЗ або фолікулярна аденома ЩЗ [42, 216]. ФвПРЩЗ

став широко розпізнаватися з середини 1970-х років ХХ століття у випадках, коли в пухлині неопластичні фолікули переважали над папілярним компонентом [48]. Зараз діагноз ФвПРЩЗ ґрунтується на нуклеарних ознаках ПРЩЗ (ядерні борозенки, «скляні», прозорі ядра, ядерні включення), причому цей паттерн повинен бути поширений на більшість неопластичних фолікулів [121]. У випадку, коли невелика частина пухлинних клітин у вузлі фолікулярної будови має нуклеарні ознаки ПРЩЗ, клінічне значення цієї пухлини важко встановити. Для таких випадків застосовувався термін «добре диференційовані пухлини невизначеного злоякісного потенціалу», але загалом застосування цієї термінології не прийняте [122]. У частині випадків ФвПРЩЗ при гістологічному дослідженні виявляються псамомні тільця (ПТ) та інтрафолікулярні багатоядерні гігантські клітини [122].

Цитологічна діагностика ФвПРЩЗ дещо ускладнена тим, що ядра не завжди демонструють нуклеарні ознаки ПРЩЗ, тому цитологи часто встановлюють діагноз за типом «підозра на малігнізацію» або «фолікулярна неоплазма, підозра папілярної карциноми» [120].

ФвПРЩЗ ділиться на два підтипи: інфільтративний (неінкапсульований) та інкапсульований [179]. За останні 20-30 років кількість діагностованого інкапсульованого підтипу ФвПРЩЗ зросла в 2-3 рази і в країнах Європи та Північної Америки його питома вага у загальній структурі РЩЗ складає від 10 до 20% [104, 125]. Сьогодні питання діагностики, класифікації і лікувального менеджменту інкапсульованого підтипу ФвПРЩЗ викликає найбільші дискусії [150]. У випадку цього підтипу ФвПРЩЗ діагноз встановлюється переважно на нуклеарних ознаках, тому що явища інвазивного росту відсутні [65]. У той же час, виявляються випадки інкапсульованого підтипу ФвПРЩЗ з метастазуванням у лімфатичні вузли і, рідко, віддаленими гематогенними метастазами. Однак, прогноз при цій патології загалом не відрізняється від класичного варіанту ПРЩЗ [122]. У ході нещодавнього багатоцентрового

міжнародного мультидисциплінарного дослідження було встановлено, що інкапсульований підтип ФвПРЦЗ є насправді окремим класом пухлин ЩЗ з дуже низьким рівнем ризику несприятливих наслідків і може бути визначений як «неінвазивна фолікулярна пухлина ЩЗ з нуклеарними ознаками ПРЦЗ» [150].

Висококлітинний варіант ПРЦЗ (ВвПРЦЗ) складає приблизно 10% всіх папілярних раків ЩЗ. Як правило, пухлина набуває відносно великих розмірів (4-6 см), часто має екстратиреоїдне поширення, високу мітотичну активність і часте ураження судин, ніж при класичному варіанті ПРЦЗ [81]. ВвПРЦЗ переважно виявляється у пацієнтів старшого віку [122]. Висота злоякісних клітин при цьому варіанті ПРЦЗ у два-три рази вище, ніж їх ширина, цитоплазма еозинофільна. Для встановлення діагнозу ВвПРЦЗ необхідно, щоб більше або 50% пухлинних клітин мали високо клітинний фенотип. Також для ВвПРЦЗ характерні некрози, що в поєднанні з іншими прогностичними факторами (висока мітотична активність, позаорганне поширення, похилий вік пацієнтів) вказує на його більш агресивний перебіг, ніж при звичайному ПРЦЗ [80]. Є цікавим той факт, що ВвПРЦЗ часто виявляється прилистком для BRAF мутацій, які вірогідно обумовлюють його біологічну поведінку [148, 211]. Такий молекулярний рисунок ВвПРЦЗ може бути корисним для обговорення таргетної терапії, тому що часто такі пухлини є радіоїднечутливими [176].

Дифузно-склеротичний варіант ПРЦЗ (ДсПРЦЗ) складає близько 3% всіх ПРЦЗ. Пухлина проявляється у вигляді двобічного зоба, частіше уражає дітей та молодих дорослих людей [120]. При радіографічних дослідженнях шиї виявляється інтенсивна кальцифікація обрисів пухлини і лімфатичних вузлів [114]. Макроскопічно ДсПРЦЗ щільна, тверда, в основному через явища біомінералізації. Мікроскопічно для пухлини характерна наявність плоскоклітинної метаплазії, великої кількості ПТ та інтенсивна лімфоїдна інфільтрація навколо пухлинних вогнищ [120].

Фактично, перебіг пухлинного процесу відбувається на фоні аутоімунного тиреоїдиту (АІТ). Ведуться дискусії про первинність процесів: тиреоїдит був спочатку чи виник пізніше, як реакція на неоплазму [121]. ДсПРЩЗ у більшості випадків поєднується з метастазами у регіональні лімфатичні вузли, які можуть мати екстракапсулярне поширення, схильність до рецидивів та віддалених вторинних метастазів [74, 113]. Звичайно, вказані особливості роблять прогноз цього захворювання більш серйозним, ніж КвПРЩЗ, однак смертність від ДсПРЩЗ невисока [74].

Діагноз «солідний варіант ПРЩЗ» (СвПРЩЗ) встановлюється у випадку, якщо більше 50% пухлинної маси має солідну будову. СвПРЩЗ найбільш часто зустрічається у дітей, які пережили аварію на ЧАЕС (>30% дітей –пацієнтів) [153]. Серед нуклеарних ознак СвПРЩЗ особливістю є переважання округлих ядер над овальними. СвПРЩЗ часто асоціюється з ФвПРЩЗ та КвПРЩЗ, але для солідної пухлини є характерна схильність до ураження судин (венозної інвазії) [152]. Також СвПРЩЗ зустрічається у дорослих, як правило, на фоні АІТ, хоча зв'язку між цими хворобами не встановлено. Прогноз для дітей та дорослих пацієнтів з СвПРЩЗ такий же сприятливий, як і для КвПРЩЗ [221]. У разі наявності додаткових прогностичних ознак (некрози, висока мітотична активність), диференціація СвПРЩЗ може оцінюватися як низька, що тягне за собою погіршення прогнозу [152].

Поняття «папілярна мікрокарцинома ЩЗ» (ПМЩЗ) включає в себе пухлини ЩЗ папілярної будови, які мають розмір менше 1 см в найбільшому діаметрі [122]. Зважаючи на невеликі розміри, ці пухлини часто не виявляють (пропускають) при макроскопічному дослідженні. Перебіг ПМЩЗ у дітей більш агресивний, ніж у дорослих [3, 166]. ПМЩЗ найбільш часто має субкапсулярну локалізацію, але не інкапсулюється чи склерозується. У найдрібніших пухлинах (менше 1 мм), як правило, відсутня строма. При збільшенні розмірів ПМЩЗ (більше 2 мм), відбувається швидке зростання стромального компоненту [11].

Десмоплазія відіграє визначну роль у розвитку пухлини, забезпечуючи утворення її сполучнотканинного каркасу, васкуляризацію, підготовку до метастазування [11]. Встановлено, що зрілість пухлинної стромы є важливим критерієм прогнозу перебігу ПМЩЗ. Незрілість пухлинної стромы вважається фактором ймовірної агресивної клінічної поведінки ПМЩЗ [33].

Гістологічний варіант з дедиференціацією в анапластичну карциному також відрізняється від більшості гістологічних варіантів ПРЩЗ за прогнозом [123]. Як впливає з назви, цей гістологічний варіант має несприятливий прогноз. Виокремленню ПРЩЗ з дедиференціацією в анапластичну карциному сприяла робота Alborez Saavedra et al [35], в якій було у групі 109 АРЩЗ виявлено 46,8% випадків поєднання з ПРЩЗ. Виявлення 34 випадків КвПРЩЗ, 14 випадків ВвПРЩЗ та 3 випадків ФвПРЩЗ підтримує концепцію анапластичної трансформації ПРЩЗ в АРЩЗ карциному [123].

Інші гістологічні варіанти ПРЩЗ зустрічаються надзвичайно рідко і/або мають прогноз, який не відрізняється від прогнозу класичного варіанту. До них відносяться онкоцитарний, світлоклітинний, стовбчасто-клітинний, макрофолікулярний, решітчастий варіанти, ПРЩЗ з осередками острівцевого компоненту, ПРЩЗ з фасційтоподібною стромою, ПРЩЗ з плоско клітинною або мукоепідермоїдною карциномою, ПРЩЗ з веретеноподібною або гігантоклітинною карциномою та змішаний рак з елементами папілярного та медулярного раків [122, 123].

1.2. Біомінералізація щитоподібної залози: поширення, патологія, механізми виникнення та діагностичне значення

У ЩЗ кальцифікати зустрічаються як при доброякісній, так і за умов злоякісної її патології. Отримана діагностична інформація про кальцифіковані об'єкти у ЩЗ часто пропускається клініцистами або їй надається мінімальне клінічне значення [108]. Проте існує багато повідомлень про високий ризик поєднання процесів біомінералізації (кальцифікації) із злоякісними пухлинами [54, 188, 209].

Розрізняють різний ступінь ризику асоціації біомінеральних утворень ЩЗ з розвитком злоякісних пухлин у залежності від розмірів кальцифікатів. За даними тиреоїдної ультрасонографії процеси біомінералізації розділяють на макро- мікрокальцифікацію [41]. В окремих роботах, окрім двох зазначених видів кальцифікації, що виявляються при УЗД, виділяють ободову або кільцеву кальцифікацію [55]. Межа між мікро- і макрокальцифікацією на УЗ-дослідженні дорівнює 2 мм: об'єкт розміром ≤ 2 мм вважається мікрокальцифікатом, > 2 мм – макрокальцифікатом [192]. У багатьох дослідженнях отримані результати про достовірну кореляцію мікрокальцифікатів з високим ризиком малігнізації, проте зв'язок макрокальцифікатів з раком ЩЗ залишається невідомим. Біомінералізовані вузли ЩЗ з макрокальцифікацією у роботі Li J. та співавт. [119] поділені на 4 групи: гладенька повна кальцифікація (за типом яйцевої шкаралупки), гладенька часткова кальцифікація, нерівномірна кальцифікація та вузлова кальцифікація [116]. Часто кальцифікація вузлів зустрічається при багатовузловому зобі з кістозним переродженням, особливо якщо захворювання має тривалий перебіг. Діагностичну цінність тиреоїдних вузлів з макрокальцифікацією рекомендується визначати за допомогою цитологічного дослідження [126].

У дослідженні Wu et al. [218], серед 383 пацієнтів з вузловою патологією ЩЗ на передопераційній комп'ютерній томографії у 135

хворих (35,2%) виявили ознаки кальцифікації залози. Після оперативних втручань шляхом гістологічної верифікації було встановлено, що частота виявлення злоякісних пухлин серед кальцифікованих вузлів була достовірно вищою, ніж некальцифікованих (48% проти 20%). Рак ЩЗ асоціювався з різними типами кальцифікації вузла з різною частотою: 22% вузлів з периферичною біомінералізацією, 21% випадків – з грубою мінералізацією, 58% вузлів з простою вогнищевою кальцифікацією, 79% випадків – з множинною вогнищевою кальцифікацією. У пацієнтів з солітарним кальцифікованим вузлом в 83% виявляли РЩЗ [218].

У роботі Gungor B et al. [85] досліджувалися зв'язки між кальцифікацією та злоякісними пухлинами ЩЗ шляхом порівняння результатів доопераційного УЗ-дослідження та гістопатологічного дослідження після тиреоїдектомії серед 169 пацієнтів. Ознаки патологічної біомінералізації були виявлені у 32,54% (55 випадків). Відсоток злоякісної патології серед пацієнтів з кальцифікацією становив 30,91% (29 пацієнтів). Таким чином, показник пацієнтів з злоякісними пухлинами і кальцифікацією становив 58,62% (17/29), а показник пацієнтів із злоякісними пухлинами, але без ознак кальцифікації відповідно становив 10,52% (12/114), що статистично достовірно ($p < 0,001$) показувало зв'язок між кальцифікацією та ризиком виникнення злоякісних пухлин ЩЗ [85].

В іншому нещодавньому дослідженні також вивчався зв'язок між ознаками ультрасонографічними ознаками кальцифікації вузлів ЩЗ і результатами гістологічних досліджень [109]. Всього було досліджено 1431 вузол ЩЗ від 1078 пацієнтів, яким спочатку було виконано УЗ-дослідження, після чого була виконана тиреоїдектомія. За результатами УЗД у 38,6% вузлів (552 вузли) було виявлено ознаки біомінералізації, які були поділені на наступні типи: мікрокальцифікати, кільцеподібна периферична кальцифікація, півмісяцеподібна кальцифікація, груба внутрішньовузлова кальцифікація та вогнищева кальцифікація. За результатами гістологічного дослідження в 91,1% вузлів виявлено

злюкисні пухлини і в 8,9% (126 вузлів) виявлена доброякісна патологія. Серед злюкисних пухлин частота кальцифікації сягала 40,2% (524 випадки), найпоширенішим типом кальцифікації були мікрокальцинати (42,9%), найменш поширеним типом – кільцева периферична кальцифікація (5,9%). У ході дослідження виявилось, що з усіх типів кальцифікації статистично достовірний зв'язок з злюкисними пухлинами мали мікрокальцифікація та груба внутрішньовузлова кальцифікація [109]. Сильний достовірний зв'язок мікрокальцифікатів та злюкисних пухлин ЩЗ (особливо мікропапілярної карциноми) підтверджується також у роботі Shi C et al (2012), специфічність мікрокальцифікатів досягає 96,5%. Частота мікрокальцифікатів значно зростає у групі пацієнтів після 45 років. У цьому дослідженні також було виявлено 12 випадків кальцифікації лімфатичних вузлів шиї, у всіх зразках гістологічно було встановлено метастази ПРЩЗ [192]. Подібні результати зустрічаються також у низці інших робіт [50; 119].

Злюкисні епітеліальні пухлини ЩЗ складають 1% від усіх злюкисних новоутворень, але є найбільш розповсюдженими пухлинами органів ендокринної системи [120]. Відомо, що папілярний рак ЩЗ є однією з найпоширеніших форм диференційованого раку ЩЗ [191]. У структурі злюкисних пухлин ЩЗ папілярний рак (ПРЩЗ) складає 70% і його частка у структурі захворюваності останніми десятиріччями зростає у всьому світі [120]. Незважаючи на доволі сприятливий прогноз ПРЩЗ, близько 10% пацієнтів помирають від цього захворювання, а у 5-20% випадків виникають рецидиви [117]. Загальне виживання для більшості хворих зі злюкисними пухлинами ЩЗ залежить багато в чому від швидкості і точності встановлення правильного діагнозу та гістологічного типу пухлини. Вік пацієнта, стать, розмір та гістологічна належність пухлини, наявність метастатичного ураження поза ЩЗ, стан лімфатичних вузлів є значимими маркерами для прогнозу у пацієнтів з ПРЩЗ [41]. У ряді

досліджень вивчався вплив патологічної біомінералізації на прогноз та перебіг злоякісних пухлин ЩЗ [57, 201].

Серед усіх захворювань ЩЗ найбільш часто біомінералізація виявляється при ПРЩЗ. Грунтуючись на клінічних особливостях патологічної біомінералізації, кальцифікати ЩЗ були поділені на псаммомні тільця, стромальну кальцифікацію та формування кісткової тканини (осифікацію) [201].

Псаммомні тільця (ПТ) характеризується як сферичні кальцифіковані осередки, побудовані з концентричних пластинок [105, 122]. Присутність ПТ більшість авторів вважає діагностичним критерієм ПРЩЗ, але повідомляється про випадки їх виявлення при інших типах РЩЗ [164]. У роботі J. Hunt and E.L. Barns [100] вивчалися 29 випадків не асоційованих з пухлинами ПТ, виявлених у ЩЗ та перитиреоїдальних лімфовузлах. За детального клінічного та гістологічного дослідження тканини обох часток ЩЗ було встановлено наявність карцином в 27 випадках з 29: в 25 хворих виявлено різні типи ПРЩЗ та у 2 пацієнтів пухлину з клітин Гюртле. Важливо наголосити, що в 15 випадках ПТ виявлялися у протилежній частці ЩЗ, що затруднювало виявлення основної пухлини [100].

ПТ зазвичай знаходяться всередині строми ракових сосочків ПРЩЗ. У випадках, коли ПТ виявляються у ЩЗ поза пухлиною, їх можна знайти в міжфолікулярній та міжчасточковій стромі, так як там знаходяться кровоносні та лімфатичні судини [101]. Окрім ЩЗ, ПТ спостерігаються в менінгіомах, папілярних серозних цистаденокарциномах яєчника, і рідше – в інших пухлинних і не пухлинних захворюваннях [57].

Про походження ПТ існують різні погляди. Наприклад, Johannessen J.V et al. [105] ПТ вважають результатом дистрофічного звапнення пухлинних тромбів у просвіті лімфатичних та кровоносних судин. Ультраструктурні дослідження ПРЩЗ показують потовщення базальної мембрани судин пухлинних сосочків з тромбозом, кальцифікацією і некрозом пухлинних клітин, що призводить до формування ПТ [105]. За

поглядами інших авторів ПТ формуються як внутрішньоклітинні кальцифікати в життєздатних клітинах, які розташовані вогнищево [201]. Дослідження серозних цистаденокарцином яєчника та менінгіом показало, що продукція колагену пухлинними клітинами і наступна кальцифікація є відповіддю на формування ПТ [57]. Про можливе існування попередників ПТ повідомлялося для менінгіом та ПРЩЗ, вони описувалися у вигляді позаклітинних великих і малих гіалінових глобул, коротких гіалінових циліндрів, які оточені диференційованими пухлинними клітинами або у вигляді невеликої кількості внутрішньо-цитоплазматичних тілець (включень), виділених з інтактних пухлинних клітин [96]. Також було виявлено численні позаклітинні еозинофільні відкладення, які відповідали некальцифікованим псаммомним тільцям, при низькодиференційованій аденокарциномі підшлункової залози [187]. Клітинна дегенерація і некроз, які призводять до зникнення пухлинних клітин, виявляється тільки навколо ПТ, але не навколо попередників. Базуючись на зазначених фактах, автори представляють ПТ як активний біологічний процес, який призводить до загибелі пухлинних клітин і попереджає їх ріст та поширення [57].

Найбільш поширена загальноприйнята думка, що ПТ у ПРЩЗ пов'язані з пухлинними клітинами всередині лімфатичних судин або пухлинної стромы [122]. Також існує оригінальна гіпотеза походження ПТ у пухлинах ЩЗ та яєчниках, в якій доводиться участь у процесах біомінералізації грам-негативних нанобактерій (*Chlamidia*), які здатні преципітувати (осаджувати) солі кальцію [7, 98]. У поодиноких дослідженнях повідомляється про асоціацію ПТ з доброякісними гранулематозними реакціями на сторонні тіла (силікат алюмінію) [36].

Цікавим є дослідження Olivera-Merlin P.S., et al [135] з приводу хімічного складу псаммомних тілець папілярних пухлин ЩЗ та яєчника, яке було виконане за допомогою плазмо-емісійної спектрофотометрії виділених з парафінових блоків кальцифікатів. Було встановлено, що ПТ

містять у підвищених концентраціях такі неорганічні елементи, як мідь, кадмій, кальцій, залізо, магній та цинк, при чому, статистично достовірної різниці між показниками тканини ЩЗ та яєчників не виявлено [135].

Осифікація або формування кістки, фіксувалася у випадках, коли ідентифікувався кістковий матрикс та остецити [41]. Всі кальцифікати, які не підходили під визначення ПТ та осифікації, вважалися стромальною кальцифікацією, включаючи також псаммомоподібні кальцифікати – округлі без пошарової структури та пошаровані, але з нерівними краями. Про механізми реагування на формування ПТ, стромальної кальцифікації та осифікації відомо мало.

Стромальна кальцифікація виникає внаслідок відкладення депозитів фосфату кальцію у фіброзну строму. У дослідженні Bai Y. et al [41] 27 з 28 випадків осифікації супроводжувалися стромальною кальцифікацією. Це легко пояснюється тим, що формування кістки відбувається з попередньо існуючого вогнища мінералізації, що призводить до кісткової метаплазії. Вважається, що для початку процесів ектопічного формування кістки та стромальної кальцифікації на молекулярному рівні необхідне залучення сигнального шляху кісткоутворювальних білків (bone morphogenetic protein - BMP). Сімейство кісткоутворювальних білків (BMP) складається, щонайменше, з 30 членів, вперше виділені з демінералізованого кісткового матриксу. Білків BMP 1-7 здатні індукувати ектопічну осифікацію [97].

Про молекулярні основи утворення псаммомних тілець, стромальної кальцифікації та осифікації у ЩЗ відомо відносно небагато. Наприклад, лінія пухлинних клітин карциноми ЩЗ 8505С може продукувати BMP-1 та BMP-2 [90]. BMP-1 або про колаген-С-пепсидаза є ферментом-металопротеїназою, інші кісткоутворювальні білки, такі як BMP 2-7 є білками, подібними до β -трансформуючого фактора росту (TGF- β) [97]. BMP1 може конвертувати попередники білків, таких як ламінін-5, проколаген, фактори росту і диференціації 8 та 11 і TGF- β 1, в їхні активні форми, що відіграють різнобічні ролі в адгезії клітини та регуляції

мініралізації екстрацелюлярного матриксу твердих тканин [76]. BMP-1 також може активувати два інших білки сімейства BMP: BMP-2 та BMP-4, руйнуючи їх антагоніст, хордін [76]. Серед інших кісткоутворювальних білків за умов патології ЩЗ був досліджений BMP-9 [200]. BMP-9 є один з найбільш остеогенних субтипів кісткоутворювальних білків. У ході дослідження було встановлено, що в умовах осифікації при ПРЦЗ значно посилювалася експресія BMP-9, чого не спостерігалось при відсутності ознак мініралізації тканини [200]. Також повідомляється про зв'язок утворення ПТ з експресією BMP-11 та остеопонтина, зазначені білки продукуються макрофагами [135].

Остеопонтин (OPN) - кислий фосфопротеїн, що експресується у мініралізованих тканинах і інгібує утворення гідроксиапатиту, активує функцію остеокластів [187]. OPN пригнічує кальцифікацію, зв'язуючись з поверхнею кристалів [72]. Він являється прозапальним цитокіном, що підсилює ремоделювання судин і ангиогенез. Таким чином, проангіогенна дія розщепленого OPN полегшує мініралізацію матриксу, а повного фосфорильованого OPN - інгібує його. Також було показано, що OPN входить до складу ниркових каменів і, вірогідно, впливає на їх формування [147].

Окрім білків сімейства BMP, TGF- β , остеопонтину, наявні повідомлення про участь у процесах біомінералізації диференційованих злоякісних пухлин ЩЗ таких молекул як Runx2, CD44v6, остеокальцин [82].

Таким чином, ознаки патологічної біомінералізації (кальцифікації) можуть бути важливим диференційно-діагностичним критерієм пухлин ЩЗ як при УЗД, так і при патогістологічному дослідженні. Це особливо стосується пацієнтів з солітарним кальцифікованим вузлом, кальцифікацією лімфатичних вузлів ший, мікрокальцинатами у пацієнтів старшого віку (більше 45 років) та грубою кальцифікацією вузлів. Особливу увагу патологам необхідно звернути на псаммомні тільця, прямо

не пов'язані з пухлинною патологією, так як це може бути ознакою прихованого ПРЦЗ (мікрокарцинома) або метастазу РЦЗ з протилежної частки залози.

1.3. Фактори пухлинного мікрооточення та їх зв'язок з процесами біомінералізації.

Пухлинне мікрооточення - комплекс взаємопов'язаних факторів, що утворюють локальну мікросистему, в якій існують пухлинні клітини. Метастатичний процес включає: 1) відокремлення пухлинних клітин від первинного осередку, прорив базальної мембрани, інвазію оточуючих тканини; 2) ангиогенез; 3) інтравазацію; 4) дисемінацію в судинному руслі; 5) фіксація клітин у лімфатичних вузлах, судинній сітці окремих органів; 6) екстравазація; 7) формування метастатичного вогнища – а) в стані гібернації або б) формування вторинних метастазів з стромоутворенням та неоваскуляризацією [8].

Лише незначна кількість злоякісних клітин, що потрапили у кровоносне русло, здатні вижити (близько 5%, [118]). Всі інші гинуть від впливу факторів природньої протипухлинної резистентності та/або індукції апоптозу [8]. Інвазія екстрацелюлярного матриксу є активним, стадійним процесом. Спочатку змінюється адгезивність трансформованих клітин, послаблюються міжклітинні контакти, потім відбувається протеоліз і деградація екстрацелюлярного матриксу, міграція ракових клітин та інтравазація. Метастатичному процесу значно сприяють гіпоксія, ацидоз, зменшення кількості поживних речовин. Трансмембранні білки E-кадгерини забезпечують гомотипову адгезію в епітеліальній тканині. Порушення або мутація цього білка є важливою у процесі поширення пухлин. Для прикріплення пухлинні клітини використовують значно більше факторів і рецепторів адгезії, ніж нормальні клітини, до того ж у ракових клітин інтегрини експресуються на всій поверхні.

Просуваючись у сполучній тканині, ракові клітини експресують матриксні металопротеїнази (ММП) або індукують утворення цих ферментів у макрофагах та стромальних фібробластах. Для матриксних металопротеїназ є доведеним зв'язок з інвазією і пухлинною прогресією [129, 133]. ММП у своєму складі мають 2 атоми цинку 2^+ , що пояснює назву. ММП секретуються в неактивному стані і найкраще діють при певному рН (частіше нейтральному). ММП поділяються на 5 груп: інтерстиційні, желатинази, стромелізени, мембранні та інші. Парадоксально, але пухлинні клітини секретують також тканинні інгібітори металопротеїназ (ТІМП), які пригнічують метастазування [8]. Наприклад, ТІМП1 утворює комплекс зі стромелізинами, ММП 4 в пропорції 1:1, блокуючи їх. Важливу роль в інвазії відіграють пухлинно-асоційовані макрофаги (ПАМ).

Продукти розпаду ЕЦМ (колаген, ламінін) можуть діяти як аттрактанти та стимулятори міграції [133].

Внутрішньопухлинний ангіогенез стимулюється гіпоксією. Стан гіпоксії і окислювального стресу призводить до активації судинного фактора росту ендотелію (VEGF) та експресії ІЛ-8. VEGF безпосередньо викликає проліферацію ендотеліоцитів і формування судинної сітки пухлини. Також до стимулюючих факторів ангіогенезу належать ацидоз, гіпоглікемія та механічний тиск («стрес») [22].

Після стимуляції ангіогенними факторами ендотеліоцити руйнують базальну мембрану епітелію, мігрують в інтерстицій, проліферують. Молоді ендотеліоцити формують канали, контактуючи між собою та з білками ЕЦМ. Також утворення судин можливе шляхом брунькування від існуючих судин та шляхом виникнення з ангіобластів (попередників ендотеліоцитів). Паралельно з кровоносними судинами формуються лімфатичні судини, які дренують міжклітинну рідину навколо пухлини, але не в самій пухлині [203]. Відомо, що активність гену VEGF регулюється білком p53. Тому при мутації p53 знижується його гальмівний

вплив на ген-регулятор синтезу VEGF. Також продукція VEGF знаходиться під впливом експресії онкогенів *src*, *raf*, *ras*. Основними виробниками проангіогенних факторів у пухлині є злоякісні і стромальні клітини [22].

Новоутворені судини в пухлині відрізняються від судин нормальної будови дефектністю стінки (полегшується інтравазація злоякісних клітин) і наявністю значної кількості розгалужень, що значно знижує швидкість кровотоку. Завдяки цим особливостям, злоякісні клітини і їх комплекси потрапляють у загальне судинне русло, де абсолютна більшість ракових клітин елімінується. Якщо у пухлині є зв'язок з лімфатичною системою (як правило на периферії пухлинного вогнища), то злоякісні клітини заносяться в лімфатичні вузли і осідають у великих субкапсулярних синусах.

Затримці і фіксації окремих злоякісних клітин та їх комплексів у судинному (капілярному) ложі в цьому самому органі або у віддалених органах (локалізаціях) сприяють турбулентність току крові та підвищена її в'язкість. Найбільш вірогідні два механізми: 1) механічна затримка у капілярах, 2) адгезія пухлинних комплексів і клітин за допомогою специфічних рецепторів і білків. Затримані у капілярному ложі пухлинні комплекси можуть вижити або ліквідуються засобами протипухлинного захисту організму (макрофаги, природні кілери та ін). Пухлинна прогресія і метастазування пов'язані зі значною генетичною нестабільністю [22].

Дослідження експресії wild-type та мутантної форми білка p53 широко використовується в онкології для прогнозу. Мутантна форма p53 (m-p53) виявляється в абсолютній більшості злоякісних пухлин. Виразна гіпоксія призводить до апоптозу в лініях пухлинних клітин, але не в клітинах з m-p53 або відсутністю p53 [83].

Експресія VEGF знаходиться в тісній залежності від тканинної гіпоксії: різко зростає за відсутності або дефіциту кисню і повертається до нормальних показників при оксигенації тканини в умовах *in vitro*. У деяких

пухлинах було доведено зв'язок підвищення експресії VEGF з посиленням метастазування [184].

Підвищення експресії ММП характерне для більшості раків і асоційоване з агресивним перебігом пухлинного процесу. Джерелом є самі ракові клітини, внутрішньопухлинні макрофаги та фібробласти. Розщеплюючи компоненти строми ММП сприяють поширенню злоякісних пухлин, стимулюють їх рухомість.

Пухлинно-асоційовані макрофаги (ПAM) – це зрілі мононуклеарні фагоцити, які інфільтрують злоякісну пухлину. Вони можуть діяти як антиген-презентуючі клітини, природні кілери – ефектори неспецифічної протипухлинної резистентності. ПAM у своєму арсеналі мають такі цитотоксичні фактори як активні форми кисню (пероксиди, синглетний кисень, тощо), лізоцим, аргіназу, нуклеази, протеази, інтерлейкіни та монокіни. Проте поглиблені дослідження показали суперечливу роль ПAM у взаємодії із злоякісними пухлинами [2]. Було встановлено, що продукти секреції макрофагів стимулюють ріст злоякісних клітин, їх ангиогенез, руйнують ЕЦМ, створюючи умови для пухлинної прогресії і метастазування. У численних дослідженнях було отримано суперечливі результати: з одного боку велика кількість ПAM у певних пухлинах корелювала з позитивним прогнозом і низьким метастазуванням (рак молочної залози), з іншого – були отримані протилежні результати [22].

1.4. Морфологічні зміни скелетних м'язів за умов впливу зовнішніх факторів

Одним із небажаних наслідків діяльності людини на землі є забруднення довкілля, що являє собою результат прогресу та стрімкого технічного розвитку [238, 322, 423]. Потрапляння в навколишнє середовище або виникнення в ньому нових, як правило, нехарактерних фізичних, хімічних та біологічних агентів або перевищення їх природного середньорічного рівня неодмінно призводить до негативних впливів на живі організми [371, 379, 399, 492].

Швидкість кровотоку в скелетних м'язах у спокої становить близько 0,03 мл/г за хвилину [247]. Оскільки загальна маса скелетних м'язів дорівнює приблизно 30 кг, м'язовий кровообіг становить 900 – 1200 мл за хвилину, тобто 15 – 20 % від загального серцевого викиду [489]. Останній факт значно збільшує імовірність надходження у м'язи всіх речовин, що потрапляють до організму із зовнішнього середовища. Тому особлива увага дослідників сьогодні прикута до структурних змін, що відбуваються у скелетній мускулатурі у відповідь на надмірну дію солей важких металів, медичних препаратів, алкоголю, нікотину, кокаїну, тваринних отрут та деяких хімічних речовин.

Проте, незважаючи на очевидну актуальність цього питання, аналіз даних літератури за останні роки виявив наявність багатьох нерозкритих та нерозгаданих питань структурних змін у посмугованій скелетній мускулатурі під дією екзогенних чинників. Зазначені лише загальні ознаки закономірностей перебігу та формування патологічних змін.

Особливу увагу привертає проблема важких металів, дія яких визначається здатністю впливати на динамічну хімічну рівновагу в системі живих організмів [368, 373]. Наявність свинцю, кадмію, міді та цинку в біосфері (воді, ґрунті, рослинах) має подвійне значення: як мікроелементи

вони необхідні для нормального перебігу фізіологічних процесів, але разом із тим вони токсичні при підвищених концентраціях [299, 373]. Токсичні хімічні елементи, що потрапляють до організму людини, акумулюються окремими органами і тканинами і повільно з нього виводяться [274, 480]. Накопичення мікроелементів підвищеної концентрації може призвести до порушення фізіолого-біохімічних процесів із подальшими морфофункціональними змінами патологічного характеру в органах і тканинах, зокрема у посмугованих м'язах [374]. Важливим є не лише виявлення безпосередньо структурних змін посмугової мускулатури, а й ступеня накопичення мікроелементів у різних м'язах [301].

Досліджуючи структурні зміни в міокарді, грудних і стегнових м'язах та вміст свинцю, цинку і міді в них в умовах хронічної інтоксикації солями важких металів, Н. В. Садовніков та співавт. [305] з'ясували, що ступінь кумуляції свинцю в серцевому м'язі курчат був більш значним порівнянно із його накопиченням у грудному та стегновому м'язах. Що стосується міді, то достовірно значущої різниці в концентрації даного елемента у м'язовій тканині серед досліджуваних груп виявлено не було. Стосовно цинку дослідники відзначили, що вміст його у посмугованій мускулатурі був більшим, ніж у тканині міокарда. Морфологічні зміни у стегновому та грудному м'язах курчат у дослідній групі показали проліферативні зміни інтими судин і місцями точкові крововиливи. При більш детальному вивченні структури посмугової мускулатури курчат через 7 днів від початку введення сольової суміші був виявлений незначно виражений інтерстиційний набряк. Часто траплялися скупчення гіпертрофованих волокон, що перемежувалися зі стоншеними дистрофічними і навіть некротичними волокнами. У деяких із них ядра мали вигляд змазаних або були відсутніми зовсім, що свідчить про тяжку форму некробіозау і некрозу.

Вивчений вплив хронічної (упродовж 9 років) інтоксикації низькими дозами цинку ацетату на стан посмугованих м'язів макак-резусів [420]. Морфологічні зміни досліджували у чотириголовому м'язі стегна. Методами світлової мікроскопії вченими були виявлені ознаки міопатії. Збільшилась кількість внутрішніх ядер та відокремлених волокон. Діаметр самих волокон також зріс. Волокна були відокремлені одне від одного вираженими прошарками сполучної тканини. Під час аналізу ультраструктури було виявлено велику кількість гідропічних мітохондрій, значне розширення саркотубулярної системи та зростання позаклітинного відкладання колагену. У багатьох біоптатах виявлявся тяжкий фіброз. На думку дослідників зазначені зміни є проявом міопатичної реакції у відповідь на хронічну інтоксикацію свинцем, оскільки не було виявлено жодних уражень нервової тканини. Автори припускають, що первинний фіброз може бути пояснений здатністю свинцю пригнічувати діяльність сателітних клітин, які синтезують металопротеази, необхідні для катаболізму колагену.

На сьогодні також існують дослідження, в яких показано негативний вплив іонів алюмінію та цинку на реакцію суперпреципітації актоміозину скелетного та серцевого м'язів і відповідно на м'язову скоротливість [228]. Авторами лише зроблені припущення про можливий вплив інтоксикації зазначених металів на розвиток патофізіологічних та патоморфологічних змін у м'язовій тканині. Для підтвердження останнього повинні бути проведені відповідні дослідження.

Значна кількість медичних препаратів, що сьогодні використовуються в терапевтичних цілях, може призвести до несподіваного токсичного впливу на м'язову тканину, що часто є причиною значної захворюваності та інвалідності [395]. Механізми міотоксичної дії фармацевтичних засобів різноманітні й обумовлені безпосереднім впливом на клітинні органели, такі як мітохондрії, лізосоми і міофіламентні структури; зміною м'язових антигенів і генерацією

імунологічної або запальної реакції; порушенням електролітного та енергетичного балансу [335]. Скелетна мускулатура є особливо сприйнятливою до уражень, пов'язаних з лікарськими засобами завдяки своїй масі, інтенсивному кровообігу та вираженому мітохондріальному енергетичному обміну [396].

Сьогодні увага багатьох дослідників прикута до проблеми побічних дій препаратів групи інгібіторів 3-гідрокси-3-метилглутарил коензим А редуктази (статинів) [267]. Останні, поряд зі своєю здатністю позитивно впливати на тривалість життя пацієнтів із серцево-судинною патологією мають токсичний ефект на скелетну мускулатуру [266]. Механізм наведеного впливу пояснюється здатністю статинів інгібувати синтез фарнезилу пірофосфат, з проміжного метаболіту у синтезі убіхінону (CoQ10) [243].

У праці M. R. Bonfim et al. гістологічний аналіз литкового м'яза щурів, які одержували симвастатин у дозі 20 мг на добу протягом 8 тижнів, виявив значні набряки м'язових волокон, їхню атрофію та розщеплення, запальні інфільтрати, наявність круглих, кутових та поліморфних волокон; ознаки процесу фагоцитозу і втрату сарколеми [418]. Проведений гістохімічний аналіз виявив значну кількість синьо-зелених гранул формагану, що розміщувались у периферичних відділах клітин (субсарколемно). Останній факт свідчив про підвищену активність НАДН реакції у мітохондріях. Поряд із цим дослідники відзначали наявність численних волокон із повною втратою активності зазначеного ферменту.

У дослідженні F. R. Westwood et al. [453] проведене вивчення впливу симвастатиту та церивастатину на посмуговані м'язи. Вже на 16 – ту добу автори відзначили ознаки некрозу окремих м'язових волокон. Так, у двоголовому м'язі плеча знаходили некротизовані волокна, що характеризувалися цитоплазматичною еозинофілією, вакуолізацією та втратою цитоплазматичної структури. Привертала увагу відсутність ознак запалення. Натомість у напівперетинчастому м'язі некроз був значно

поширенішим. Відзначалася виражена інфільтрація мононуклеарами та поліморфноядерними клітинами, набряк волокон, вакуолізація із фрагментацією та втратою цитоплазми.

Ультраструктурне дослідження змін м'язових волокон у щурів, які одержували симвастатин та церивастатин у великих дозах, показав субсарколемне скупчення розширених перероджених мітохондрій. Вони характеризувалися наявністю аномальних мієлоїдних включень сферичної форми. Імуногістохімічний аналіз виявив, що некротичні зміни та дегенерація мітохондрій відбувалися переважно у м'язових волокнах II типу. Останній факт автори пояснюють меншою кількістю мітохондрій у волокнах II типу порівняно з волокнами I типу. Зазначений висновок збігається з даними, одержаними у праці Taked et al. [350].

Існують повідомлення про токсичний вплив інших медичних агентів на посмуговану м'язову тканину. Так, під час дослідження серед населення Індії виявлено негативний вплив зидовудину, препарату, що застосовується у складі активної антиретровірусної терапії, на мітохондріальний апарат скелетних м'язів [443]. Під час дослідження біоптатів м'язів, взятих від людей, які тривалий час отримували зидовудин, знаходили так звані червоні й сині «рвані» волокна, масивне накопичення ліпідних включень, збільшення сполучнотканинних прошарків та волокна, в яких була відсутня цитохром – С – оксидаза.

Широко, з метою лікування вірусних гепатитів, використовують препарати інтерферонів. Відомо, що останні під час тривалого застосування можуть призвести до розвитку запальної міопатії. При морфометричному та гістологічному вивченні м'язів з таким ураженням відзначають набряк м'язових волокон, збільшення їхнього діаметра, повнокров'я судин, відсутність ділянок некрозу, значну кількість Т-лімфоцитів та макрофагів навколо м'язових клітин [448].

Перше повідомлення про міотоксичну дію протималарійних препаратів з'явилося у праці E. Casado et al. [305]. Морфологічні зміни, що

виникають у м'язах під час тривалої терапії хлорохіном були висвітлені у праці А. Н. Kalajian et al. [389]. У м'язах дослідники виявили значне збільшення лізосом усередині клітин. Самі ж лізосоми мали форму аутофагічних вакуолей і були заповнені мієлоїдними структурами. У деяких клітинах комплекс Гольджі був фрагментований або зруйнований повністю.

Вивчення міопатичної дії еметину проводиться з 1976 р., коли вперше англійські дослідники W. G. Bradley et al., досліджуючи вплив еметину на щурів, виявили ділянки некрозу м'язових волокон, розшарування м'язових веретен та значну кількість гіалінових включень у них [347]. Подальші дослідження виявили дегенерацію мітохондрій, поширену проліферацію мембран, що були втягнені у продукцію аутофагічних вакуолей. Відзначались також роз'єднання філаментів, накопичення міофібрилярних протеїнів та розрив Z-дисків. Морфометрія показала зменшення діаметра м'язових волокон поряд зі зміною їхньої форми [346].

Сьогодні значного поширення набули глюкокортикоїди. Під час їхнього тривалого використання випадки м'язової патології трапляються більш ніж у 50 % пацієнтів [364]. Одним з основних механізмів розвитку глюкокортикоїдної міопатії вважають здатність індукувати апоптоз, зокрема мітохондріально- і Fas-опосередкований. Перевагу також віддають здатності зазначених гормонів пригнічувати сигнали інсулінового фактора росту-1 та потенціювати протеолітичні процеси [339, 435]. Морфологічні зміни, що відбуваються у м'язах за умов тривалого впливу глюкокортикоїдів, характеризуються порушенням структурної організації компонентів цього органу [234]. R. M. Pereira та J. F. Carvalho відзначають розвиток сполучної тканини ендомізія між м'язовими клітинами, появу численних відкладень ліпідів, зростання активності фіброblastів на фоні прогресуючої атрофії міофібрил та поодиноких ділянок некрозу. Автори повідомляють про наявність зруйнованих цитоплазматичних мембран

м'язових клітин, внутрішньоклітинне розміщення зруйнованих ядер та апоптичних тілець [431].

Для лікування серцевих аритмій одним із часто застосовуваних препаратів є аміодарон. Відомо, що тривале його вживання може призвести до патологічних процесів у м'язовій тканині, що клінічно проявляється міальгіями, а лабораторно – підвищенням рівня креатинфосфокінази у сироватці крові [444]. Структурні зміни, що відбуваються у м'язах під час аміодаронового пошкодження, описані у праці L. Wei та співавт. [494]. Китайські вчені вказують на значне зростання кількості лізосом та аутофагічних вакуолей поблизу цитоплазматичної мембрани м'язових клітин; на наявність інтра- та екстрацелюлярних ліпідних включень, численних ділянок некрозу м'язових волокон. Методом гістохімічного аналізу показано, що некротизації підлягали переважно волокна другого типу.

Колхіцин – сильний антимиотик, що зв'язується з білком тубуліном, що утворює мікротрубочки і внаслідок цього блокує поділ клітин на стадії метафази. Препарати колхіцину використовують для лікування подагри, профілактики амілоїдозу при сімейній середземноморській лихоманці. Одним із негативних ефектів стосовно організму людини є розвиток колхіцинової міопатії в осіб, які тривалий час для терапії використовують препарати колхіцину [353]. Морфологічні прояви при цій патології характеризуються накопиченням лізосом та аутофагічних вакуолей, руйнацією цитоплазматичного ретикулума, дегенерацією комплексу Гольджі. Привертає увагу відсутність ділянок некрозу міофібрил. Прошарки ендомізія також не зазнають змін [325, 385].

Однією з груп препаратів, що чинять токсичний вплив на м'язову тканину, є місцеві анестетики. В основі їхньої міотоксичності лежать універсальні процеси порушення мітохондріального метаболізму [319, 357]. У дослідженні Л. М. Непомнящих та співавт., проведеному на 38 щурах лінії Вістар та охус, описані морфофункціональні та гістохімічні

зміни, що відбувалися у м'язах в умовах гострої інтоксикації бупівакаїном. Автори описують пошкоджені на значній довжині м'язові волокна, в яких ділянки ущільнення чергувалися з ділянками повної дезорганізації скорочувального матеріалу. На ультраструктурному рівні відзначалися дезагрегація саркомерів, повна руйнація Z-дисків. На місці I-дисків знаходились окремі частинки тонких філаментів. Фрагменти товстих філаментів, втративши впорядкованість, залишалися на місцях колишніх A-дисків або перебували в повному безладі. У ділянках пошкодження м'язових волокон науковці спостерігали скупчення значної кількості макрофагів. У їхній цитоплазмі виявлялися фрагменти м'язових клітин, зокрема розрізнялися міофібрилярні структури, що мали поперечну смугастість [260]. У праці німецьких дослідників W. Zink та B. M. Graf [497] поряд із зазначеними змінами при внутрішньом'язовому введенні прокаїну відзначалися також виражені контрактири міофібрил, їхній набряк та поодинокі вогнища некрозу.

Хронічна алкогольна міопатія є одним із частих проявів алкогольної хвороби і, за даними ряду авторів, трапляється у 40 – 60 % випадків пацієнтів із хронічною етаноловою інтоксикацією [244, 304, 465]. Патогенез алкогольного міопатичного ураження залишається вивченим не до кінця. Причинами виникнення цього стану є глибокі багаторівневі порушення ростових і синтетичних процесів у м'язах [303]. Визначальним механізмом їх розвитку, імовірно, є зниження синтезу білка у м'язових волокнах [294]. У нещодавньому дослідженні Ю. В. Казанцевої та співавт. проведено вивчення морфометричних характеристик м'язових біоптатів, взятих за допомогою відкритої біопсії стегна від 42 осіб з тривалою алкогольною інтоксикацією [233]. У ході експерименту автори відзначали наявність у всіх пацієнтів ознак атрофічних змін м'язових волокон, при цьому у 16 осіб атрофовані були як волокна I, так і II типу. Науковці зазначили також залежність вираженості атрофічних процесів від тривалості алкогольного анамнезу. Підтвердження цих результатів були

одержані і в праці Н. С. Щеглової та співавт. [262]. Досліджуючи морфометричні зміни м'язів жінок, які тривалий час перебували в умовах етанолової інтоксикації, автори також звернули увагу на відсутність ознак некрозу та запальної інфільтрації посмугованих м'язів на фоні атрофічних змін. Ще в одній праці, присвяченій опису структурних змін м'язів в умовах хронічної алкоголізації [271], автори вказують на зменшення числа міо ядер та сателітних клітин на один поперечний переріз м'язового волокна у людей із хронічною етаноловою інтоксикацією порівняно із групою контролю. Також на сьогодні відомо, що атрофічні зміни при алкогольній міопатії мають більш виражений характер, ніж при діабетичному ураженні м'язів [291].

У світовій літературі існують нечисленні дослідження з приводу розвитку м'язових ушкоджень такими агентами, як нікотин та кокаїн. Більшість цих праць присвячені проблемам патогенезу цього ураження та фізико-біохімічним змінам, що при цьому відбуваються [246, 298, 354, 396, 492]. Щодо морфологічних змін у посмугованій мускулатурі, то в нещодавній праці К. Krüger та співавт. повідомляється про зменшення кількості волокон I типу у чотириголовому м'язі стегна щурів, які підлягали хронічній інтоксикації сигаретним димом, якщо порівнювати з контрольною групою [501]. Також автори зазначають, що у тварин дослідної групи зменшувалися діаметр та довжина м'язових волокон, виявлявся посилений розвиток сполучної тканини, а у клітинах відзначалися набряк та часткова деструкція мітохондрій, ядер, елементів ендоплазматичного ретикулума, знижувалася активність цитохромоксидази. Щодо кокаїнової хронічної інтоксикації, то в праці R. Valiyil та L. C. Stine повідомляється про атрофічні зміни міофібрил, дегенерацію базальної пластинки м'язових волокон, наявність підвищеної кількості лізосом усередені клітин. Вчені також вказують на слабо виражені прошарки ендомізія, зменшення діаметра просвіту кровоносних та лімфатичних судин у них [518].

До чинників, здатних негативно впливати на організм людини і посмуговані м'язи зокрема, відносять численні отрути багатьох тварин і рослин. На сьогодні у літературі висвітлені кілька результатів досліджень морфологічних перетворень м'язів в умовах дії на них отрут. У праці Azevedo-Marques M. M. [338] ураження м'язів отрутою африканізованої бджоли (*Africanized bee*) біохімічно проявлялося підвищенням рівня креатинфосфокінази, а морфологічно – вогнищами некрозу міофібрил, їхнім набряком, розвитком запальних змін, еозинофільною та макрофагальною інфільтрацією.

Учені з Венесуели спостерігали структурні зміни м'язів в умовах їхнього ураження отрутою медоносної бджоли (*Apis mellifera*) [422]. М'язова тканина характеризувалася наявністю осередків некрозу, фагоцитозу, збільшенням міжфібрилярного простору. Спостерігалась інфільтрація поліморфноядерними лейкоцитами. Коагуляція саркоплазми і пікноз ядер свідчили про воскоподібний характер некрозу. Також автори вказують на втрату саркомерної посмугованості волокон, наявність нечисленних поліморфних мітохондрій у просвіті клітин. Внутрішньом'язові капіляри мали гіперхромні деформовані ядра та розширену цитоплазму ендотеліоцитів, що виступала у просвіт судин.

За останнє десятиріччя виконана доволі незначна кількість праць щодо вивчення впливу зміїних отрут на скелетну мускулатуру. У праці P. Saravia-Otten та співавт. повідомляється про структурні зміни м'язів під час впливу отрути змії ботропс [397]. Усі ураження характеризувалися виникненням вогнищового некрозу міофібрил, дезорганізацією скоротливого апарату, деструкцією внутрішньоклітинних органел, розширенням судин едомізія, наявністю значної кількості зруйнованих еритроцитів поблизу базальних мембран м'язових волокон. При цьому у вогнищах некрозу спостерігалася виражена макрофагальна інфільтрація.

Диметилпарафенілендіамін – речовина, що широко використовується як барвник під час біохімічних та мікробіологічних досліджень. Іноді при

порушенні правил техніки безпеки відбувається отруєння цією сполукою. Цьому також сприяє відсутність у неї запаху. На сьогодні описано картину морфологічних змін м'язів у відповідь на інтоксикацію диметилпарафенілендіаміном [256]. Автори зазначають, що основу патологічної картини складають типові вогнищеві реакції смугастої мускулатури на пошкоджувальні впливи: контрактури міофібрил і внутрішньоклітинний міоцитоліз. Наведений патологічний процес дозволяв представити динаміку контрактурних ушкоджень як зміну послідовних фаз розвитку надмірного скорочення фазою некробіозу з подальшим розпадом на грудочки і макрофагальною резорбцією. Дослідники зазначають, що за розмірами, формою та особливостями структурно-метаболических характеристик волокон-мішеней чітко диференціюються два крайні види вогнищ контрактур: «стрічки» і «медальйони». Відзначаються зникнення Z-смужок, дезагрегація, дезорієнтація і фрагментація міофібрил.

Таким чином, токсичні міопатії можуть розвиватися шляхом різних механізмів і, як правило, класифікуються відповідно до чинника, що спричинив ушкодження посмугованих м'язів, а також типів уражених волокон або клітинних органел. Міопатії, викликані ліками, найбільш часто призводять до некрозу, вакуолярної патології та мітохондріальної дисфункції, по-друге пов'язані з розвитком запальних реакцій.

У сучасній літературі відсутні відомості про морфофункціональні перетворення посмугованих м'язів в умовах техногенних мікроелементозів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для визначення структурних змін посмугованих м'язів та їх хімічного складу за умов дії солей важких металів був проведений експеримент на 270 білих щурах-самцях лінії Wistar віком від 4 до 22 місяців і вагою від 165 до 304 г.

Перед початком експерименту кожна група щурів піддавалась огляду, враховуючи їх рухову активність і стан зовнішніх покривів. Після цього тварини підлягали двотижневій карантинізації. Піддослідних щурів доглядали в умовах віварію Медичного інституту Сумського державного університету відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом із біоетики (Київ, 2001).

Під час експерименту у приміщенні віварію підтримувалася стала температура повітря, щурам надавався належний догляд. Упродовж усього терміну досліджень тварин годували сухим гранульованим кормом, що характеризувався збалансованим вмістом необхідних для повноцінної життєдіяльності інгредієнтів.

Для надходження до організму білих щурів потрібних концентрацій солей важких металів останні були розведені у звичайній питній воді. Воду тварини отримували в об'ємі 25 – 35 мл на 1 особину на добу. При цьому вологість вживаного корму перебувала у межах 3 – 5 %. Інтактні щури різних вікових груп протягом всього терміну експерименту отримували звичайну питну воду.

Було використано п'ять груп білих щурів лінії Wistar. Тварин кожної групи було поділено на підгрупи за різними віковими ознаками. Так, до складу першої підгрупи входили щури молодого (прогресивного) віку 4 – 6

місяців, до складу другої – зрілого (стабільного) віку – 7 – 9 місяців, а до третьої підгрупи віднесли тварин старечого (регресивного) віку – 20 – 22 місяці (табл. 2.1).

Упродовж 1, 2 та 3 місяців тварини перших трьох груп споживали питну воду з різним вмістом солей важких металів, що були нами позначені як суміш № 1, суміш № 2 та суміш № 3 відповідно (табл. 2.2).

До складу четвертої групи увійшли тварини, які одержували такий самий варіант комбінації солей важких металів, що й тварини третьої групи (останній мав найбільш виражену патогенну дію). Але щурам цієї групи щодня парентерально (у сідничний м'яз) вводили синтетичний препарат Мексикор® (водний розчин) дозою 38 мг/кг один раз на добу упродовж одного, двох та трьох місяців.

Дозу фармакологічного препарату було розраховано відповідно до рекомендацій Р. С. та Ю. Р. Риболовлевих [303] за допомогою наведеної нижче формули:

доза для щура = $(n \times \text{доза для людини})/N$;

де n – коефіцієнт видової витривалості для щура = 3,62;

N – коефіцієнт видової витривалості для людини = 0,57;

Доза Мексикору® для людини – 6 мг/кг (відповідно до інструкції застосування препарату Мексикор®).

Таблиця 2.1 – Розподіл тварин на групи та підгрупи

Підгрупи тварин за віком	Термін експерименту	Варіант вмісту солей важких металів у питній воді				
		Суміш № 1	Суміш № 2	Суміш № 3	Суміш № 3 із коректором	Контроль
Молоді (4–6 міс.)	1 місяць	6	6	6	6	6
	2 місяці	6	6	6	6	6
	3 місяці	6	6	6	6	6
Зрілі (7–9 міс.)	1 місяць	6	6	6	6	6
	2 місяці	6	6	6	6	6
	3 місяці	6	6	6	6	6
Старі (20–22 міс.)	1 місяць	6	6	6	6	6
	2 місяці	6	6	6	6	6
	3 місяці	6	6	6	6	6
Разом		270 тварин				

Таблиця 2.2 – Склад сумішей та вміст солей важких металів, що були використані в експерименті

	Сіль важкого металу	Вміст солі
Суміш № 1	ZnSO ₄	50 мг/л
	CuSO ₄	20 мг/л
	FeSO ₄	20 мг/л
Суміш № 2	MnSO ₄ × 5H ₂ O	5 мг/л
	Pb(NO ₃) ₂	3 мг/л
	CuSO ₄	20 мг/л
Суміш № 3	ZnSO ₄	50 мг/л
	K ₂ Cr ₂ O ₇	10 мг/л
	Pb(NO ₃) ₂	3 мг/л

Тварини останньої групи були віднесені до контрольної. Контрольна серія тварин була створена окремо для кожної підгрупи тварин: для тварин молодого віку, для тварин зрілого віку та для старечих тварин. Упродовж усього терміну експерименту їм давали вживати звичайну питну воду. Щурів виводили з експерименту шляхом евтаназії під тіопенталовим

наркозом (4мг / 100 г маси тіла) по 6 тварин із кожної групи наприкінці терміну експерименту.

Предмет дослідження була обрана латеральна голівка триголового м'яза литки.

2.3 Методи дослідження

2.3.1 Органометрія

Визначення маси щурів проводили за допомогою електронних вагів АСОМ JW із точністю до 0,01 г. Після зважування тварин забивали та проводили відділення від тушок потрібних зразків латеральної голівки триголового м'яза литки.

Абсолютну масу м'яза (АММ) визначали з використанням аналітичних ваг САУХ. Довжину м'язового черевця (ДМЧ) та діаметр м'яза в середній частині (ДМСЧ) вимірювали за допомогою гнучкої лінійки, штангенциркуля та мікрометра з ціною поділки 0,01 мм, клас точності 2.

Для знаходження відносної маси м'яза (ВММ) користувалися формулою:

$$\text{ВММ} = \text{абсолютна маса м'яза (г)} / \text{маса тіла щура (г)}.$$

Розрахунок площі поперечного перетину м'яза (ПППМ) здійснювали за формулою:

$$\text{Площа поперечного перетину} = \pi r^2 \text{ (см}^2\text{)};$$

де r – $\frac{1}{2}$ діаметра м'яза в середній частині (см).

Також макроскопічний аналіз передбачав визначення щільності посмугованих м'язів (ЩМ) та абсолютного об'єму латеральної голівки триголового м'яза литки (АОМ). Останній параметр розраховували так.

Для того щоб здійснити розрахунок об'єму, найбільш наближеного до реальних значень деякої гладкої тривимірної фігури, якою є голівка

литкового м'яза, необхідно було використати спеціальні математичні інструменти.

Латеральна голівка литкового м'яза має найбільш наближену форму до витягнутого еліпсоїда, який описується рівнянням виду

$$\frac{x^2}{a_x^2} + \frac{y^2}{a_y^2} + \frac{z^2}{c^2} = 1;$$

де a , b , c — додатні дійсні числа, що називаються півосями еліпсоїда (у випадку, коли еліпсоїд витягнутий, дві з півосей рівні між собою, тобто $a_x = a_y$); x , y , z — відповідні координати в Декартовій системі.

Якщо взяти потрібний інтеграл від рівняння еліпсоїда, одержимо об'єм латеральної голівки литкового м'яза. Використовували узагальнені сферичні координати для розрахунку потрібного інтеграла:

$$x = a \cdot \rho \cdot \cos\varphi \cdot \sin\theta; \quad y = a \cdot \rho \cdot \sin\varphi \cdot \sin\theta; \quad z = c \cdot \rho \cdot \cos\theta.$$

Оскільки модуль Якобіана при трансформації Декартових координат в узагальнені сферичні дорівнює:

$$|I| = a \cdot b \cdot c \cdot \rho^2 \cdot \sin\theta,$$

то

$$dxdydz = a \cdot b \cdot c \cdot \rho^2 \cdot \sin\theta \cdot d\rho d\varphi d\theta.$$

Отже об'єм латеральної голівки триголового м'яза литки мав такий вигляд:

$$V = \iiint dxdydz = a \cdot a \cdot c \cdot \rho^2 \cdot \sin\theta \cdot d\rho d\varphi d\theta.$$

Враховуючи симетрію еліпсоїда, знаходили 1/8 його об'єму, що знаходиться у першому октанті ($x \geq 0, y \geq 0, z \geq 0$), а потім множили результат на 8.

Таким чином,

$$\begin{aligned} V &= \iiint a \cdot a \cdot c \cdot \rho^2 \cdot \sin\theta \cdot d\rho d\varphi d\theta = 8a^2c \int_0^{\pi/2} d\varphi \int_0^1 \rho^2 d\rho \int_0^{\pi/2} \sin\theta d\theta = \\ &= 8a^2c \int_0^{\pi/2} d\varphi \int_0^1 \rho^2 \left[(-\cos\theta) \Big|_0^{\pi/2} \right]. \end{aligned}$$

Розрахунок щільності посмугованих м'язів проводили за допомогою формули:

$$\text{ЩМ} = \text{абсолютна маса м'яза (г)} / \text{абсолютний об'єм м'яза (см}^3\text{)}.$$

2.3.2 Гістологічне вивчення та гістоморфометрія.

Для вивчення мікроскопічної будови посмугованих м'язів із середини м'язового черевця латеральної голівки триголового м'яза литки вирізали шматочки розміром 10 мм³. Далі проводили фіксування відібраних зразків у 10 % розчині нейтрального формаліну упродовж двох діб. Потім з одержаних препаратів робили поздовжні (за ходом м'язових волокон) та поперечні (поперек м'язових волокон) зрізи на санному мікротомі МС-2 із товщиною зрізів 4 – 6 мкм. Гістологічні зрізи фіксували на знежирених предметних скельцях та висушували. Фарбування проводили гематоксилін-еозином і за Ван-Гізеном.

Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопа Olympus BH-2 (Японія) (біокуляри ×10, ×15, об'єктиви ×10, ×20, ×40). Фотографування гістологічних препаратів виконували цифровою камерою Baumer/optronic Тур: CX 05 с. Мікроморфометричний аналіз здійснювали за допомогою універсальної обчислювальної програми «SEO Image Lab 2.0». Проводили вимірювання таких параметрів: 1) діаметр м'язового волокна (ДМВ); 2) ширина ендомізію (ШЕ); 3) ширина перимізію (ШП); 4) площа поперечного перерізу м'язового волокна (ПППВ); 5) діаметр капіляра (ДК); 6) діаметр вени (ДВ); 7) діаметр артеріоли (ДА).

Після цього проводили обчислення співвідношення І та артеріоло-венулярного коефіцієнта (АВК) за такими формулами:

співвідношення І = ширина ендомізію (мкм) / діаметр м'язового волокна (мкм);

артеріоло-венулярний коефіцієнт = діаметр артеріоли (мкм) / діаметр венули (мкм).

Також проводили оцінювання кількості ядер міосимпласта на умовну одиницю площі (КЯМ), за яку брали площу одного поперечного перерізу, видимого у світловий мікроскоп при 400-кратному збільшенні (ок. 10, об. 40).

2.3.3 Ультрамікроскопія.

Після проведення визначення масометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки у середній частині цього м'яза вилучали шматочки розміром 1мм^3 із використанням гострого леза. Фіксацію проводили у 2,5 % розчині глутарового альдегіду на 0,2 М какодилатному буфері з рН = 7,2 при температурі + 4° С. Після цього препарати тричі промивали у цьому самому буфері та постфіксували в 1 % розчині OsO_4 упродовж 4 годин при температурі + 2° С. Далі шматочки біоптатів дегідрували за допомогою серії спиртів висхідної концентрації (по 20 хвилин у 50, 70, 80, 90 та 100 % розчинах). Заливали матеріал у капсули з готовою сумішшю смол епону та аралдиту (аралдит М – 20 мл, епон 812 – 25 мл, ущільнювач ДДСА – 60 мл, каталізатор ДМР-30 – 2 % (6 крапель) та залишали на 1 добу при кімнатній температурі повітря. Після цього препарати поміщали у термошафу при температурі 60 °С для полімеризації.

Використовуючи ультрамікротом УМТП-6м (Україна) готували напівтонкі (1 мкм) та ультратонкі (40-60 нм) зрізи. Фарбування матеріалу проводили толуїдиновим синім і у світловому мікроскопі вивчали препарати з метою прицільного заточування пірамідки перед ультрамікротомуванням. Після цього проводили дворазове контрастування встановлених на мідних сітках ультрамікрозрізів. Спочатку протягом 15

хвилин у 2 % розчині ураніл – ацетату, а вже потім упродовж 30 хвилин у розчині цитрату свинцю за Рейнольдсом.

Ультрамiкроскопiчне дослідження реалiзовували за допомогою електронного мiкроскопа ПЭМ-100м (Суми, Україна) iз напругою прискорення 75 – 100 кВ. Фото досліджуваних препаратiв при збiльшеннi у 4800 – 12600 разiв одержували iз використанням цифрової вiдеокамери Baumer/optronic Тур: СХ 05 с. Усi вимiрювання ультраструктурних компонентiв проводили з застосуванням електронної програми «SEO Image Lab 2.0».

При ультрамiкроскопiчному дослідженнi проводили вивчення таких планiметричних параметрiв, як: 1) короткий дiаметр ядра мiосимпласта (КДЯМ); 2) довгий дiаметр ядра мiосимпласта (ДДЯМ); 3) короткий дiаметр мiтохондрiї (КДМ); 4) довгий дiаметр мiтохондрiї (ДДМ). Площу ядра мiосимпласта (ПЯМ) та мiтохондрiї (ПМ) визначали за формулою для розрахунку площi елiпса:

$$S = \pi ab \text{ (мкм}^2\text{)},$$

де a – довжина довгої пiвосi; b – довжина короткої пiвосi.

Об'єм мiтохондрiї (ОМ) та ядра м'язового волокна (ОЯМ) розраховували iз використанням формули V. Monesi [179]:

$$V = \frac{4}{3} \pi ab \frac{a+b}{2} \text{ (мкм}^3\text{)},$$

де a – довжина довгої пiвосi; b – довжина короткої пiвосi.

2.3.4 Хiмiко-аналiтичний аналіз

Для вивчення концентрацiї хiмiчних елементiв у м'язовiй тканинi проводили зважування залишкiв латеральної голiвки триголового м'яза литки на аналітичних вагах ВЛР-200-М, висушування до постiйної ваги у заздалегiдь прожарених порцелянових тиглях. Пiсля цього здiйснювали озолення матерiалу упродовж 15 дiб у муфельнiй печi СНОЛ –

1.6.2.0.0.8/9-M1 У42 при початковій температурі 200°C із переходом до 450°C. Далі визначали вагу сухого залишку, послідовно занурювали до розчинів соляної та азотної кислот і потім проводили розведення у пропорціях, що відповідали масі сухого залишку. Наприкінці проводили безпосереднє визначення концентрації таких хімічних елементів, як: 1) мідь (аналітична довжина хвилі 324,7 нм); 2) залізо (248,3 нм); 3) хром (357,9 нм); 4) цинк (213,9 нм); 5) марганець (279,5 нм); 6) свинець (217,0 нм), у мкг/г сирової маси з використанням спектрофотометрів С115-М1 і КАС-120.1 (Україна) та за допомогою спеціальної обчислювальної електронної програми до них «AAS SPEK» [29].

2.3.5 Статистичний аналіз.

Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили із використанням параметричного критерію Стюдента (t). На основі значення t і кількості ступенів вільності ($l = n_1 + n_2 - 2$) за відповідною таблицею розподілу обчислювали значущість відмінностей двох вибірок (p). Відмінність вважали достовірною, якщо ймовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($p \leq 0,05$). Для визначення впливу контролюючих факторів на результуючі ознаки використовували двофакторний дисперсійний аналіз.

Матеріалом для дослідження щитоподібної залози послужили гістологічні препарати пацієнтів, прооперованих в Сумському обласному клінічному онкологічному диспансері та Сумській обласній клінічній лікарні з приводу пухлинної патології ЩЗ в період 2004-2014 років. Загалом було виявлено 1131 випадків РЩЗ. Основу клініко-морфологічних, імуногістохімічних та фізико-хімічних досліджень дисертаційної роботи склали 60 випадків ПРЩЗ. Вивчалися дані з історій хвороб, результати УЗД-дослідження та патогістологічні заключення.

У роботі використані дані обласного канцер-реєстру та журнали реєстрації результатів біопсій патологоанатомічного відділення Сумського обласного клінічного онкологічного диспансеру.

Методи дослідження

2.3.6. Зразки пухлин ЩЗ

Всі випадки ПРЩЗ були обстежені клінічно (УЗД ЩЗ) та морфологічно (серійні зрізи пухлинної тканини) для виявлення патологічної біомінералізації. Всім хворим було виконано тотальну тиреоїдектомію. Всього було досліджено 60 випадків ПЩЗ. Для дослідження патологічної біомінералізації були сформовані наступні дві серії пацієнтів. I серію склали випадки ЗПЩЗ з проявами патологічної біомінералізації: 30 зразків ПРЩЗ. II серію склали випадки ЗПЩЗ без проявів біомінералізації: 30 зразків ПРЩЗ.

2.3.7. Гістологічний та гістохімічний методи

Для гістологічного дослідження матеріал ЩЗ фіксували її в 10% розчині нейтрального буферного формаліну впродовж 24 годин. В подальшому матеріал зневоднювався і заливався парафіном в апараті карусельного типу «АТМ-4М» (Україна). На ротаційному мікротомі Shandon Finnesse 325 (Thermo Scientific) виконувалися парафінові серійні зрізи товщиною 4-5 мкм. Депарафінізовані зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином та алізариновим червоним S (модифікація Даля-МакГі). Під час мікроскопічного дослідження враховували наступні характеристики РЩЗ: гістологічний тип будови (згідно класифікації ВООЗ пухлин ЩЗ, Ліон, 2004 р.), тип кальцифікації, наявність метастазів, наявність пухлинної капсули, особливості та ступінь інфільтрації пухлини

та перитуморальної зони імунокомпетентними клітинами, характер васкуляризації.

2.3.8. Імуногістохімічне дослідження тканини РЩЗ

З гістологічних парафінових блоків виготовляли серійні зрізи товщиною 4-5 мкм, які наносили на адгезивні скельця SuperFrost (Thermo Scientific) і висушували при температурі 37°C впродовж 18 годин. Депарафінізовані зрізи підлягали демаскуванню антигенів за термічним методом шляхом нагрівання зрізів у цитратному буфері (pH 6,0) при температурі 95-98°C. Для візуалізації результатів ІГХ використовували систему детекції “UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer” (Thermo Scientific), яка включала в себе блокування ендогенної пероксидазної активності 3% перекисом водню, блокування неспецифічного фонового фарбування з використанням «Ultra V Block», посилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto». У якості хромогену використовувався діамінобензидин (DAB).

У дослідженнях використана наступна панель антитіл («Thermo scientific», США) (табл. 2.1):

Таблиця 2.1 – Панель антитіл для ІГХ дослідження

Антитіло	Імунізована тварина	Клон	Розведення	Локалізація в клітині
Ki-67	Кролик	SP6	1:100	Ядро
p53	Миша	SP5	1:100	Ядро
baх	Миша	Поліклон	1:200	Цитоплазма
Bcl-2	Миша	100/D5	1:100	Цитоплазма
OPN	Кролик	Поліклон	1:100	Цитоплазма
VEGF	Кролик	Поліклон	1:200	Цитоплазма та мембрана
MMP1	Кролик	Поліклон	1:50	Цитоплазма

- для вивчення особливостей апоптозу і порушення в системі репарації ДНК пухлинних клітин використано мишачі моноклональні антитіла до білків bcl-2 (клон 100/D5), p53 (клон SP5) та поліклональні антитіла бах; для вивчення проліферативної активності пухлинних клітин – кролячі моноклональні антитіла до білка Ki-67 (клон SP6);
- особливості мінералізації тканини ПРЦЗ досліджували з використанням кролячих поліклональних антитіл до білка OPN;
- для встановлення аутогенної стимуляції ангіогенезу вивчали експресію рецепторів VEGF з використанням поліклональних кролячих антитіл;
- поліклональні кролячі антитіла до білка MMP1 слугували показником інвазивної спроможності клітин.

Для оцінки ступеню виразності імуногістохімічного забарвлення використовувалася модифікована бальна система за Allred [169]. Ступінь забарвлення оцінювався за 8-бальною системою (0-8). Кількість балів отримували шляхом додавання числа, яке представляло відсоток клітин з позитивним забарвленням (0, 1, 2, 3, 4, 5), з числом балів, яке відображає інтенсивність забарвлення клітини (цитоплазми, ядра або цитоплазми і ядра одночасно – 0, 1, 2, 3). Система підрахунку відображена у таблиці 2.2.

Таблиця. 2.2 – Система оцінки експресії імуногістохімічного забарвлення.

Відсоток позитивно-забарвлених клітин		Інтенсивність забарвлення	
0	Відсутні забарвлені клітини	0	Забарвлення відсутнє
1	Кількість забарвлених клітин <1%	1	слабке забарвлення
2	Кількість забарвлених клітин 1-10%	2	помірне забарвлення
3	Кількість забарвлених клітин 10-33%	3	виразне забарвлення
4	Кількість забарвлених клітин 33-66%		
5	Кількість забарвлених клітин >66%		

В якості контролю якості проведеного ІГХ дослідження проводили активний (використання тканини, з попередньо встановленою позитивною та негативною реакцією) та пасивний контроль отриманих результатів.

2.3.9. Скануюча електронна мікроскопія

Пробопідготовка. Гістологічні зрізи з парафінових блоків препаратів товщиною 7-10 мкм розміщували на графітових предметних столиках. Препарати витримували 30 хв у термостаті при температурі 60°C. Після цього парафінові зрізи тричі покривали ксилолом по 5 хв, потім тричі покривали 96% етанолом по 5 хв, споліскували дистильованою водою. Виготовлені препарати досліджувалися на скануючому мікроскопі PEMMA 100У з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом (Selmi, Україна).

2.3.10. Фізико-хімічні (методи дослідження прикладного матеріалознавства)

Мінеральну складову відокремлювали від м'яких тканин депозиту шляхом термічної обробки в електропечі (на повітрі) при 200° С протягом години. При цьому відбувалося руйнування органічної частини депозиту і видалення вільної води при збереженні незмінній структури мінералу. Після такого низькотемпературного відпалу в більшості випадків тверді частинки мінералу можна було легко відокремити механічно від золи органічних тканин.

Дослідження методом растрової електронної мікроскопії (РЕМ) були виконані на приладі PEMMA102 (SELMI, Україна). Прилад дозволяє візуалізувати досліджувану поверхню зразка в широкому діапазоні збільшень з дозволом порядку 10 нм і отримувати дані про елементний склад з аналізу характеристичних енергодисперсійного рентгенівських

спектрів (EDX спектрів), порушуваних електронним зондом. Обробка спектрометричної інформації проводилася за допомогою штатного програмного забезпечення системи мікроаналізу.

Рентген-дифракційному дослідженню структури матеріалів були виконані на дифрактометрі ДРОН4-07 («Буревісник», Росія) з використанням випромінювання $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,154$ нм) при умовах фокусування по Брегг-Брентано ($\theta - 2\theta$) (2θ - бреггівськими кут). Зразки знімали в режимі безперервної реєстрації (швидкість $2\theta / \text{хв}$) в діапазоні кутів 2° від 10° до 70° . Попередня обробка експериментальних результатів була проведена в програмному пакеті DIFWIN-1 (ТОВ «Еталон ВТЦ»), ідентифікація кристалічної структури і фазового складу - за допомогою програмного пакету Crystallographica Search-Match (Oxford Cryosystems).

Інфрачервоні спектри були отримані на Фур'є-спектрометрі Spectrum-One (Perkin Elmer, USA, 2003). Перед дослідженнями зразки у вигляді порошку були змішані з порошком KBr (3.0 мг зразка на 300 мг KBr) і спресовані в таблетки. Вимірювання та аналіз спектрів виконувалися з використанням штатного програмного забезпечення приладу.

Просвічує електронна мікроскопія (ПЕМ) з електронною дифракцією (ЕД) була виконана на приладі ПЕМ-125К (SELMІ, Україна), який дозволяє вивчати морфологію та фазовий склад кристалічних частинок Кальцифікати. При підготовці проб відпалені мінералізованого тканини у формі порошку поміщали в дистильовану воду і обробляли ультразвуком за допомогою установки УЗДН-А (SELMІ, Україна). Ультразвуковий випромінювач знаходився в посудині з дистильованою водою і зразками протягом десяти хвилин. Питома потужність становила приблизно 15-20 Вт / см^2 при робочій частоті випромінювача 22 кГц. Кілька крапель отриманої суспензії наносили на спрямований вертикально вгору ультразвуковий випромінювач УЗДН-А і розпилювали 2-3 секунди, варіюючи потужність установки. Розпилений аерозоль вловлювали на

тонку вуглецеву плівку (10-20 нм), розташовану на мідній сіточці держателя про-зразків. Мікрофотографії і картини електронної дифракції були отримані за умов прискорюючої напруги $U_{\text{приск}} = 90$ кВ.

2.3.11. Статистичний аналіз

Для вивчення статистичних показників захворюваності на РЦЗ в Сумській області були використані середній показник захворюваності (X_c), стандартне відхилення (σ), медіана (Me), середня похибка (m).

Результати морфометричних вимірювань тканини ПРЦЗ та дані імуногістохімії були перевірені на нормальний розподіл (НР) за допомогою критерію Шапіро-Вілк (Shapiro-Wilk). У випадку ненормального розподілу цифрових показників для оцінки статистичної значимості використовували критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney). Також було використано статистичний бутстреп для оцінки довірчих інтервалів. Довірчі інтервали (0.05, 0.90) було оцінено за допомогою скоректованого та прискореного методу параметричного бутстрепу (BCa) [60]. У якості параметру було використано медіану. Кількість вибірок складала 10000.

Якщо вибірки даних мали правильний розподіл, їх порівняння проводилося за допомогою параметричного t- критерію Стьюдента за умови підтвердження випадковості розбіжностей ($F_{\text{крит}} > F_{\text{експ}}$) згідно критерію Фішера. Якщо $t_{\text{експ}} \geq t_{\text{крит}}$, то різниця вважалась достовірною.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Захворюваність на рак щитоподібної залози в Сумській області за 2004-2014 рр. та його клініко-морфологічна характеристика

При вивченні епідеміологічних даних захворюваності на злоякісні пухлини ЩЗ в Сумській області за даними канцер-реєстру Сумського обласного клінічного онкологічного диспансеру (СОКОД) впродовж періоду 2004-2014 років було виявлено, що за останні 3 роки спостерігається значне підвищення захворюваності. При чому в останній, 2014 рік, відповідні показники перевищують загальноукраїнські більш ніж у два рази (рис. 3.1). Необхідно відмітити, що у всі роки періоду спостереження захворюваність на РЩЗ в Сумській області завжди перевищувала загальнодержавний рівень.

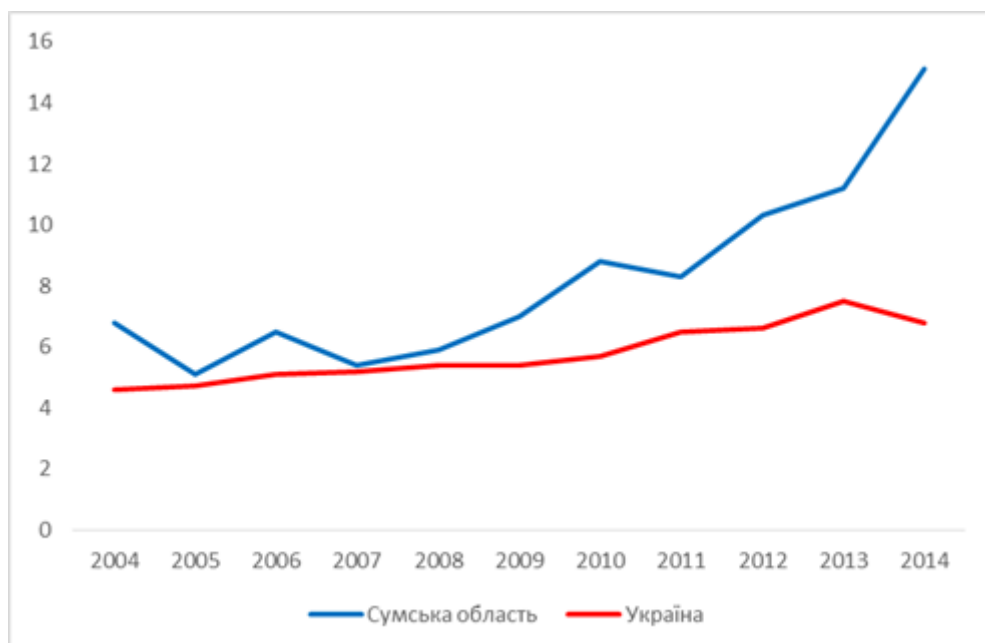


Рисунок 3.1 - Показники захворюваності на злоякісні новоутворення ЩЗ в Сумській області та Україні впродовж 2004-2014 років. Вісь абсцис – випадки на 100 тис, вісь ординат – роки.

За даними Національного канцер-реєстру, у період 2004-2014 років було зареєстровано 1131 випадки РЩЗ (в середньому в рік – $102,82 \pm 10,05$). Середнє значення захворюваності за 2004-2014 р. складає $8,22 \pm 0,83$ ‰. За десятиріччя у половині років була зафіксована захворюваність нижче 7 ‰, за інші 5 років – вище 7 ‰.

Розподіл районів Сумської області за трьома рівнями показників захворюваності є таким:

1) райони з низьким рівнем захворюваності на злоякісні новоутворення ЩЗ ($0-4,00$ ‰): Велико-Писарівський ($3,76 \pm 0,95$), Середино-Будський ($4,00 \pm 1,22$);

2) райони з середнім рівнем захворюваності на злоякісні новоутворення ЩЗ ($4,01-7,00$ ‰): Білопільський ($5,15 \pm 0,91$), Недригайлівський ($5,37 \pm 0,97$), Охтирський ($5,54 \pm 0,95$), Путивльський ($5,14 \pm 1,21$), Сумський ($5,46 \pm 0,92$), Ямпільський ($5,13 \pm 1,19$), Глухівський ($6,23 \pm 0,93$), Конотопський ($6,66 \pm 1,04$), Лебединський ($6,06 \pm 0,09$), Липово-Долинський ($6,91 \pm 1,96$), Роменський ($6,32 \pm 0,85$);

3) райони з високим рівнем захворюваності на злоякісні новоутворення ЩЗ ($7,01$ ‰ і вище): Буринський ($7,73 \pm 1,85$), Краснопільський ($7,47 \pm 1,93$), Кролевецький ($7,73 \pm 1,32$), Тростянецький ($7,35 \pm 0,94$), Шосткинський ($7,31 \pm 0,81$), м. Суми ($14,56 \pm 2,12$).

При проведенні вікового аналізу хворих на РЩЗ виявлено, що найбільша кількість випадків захворюваності на РЩЗ відмічається у людей віком від 40 до 59 років ($49,55 \pm 4,15$). Також високі показники цієї патології спостерігаються у вікових групах 60-79 та 20-39 років (рис. 3.2).

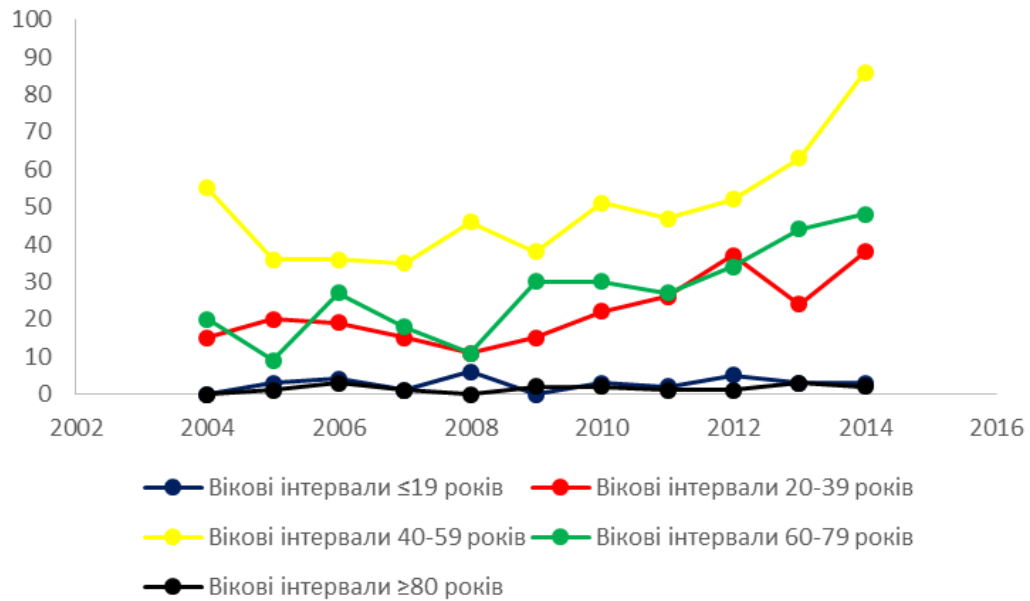


Рисунок 3.2 - Розподіл хворих на РЩЗ у віковому аспекті за період 2004-2014 років у Сумській області.

При дослідженні гістологічних типів злоякісних пухлин ЩЗ було виявлено, що значну перевагу має ПРЩЗ, питома частка якого коливається від 70,37% до 81,75% від загальної кількості всіх РЩЗ. Помітну частку займає ФРЩЗ, вона коливається в різні роки в межах 13,14-25%. Незначну кількість випадків від загального масиву займає МРЩЗ, відповідаючи від 1,35% до 5,83%. Інша, більш рідкісна патологія, така як недиференційований та плоскоклітинний рак ЩЗ, виявляється не кожного року, коливається від 0 до 3,33% в окремі роки (рис. 3.3).

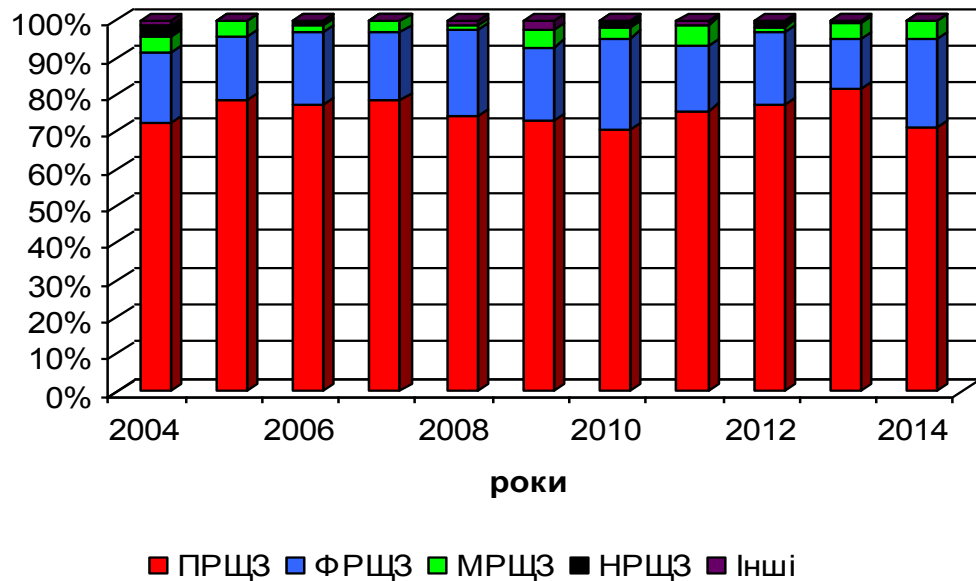


Рисунок 3.3 - Питома частка різних гістологічних типів РЩЗ. ПРЩЗ – папілярний рак ЩЗ, ФРЩЗ – фолікулярний рак ЩЗ, МРЩЗ – медулярний рак ЩЗ, НРЩЗ – низькодиференційований рак ЩЗ, Інші – плоскоклітинний рак ЩЗ та бронхіогенний рак ЩЗ.

Отже, за період спостереження 2004-2014 років найвища захворюваність на РЩЗ спостерігалась у Буринському ($7,73 \pm 1,85\%$), Краснопільському ($7,47 \pm 1,93\%$), Кролевецькому ($7,73 \pm 1,32\%$), Тростянецькому ($7,35 \pm 0,94\%$), Шосткинському ($7,31 \pm 0,81\%$) районах та в м. Суми ($14,56 \pm 2,12\%$). При дослідженні гістологічних типів злоякісних пухлин ЩЗ було виявлено, що значну перевагу має ПРЩЗ, питома частка якого коливається від 70,37% до 81,75% (в середньому - 74,0%) від загальної кількості всіх РЩЗ (Табл. 3.1). Питома вага основних гістологічних типів РЩЗ у структурі захворюваності відповідає загальносвітовим показникам, що свідчить про адекватну морфологічну діагностику.

Таблиця 3.1 - Рівень захворюваності у районах Сумської області впродовж 2004-2014 років

Район	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	X _c	σ	Me	m
Білопільський	5,1	5,2	5,2	-	3,7	9,1	9,2	3,7	-	9,6	5,8	5,15	3,02	5,2	0,91
Буринський	11,5	6,1	9,2	3,2	9,9	-	3,5	3,6	-	18,8	19,2	7,73	6,14	9,2	1,85
В.Писарівський	3,9	-	-	8,7	4,5	-	-	4,7	9,7	4,9	5,0	3,76	3,17	4,9	0,95
Глухівський	3,0	7,7	4,7	6,3	3,2	1,6	6,6	13,3	8,4	3,4	10,3	6,23	3,23	6,3	0,97
Конотопський	4,5	3,8	2,3	1,6	3,9	8,7	6,4	11,2	9,7	8,1	13,1	6,66	3,45	6,4	1,04
Краснопільський	-	3,1	6,3	-	12,9	16,3	-	13,3	3,3	20,2	6,8	7,47	6,51	9,85	1,96
Кролевецький	15,5	9,1	11,5	4,7	7,1	2,4	7,3	14,8	7,5	-	5,1	7,73	4,39	7,4	1,32
Лебединський	3,6	3,7	1,9	3,9	5,9	2,0	8,1	6,1	10,3	8,4	12,8	6,06	3,20	5,9	0,96
Л.Долинський	-	-	4,5	13,7	9,3	4,7	23,9	4,9	9,9	-	5,1	6,91	6,52	7,2	1,96
Недригайлівський	6,7	6,9	3,5	-	3,6	-	7,5	7,6	11,5	3,9	7,9	5,37	3,22	6,9	0,97
Охтирський	7,5	-	7,6	6,4	5,1	2,6	2,6	5,3	2,6	11,9	9,3	5,54	3,17	5,85	0,95
Путивльський	6,0	-	3,1	3,2	-	-	6,6	6,7	13,6	10,3	7,0	5,14	4,02	6,65	1,21
Роменський	4,3	3,3	3,4	6,9	5,9	4,8	6,1	7,5	7,6	5,2	14,5	6,32	2,83	5,9	0,85
С.Будський	5,0	-	5,2	-	5,4	-	11,2	-	5,7	11,5	-	4,00	4,04	5,55	1,22
Сумський	7,9	-	1,6	3,2	6,3	4,7	3,2	11,1	6,3	6,3	9,5	5,46	3,05	6,3	0,92
Тростянецький	4,9	7,5	7,6	7,6	7,7	5,2	10,5	2,7	2,7	10,8	13,7	7,35	3,11	7,6	0,94
Шосткинський	7,3	9,3	11,2	9,5	1,9	7,7	2,9	4,9	9,8	8,9	7,0	7,31	2,70	7,7	0,81
Ямпільський	3,4	7,1	3,6	7,2	-	3,8	3,8	-	15,6	7,9	4,0	5,13	3,96	4	1,19
м. Суми	10,4	7,4	10,3	7,1	9,0	13,8	18,2	10,6	19,9	21,0	32,5	14,56	7,04	10,6	2,12
Всього по області	6,8	5,1	6,5	5,4	5,9	7,0	8,8	8,3	10,3	11,2	15,1	8,22	2,74	7	0,83

X_c – середній показник захворюваності за 2010-2014 рр.; σ – стандартне відхилення; Me – медіана; m – середня похибка.

3.2. Морфологічне дослідження папілярного раку щитоподібної залози за умов наявності та відсутності біомінералізації

3.2.1. Патогістологічний аналіз тканини ПРЩЗ

Всі пацієнти з ПРЩЗ були поділені на дві групи по відношенню до патологічної біомінералізації. До I групи увійшли 30 зразків ПРЩЗ, які містили патологічні біомінеральні депозити. До II групи, яка слугувала контролем, були віднесені 30 препаратів пацієнтів з ПРЩЗ, які не містили ознак біомінералізації.

Питома вага ПРЩЗ у загальній структурі РЩЗ по Сумському регіону в останнє десятиріччя складала 70,37-81,75% [23]. В обох групах спостереження макро- і мікроструктура ПРЩЗ мала типові загальні риси.

При макроскопічному дослідженні ПРЩЗ виявлявся у вигляді вузлів білувато-жовтуватого кольору, в основному з мультифокальним ростом. Поверхня розрізу пухлин мала дрібнозернисту вибухаючу поверхню (рис. 3.4). Більшість пухлинних вузлів мали подібність до рубців з-за помітних склеротичних змін та підвищеної щільності. Пухлинні вузли, які були без капсули, мали щільну консистенцію, з ділянками кістозних змін. В окремих випадках пухлини були представлені кістами з бурою кров'янистою рідиною.

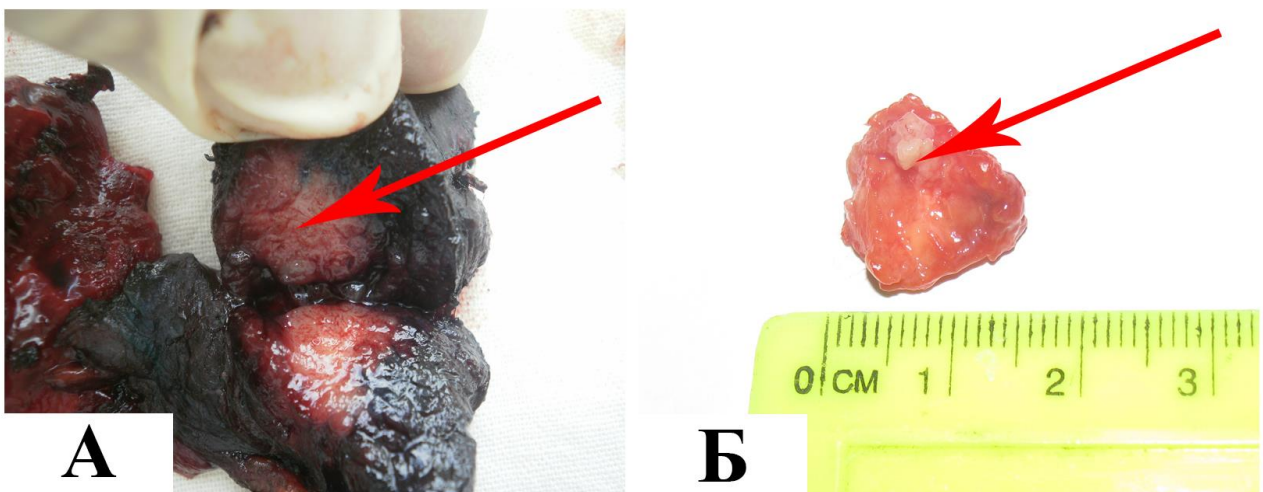


Рисунок 3.4 - Макроскопічний вигляд ПРЩЗ. А – ПРЩЗ у вигляді білої щільної тканини (випадок 6Ж58, група II). Б. – ПРЩЗ з кальцифікацією (випадок 19Ж54, група I; мінералізована тканина вказана стрілкою).

Якщо розглядати органну локалізацію ПРЦЗ, то найбільш часто ці пухлини розміщувалися субкапсулярно.

ПРЦЗ має чіткі мікроскопічні критерії. Гістологічно класичний варіант ПРЦЗ складався з ніжних сосочків, які галузяться, з багатою судинами фіброзною основою, вистеленою одним або кількома шарами епітеліальних клітин з різним ступенем диференціювання. Строма сосочків у більшості випадків тендітна, проте в деяких варіантах ПРЦЗ (ДсПРЦЗ) представлена грубоволокнистими та гіалінізованими структурами. У більшості випадків сосочки знаходилися у кістозних порожнинах. Окремі сосочки є досить короткими та можуть розміщуватися всередині пухлинних фолікулів. Ядра пухлинних клітин погано забарвлюються гематоксиліном, тому мають вигляд оптично порожніх (матово-скляних) овальних структур (рис. 3.5 Б-Г),

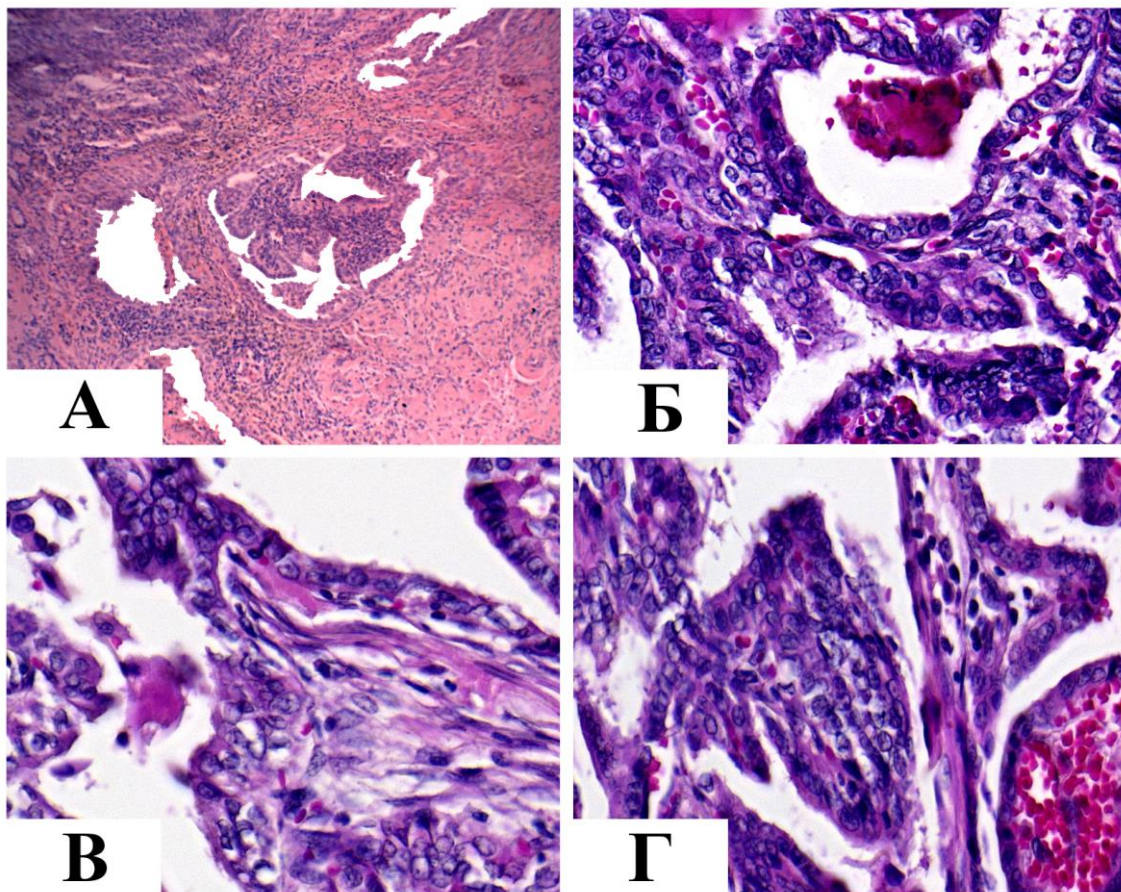


Рисунок 3.5 - Гістологічне дослідження КвПРЦЗ. Заб. гематоксилін-еозин. А- Сосочок всередині фолікула, збільшення x100; Б – Десквамація пухлинного епітелію в просвіт фолікула, В – прозорі «скляні» ядра за типом «очей сирітки Енн», Г – пухлинний сосочок з щілиноподібними капілярами, заповненими еритроцитами, збільшення x400.

формуючи феномен «очей сирітки Енн». Також в пухлинних клітинах виявлялися ядерні борозенки, які представляли собою базофільні тяжі, які перетинали ядро по найбільшій довжині.

Окрім класичного варіанту ПРЦЗ (КвПРЦЗ), у досліджуваних групах було виявлено ще його 4 варіанти, які мали свої морфологічні особливості, які можуть впливати на клінічну поведінку пухлини і прогноз перебігу захворювання.

Діагноз фолікулярного варіанту ПРЦЗ (ФвПРЦЗ) був встановлений у семи випадках (в обох групах) у пухлинах фолікулярної будови з інвазивним ростом, за присутності ядерних ознак ПРЦЗ (ядерні борозенки, матово-склянні ядра), ПТ та мінімальної кількості папілярних структур (рис.3.6 А).

У трьох діагностованих випадках дифузно-склеротичного варіанту ПРЦЗ (ДсПРЦЗ; виявлено тільки в групі з біомінералізацією) при макроскопічному дослідженні відмічалася щільність тканини вузла і схожість її на рубець. При мікроскопічному дослідженні виявлено виразний склероз у пухлині та присутність значної кількості ПТ (рис. 3.6). У всіх випадках навколо пухлинних вогнищ виявлялися лімфоцитарні інфільтрати. Характерним патологічним тлом для ДсПРЦЗ є аутоімунний тиреоїдит Хашімото.

У двох групах спостереження знаходилися три випадки висококлітинного варіанту ПРЦЗ (ВвПРЦЗ), який характеризувався присутністю великої кількості еозинофільних високих клітин (їх висота перевищувала ширину приблизно в два рази) в пухлинній паренхімі, більшість сосочків були побудовані з цих клітин (рис. 3.6 Г). Вся пухлина побудована з сосочків, кількість стромального компоненту обмежена. У всіх випадках ВвПРЦЗ виявлявся у пацієнтів старшого віку.

Для солідного варіанту ПРЦЗ (СвПРЦЗ) було характерне переважання полів солідного росту у тканині пухлини (більше 50%). Всього було виявлено один випадок СвПРЦЗ, який до того ж мав ознаки патологічної біомінералізації.

Висококлітинний, солідний та фолікулярний варіанти макроскопічно не відрізнялися від класичного варіанта ПРЦЗ.

Максимальні розміри виявлених пухлин в обох досліджуваних групах варіювали від 0,8 до 4,0 см.

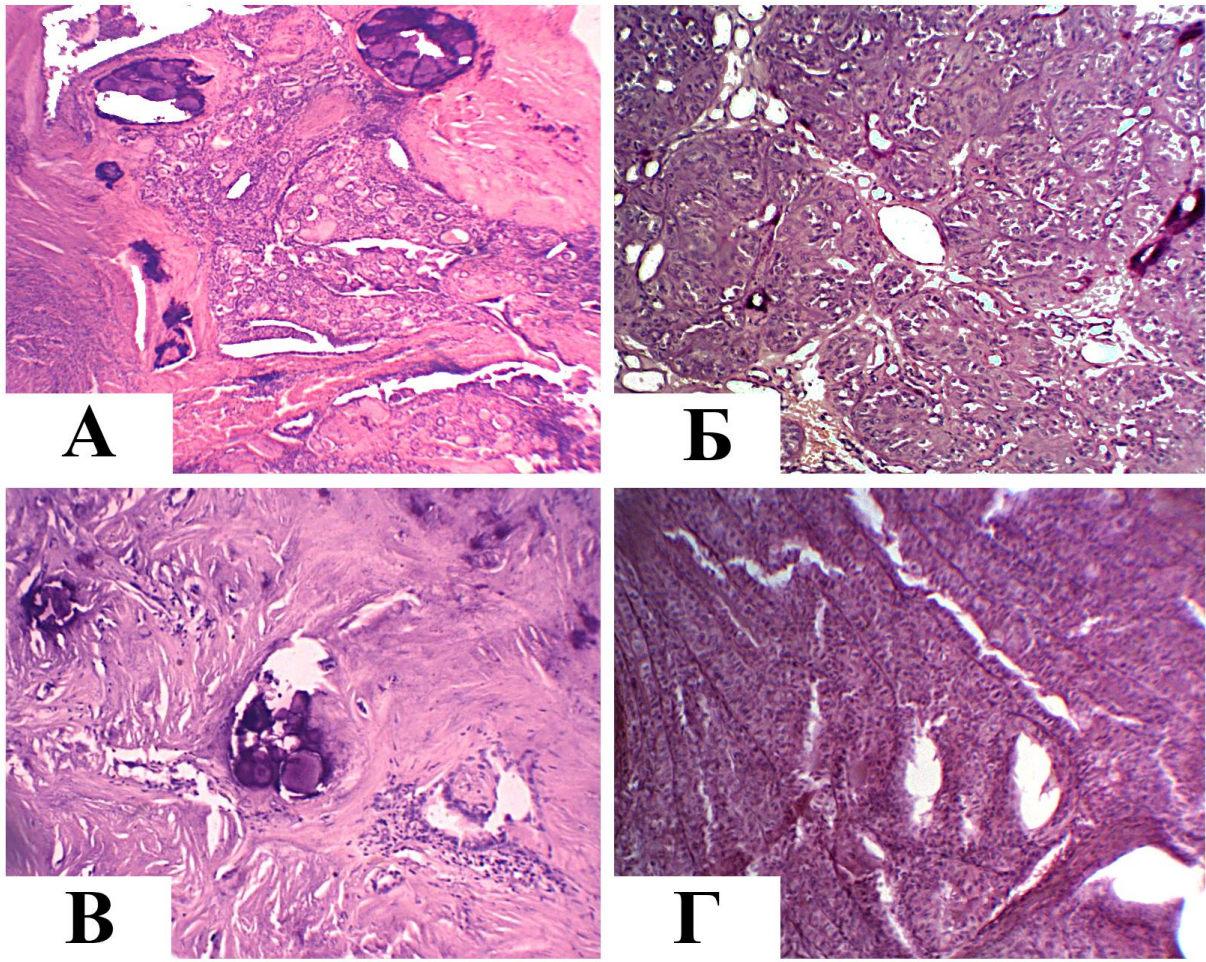


Рисунок 3.6 - Гістологічні варіанти ПРЦЗ. А. ФвПРЦЗ, Б – СвПРЦЗ, В – ДсвПРЦЗ, Г – ВвПРЦЗ. Заб. гематоксилін-еозином. Збільшення x100.

Характерною клініко-діагностичною ознакою для ПРЦЗ є наявність патологічної біомінералізації. Саме за цією ознакою був проведений розподіл пацієнтів у даному дослідженні. І групу пацієнтів (30 осіб) сформували з 27 жінок та 3 чоловіків (9:1), їх середній вік складав 56.93 ± 2.18 років. Макроскопічно біомінералізація в ПРЦЗ виявлялася дрібними вогнищами сіро-білої твердої тканини, яка на розрізі кришиться. У значній частині випадків при макроскопічному дослідженні взагалі не вдається виявляти дрібні кальцифіковані утворення.

Зразки пухлинних тканин пацієнтів І групи відповідали різним гістологічним типам ПРЦЗ: 22 випадків класичного варіанту, 3 випадки дифузно-склеротичного варіанту, по 2 випадки фолікулярного та висококлітинного варіантів і один випадок СвПРЦЗ (табл. 3.2).

Більшість пацієнтів II групи мали класичний гістологічний варіант ПРЦЗ (24 осіб), інші варіанти були представлені 5 випадками фолікулярного варіанта і 1 випадком висококлітинного варіанту ПРЦЗ (табл. 3.3). Серед пацієнтів групи ПРЦЗ без ознак мінералізації середній розмір пухлини складав $1,44 \pm 0,09$ см, у восьми випадках були виявлені метастази в лімфовузлі.

У групі хворих з явищами мінералізації (I група) найбільший розмір пухлини становив $1,84 \pm 0,13$ см, у семи випадках було встановлено наявність метастазів у периферичні лімфатичні вузли. Пацієнти з виявленими метастазами склали окремі підгрупи всередині досліджуваних груп. Всі випадки метастазів характеризувалися ураженням периферичних лімфатичних вузлів, віддалені метастази не були виявлені. У більшості випадків метастатичні вогнища в лімфатичних вузлах зберігали папілярну структуру та супроводжувалися утворенням ПТ. Метастази у випадку невеликих розмірів локалізувалися у субкапсулярних зонах, великі вогнища, як правило, повністю заміщували лімфатичну тканину у лімфовузлах.

Розміри пухлин у хворих з I групи, у яких були наявні метастази, в середньому складали $2,09 \pm 0,2$ см. Максимальні розміри пухлинних вузлів хворих II групи з наявністю метастазування в середньому відповідали $1,31 \pm 0,17$ см. Оскільки при перевірці вибірки на нормальність розподілу за критерієм Шапіро-Вілк було встановлено неправильний розподіл даних, достовірність різниці між показниками досліджуваних груп визначалась за U-критерієм Манна-Уїтні ($p < 0.02$).

Таблиця 3.2 - Клінічна та морфологічна інформація про пацієнтів І серії

№ випадку/ стать/вік	Гістологічний варіант ПРЦЗ	Тип кальцифікації	Розмір пухлини, см	Наявність метастазів у л/в
1/Ж/75	КвПРЦЗ	ПТ/Км	1,5	ні
2/Ж/52	КвПРЦЗ	Км	1,8	ні
3/Ж/49	ДсПРЦЗ	ПТ	2,1	так
4/Ж/65	КвПРЦЗ	ПТ	1,5	ні
5/Ж/55	КвПРЦЗ	См	1,9	так
6/Ж/48	КвПРЦЗ	ПТ	0,8	ні
7/Ж/66	КвПРЦЗ	ПТ	1,2	ні
8/Ж/75	ВвПРЦЗ	ПТ/Км	2,5	так
9/Ж/70	ВвПРЦЗ	Км/ПТ	1,7	ні
10/Ж/72	КвПРЦЗ	ПТ/Вм	1,3	ні
11/Ж/54	КвПРЦЗ	ПТ	1,8	ні
12/Ж/53	КвПРЦЗ	ПТ	2,5	ні
13/Ж/69	КвПРЦЗ	ПТ	2,3	ні
14/Ж/55	КвПРЦЗ	Км	1,7	так
15/Ж/64	КвПРЦЗ	ПТ	2,2	ні
16/Ж/22	КвПРЦЗ	ПТ	2,8	так
17/Ч/47	КвПРЦЗ	ПТ/Км	3,0	ні
18/Ч/63	КвПРЦЗ	ПТ	4,0	ні
19/Ж/54	ФвПРЦЗ	ПТ	0,8	ні
20/Ж/43	КвПРЦЗ	ПТ	1,2	так
21/Ж/38	ДсПРЦЗ	ПТ	2,2	ні
22/Ж/61	СвПРЦЗ	См/Вм	1,5	ні
23/Ж/48	ФвПРЦЗ	ПТ	1,6	ні
24/Ж/47	КвПРЦЗ	ПТ	2,4	так
25/Ж/71	КвПРЦЗ	См/Км/Вм	0,9	ні
26/Ж/46	ДсПРЦЗ	ПТ	1,7	ні
27/Ч/63	КвПРЦЗ	ПТ/См	2,2	ні
28/Ж/66	КвПРЦЗ	ПТ/См	1,7	ні
29/Ж/58	КвПРЦЗ	ПТ/Вм	1,3	ні
30/Ж/59	КвПРЦЗ	См/Вм	1,2	ні

Примітки. *КвПРЦЗ* – класичний варіант папілярного раку; *ФвПРЦЗ* – фолікулярний варіант папілярного раку, *ВвПРЦЗ* – високо клітинний варіант папілярного раку, *ДсПРЦЗ* – дифузно-склеротичний варіант папілярного раку; *СвПРЦЗ* – солідний варіант папілярного раку; *ПТ* – псамомні тільця, *Км* – мінералізація капсули; *См* – стромальна мінералізація, *Вм* – васкулярна мінералізація.

Таблиця 3.3 - Клінічна та морфологічна інформація про пацієнтів II серії

№ випадку/стать/ вік	Гістологічний варіант ПРЦЗ	Розмір пухлини, см	Наявність метастазів у л/в
1/Ж/37	КвПРЦЗ	1,6	ні
2/Ж/65	КвПРЦЗ	1,2	ні
3/Ж/66	ВвПРЦЗ	2,2	ні
4/Ж/51	КвПРЦЗ	0,9	так
5/Ж/68	ФвПРЦЗ	1,2	ні
6/Ж/58	КвПРЦЗ	2,5	ні
7/Ж/53	КвПРЦЗ	1,4	ні
8/Ж/55	КвПРЦЗ	1,8	ні
9/Ж/26	КвПРЦЗ	1,5	ні
10/Ж/61	КвПРЦЗ	1,7	ні
11/Ч/49	КвПРЦЗ	1,2	ні
12/Ч/43	КвПРЦЗ	1,5	ні
13/Ж/59	КвПРЦЗ	0,8	ні
14/Ж/52	ФвПРЦЗ	2,4	ні
15/Ч/54	КвПРЦЗ	1,7	ні
16/Ж/43	ФвПРЦЗ	1,8	ні
17/Ж/43	КвПРЦЗ	2,4	так
18/Ж/54	КвПРЦЗ	1,4	ні
19/Ж/47	КвПРЦЗ	1,0	ні
20/Ж/42	КвПРЦЗ	1,2	так
21/Ж/52	ФвПРЦЗ	1,5	ні
22/Ж/43	ФвПРЦЗ	1,4	ні
23/Ж/64	КвПРЦЗ	1,2	так
24/Ч/65	КвПРЦЗ	1,4	так
25/Ж/52	КвПРЦЗ	0,8	ні
26/Ж/34	КвПРЦЗ	1,4	так
27/Ч/44	КвПРЦЗ	1,2	так
28/Ж/72	КвПРЦЗ	0,8	так
29/Ч/43	КвПРЦЗ	1,4	ні
30/Ж/66	КвПРЦЗ	1,7	ні

Примітки. **КвПРЦЗ** – класичний варіант папілярного раку; **ФвПРЦЗ** – фолікулярний варіант папілярного раку, **ВвПРЦЗ** –висококлітинний варіант папілярного раку.

Патологічна мінералізація тканини ПРЦЗ в досліджуваній групі проявлялась у вигляді ПТ (24 випадки), кальцифікації стромы і капсули пухлини (12 випадків), мінералізації судин (5 випадків) (рис. 3.7).

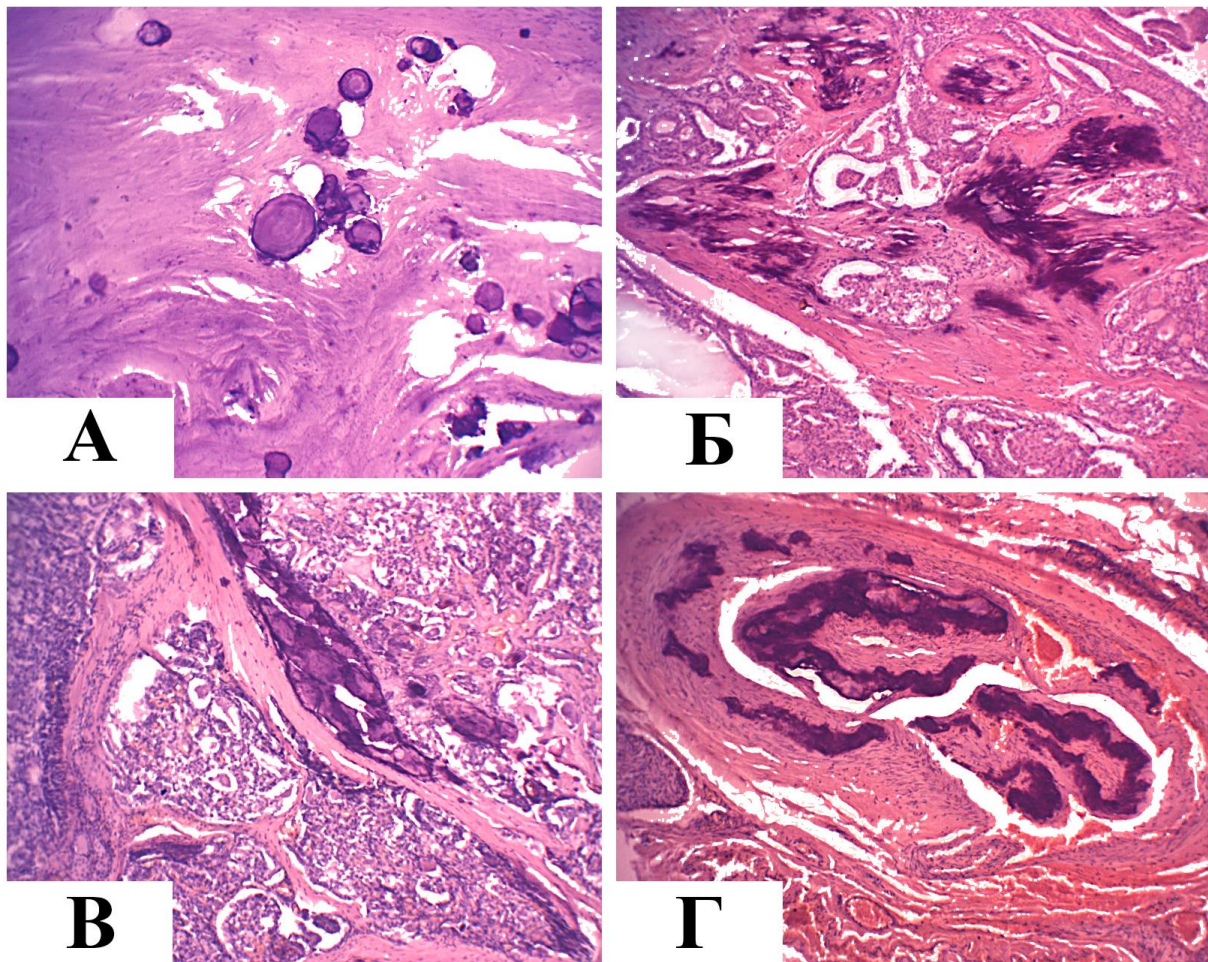


Рисунок 3.7 - Типи біомінералізації ПРЦЗ. А - ПТ в ДсвПРЦЗ; Б – стромальна мінералізація; В – біомінералізації капсули; Г – васкулярна біомінералізація. Всі препарати забарвленні гематоксилін-еозином, зб. x100.

Вміст сполук кальцію у біомінеральних утвореннях ЩЗ верифікувався за допомогою гістохімічної реакції фон Коса та забарвленням алізариним червоним S за МакГі в модифікації Даля (рис. 3.8) .

Псамомні тільця є важливою діагностичною ознакою ПРЦЗ. Морфологічно представляють собою округлі мінеральні утворення. ПТ слід відрізнити від мікросферолітів, що також є округлими або сферичними, проте не мають ламелярної (слоїстої) структури.

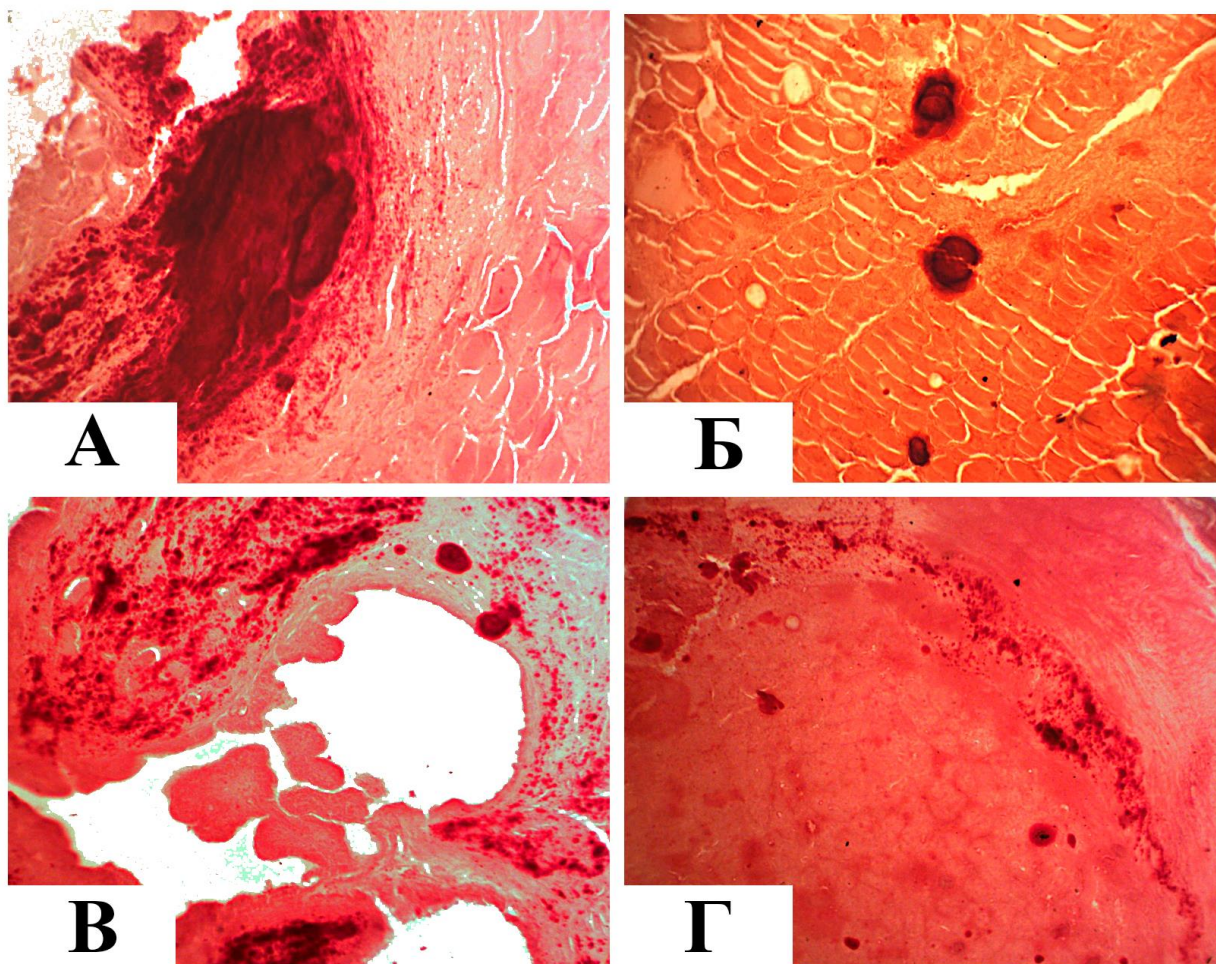


Рисунок 3.8 - Верифікація присутності сполук кальцію в біомінеральних утвореннях ПРЩЗ. А. 1 – грубі відкладення кальцифікованого матеріалу в капсулі, 2 – тканина ЩЗ, Б. 1 – псамомні тільця, оточені тканиною ЩЗ фолікулярної будови, 2 – «кальцієве» гало навколо ПТ; В. 1 – відкладення кальцифікатів в стромі сосочків ПРЩЗ, 2 – ПТ, Г. 1 – відкладення кальцієвих біомінералів у капсулі вузла. Забарвлення алізариновим червоним. Зб. х 100.

ПТ мали переважно внутрішньопухлинну локалізацію в стромі сосочків, рідше в субкапсулярній частині пухлинного вузла (20 випадків). Поза пухлиною (в деяких випадках спостерігалось поєднання внутрішньо- і позапухлинної локалізації) ПТ можна було виявити у міжфолікулярній сполучній тканині (у перетинках) (4 випадки), лімфатичних вузлах (3 випадки), контрлатеральних частках ЩЖ (1 випадок) (рис. 3.8 Б). Нами було проведено морфометричне дослідження ПТ у цих 24 випадках (табл. 3.4). Для вимірювання відбиралися ПТ з явною ламелярною структурою та округлої чи овальної форми, фіксувалися найбільший діаметр утворень, товщина шару, ширина «кальцієвого гало» навколо ПТ.

Таблиця 3.4 - Морфометричне дослідження ПТ

№ випадку, стать, вік	Розмір ПТ		
	мкм	N (заміри)	σ
1/Ж/75	62,88	6	4,41
3/Ж/49	80,84	1	-
4/Ж/65	54,03	6	2,11
6/Ж/48	51	3	2,45
7/Ж/66	63,5	2	5,5
8/Ж/75	58,4	1	-
9/Ж/70	68,31	1	-
10/Ж/72	63,54	4	2,74
11/Ж/54	78,16	1	-
12/Ж/53	65,23	1	-
13/Ж/69	53,62	6	7,77
15/Ж/64	56,29	2	2,56
16/Ж/22	70,59	3	2,35
17/Ч/47	66,65	3	1,46
18/Ч/63	45,19	2	3,63
19/Ж/54	181,87	1	-
20/Ж/43	62,99	6	4,41
21/Ж/38	108,82	1	-
23/Ж/48	136,57	1	-
24/Ж/47	102,88	1	-
26/Ж/46	155,37	3	10,84
27/Ч/63	39,79	6	6,67
28/Ж/66	54,4	3	3,86
29/Ж/58	78,76	5	13,44
Загалом	77,49		7,24

Кількість виявлених ПТ у кожному випадку варіювала від одного до кількох десятків. Діаметр ПТ також знаходився у широкому діапазоні значень – від 39,79 до 181,87 мкм. У більшості випадків вдавалося провести вимірювання товщини шару (ламели) у ПТ (рис.3.9 А, В, Г), вона коливалася від 3,5 до 9,3 мкм. При забарвленні зразків мінералізованих ПРЦЗ навколо ПТ виявляється «ореол» або «гало» барвника меншої інтенсивності забарвлення, ніж основне тіло ПТ. Дифузія барвника навколо ПТ нерівномірна, але коливається у відносно вузьких межах і має направлене відцентрове поширення у всі сторони (рис. 3.9 В). Ширина «гало» коливається в межах 4,93 – 9,43 мкм, в середньому складаючи $7,89 \pm 0,59$ мкм (рис. 3.9 Г).

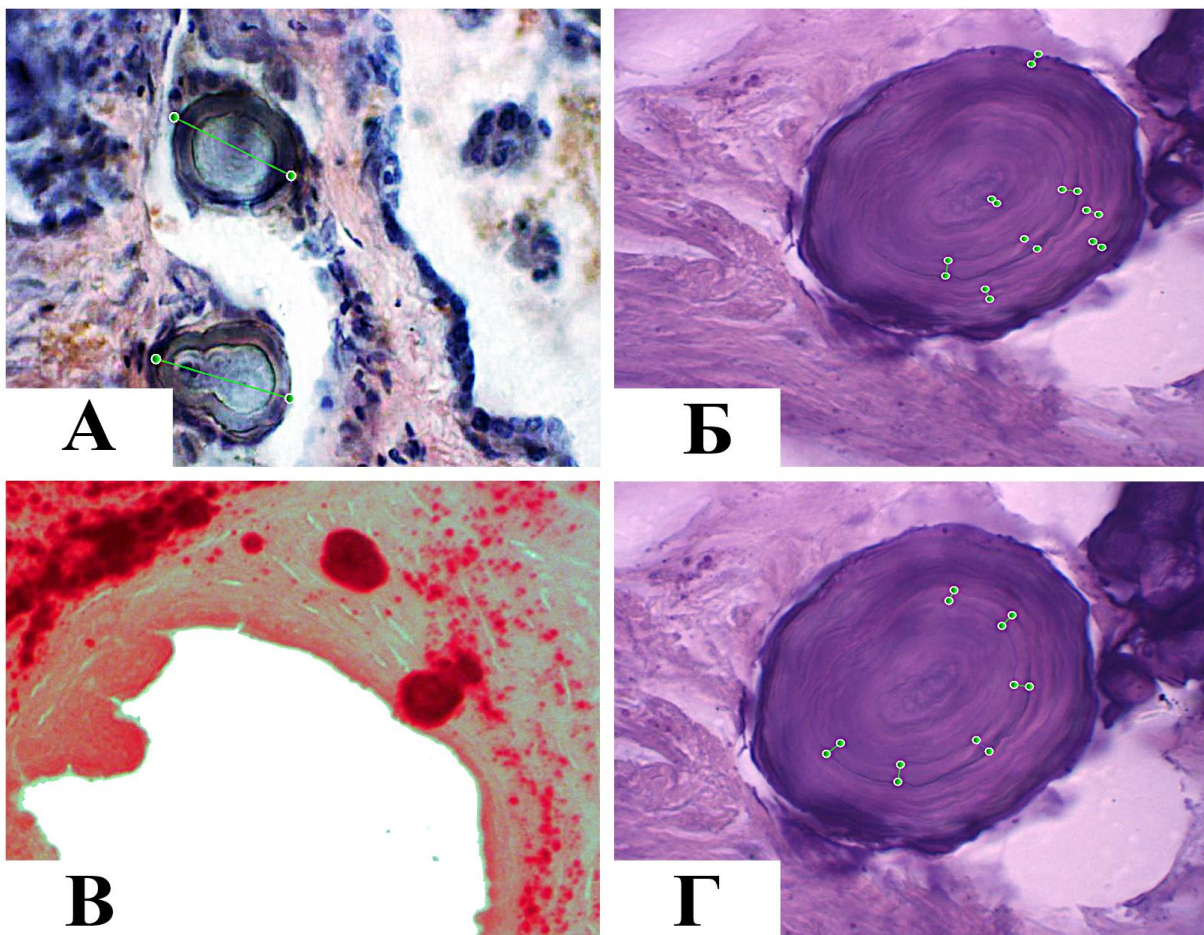


Рисунок 3.9 - Морфометричне дослідження ПТ. А. Типове вимірювання діаметра ПТ, заб. гематоксилін-еозином, зб. х100; Б. Типове вимірювання шарів (ламел) в ПТ, заб. гематоксилін-еозином, зб. х400; В. 1 – «Кальцієве гало» навколо ПТ, заб. алізариновим червоним S, зб. х100, Г. Типове вимірювання одного шару (ламели) в ПТ, заб. гематоксилін-еозином, зб. х400.

Таблиця 3.5 - Морфометричне дослідження ПТ

Показник	Значення
Діаметр ПТ	77,49±7,24
Ширина ламелли	7,08±0,91
Ширина гало	7,89±0,59

Окрім ПТ, при гістологічному дослідженні ПРЦЗ виявлялися грубі відкладення сполук кальцію в оточуючих тканинах та в стінках судин (рис. 3.7).

Патологічна біомінералізація строми і капсули пухлини (12 випадків) (рис. 3.10. Б, В) вважається одним і тим самим процесом [41]. Дійсно, чітку межу провести між цими явищами важко, особливо у випадках поширення кальцифікації з капсули на сполучнотканинні перетинки в пухлині. Як правило, мінералізація в капсулі не є монолітною, а складається з окремих «рукавів» чи пластин, що обмежують пухлинні маси, знаходячись у контакті з ними. Стромальна мінералізація у великих перетинках може формувати великі, грубі кальцифікати з нерівними контурами. Іноді всередині стромального кальцифікату можна виявити ПТ (рис. 3.10 Б). Часто у процесі патологічної біомінералізація залучаються більш дрібні сполучнотканинні перетинки, утворюючи суцільні конгломерати, що зливаються (рис. 3.10 В). На більш детальних мікрофото навколо крупних фрагментів кальцифікатів («брил») спостерігається поширення дрібних піскоподібних вогнищ мінералізації. Окрім ПТ, всередині сосочків ПРЦЗ часто виявляється розвиток масивних неструктурованих кальцифікатів (рис. 3.10 Г).

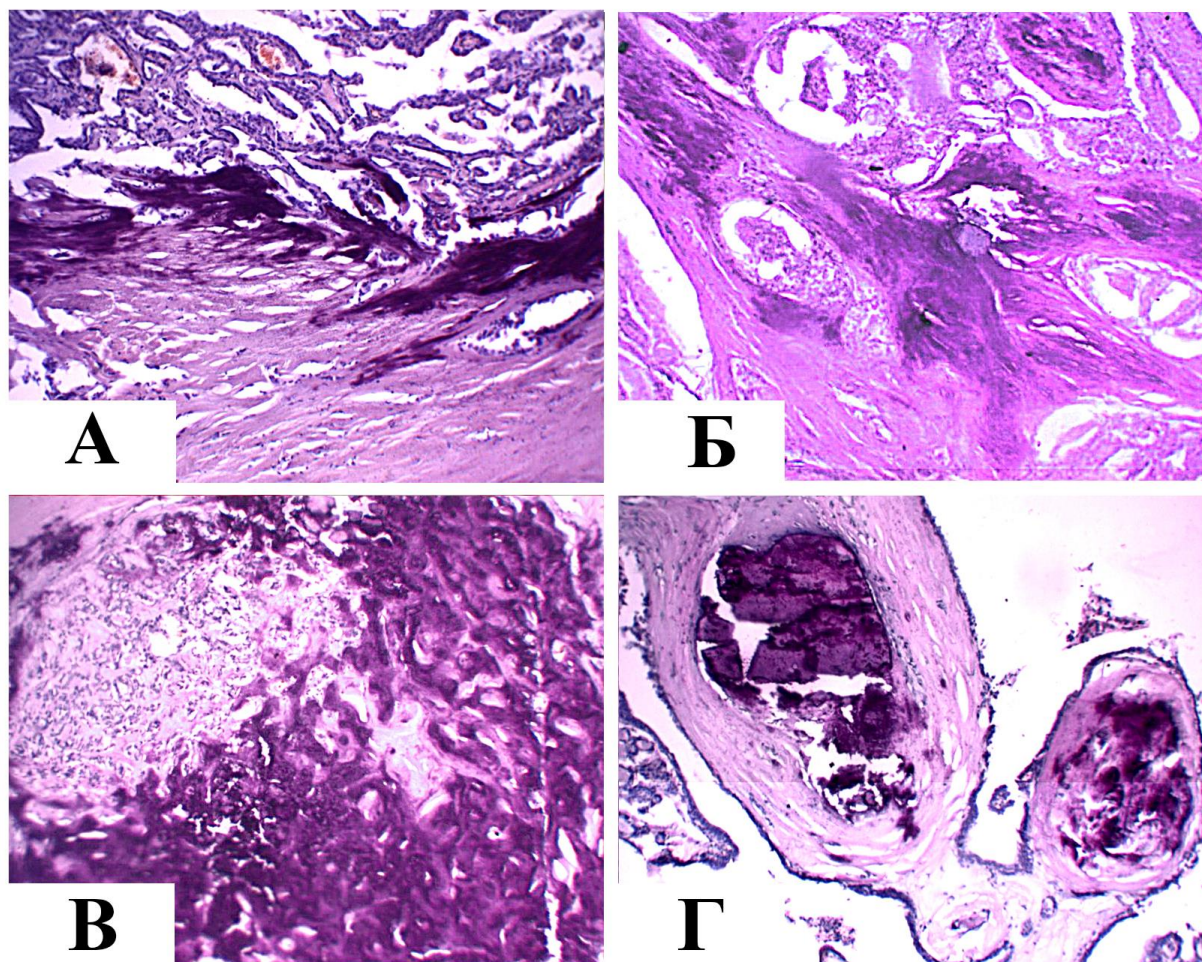


Рисунок 3.10 - Мінералізація стромы та капсулы ПРЦЗ. А. – мінералізація капсулы пухлины; Б – ПТ всередині стромальної мінералізації; В – масивна стромальна мінералізація за типом «повені»; Г – утворення масивних кальцифікатів у стромі сосочків. Заб. гематоксилін-еозин, зб. x100.

Важливим проявом патологічної біомінералізації в тканині ПРЦЗ є кальцифікація стінок судин. Цей феномен менш поширений у порівнянні з ПТ та стромальною кальцифікацією, але є стійким і повторюваним у різних зрізах і випадках. Васкулярній мінералізації підлягають переважно судини більшого калібру, частіше венозні. У цих судинах патологічна мінералізація переважно уражує внутрішній і середній шар. Проте також патологічна біомінералізація відмічається і в дрібних судинах (рис. 3.11). Стінка капілярів, як правило, уражується повністю, що, очевидно, призводить до їх запусівання. Деякі автори припускають зв'язок біомінералізації ендотелію судин різних раків і схильністю цих пухлин до метастазування в кістки [45].

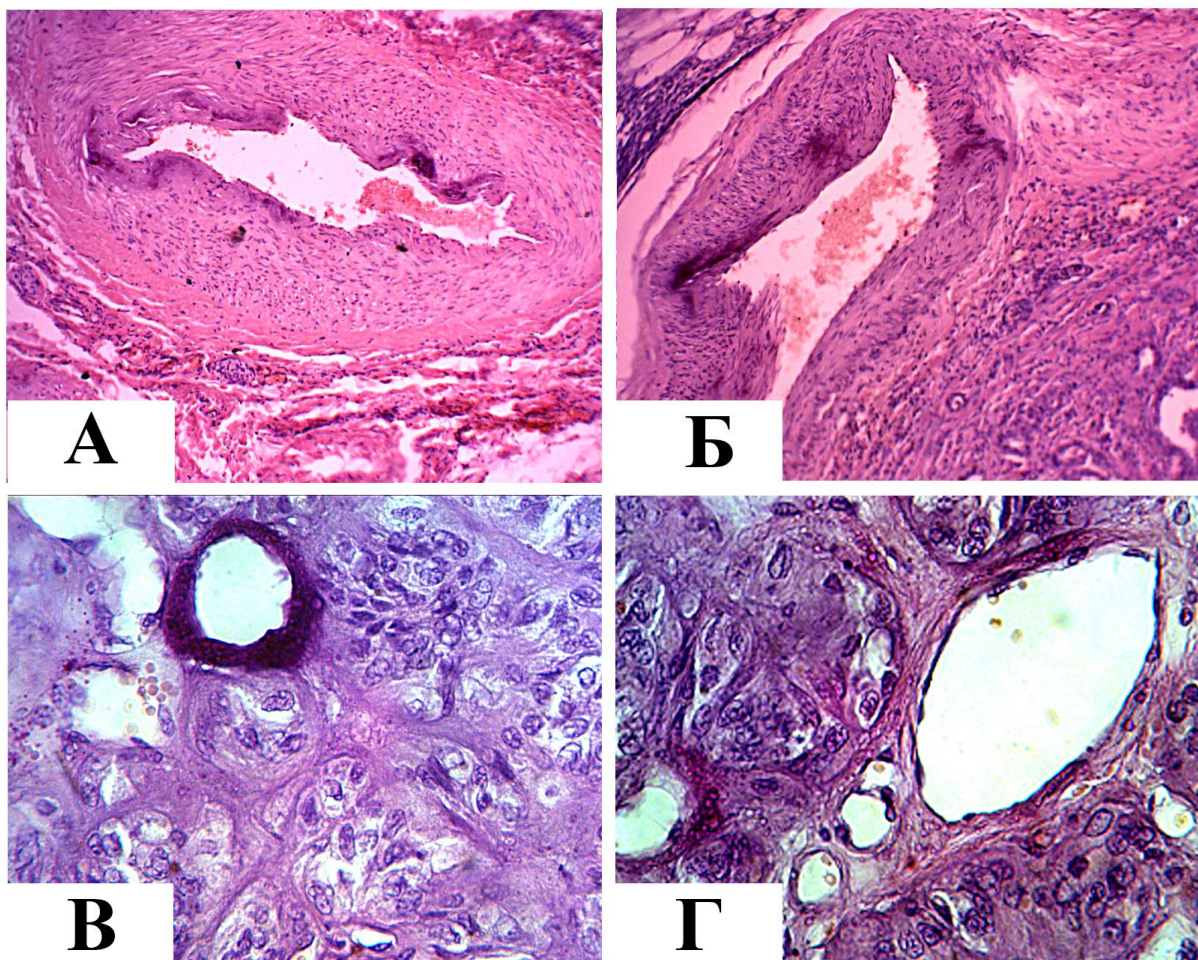


Рисунок 3.11 - Патологічна мінералізація в судинах ПРЦЗ. А – ураження внутрішнього шару артеріальної судини, Б – ураження середнього шару судини. Зб. x100. В – повна кальцифікація дрібної судини, Г – початок розвитку біомінералізації у гемокапілярі. Зб. x 400. Забарвлення гематоксилін-еозином.

Отже, найбільшу спорідненість до розвитку біомінералізації виявлена у дифузно-склеротичного варіанту ПРЦЗ, у інших гістологічних варіантів цього раку залежність відсутня. Частота виявлення біомінералізації ПРЦЗ у чоловіків нижча, ніж у жінок. Основними типами біомінералізації ПРЦЗ є псамомні тільця, стромальна та васкулярна біомінералізація. Забарвлення біомінералізованих об'єктів за допомогою алізарінового червоного показує, що вони складаються зі сполук кальцію, а ПТ оточені «кальцієвим» гало.

3.2.2. Морфологічний і фізико-хімічний аналіз мінеральної складової тканини ПРЦЗ

Патологічна мінералізація при ПРЦЗ була представлена сполуками кальцію, що підтверджувалося забарвленням препаратів за допомогою алізаринового червоного (рис.3.7) та проведенням СЕМ з рентгенівським мікроаналізом (SEM/EDX). SEM/EDX була виконана для мінералізованої капсули пухлинного вузла та псамомних тілець (рис.3.12). На електронних сканограмах мінералізовані елементи виявлялися у вигляді об'єктів біло-сірого кольору з ознаками деструкції у вигляді фрагментації та тріщин (артефактне пошкодження матеріалу при зрізанні зразків). Мінеральний компонент капсули вузла був пов'язаний із сполучнотканинним компонентом, в одних місцях розшаровуючи волокна, в інших плавно переходячи в навколишню строму. При СЕМ тканини ПРЦЗ ПТ локалізувалися в стромі пухлинних сосочків, оточуючій сполучній тканині. Було виявлено, що більшість ПТ мали розміри 40-80 мкм, ритмічну (шарувату) структуру, як правило залягають в округлих ложах, вірогідно, в просвітах кровоносних і/або лімфатичних судин (рис.3.12). Рентгенівські дифрактограми мінералізованих компонентів капсули та ПТ показують подібний хімічний склад і співвідношення кальцію та фосфору.

Згідно з даними СЕМ, мінералізований матеріал депозитів складався з різнорозмірних частинок довільної форми з ознаками крихких зламів по краях. У ряді випадків спостерігалися великі частки, що представляють собою подобу зліпка (або відбитка) з поверхні м'яких тканин залози і повторюють їх форму (рис. 3.13 А, Б; Thyroid 13 і Thyroid 14). З наведених знімків помітно, що біомінерал утворював тверду оболонку (кірку) або «шкаралупу» з гладкою чи складчастою поверхнею на поверхні залози. Товщина такої «шкаралупи» в деяких випадках мала характерний розмір (5-10 мкм). Такі мінералізовані «шкаралупи» очевидно співвідносяться з капсулою (оболонкою) пухлинного вузла.

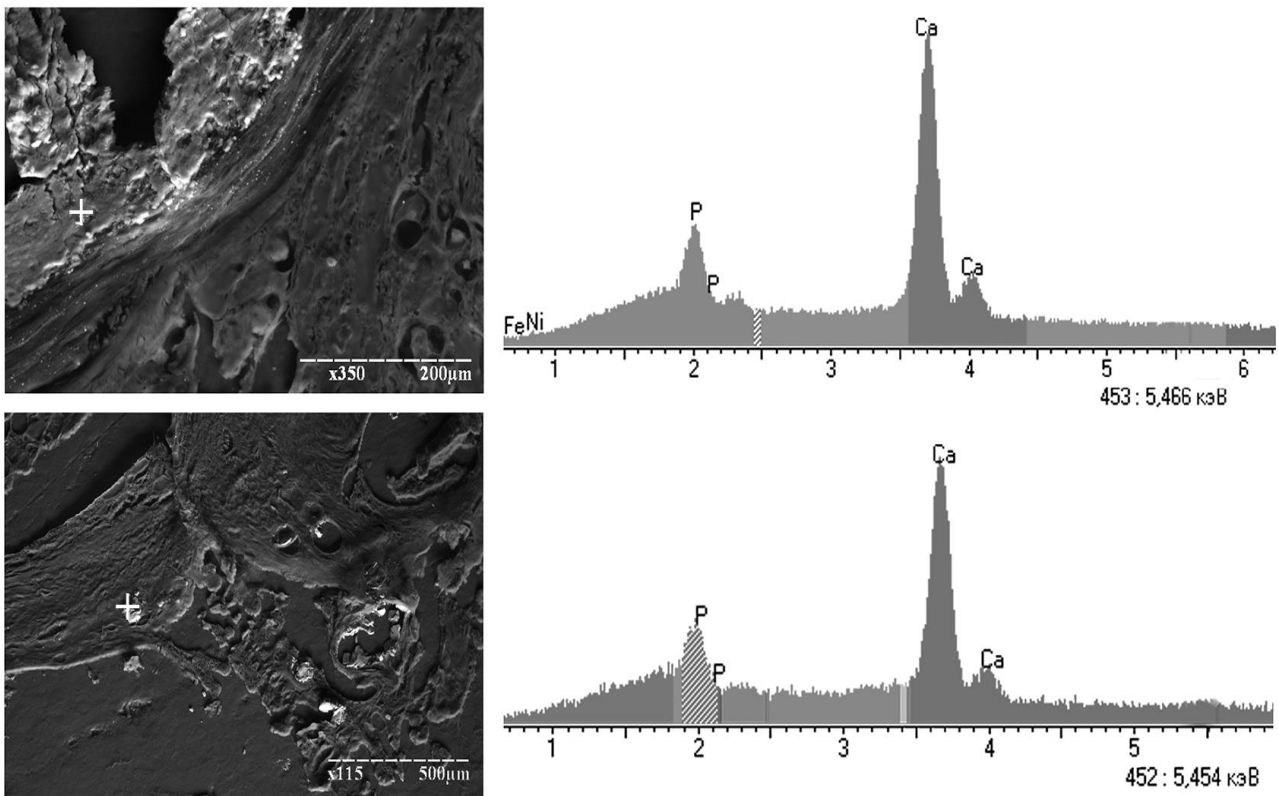


Рисунок 3.12 - Скануюча електронна мікроскопія з рентгенівським мікроаналізом. Верхній ряд: капсула пухлини та рентгенівська дифрактограма мінералізованої тканини (5/Ж/55); Нижній ряд: ПТ та рентгенівська дифрактограма мінерального компонента (3/Ж/49). Білим хрестиком відмічені точки проведення мікроаналізу. Збільшення та маркер вказані у правому нижньому куті мікрофотографії.

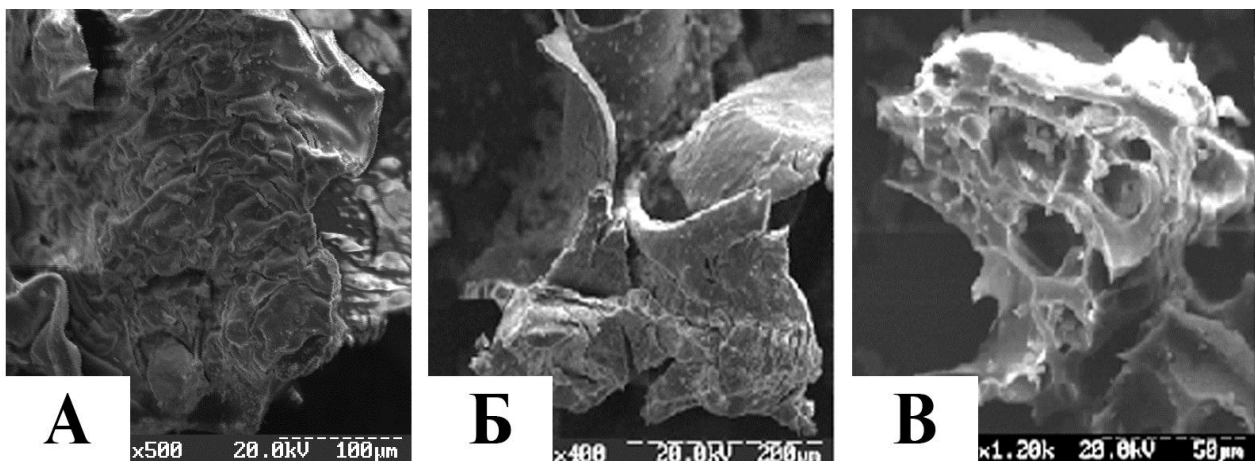


Рисунок 3.13 - СЕМ біомінеральних відкладень ЩЖ після низькотемпературного спалювання (200°C). А – біомінеральний «зліпок» з тканини залози, Б – «шкаралупа» або мінералізована оболонка, В – «ніздрювата» структура біомінералу ЩЗ.

Значний інтерес представляє визначення переважної кристалографічного орієнтування мінералу щодо поверхні залози [49]. У деяких випадках при великих збільшеннях зламів спостерігалася пористість (губчаста, «ніздрювата» структура) мінеральних відкладень (рис. 3.13 В, Thyroid 16), що знаходить свої відповідники в гістологічному дослідженні (рис. 3.9 В).

У EDX спектрах, крім основних ліній Ca і P, часто присутні слабкі лінії S, K, Cl і деяких інших елементів. Співвідношення інтенсивностей ліній Ca і P близьке до такого, яке характерне для апатиту $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (1,67 ат.%). Хоча розкид значень досить великий і залежить від вибору точки накопичення сигналу.

Рентгенівські дифрактограми кальцифікатів (рис. 3.14) характеризуються розмитими лініями, як частої перекриваються. Фазовий склад зразків в більшості випадків представлений виключно апатитом з різним ступенем кристалічності. У деяких деяких випадках (рис. 3.14 А) виявляються слабкі ознаки другої фази - β ТКМФ (трікальціймагнійфосфат). На багатьох дифрактограмах у районі $2\theta \sim 21-22^\circ$ видно гало (рис. 3.14 Б), характерне для матеріалу кювети, яке може бути викликане малою кількістю зразка, які покривають лише центральну частину кювети. Для більшості зразків оцінка розмірів кристалітів по Шеррер [206] в напрямку нормалі до площини (002) дає розкид значень від 14 до 30 нм.

Дані ІЧ спектроскопії добре узгоджуються з наведеними вище результатами структурного аналізу і підтверджують апатитову природу біомінералів. Крім того, ІЧ спектри (рис. 3.15) демонструють смуги поглинання, які відповідають карбонатним заміщенням у структурі апатиту. Виявлений карбонатний апатит має переважно ознаки В-типу, тобто часткового заміщення фосфат-іонів карбонат-іонами (пік поглинання $870-875\text{ cm}^{-1}$) [206].

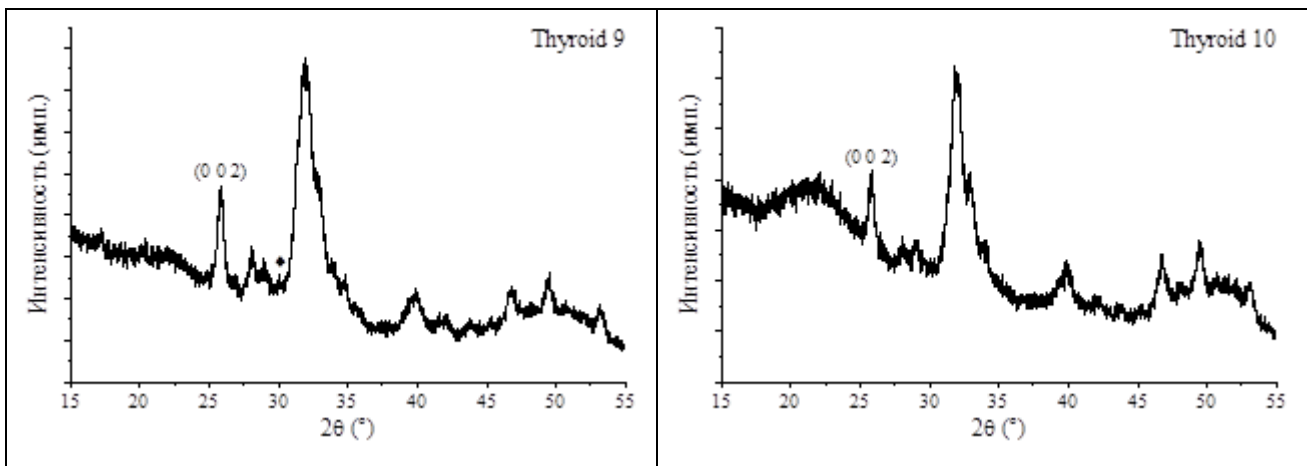


Рисунок 3.14 - Типові дифрактограми біомінеральних депозитів ЩЗ (символом \blacklozenge позначений основний пік β ТКМФ, індексами hkl (002) відмічена лінія апатиту, з-за розширення якої оцінювалися розміри кристалітів).

Дані ПЕМ і ЕД, у порівнянні з результатами описаних вище методів, відрізняються більшою різноманітністю і допускають деякі варіації трактувань. Проте, ЕД впевнено підтверджує наявність апатиту у всіх досліджених депозитах ЩЗ. Згідно ПЕМ кристали апатиту можуть бути приблизно монодисперсними або частіше полідисперсними; картини ЕД здебільшого полікристалічні, хоча є особливості, які властиві картинам дифракції від окремих монокристалів. У ряді випадків очевидне виражене орієнтування кристалічних частинок щодо підкладки тримача зразків.

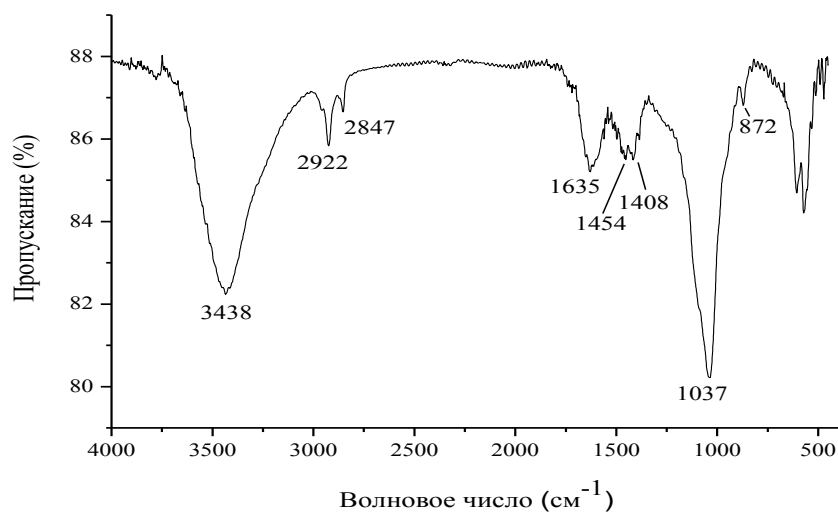


Рисунок 3.15 - Типовий ІЧ спектр патологічного біомінерала ЩЗ.

Мікрофотографія на рис. 3.16 А демонструє високу ступінь полідисперсності кристалів патологічних біомінералів ЩЗ. Відповідна картина мікродифракції (рис. 3.16 Б) також характерна для матеріалу різної дисперсності, коли дрібні кристали дають розмите кільце (гало), а відносно великі - окремі відображення, властиві для ЕД на монокристалах. Гало на електронограмі має розриви, що свідчить про деяку орієнтованість (текстурування) відражаючих кристалітів. Одиночним рефлексам (002) відповідають дрібні розмиті відображення на кільцях того ж радіуса. В іншому випадку (рис. 3.17) на електронно-мікроскопічному зображенні помітно великі кристали (до сотень нанометрів) в оточенні порівняно маленьких кристалічних частинок.

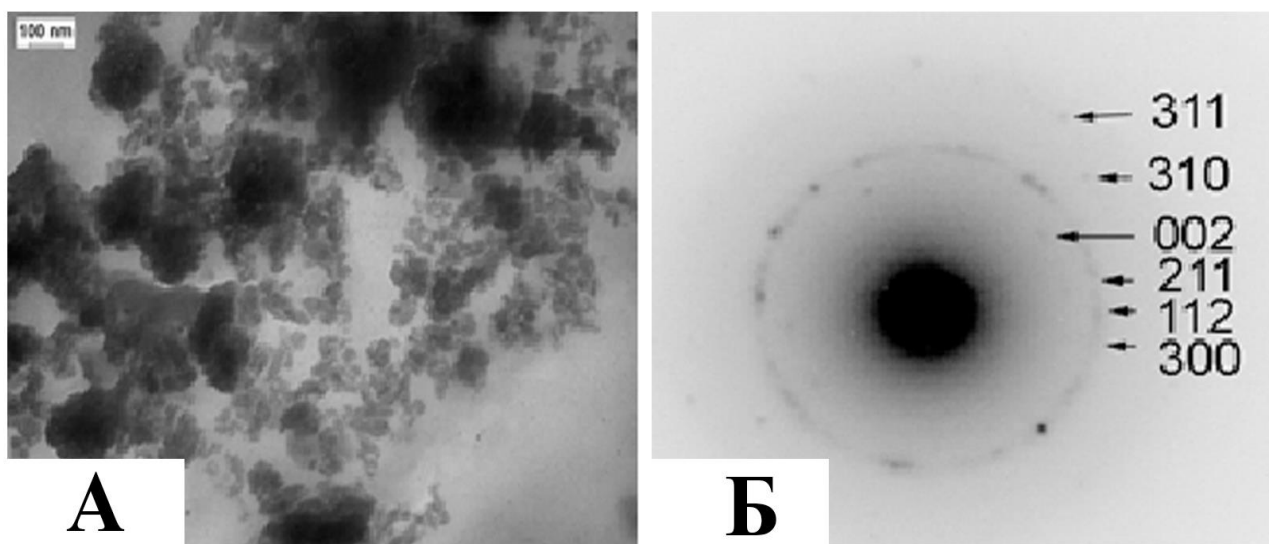


Рисунок 3.16 - Просвічуюча електронна мікроскопія нанокристалів (А) і картина ЕД (Б) зразка біомінерального утворення (Thyroid 13).

На рис. 3.17 А представлений випадок дрібнодисперсних частинок апатиту. Є ознаки переважного орієнтування: на електронно-мікроскопічному зображенні (рис. 3.15 Б) видно ланцюжки кристалів, на електронограмі - чергуються розриви і потовщення дифракційних кілець.

Представлені дані демонструють широке розмаїття розмірів, форми і орієнтації кристалів кальцифікатів ЩЗ. Вони підтверджують їх фазову належність до апатитів кальцію.

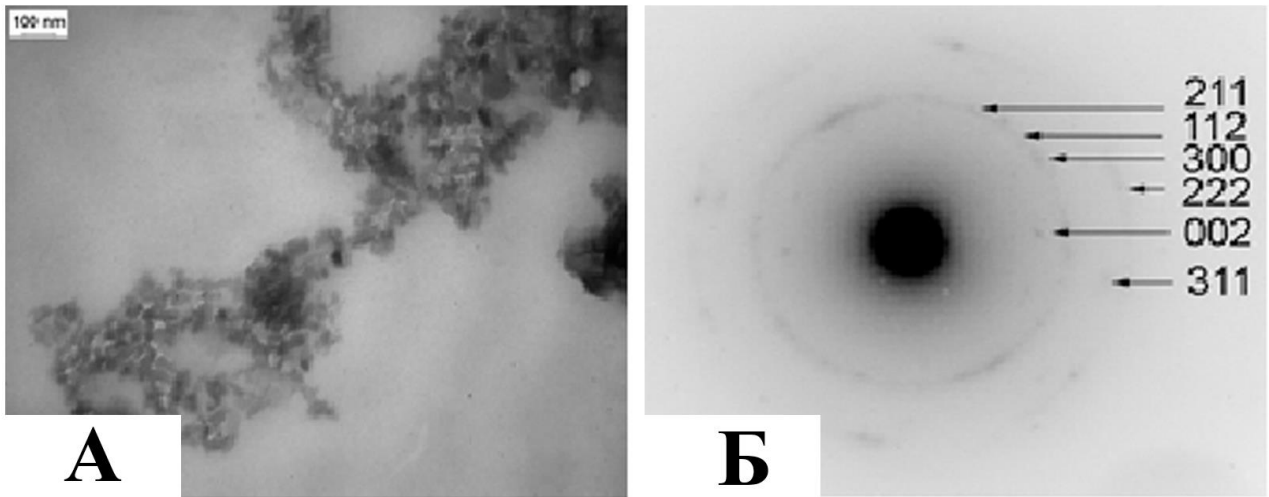


Рисунок 3.17 - Просвічуюча електронна мікроскопія нанокристалів (А) і картина ЕД (Б) зразка біомінерального утворення (Thyroid 24).

Оскільки дослідження методами ПЕМ і ЕД не вимагають великої кількості матеріалу проби (в порівнянні з рентгенівською дифракцією), це дозволило провести аналіз патологічних біомінералів різної величини і локалізації. Також результати дослідження дали можливість зрозуміти структурні та морфологічні особливості біомінералів у зв'язку з їх місцем локалізації в патологічному утворенні або ЩЗ в цілому.

3.3. Імуногістохімічне дослідження папілярного раку щитоподібної залози за умов наявності та відсутності біомінералізації

Для вивчення проліферативної активності пухлинних клітин у ПРЦЗ застосовувалося імуногістохімічне дослідження експресії ядерного білка Ki-67. Забарвлення ядер хромогеном означало початок поділу (фази премітотичної підготовки - G₁, S або G₂ фази) або стан поділу (M фаза) клітини. Таким чином, дослідження експресії білка Ki-67 дозволяє оцінити увесь проліферативний потенціал пухлинної тканини ПРЦЗ.

При проведенні імуногістохімічної реакції ми виявили, що експресія Ki-67 у тканині ПРЦЗ з проявами біомінералізації у всіх випадках показувала різну інтенсивність активності білка Ki-67 (кількість (n) позитивно-забарвлених ядер клітин >1%) (табл. 3.6). Кількість проліферуючих клітин у пухлинній тканині ПРЦЗ у всіх випадках перевищувала кількість таких же клітин у оточуючій не пухлинній тканині ЩЗ. Серед досліджуваних випадків ПРЦЗ у 6 (20%) реакцію вважали слабкопозитивною (1%<n<10%). Окремі випадки мінералізованого ПРЦЗ на перший погляд мали високу проліферативну активність, але при дослідженні на великому збільшенні (x400) виявлялося, що частину проліферуючих клітин складають фібробласти, лімфоцити та інші клітинні елементи пухлинного мікрооточення. Особливо яскраво це помітно у лімфатичних вузликах (рис 3.18), де експресія Ki-67 найбільш виразно проявляється у центрах розмноження. 18 випадків ПРЦЗ (60%) характеризувалися помірнопозитивною реакцією (10%<n<20%). У 6 випадках (20%) в ядрах пухлинних клітин була визначена сильнопозитивна імуногістохімічна реакцію Ki-67 (20%<n<100%).

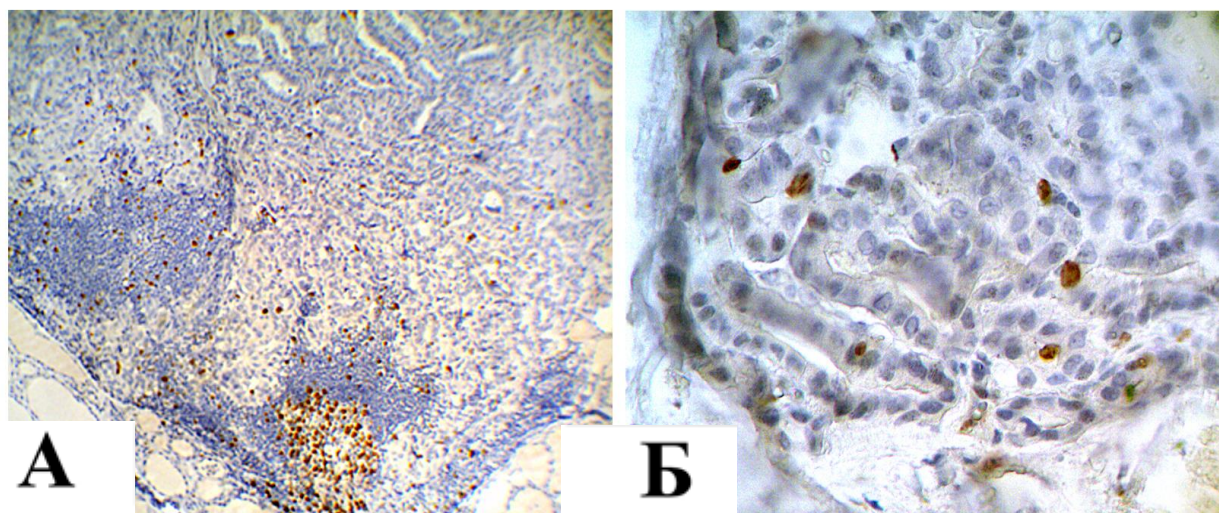


Рисунок 3.18 - Імуногістохімічне дослідження експресії білка Кі-67 в тканині ПРЦЗ з явищами біомінералізації. А – експресія Кі-67 в переважно лімфоцитах, слабка реакція у пухлинних клітинах; Б – помірнопозитивна реакція Кі-67 в тканині ПРЦЗ. Дофарбовування гематоксилином Майєра. Збільшення x400.

Таблиця 3.6 - Експресія білка Кі-67 в клітинах ПРЦЗ I групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	0
	1	0	
	2	0	
Слабкопозитивна	3	3	20
	4	3	
Помірнопозитивна	5	6	60
	6	12	
Сильнопозитивна	7	3	20
	8	3	

Оцінка імуногістохімічної експресії Кі-67 у тканині ПРЦЗ II групи показала позитивну імуногістохімічну реакцію білка Кі-67 у всіх досліджуваних випадках (табл. 3.7). Пухлинна тканина за своїм проліферативним потенціалом переважає над навколишніми інтактними тканинами ЩЗ. Кі-67-позитивні клітини локалізувалися в пухлинних псевдофолікулах та сосочках (рис 3.18 Б). Кількість випадків із слабо позитивним забарвленням ядер пухлинних клітин ПРЦЗ без явищ мінералізації

дорівнювало 6 (20%), що відповідало такому ж показнику I групи. Тільки у 3 випадках ПРЦЗ (10%) відзначалась сильнопозитивна імуногістохімічна експресія Кі-67 (рис 3.19 А). Основну масу у II групі ПРЦЗ складала зразки з помірнопозитивною реакцією - 21 (70%) (табл. 3.7).

Результати бальної оцінки імуногістохімічного дослідження експресії Кі-67 в тканині ПРЦЗ за наявності ($5,6 \pm 0,25$) та відсутності ($5,23 \pm 0,26$) явищ біомінералізації, показують факт відсутності достовірної різниці рівнів експресії цього маркера проліферації ($p > 0,22$).

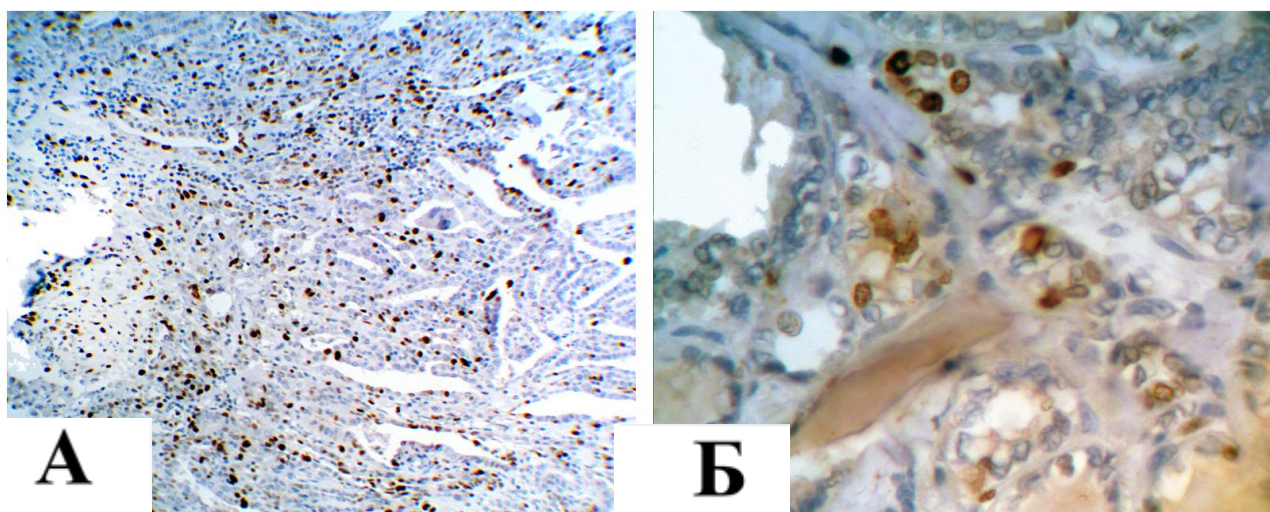


Рисунок 3.19 - Імуногістохімічне дослідження експресії Кі-67 в тканині ПРЦЗ без біомінералізації. А – помірна експресія білка Кі-67, зб. х400; Б – сильнопозитивна реакція Кі-67 в ядрах пухлинних клітин ПРЦЗ, зб. х100. Дофарбовування гематоксиліном Майєра.

Таблиця 3.7 - Експресія білка Кі-67 в ядрах клітин ПРЦЗ II групи

Експресія білка	Сума балів	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	0
	1	0	
	2	0	
Слабкопозитивна	3	4	20
	4	2	
Помірнопозитивна	5	12	70
	6	9	
Сильнопозитивна	7	1	10
	8	2	

Сімейство білків bcl-2 складають 17 клітинних білків, які мають широкий спектр активності відносно апоптотичних процесів. Субсімейство близьких до bcl-2 за морфологією білків (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w та ін.) пригнічують апоптоз, в той час як білки субсімейств Вах и ВНЗ активують апоптотичні процеси. Функціональна різниця між близькими за структурою молекулами цього сімейства білків полягає у впливі на вивільнення цитохрому С з мітохондрій. Вах та близькі до нього білки формують канали в мембрані мітохондрій, через які в цитоплазму клітини виходить цитохром С. Білки-антагоністи bcl-2 та bcl-XL пригнічують вивільнення цитохрому С шляхом зниження здатності білка Вах до формування каналів. Крім того, Bcl-2 та Bcl-XL здатні безпосередньо зв'язувати цитохром С і витіснити його з апоптосоми, попереджуючи таким чином активацію каспаз.

Для білка Вах характерна цитоплазматична локалізація. Експресія гену Вах регулюється білком р53, що показує його залучення до р53-опосередкованого апоптозу [158].

При оцінці імуногістохімічної реакції на білок Вах у тканині ПРЩЗ зразків І групи позитивну імуногістохімічну реакцію була наявна у всіх досліджуваних випадках (табл. 3.8). Пухлинні клітини характеризуються інтенсивною експресією проапоптотичного білка Вах: тканинні структури пухлини (сосочки, псевдофолікули, солідні ділянки) та окремі ракові клітини чітко забарвлюються, що особливо помітно на фоні інтактних тканин ЩЗ та стромального компоненту (рис 3.20 А). Основна маса зразків – 20 (66,67%) мала сильнопозитивну експресію Вах, 8 випадків мали помірну експресію цього білка (26,6%) (рис 3.20 Б). Лише у 2 випадках ПРЩЗ (6,67%) відзначалась слабкопозитивна імуногістохімічна експресія Вах.

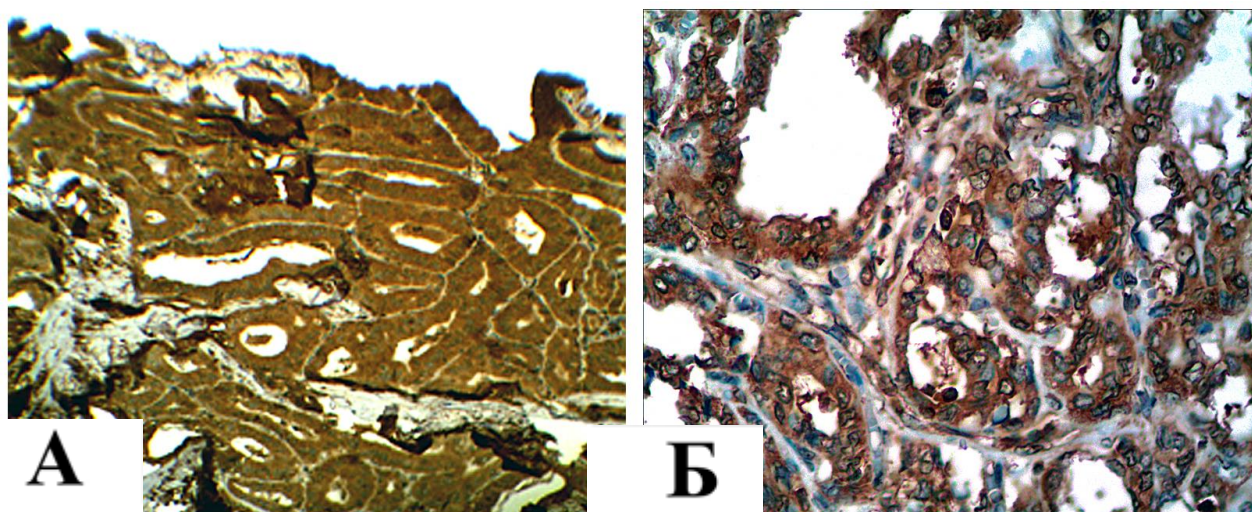


Рисунок 3.20 - Імуногістохімічне дослідження експресії *vax* в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка *vax*, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція *vax* у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра.

Таблиця 3.8 - Експресія білка *vax* в цитоплазмі клітин ПРЦЗ I групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	0
	1	0	
	2	0	
Слабкопозитивна	3	0	6,67
	4	2	
Помірнопозитивна	5	2	26,67
	6	6	
Сильнопозитивна	7	8	66,67
	8	12	

Дослідження рівня експресії *vax* в тканині ПРЦЗ без біомінералізації показує її значно меншу інтенсивність. Так, у пацієнтів II групи спостерігається переважання слабкопозитивної (16 випадків) та помірнопозитивної (11 випадків) експресії білка *vax* (рис. 3.21). Як екстремальні результати, сильнопозитивна і негативна реакції зустрічалися в 2 і 1 випадках відповідно (табл. 3.9).

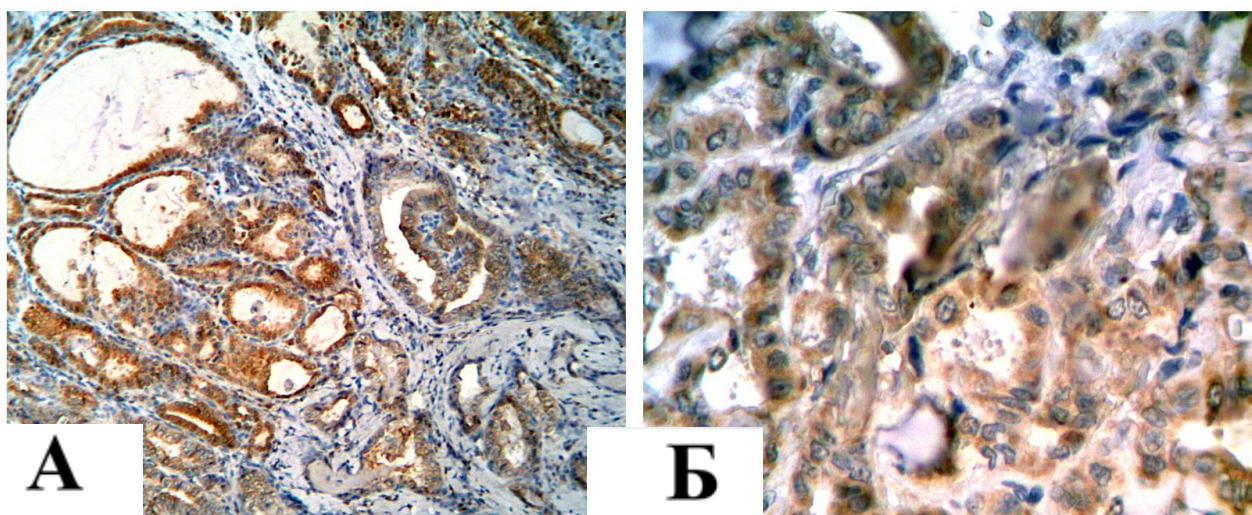


Рисунок 3.21 - Імуногістохімічне дослідження експресії vax в тканині ПРЦЗ без ознак мінералізації. А – помірна експресія білка vax, зб. x100; Б – помірнопозитивна реакція vax у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра.

Таблиця 3.9 - Експресія білка vax в цитоплазмі клітин ПРЦЗ II групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	3,33
	1	1	
	2	0	
Слабкопозитивна	3	8	53,33
	4	8	
Помірнопозитивна	5	8	36,67
	6	3	
Сильнопозитивна	7	1	6,67
	8	1	

Експресія білка bcl-2 в «мінералізованій» тканині ПРЦЗ оцінюється як не інтенсивна, якщо порівнювати із експресією спорідненого білка vax. У пацієнтів I групи переважає слабкопозитивна (18 випадків) імуногістохімічна реакція на присутність bcl-2. Інші зразки відповідали помірнопозитивній (6 випадків), негативній (5 випадків) експресії антиапоптотичного білка bcl-2 (рис. 3.22). Як виняток, в 1 зразку ПРЦЗ була виявлена сильнопозитивна реакція (табл. 3.10).

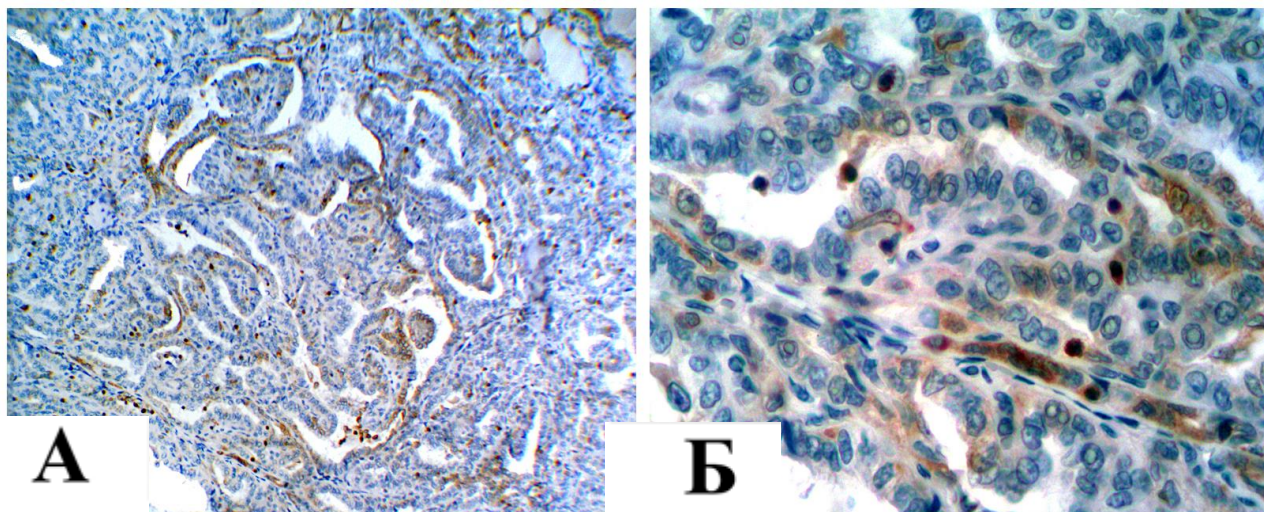


Рисунок 3.22 - Імуногістохімічне дослідження експресії bcl-2 в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – слабка експресія білка bcl-2, зб. x100; Б – помірно-позитивна реакція bcl-2 у цитоплазмі окремих клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксилином Майєра.

Таблиця 3.10 - Експресія білка bcl-2 в цитоплазмі клітин ПРЦЗ I групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	1	16,67
	1	2	
	2	2	
Слабкопозитивна	3	12	60
	4	6	
Помірнопозитивна	5	4	20
	6	2	
Сильнопозитивна	7	1	3,33
	8	0	

Визначення експресія білка bcl-2 у зразках II групи ПРЦЗ показало переважання слабкопозитивної (19 випадків) імуногістохімічної реакції (рис. 3.23 А, Б). Також у цій же групі спостерігалися помірнопозитивна (6 випадків), негативна (4 випадки) імуногістохімічна реакція на виявлення білка bcl-2. Аналогічно до першої групи, в 1 зразку ПРЦЗ була виявлена сильнопозитивна експресія bcl-2 (табл. 3.11).

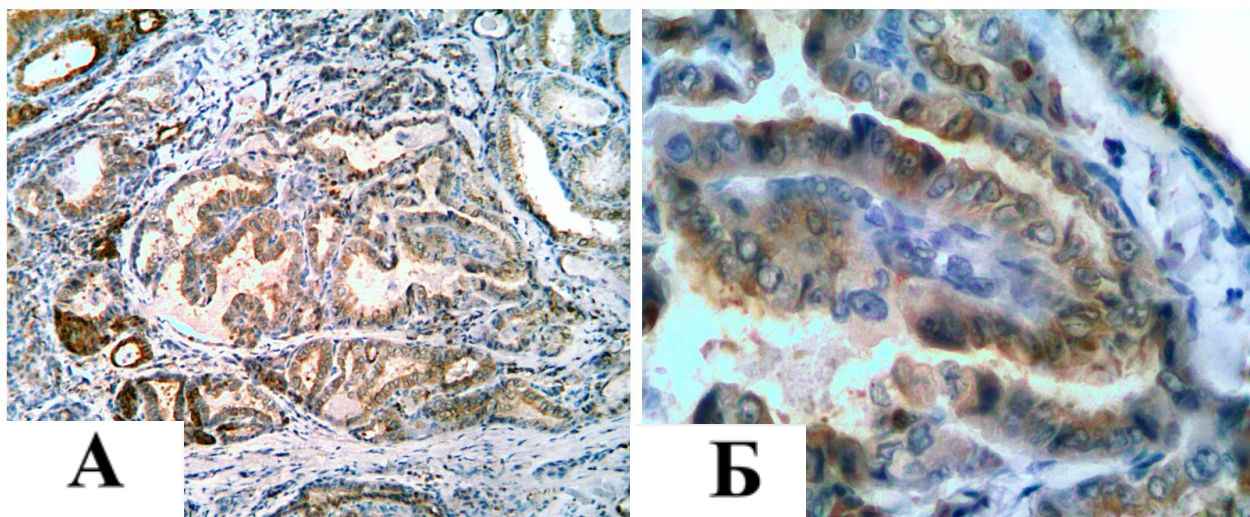


Рисунок 3.23 - Імуногістохімічне дослідження експресії bcl-2 в тканині ПРЦЗ без ознак мінералізації. А – помірна експресія білка bcl-2, зб. x100; Б – помірно-позитивна реакція bcl-2 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксилином Майєра.

Таблиця 3.11 - Експресія білка bcl-2 в цитоплазмі клітин ПРЦЗ II групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	1	13,33
	1	2	
	2	1	
Слабкопозитивна	3	12	63,33
	4	7	
Помірнопозитивна	5	3	20
	6	3	
Сильнопозитивна	7	0	3,33
	8		

При порівнянні результатів імуногістохімічного дослідження експресії білків bax у тканині I групи ПРЦЗ ($6,87 \pm 0,22$) та II групи ПРЦЗ ($4,33 \pm 0,26$) виявлено її достовірно вищий рівень у групі пацієнтів з явищами біомінералізації ($p > 0,05$). Це може вказувати на можливий проапоптотичний вплив біомінералізації на пухлинні клітини ПРЦЗ. На відміну від bax, порівняння кількості експресованого антиапоптотичного білка bcl-2 у досліджуваних групах не відрізняється (відповідно $3,5 \pm 0,28$ та $3,6 \pm 0,28$; $p > 0,8$).

Для дослідження здатності тканини ПРЦЗ до апоптозу було проведено дослідження рівня експресії білка p53. Імуногістохімічна реакція вважалася позитивною при умові забарвлення більше 5% ядер пухлинних клітин.

У першій групі отримані наступні результати: у 18 випадках (60%) ПРЦЗ були виявлені слабкопозитивна реакція ($5\% < n < 20\%$), забарвлювалися ядра окремих пухлинних клітин (рис. 3.24 Б). У 6 випадках (20%) результат відповідав помірній експресії p53 ($20\% < n < 50\%$), в 1 зразку (3,33%) була встановлена сильнопозитивна реакція ($50\% < n < 100\%$) на наявність цього антиапоптичного білка. Як правило, p53-позитивно забарвлені ядра належали клітинам пухлинного епітелію сосочків (рис. 3.3.7 А). Для 5 зразків мінералізованої тканини ПРЦЗ (16,67%) імуногістохімічна реакція була оцінена як негативна ($n < 5\%$) (табл. 3.12).

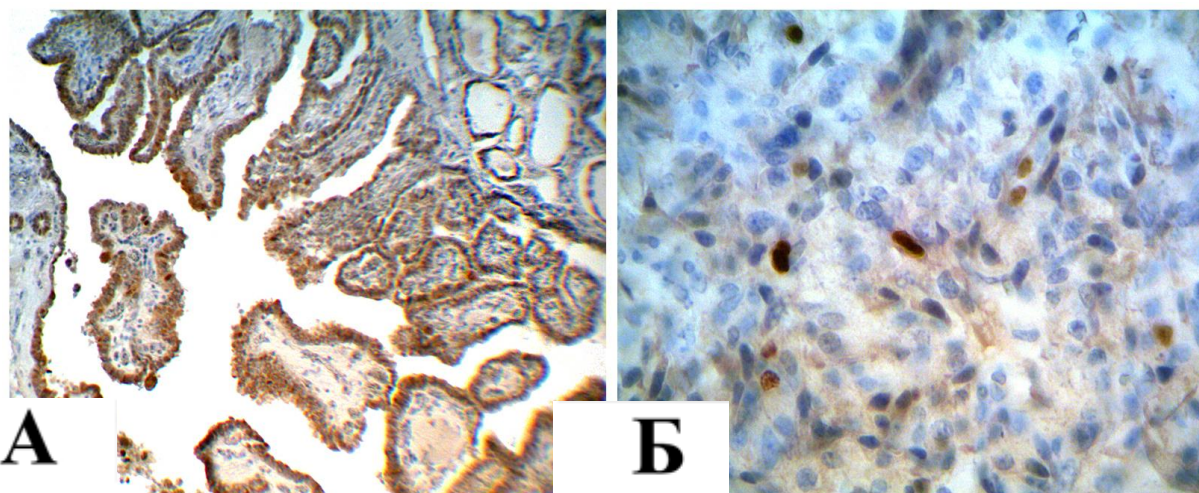


Рисунок 3.24 - Імуногістохімічне дослідження експресії p53 в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка p53, зб. x100; Б – слабкопозитивна реакція p53 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра.

Для групи випадків ПРЦЗ без наявної біомінералізації також була виявлена низька експресія білка p53 (рис. 3.25). Частина випадків (9) характеризувалися відсутністю експресії p53, імуногістохімічна реакція вважалася негативною (30%). У 12 випадках (40%) була виявлена слабкопозитивна імуногістохімічна реакція, у 6 випадках (20%) – помірнопозитивна реакція та в 3 зразках (10%) була встановлена сильнопозитивна реакція на білок p53 (табл. 3.13).

При порівнянні результатів бальної оцінки імуногістохімічного дослідження експресії p53 в тканині ПРЦЗ за наявності ($3,5 \pm 0,31$) та відсутності ($3,7 \pm 0,35$) явищ

біомінералізації, показують факт відсутності достовірної різниці рівнів експресії цього маркера проліферації ($p > 0,42$).

Таблиця 3.12 - Експресія білка p 53 в цитоплазмі клітин ПРЦЗ I групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	3	16.67
	1	1	
	2	1	
Слабкопозитивна	3	9	60
	4	9	
Помірнопозитивна	5	4	20
	6	2	
Сильнопозитивна	7		3,33
	8	0	

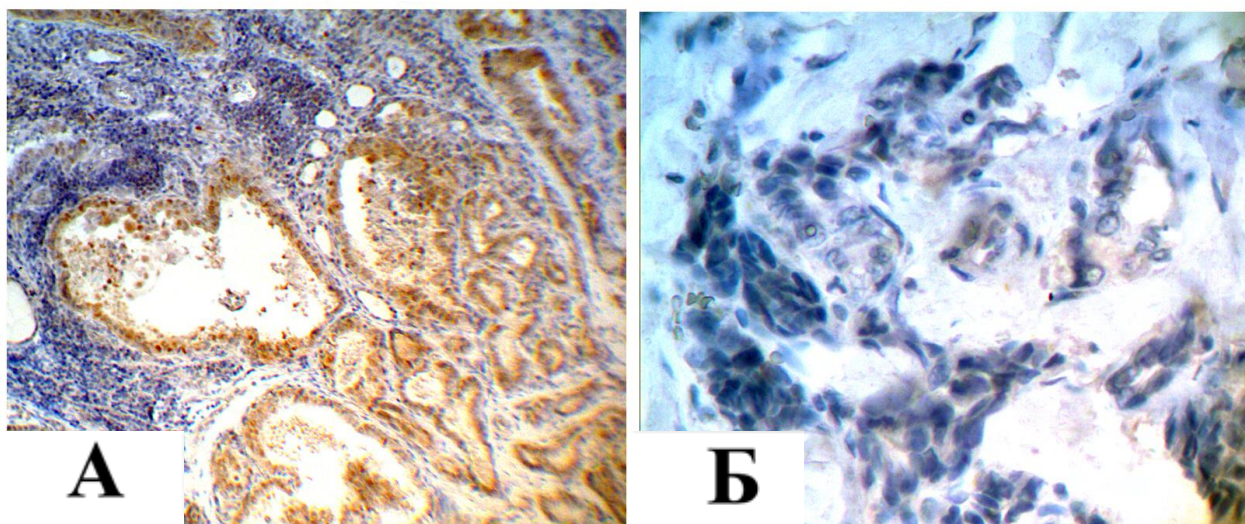


Рисунок 3.25 - Імуногістохімічне дослідження експресії p53 в тканині ПРЦЗ без ознак мінералізації. А – помірна експресія білка p53, зб. x100; Б – негативна реакція p53 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра.

Таблиця 3.13 - Експресія білка p 53 в цитоплазмі клітин ПРЦЗ II групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	2	30
	1	3	
	2	4	
Слабкопозитивна	3	8	40
	4	4	
Помірнопозитивна	5	5	20
	6	1	
Сильнопозитивна	7		10
	8	2	

Остеопонтин (OPN) - кислий фосфопротеїн, який бере участь у багатьох клітинних процесах, включаючи міграцію, розмноження і міжклітинні взаємодії [103, 225]. Він являється прозапальним цитокином, що підсилює ремоделювання судин і ангиогенез, попереджує апоптоз клітин. Також було показано, що OPN входить до складу ниркових каменів і впливає на їх формування, беручи таким чином участь в процесах біомінералізації [147]. OPN продукується клітинами різних типів, найбільш важливі з яких остеобласти, макрофаги, фібробласти, дендритні клітини [162, 176]. Злоякісні пухлинні клітини різних локалізацій показують експресію OPN [91, 139].

Переважає більшість зразків ПРЦЗ з біомінералізацією (90%) при імуногістохімічному дослідженні показала сильно-позитивну (15 випадків) і помірно-позитивну (12 випадків) реакцію на присутність OPN (рис. 3.26). Лише в 3 випадках (10%) реєструвалася слабо-позитивна експресія білка (табл. 3.14). Високий рівень експресії OPN демонстрували як пухлинні клітини, так і клітини пухлинного мікрооточення.

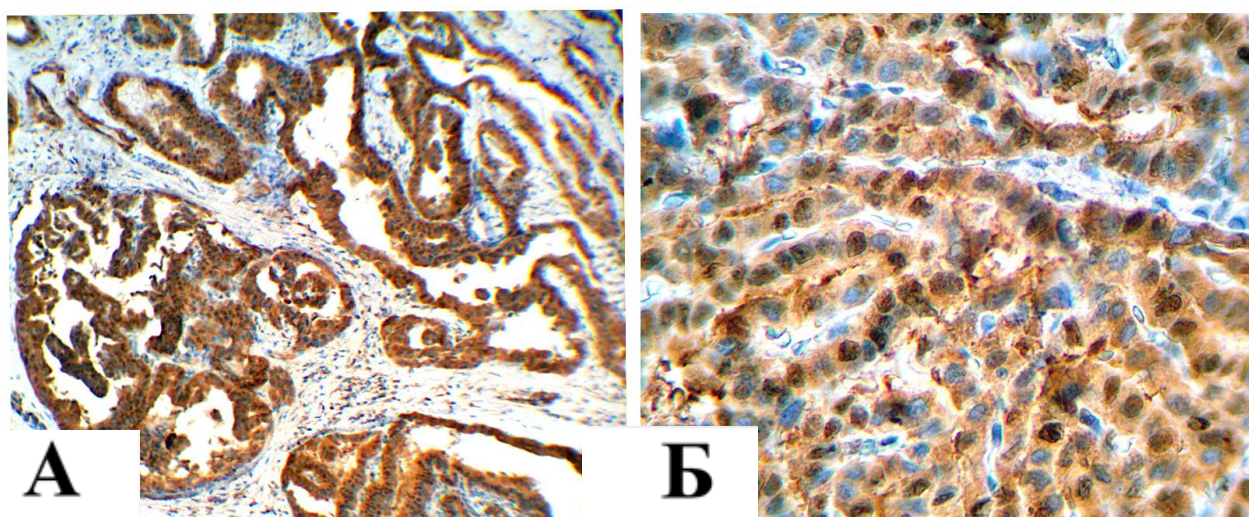


Рисунок 3.26 - Імуногістохімічне дослідження експресії OPN в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка OPN, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція OPN у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксилином Майєра.

Таблиця 3.14 - Експресія білка OPN в клітинах ПРЦЗ I групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	0
	1	0	
	2	0	
Слабкопозитивна	3	0	10
	4	3	
Помірнопозитивна	5	3	40
	6	9	
Сильнопозитивна	7		50
	8	6	

При дослідженні імуногістохімічної експресії OPN у тканині ПРЦЗ без ознак мінералізації відмічалось превалювання помірно-позитивної реакції – 24 випадки (80%). В 1 випадку (3,33%) ПРЦЗ була зареєстрована негативна реакція, а в 5 зразках (16,67%) – слабка позитивна експресія OPN (табл. 3.15). Головною локалізацією експресії OPN була цитоплазма пухлинних клітин. Також спостерігалась псевдо-позитивна реакція анти-OPN антитіл з колоїдом, яка, очевидно, ґрунтується на молекулярній схожості глікопротеїнів колоїду та OPN (рис. 3.27).

У ході порівняння рівня експресії білка OPN у групі зразків ПРЦЗ з явищами біомінералізації ($5,97 \pm 0,27$) та у групі зразків ПРЦЗ без ознак біомінералізації ($4,07 \pm 0,23$) виявлено достовірну їх різницю ($p < 0,001$). Цей факт дозволяє констатувати очевидний зв'язок експресії OPN та процесів кальцифікації при ПРЦЗ.

Таблиця 3.15 - Експресія білка OPN в клітинах ПРЦЗ II групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	3,33
	1	0	
	2	1	
Слабкопозитивна	3	3	16,67
	4	2	
Помірнопозитивна	5	16	80
	6	8	
Сильнопозитивна	7	0	0
	8		

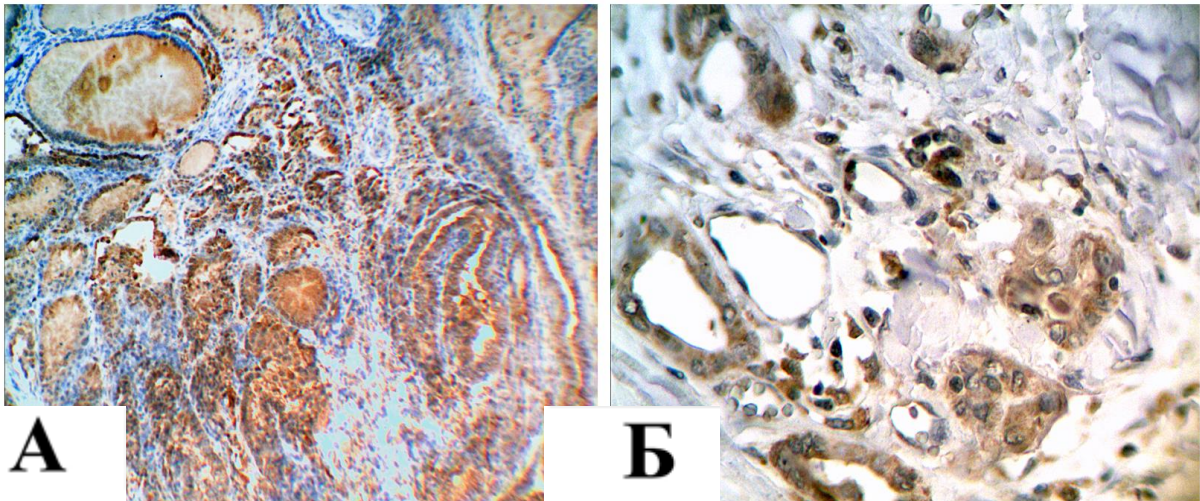


Рисунок 3.27 - Імуногістохімічне дослідження експресії OPN в тканині ПРЦЗ без ознак біомінералізації. А – слабка експресія білка OPN, зб. x100; Б – помірнопозитивна реакція OPN у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксилином Майєра.

Матриксна металопротеїназа 1 (MMP1) відносяться до сімейства цинквмісних металопротеїназ, маючи в активному центрі Zn^{2+} [129]. У пухлинній тканині MMP1,

руйнуючи колаген, розщеплює екстрацелюлярний матрикс, що сприяє процесам інвазивного росту та метастазування злоякісних клітин [22]. Таким чином, експресія MMP1 відноситься до прогностично несприятливих факторів, характеризуючи інвазивну спроможність пухлини та її метастатичний потенціал.

У ході імуногістохімічного дослідження виявлено, що переважна частина зразків «мінералізованих» ПРЦЗ має сильно- та помірно виражену експресію MMP1: у 8 (26,67%) та 10 випадках (33,33%) відповідно (рис. 3.28). Головною локалізацією експресії білка була цитоплазма пухлинних клітин, крім цього імуногістохімічне забарвлення спостерігалось і в клітинах пухлинного мікрооточення (фібробластах, макрофагах). Також у 6 випадках ПРЦЗ були виявлені слабо позитивна реакція (20%), а в інших 6 зразках (20%) експресія MMP1 оцінювалася як негативна (табл. 3.16).

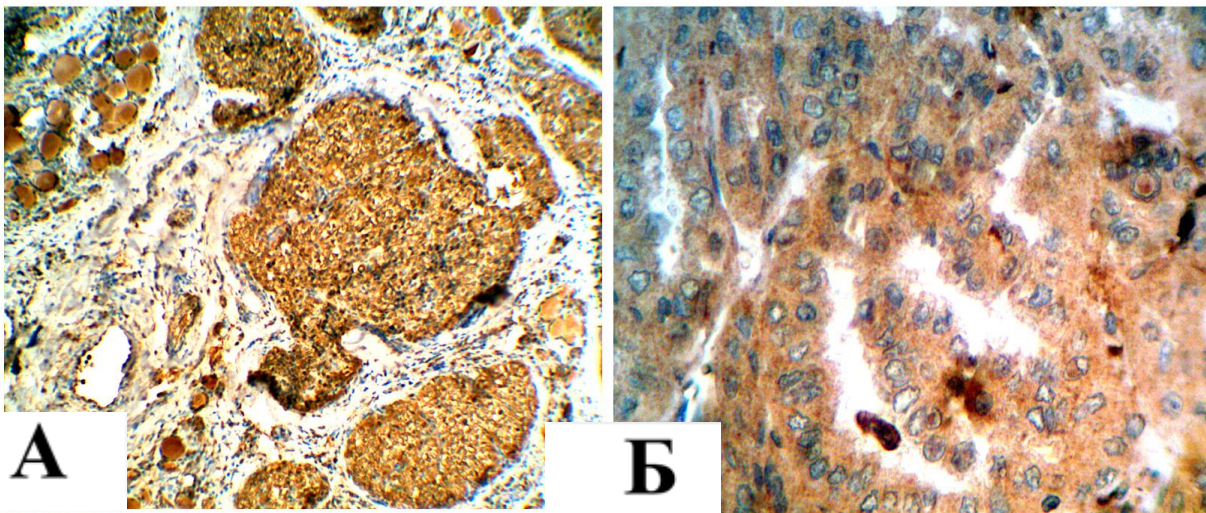


Рисунок 3.28 - Імуногістохімічне дослідження експресії MMP1 в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка MMP1, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція MMP1 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксином Майєра.

Таблиця 3.16 - Експресія білка MMP1 в цитоплазмі клітин ПРЦЗ I групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	20
	1	3	
	2	3	
Слабкопозитивна	3	3	20
	4	3	
Помірнопозитивна	5	6	33,33
	6	4	
Сильнопозитивна	7		26,67
	8	4	

Імуногістохімічне дослідження експресії MMP1 у II групі зразків показували наступний результати (рис 3.29): у 3 випадках (10%) експресії MMP1 не виявлено, 13 випадків (43,37%) ПРЦЗ мали слабкопозитивну реакцію, у 8 випадках (26,67%) виявлена помірно позитивна експресія та у 6 випадках (20%) – сильнопозитивна експресія MMP1 відповідно (табл. 3.17).

При дослідженні експресії MMP1 між I і II групами зразків ПРЦЗ не було виявлено статистично достовірної різниці ($p > 0,05$). Обидві групи мали у своєму складі 7 і 8 випадків з наявністю метастазів у периферичні лімфатичні вузли, що впливало на формування правильного розподілу статистичних даних. У ході статистичного аналізу результатів імуногістохімічного дослідження експресії MMP1 між I групою ($4,8 \pm 0,4$) та II групою ($4,77 \pm 0,31$) зразків ПРЦЗ достовірної різниці не було виявлено ($p > 0,95$).

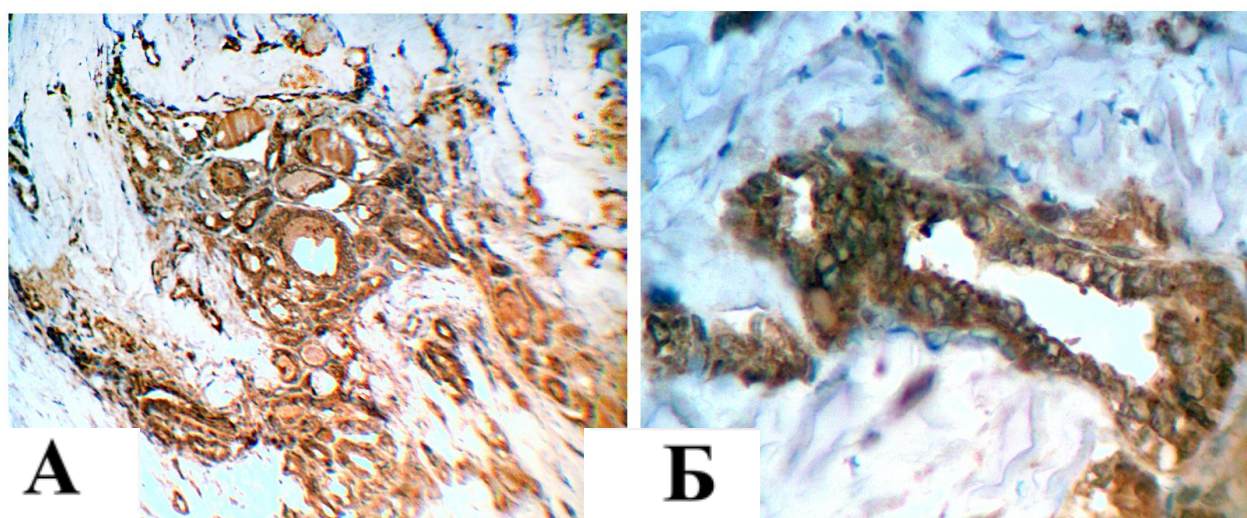


Рисунок 3.29 - Імуногістохімічне дослідження експресії MMP1 в тканині ПРЦЗ без ознак біомінералізації. А – виражена експресія білка MMP1, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція MMP1 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксилином Майєра.

Таблиця 3.17 - Експресія білка MMP1 в цитоплазмі клітин ПРЦЗ II групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	10
	1	0	
	2	3	
Слабкопозитивна	3	3	43,37
	4	10	
Помірнопозитивна	5	4	26,67
	6	4	
Сильнопозитивна	7		20
	8	2	

Фактор росту ендотелію судин (VEGF) – є центральним стимулятором росту нових судин. Цей білок збільшує судинну проникність, посилює проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин, активацію протеаз (в т.ч. MMP1), пригнічує апоптоз ендотеліоцитів, стабілізує судини [22]. Експресія VEGF залежить від ступеню гіпоксії тканини, ацидозу, активації онкогенів, деяких цитокінів та гормонів [106].

Імуногістохімічне дослідження мінералізованої тканини ПРЦЗ на предмет експресії фактора росту ендотелію судин демонструє переважно сильно - (30%) та помірно позитивну (43,33%) реакцію. Також у 5 (16,67%) та 3 (10%) випадках ПРЦЗ було виявлено слабо позитивну та негативну експресії VEGF (табл. 3.18). У переважній більшості випадків досліджуваний білок локалізувався в цитоплазмі пухлинних клітин, які формували пухлинні сосочки та псевдофолікули (рис. 3.30).

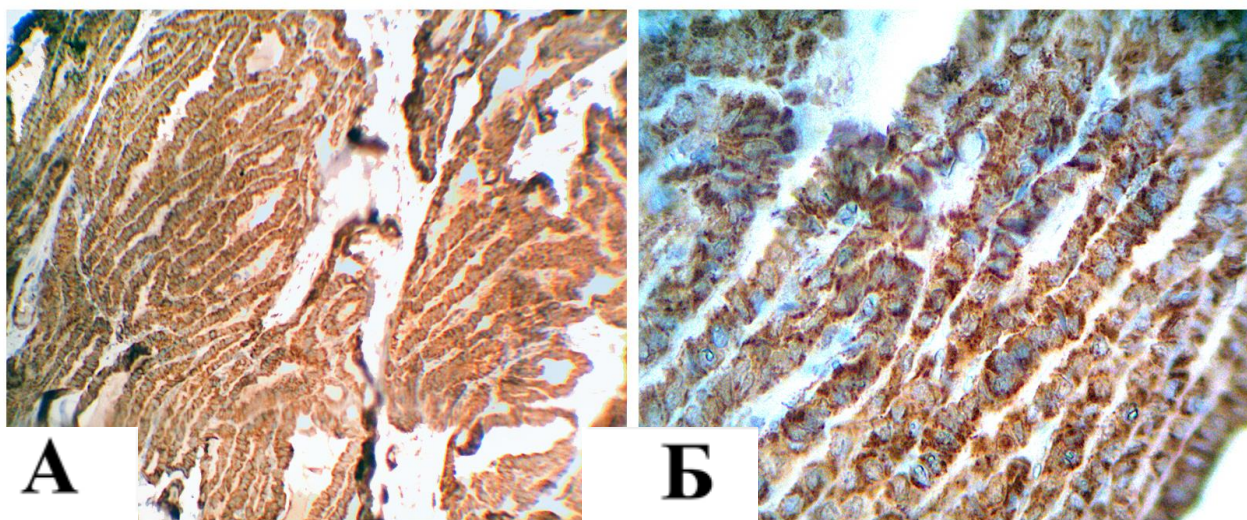


Рисунок 3.30 - Імуногістохімічне дослідження експресії VEGF в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка VEGF, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція VEGF у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксилином Майєра.

Таблиця 3.18 - Експресія білка VEGF в цитоплазмі клітин ПРЦЗ I групи

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	10
	1	0	
	2	3	
Слабкопозитивна	3	2	16,67
	4	3	
Помірнопозитивна	5	6	43,33
	6	7	
Сильнопозитивна	7		30
	8	6	

При вивченні особливостей експресії VEGF (рис 3.31) в тканині пухлини ПРЦЗ було встановлено сильно позитивну імуногістохімічну реакцію в 5 випадках (16,67%), помірнопозитивну реакцію - в 9 випадках (30%), слабкопозитивну реакцію – в 12 випадках (40%) ПРЦЗ без ознак мінералізації. 4 (13,33%) зразки ПРЦЗ були без явної експресії VEGF (табл 3.19).

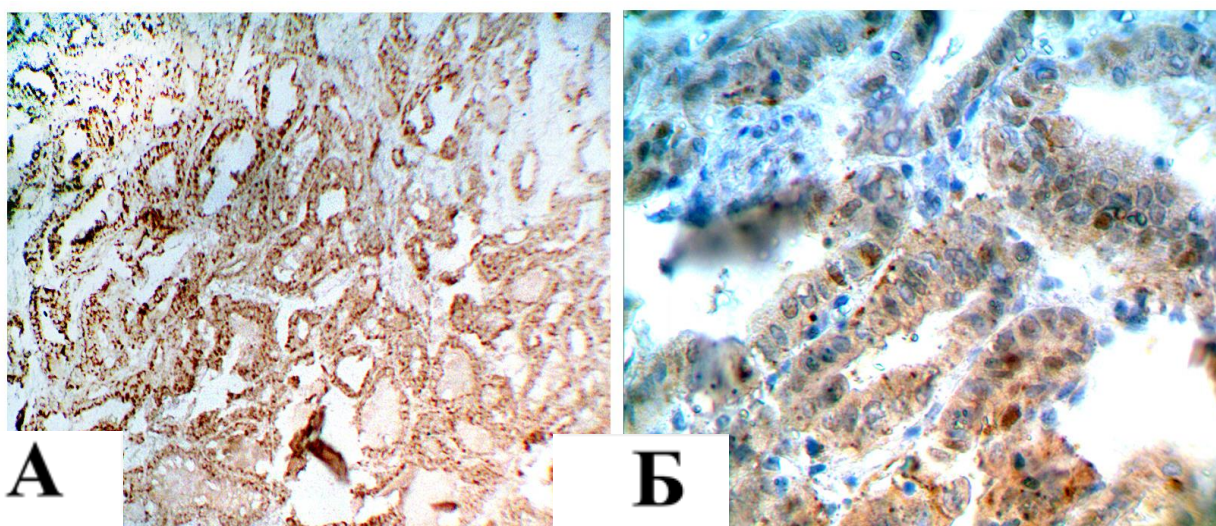


Рисунок 3.31 - Імуногістохімічне дослідження експресії VEGF в тканині ПРЦЗ без ознак біомінералізації. А –слабка експресія білка VEGF, зб. x100; Б – помірнопозитивна реакція VEGF у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксилином Майєра.

Таблиця 3.19 - Експресія білка VEGF в тканині ПРЦЗ II групи.

Експресія білка	Бали	Кількість випадків	Відсоток від загального
Негативна	0	0	13,33
	1	2	
	2	2	
Слабкопозитивна	3	6	40
	4	6	
Помірнопозитивна	5	5	30
	6	4	
Сильнопозитивна	7	3	16,67
	8		

Статистична оцінка достовірності різниці результатів імуногістохімічного дослідження білка VEGF показує достовірність різниці його експресії між групою зразків з явищами біомінералізації ($5,5 \pm 0,34$) та групою зразків з відсутністю проявів кальцифікації ($4,5 \pm 0,36$) ($p < 0,049$).

3.4. Статистичний аналіз результатів, отриманих у ході дослідження

Обробка даних проводилася прикладними статистичними методами, за допомогою програми Microsoft Excel 2010 з додатком AtteStat 12.0.5.

Результати досліджень були перевірені на нормальний розподіл (НР) за критерієм Шапіро-Уїлка (Shapiro-Wilk). Більшість результатів вимірювань та імуногістохімічних досліджень мали неправильний розподіл, тому для оцінювання статистичної значущості використали непараметричний критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney). У випадку, якщо вибірки даних мали правильний розподіл, їх порівняння проводилося за допомогою параметричного t- критерію Стьюдента за умови підтвердження випадковості розбіжностей ($F_{крит} > F_{експ}$) згідно критерію Фішера. Якщо $t_{екс} \geq t_{крит}$, то різниця вважалась достовірною.

Взаємозв'язок між досліджуваними показниками оцінювали згідно критерію кореляції Пірсона та Спірмена (r). Результати вважали статистично достовірними при ступеню вірогідності більше 99% ($p < 0,01$) за умови $r_{експ} \geq r_{критичне}$.

Таблиця 3.20 - Визначення достовірності різниці між результатами ІГХ дослідження I та II груп зразків ПРЦЗ

Маркер	I група			II група			p	Статистичний критерій
	розподіл даних	Середнє значення, М	σ	розподіл даних	Середнє значення, М	σ		
Ki-67	н	5,6	0,25	ннр	5,23	0,23	0,22	Манна-Уїтні
p53	н	3,5	0,31	н	3,7	0,35	0,42	Ст'юдента
baх	ннр	6,87	0,22	н	4,33	0,26	0,001	Манна-Уїтні
bcl-2	н	3,5	0,28	н	3,6	0,28	0,8	Ст'юдента
OPN	ннр	6,4	0,22	ннр	5	0,16	0,001	Манна-Уїтні
MMP1	н	4,8	0,4	н	4,76	0,31	0,94	Ст'юдента
VEGF	н	5,5	0,34	н	4,5	0,36	0,049	Ст'юдента

Примітка. * - $p < 0,05$, нр – нормальний розподіл даних, ннр- ненормальний розподіл даних.

Таким чином, при порівнянні рівня експресії білків було виявлено достовірну різницю між результатами I та II груп при імуногістохічному дослідженні білків *baх* ($p < 0,001$) та *VEGF* ($p < 0,05$) (табл. 3.20.). Різниця між результатами імуногістохімічного дослідження експресії *baх*, *OPN*, *VEGF* у групах зразків ПРЦЗ з наявністю та відсутністю біомінералізації свідчить про їх участь у процесах патологічної біомінералізації за умов даної патології.

Одним із завдань нашого дослідження було проведення порівняльного аналізу випадків ПРЦЗ з метастазами у лімфатичні вузли за умов присутності і відсутності ознак біомінералізації. Відповідно у обох групах досліджуваних пацієнтів було 7 і 8 випадків метастазування у лімфатичні вузли ший. У цих підгрупах (Ia і IIa) всі випадки були порівняні за віком, розмірами пухлин, рівнями експресії імуногістохімічних маркерів *Ki-67*, *p 53*, *bcl-2*, *baх*, *OPN*, *MMP1*, *VEGF* (табл. 3.21).

Таблиця 3.21 - Визначення достовірності різниці між результатами ІГХ дослідження I та II груп зразків ПРЦЗ

Маркер	I група			II група			p	Статистичний критерій
	розподіл даних	Середнє значення, М	σ	розподіл даних	Середнє значення, М	σ		
<i>Ki-67</i>	нр	5,28	0,47	нр	5,88	0,23	0,26	Ст'юдента
<i>p53</i>	нр	3,14	0,59	ннр	3,13	0,44	0,45	Манна-Уїтні
<i>Вах*</i>	нр	6,57	0,37	нр	4,13	0,3	0,001	Ст'юдента
<i>bcl-2*</i>	нр	3,0	0,49	нр	4,5	0,46	0,04	Ст'юдента
<i>OPN*</i>	ннр	6,43	0,3	нр	4,88	0,35	0,008	Манна-Уїтні
<i>MMP1</i>	нр	3,86	0,7	нр	3,88	0,51	0,98	Ст'юдента
<i>VEGF*</i>	ннр	5,71	0,42	нр	3,75	0,67	0,012	Манна-Уїтні
Вік	нр	49,43	6,0	нр	51,88	4,78	0,75	Ст'юдента
Розмір пухлини	нр	2,09	0,2	нр	1,31	0,17	0,02	Ст'юдента

Примітка. * - $p < 0,05$, нр – нормальний розподіл даних, ннр- ненормальний розподіл даних.

При порівнянні зазначених показників у групах Ia (ПРЦЗ з метастазами і мінералізацією) та II a (ПРЦЗ з метастазами і без мінералізації) було отримано наступні результати. Між показниками двох порівнюваних груп не було виявлено достовірної різниці по віку пацієнтів ($p > 0,05$), експресії маркера проліферації Ki-67 ($p > 0,05$), білків p53 ($p > 0,05$) та MMP1 ($p > 0,05$). У той же час, виявилось, що мінералізовані зразки ПРЦЗ досягають більших розмірів у порівнянні з випадками без проявів кальцифікації ($p < 0,02$).

Важливий результат був виявлений при порівнянні даних імуногістохімічного дослідження експресії білків апоптозу bax та bcl-2, які знаходяться в антагоністичних відносинах [52]. Так, проапоптотичний білок bax мав достовірно вищу експресію у ПРЦЗ Ia групи, що свідчить про можливу участь біомінералізації у процесах апоптозу пухлинної тканини. З іншого боку, експресія антиапоптотичного білка bcl-2 вище в зразках ПРЦЗ без ознак мінералізації. Як відомо, білок bcl-2 блокує апоптотичних шлях, який активується білком bax, нівелюючи його ефект [205]. Таким чином, можна припустити, що за відсутності біомінералізації процеси апоптозу у пухлинній тканині блокуються.

Також у Ia групі ПРЦЗ було виявлено достовірно вищий рівень експресії остеопонтину ($p < 0,008$) і судинного фактора росту ендотелію ($p < 0,012$). Відомий прямий позитивний зв'язок обох білків з гіпоксією [22, 59, 102, 157,] та один з одним [161]. Отже, високий рівень експресії OPN та VEGF може свідчити про гіпоксію в умовах присутності біомінералізації. Білок OPN є фактором протидії мінералізаційним процесам [197], що може бути проявом захисної реакції пухлинних клітин.

Отже результати статистичного аналізу імуногістохімічного дослідження показали наявність тісних взаємозв'язків між експресією різних білків у мінералізованій тканині ПРЦЗ, що вказує на спільні механізми взаємодії пухлинної тканини з організмом. Патологічна біомінералізація сприяє підвищенню рівня апоптозу в пухлинних клітинах (bax), продукції протеїнів, які пригнічують утворення біомінералів (OPN). Високий рівень експресії фактору росту ендотелію

(VEGF) може свідчити про більш високий рівень гіпоксії в тканині мінералізованого ПРЦЗ.

3.5 Структурна перебудова посмугованих м'язів щурів за умов впливу на організм різних комбінацій солей важких металів у віковому аспекті

3.5.1 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різного віку за умов надмірного вживання солей цинку, міді та заліза

Вивчення латеральної голівки триголового м'яза литки щурів молодого віку на макро-, мікро- та ультрамікроскопічному рівнях після 1 місяця вживання ними води із вмістом солей важких металів, що відповідають суміші № 1, не виявило суттєвих змін у показниках досліджуваних параметрів порівняно з інтактними тваринами.

При мікроскопічному дослідженні препаратів скелетних м'язів виявляються м'язові волокна, які щільно прилягають одне до одного і мають приблизно однакову товщину. Уздовж усього волокна численні дрібні темного кольору ядра. Кровоносні судини на поперечних зрізах мають різну форму – від кола до витягнутого еліпса. На поздовжніх зрізах виявляється доволі чітка паралельна спрямованість капілярів та м'язових волокон. Венули розташовані під гострим кутом відносно міосимпласта.

Посмуговані м'язи при електронно-мікроскопічному вивченні мають класичну клітинно-симпластичну будову. Ядра м'язових волокон розміщені чітко на периферії й містять ексцентрично розташовані 1–2 ядерця, характеризуються помірною електронною щільністю, містять дрібнодисперсний хроматин. Цитоплазма заповнена міофібрилами, що мають чіткий саркомерний принцип організації. Матрикс мітохондрій просвітлений, має рівномірну щільність. Кристи не деформовані. Саркоплазматична сітка чітко виражена. Її канали розміщуються переважно між фібрилами. Клітини-сателіти розміщені під базальною мембраною, мають щільне, багате на гетерохроматин ядро.

Хіміко-аналітичне дослідження посмугованих м'язів виявило зростання концентрації тих елементів, що потрапляли до організму щурів у підвищених концентраціях: міді – на 9,34 % ($p \leq 0,05$), цинку – на 4,25 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 16,43 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.3). При цьому рівень свинцю та хрому

практично не змінився, а концентрація марганцю зменшилась на 6,93 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати з контролем (рис. 3.4).

При вивченні органометричних показників посмугованих м'язів щурів вікової групи прогресивного росту після двох місяців експерименту не було статистично значущих розбіжностей у значеннях шуканих параметрів серед груп порівняння. При цьому треба зазначити, що маса тварин, АММ та ДМЧ набули тенденції до зменшення, а ДМСЧ та ПППМ – до зростання. Розраховані за цими показниками індекси та параметри мали відповідні зміни (Додаток А, табл. А.1).

Дослідження препаратів посмугованих м'язів у світловому мікроскопі виявило зростання ДМВ, ШЕ та ШП на 2,16 %, 2,79 % і 3,34 % відповідно, що значущо не відрізнялося від значень цих параметрів у групі контролю ($p > 0,05$) (рис. 3.5). Натомість ПППВ у дослідних щурів на даному етапі була на 4,36 % більшою, ніж у контролі, і сягала рівня статистичної значущості ($p \leq 0,05$). КЯМ залишилася практично сталою (Додаток А, табл. А.1).

Під час дослідження судинного компонента скелетних м'язів відмічається наявність у стінках судин прошарків сполучної тканини. При цьому ДК зменшився на 0,96 %, ДА – на 0,87 %, а ДВ зріс на 1,17 %, порівняно з контролем ($p > 0,05$). Зміни артеріоло-венулярного коефіцієнта та співвідношення І також були неістотними (Додаток А, табл. А.2).

Ультрамікроскопічним дослідженням встановлено, що в цей термін експерименту в усіх структурних елементах посмугованих м'язів білих щурів не відзначалося істотних морфологічних змін. Зберігалася поперечна посмугованість волокон. Саркоплазматичний ретикулум був практично незмінним, мітохондрії мали непошкоджені мембрани, та структуровані кристи, матрикс їх був дещо просвітленим.

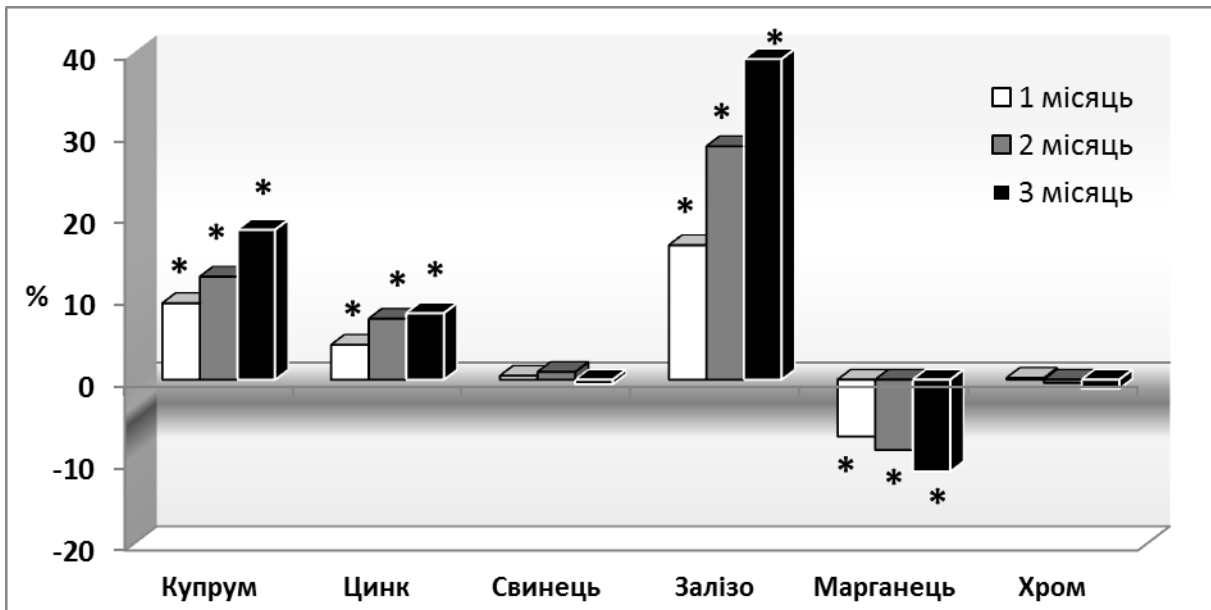


Рисунок 3.4 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів молодого віку за умов вживання солей Cu, Zn та Fe через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

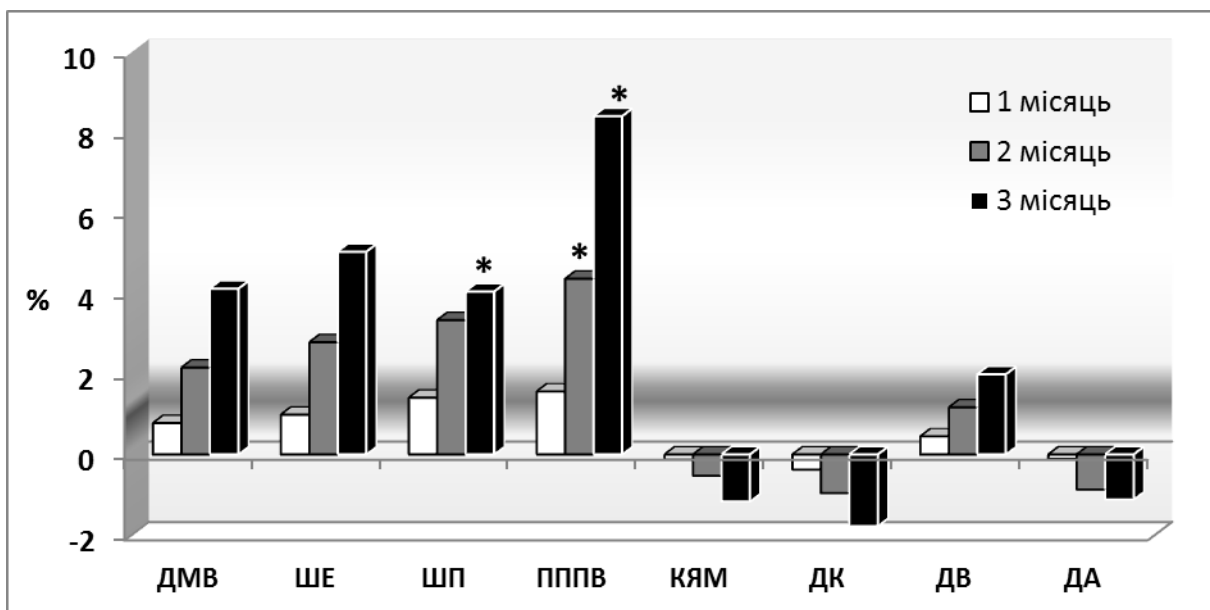


Рисунок 3.5 - Відсоткове співвідношення мікрморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів молодого віку за умов вживання солей Cu, Zn, Fe через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Ядра м'ясоімпланта зберегли видовжено-овальну форму, проте збільшились у розмірі як за рахунок короткого, так і довгого діаметрів. П'ям порівняно з контролем збільшилася на 5,2 % ($p > 0,05$), а О'ям зріс на 7,68 % ($p \leq 0,05$). Розміри усіх інших параметрів ультрамікроскопічного дослідження значущо не відрізнялися серед порівнюваних груп: ДМФ зменшився на 0,49 % ($p > 0,05$), а ПМ та ОМ у дослідних тварин зросли відповідно на 6 % і 9,03 % ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.2).

Хімічний склад литкового м'яза щурів цього віку після другого місяця дослідів мав таку картину. Концентрація міді збільшилася на 12,59 % ($p \leq 0,05$), цинку – на 7,44 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 28,51 % ($p \leq 0,05$). Вміст хрому та свинцю залишився майже сталим, а концентрація марганцю зменшилася на 8,59 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.4).

Макроскопічне дослідження препаратів латеральної голівки триголового м'яза литки тварин після 3 – місячного експерименту показало, що достовірної зміни набув лише показник ПППМ, який у щурів дослідної групи виявився на 5,37 % більшим, ніж у тварин інтактної групи ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.1). Усі інші органометричні показники та індекси зберегли попередні тенденції, проте різниця між їх значенням у тварин двох груп порівняння була недостовірною.

Гістологічне вивчення зразків посмугованих м'язів щурів після 3-місячного експерименту показало наявність метакромазії, при якій м'язові волокна були пофарбовані у кольори від жовто – червоного до яскраво – синього. Також привертала на себе увагу невелика кількість хвилеподібно деформованих м'язових волокон (рис. 3.6). Наявне у зрізах судин слабке та помірне кровонаповнення.

Дослідження мікроскопічних параметрів показало незначне збільшення ДМВ та ШЕ ($p > 0,05$). Співвідн. І також не зазнало достовірних змін. Натомість спостерігалось достовірне зростання ШП на 4,05 % ($p \leq 0,05$) і ПППВ на 8,41 % ($p \leq 0,05$). К'ям практично відповідало даному показнику групи контролю ($p > 0,05$). Результати виміру судинних параметрів виявили статистично недостовірні зміни у щурів даного терміну експерименту. Так, відбулося зменшення ДК та ДА на 1,78 % та 1,12 % відповідно, а ДВ збільшився на 1,99 %, порівняно з інтактною групою ($p > 0,05$) (рис. 3.5). АВК зменшився на 3,04 % ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.2).

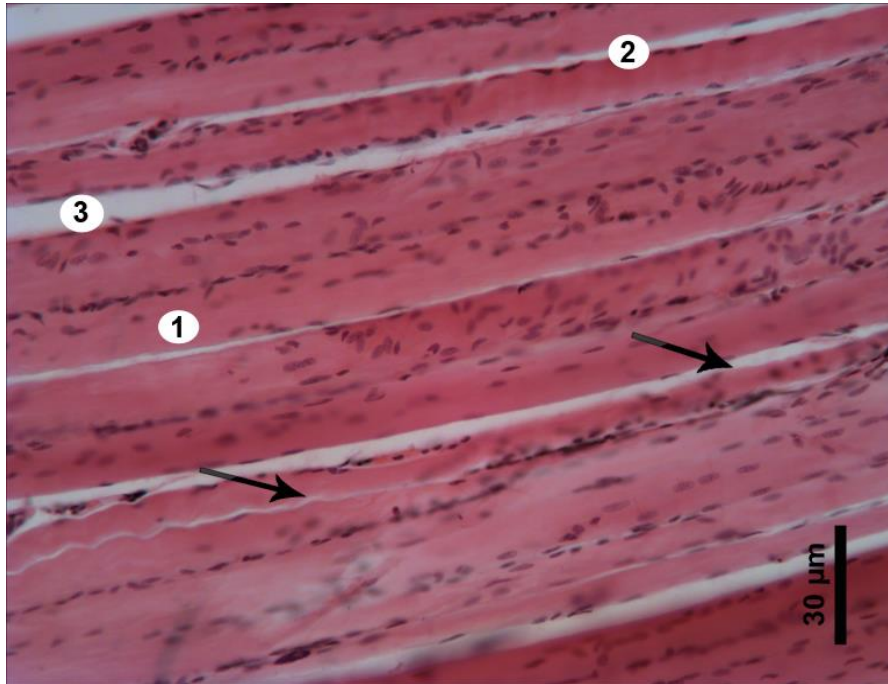


Рисунок 3.6 - Посмугований м'яз щура молодого віку через 3 місяці експерименту (солі Cu, Zn та Fe). Поздовжній зріз. Хвиляста деформація м'язових волокон (зазначено стрілками), розширення сполучнотканинних прошарків. Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

Після трьох місяців експерименту у щурів молодого віку вагомих порушень в ультраструктурі саркомера не спостерігалось. Відмічалось лише часткове розпушення міофібрил. Привертало увагу збільшення об'єму мітохондрій, наявність пошкоджених та зруйнованих крист, їх трубчастий вигляд. Також спостерігались вакуолізація та часткова дилатація саркоплазматичного ретикулума. Місцями відмічались ядра м'язових клітин, що мали інвагінації і розміщувалися ближче до центру симпласта.

Морфометрія зразків довільних м'язів за допомогою електронного мікроскопа виявила такі достовірні зміни планіметричних параметрів у дослідній групі. ПЯМ та ОЯМ зросли на 8,65 % та 13,03 % відповідно ($p \leq 0,05$). Такі показники, як ДМФ, ПМ та ОМ, достовірних змін порівняно з контрольною групою не зазнали ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.2).

Спектральний аналіз хімічного складу скелетних м'язів щурів молодого віку після трьох місяців вживання солей міді, цинку та заліза показав зростання концентрації останніх на 18,31 % ($p \leq 0,05$), 8,2 % ($p \leq 0,05$) та 39,17% ($p \leq 0,05$) відповідно, якщо порівнювати з інтактними тваринами. Вміст марганцю зменшився на 11,21 % ($p \leq 0,05$), плюмбуму – на 0,57 % ($p > 0,05$), хрому – на 1,1 % ($p > 0,05$) (рис. 3.4).

Проведене вивчення препаратів латеральної голівки триголового м'яза литки щурів зрілого віку після першого місяця експерименту виявило, що кровоносні судини строми були дещо розширеними і заповненими форменими елементами крові. У перимізії та ендомізії траплялися поодинокі лімфоїдно-плазмоцитарні інфільтрати. Самі ж сполучнотканинні перегородки були розширеними, мали набряклий вигляд. М'язові волокна у пучках розміщувалися компактно, кількість ядер симпласта залишалася незмінною.

Практично усі органометричні показники в цьому терміні експерименту у щурів дослідної групи залишилися незмінними. Лише ПППМ збільшилася на 3,48 % ($p \leq 0,05$). Слід зазначити, що АОМ зріс на 3,22 %, а ЩМ зменшилася на 3,18 %, однак дані зміни не мали статистичної значущості ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.4).

Гістоморфометричне дослідження виявило достовірне зростання площі поперечного перерізу м'язового волокна у щурів дослідної групи, якщо порівнювати із тваринами контрольної групи (на 1,99 %, $p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.4). Зміни інших мікроскопічних параметрів, як сполучнотканинних прошарків і судин дрібного калібру, так і безпосередньо м'язових волокон, були незначними і не мали статистичної достовірності.

Що стосується ультрамікроскопічних змін, то у щурів цієї вікової групи після першого місяця експерименту на фоні загальної маси незмінених м'язових волокон на окремих ділянках спостерігалось порушення регулярності поперечної смугастості. В окремих м'язових волокнах спостерігалися смуги надмірного скорочення міофібрил. Відзначалося хаотичне розміщення власних ядер симпласта в саркоплазмі. Незначна кількість ядер мала світле забарвлення. Мітохондрії були дещо розширеними, набряклими. Їхні кристи частіше за все змінам не підлягали. У

саркоплазмі візуалізувалася незначна кількість лізосом. Серед досліджуваних ультрамікроморфометричних параметрів достовірних змін у щурів дослідної групи після першого місяця експерименту зазнав лише ОЯМ і був на 3,81 % більшим, ніж в інтактних щурів ($p \leq 0,05$). Зміни інших ультраструктурних показників не були достовірними (Додаток А, табл. А.5).

Хіміко-аналітичне дослідження скелетних м'язів щурів цього терміну експерименту виявило зростання концентрації міді на 8,17 % ($p \leq 0,05$), цинку – на 4,12 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 9,41 % ($p \leq 0,05$). Рівень марганцю зменшився на 5,98 % ($p \leq 0,05$). Вміст свинцю та хрому суттєвих змін не зазнав та залишився практично сталим (рис. 3.7).

Органометричні показники латеральної голівки триголового м'яза литки зрілих щурів після другого місяця експерименту зазнали деяких змін. Так, на фоні недостовірних змін АММ, ВММ, ДМЧ та ДМСЧ відзначалося значне зростання АОМ на 7,22 % ($p \leq 0,05$) та відповідне зменшення ЩМ на 6,95 % ($p \leq 0,05$). ПППМ у щурів цього терміну експерименту збільшилася вже на 6,46 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.4).

Під час вивчення зразків латеральної голівки литкового м'яза щурів за допомогою світлового мікроскопа відзначався набряк сполучнотканинних прошарків та м'язових волокон (рис. 3.8). Ядра у деяких волокнах мали аномальне розміщення. Візуалізувалося розширення венул за рахунок порушення венозного відтоку, місцями були наявні точкові крововиливи.

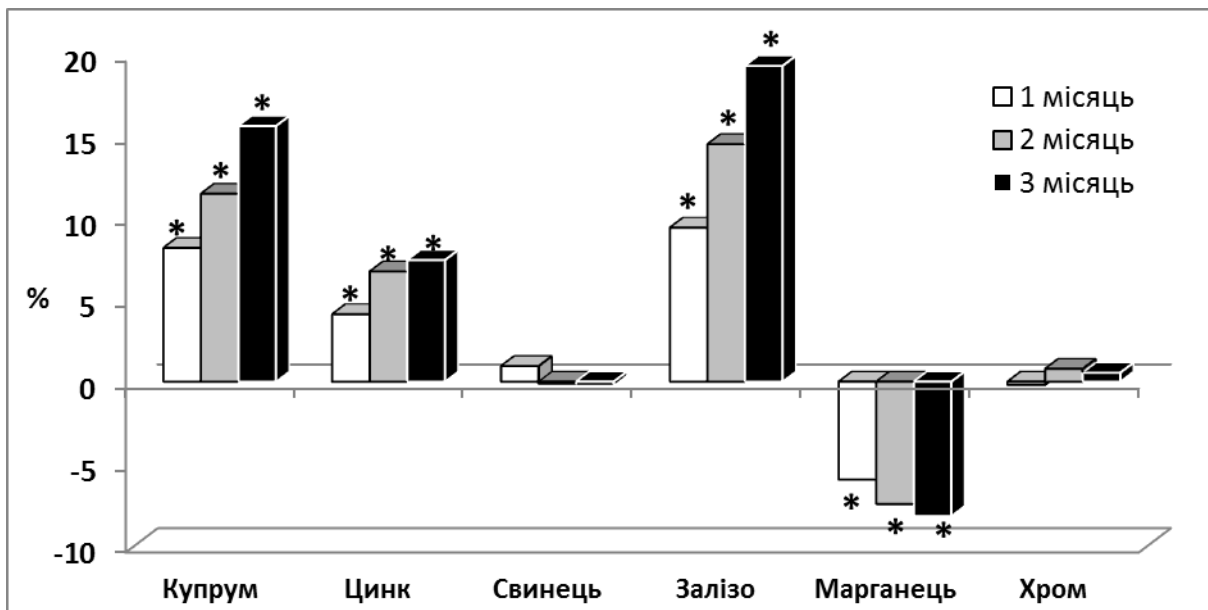


Рисунок 3.7 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів зрілого віку за умов вживання солей Cu, Zn та Fe через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

При вивченні гістоморфометричних параметрів відзначалося достовірне зростання ШП (на 3,28 %, $p \leq 0,05$), порівняно з групою контролю. Також збільшення зазнала і ПППВ (на 4,73 %, $p \leq 0,05$). ДМВ та ШЕ зросли на 2,34 % та 5,18 % відповідно, проте достовірність цих змін не перетнула межу статистичної значущості ($p > 0,05$). Співвідн. І також не зазнало істотних змін. КЯМ залишилася практично сталою. При вивченні дрібних судин строми латеральної голівки литкового м'яза достовірних змін у шуканих параметрах також не було знайдено (рис. 3.9).

Під час ультрамікроскопічного дослідження посмугованих м'язів зрілих щурів після другого місяця експерименту відзначалася незначна кількість ділянок із порушенням регулярності поперечної посмугованості, виявлялися смуги надмірної контрактури фібрил. Частіше за все чітко вдавалося встановити межі саркомера. Частина ядер симпласта розміщувалася віддалено від сарколеми, майже половина з них мала світле забарвлення. Мітохондрії були набряклими, мали просвітлений матрикс та місцями деформовані кристи. Елементи саркоплазматичного ретикулула мали дещо дилатований вигляд, місцями відзначалася їх фрагментація.

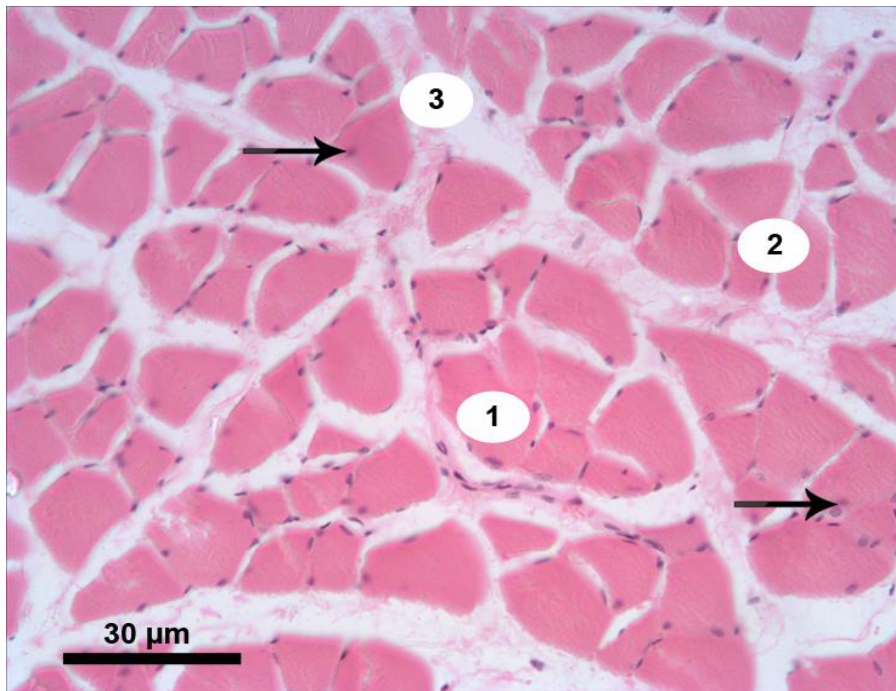


Рисунок 3.8 - Скелетний м'яз щура зрілого віку, який упродовж 2-х місяців одержував солі Cu, Zn та Fe. Поперечний зріз. Набряк волокон та міжволоконних прошарків. Стрілками показані ядра, розміщені не по периферії саркоплазми. Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

Серед досліджуваних ультрамікроскопічних параметрів препаратів скелетних м'язів зрілих щурів після другого місяця досліджень відзначалося достовірне зростання ПЯМ, ОЯМ та ОМ на 5,9 %, 8,91 % та 9,09 % відповідно ($p \leq 0,05$). Зміни ДМФ не були достовірними, якщо порівнювати з інтактними тваринами ($p > 0,05$).

Порівняння вмісту досліджуваних хімічних елементів у посмугованих м'язах щурів цього віку після другого місяця експерименту виявило такі зміни: концентрація міді зросла 11,48 % ($p \leq 0,05$), цинку – на 6,73 % ($p \leq 0,05$), а заліза – 14,51 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати з контрольною групою. Вміст марганцю зменшився на 7,48 % ($p \leq 0,05$). Концентрації плумбуму та хрому залишилися сталими (Додаток А, табл. А.6).

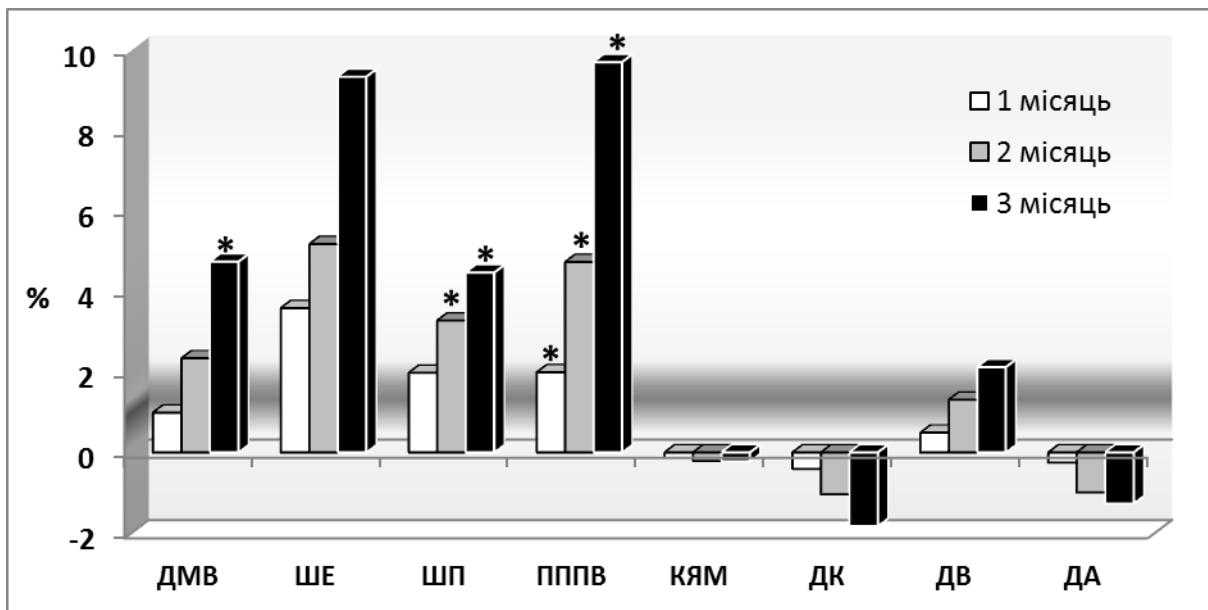


Рисунок 3.9 - Відсоткове співвідношення мікрморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів зрілого віку за умов вживання солей Cu, Zn, Fe через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Після трьох місяців дослідження у тварин дорослого віку відзначалися ті самі тенденції, що й у щурів попереднього місяця дослідження. Так, ПППМ зросла на 10,16 %, порівняно з контролем ($p \leq 0,05$). АММ та ДМЧ зменшилися на 0,77 % та 1,15 % ($p > 0,05$). Недостовірними були і зміни ВММ та ДМСЧ. При цьому АОМ збільшився на 12,59 %, а ЩМ зменшилася на 11,86 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.4).

Зміни на мікроскопічному рівні характеризувалися посиленням набряку м'язових волокон, посиленням розвитком елементів сполучної тканини (рис. 3.10), розширенням та повнокров'ям судин гемомікроциркуляторного русла, зокрема венул, наявністю незначної кількості дрібних точкових крововиливів. М'язові волокна мали хвилястий контур, ядра забарвлювалися від сіро-синього до чорного кольору, мали здебільшого видовжено – овальну форму.

Під час мікрморфометричного аналізу латеральної голівки триголового м'яза литки виявилось достовірне зростання ДМВ на 4,74 % ($p \leq 0,05$). ШП збільшилася на 4,47 % ($p \leq 0,05$), ПППВ – на 9,71 % ($p \leq 0,05$) порівняно з інтактною групою.

Збільшення ШЕ сягнуло 9,34 %, проте не було статистично значущим ($p > 0,05$). Співвідн. I також зросло, проте значення p було більшим від 0,05. Кількість ядер міосимпласта залишилася практично незмінною. Крім візуальних змін судин гемомікроциркуляторного русла, морфометричні параметри статистичних змін не зазнали (рис. 3.9).

Дослідження латеральної голівки триголового м'яза литки щурів дорослого віку після трьох місяців експерименту із використанням електронного мікроскопа виявило посилення процесів дезорганізації, що відбувались усередині міосимпласта. Привертала увагу ділянки вираженої дилатації та вакуолізації елементів саркоплазматичного ретикулума, місцями відзначалися розширені мітохондрії, матрикс яких був дещо просвітленим, а кристи були подекуди деформованими. Ядра міоцитів часто мали хвилястий контур, мали набряковий вигляд. Серед препаратів траплялися такі, на яких відзначалося порушення структури саркомера, не вдавалося диференціювати A-, I-диски, а Z-лінії мали хвилястий хід (рис. 3.11).

Серед досліджуваних ультрамікроскопічних параметрів відзначалося достовірне зменшення діаметра міофібрил на 3,01 % ($p \leq 0,05$). Площа ядра міосимпласта, об'єм ядра міосимпласта, площа мітохондрії та об'єм мітохондрії зросли на 9,33 %, 14,25 %, 10,24 % та 14,77 % відповідно ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.5).

Спектральний аналіз посмугованих м'язів після завершення трьох місяців інтоксикації солями важких металів, що відповідають суміші № 1, показав зростання концентрації міді у скелетних м'язах щурів зрілого віку на 15,62 % ($p \leq 0,05$), концентрації цинку – на 7,42 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 19,29 % ($p \leq 0,05$). Рівень марганцю зменшився на 8,21 % ($p \leq 0,05$). Концентрації хрому та свинцю залишилися практично незмінними (рис. 3.7).

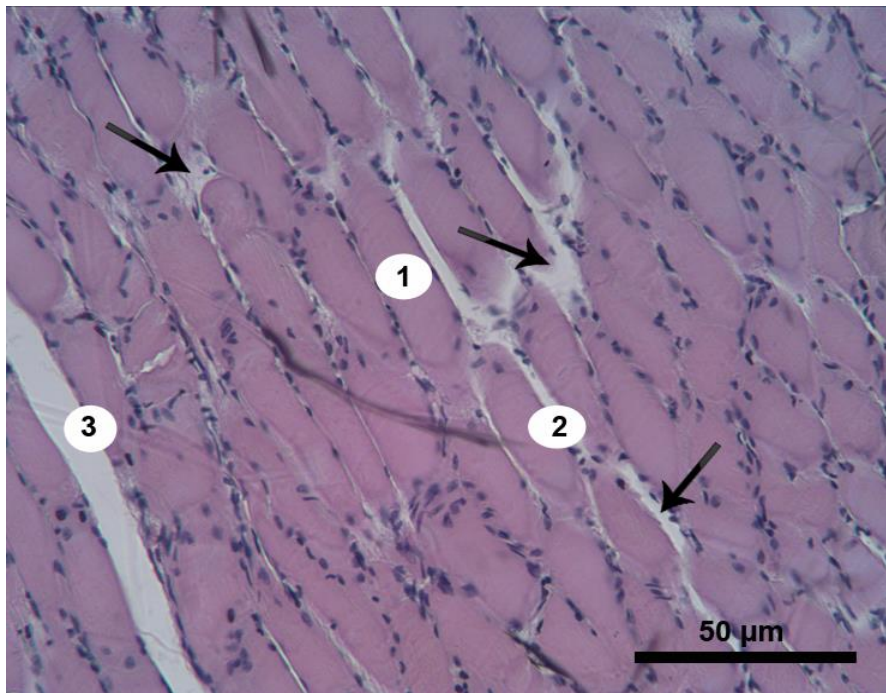


Рисунок 3.10 - Посмугований м'яз щура зрілого віку через 3 місяці інтоксикації солями Cu, Zn та Fe. Поперечний зріз. Набряк м'язових волокон та розростання сполучної тканини (зазначено стрілками). Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

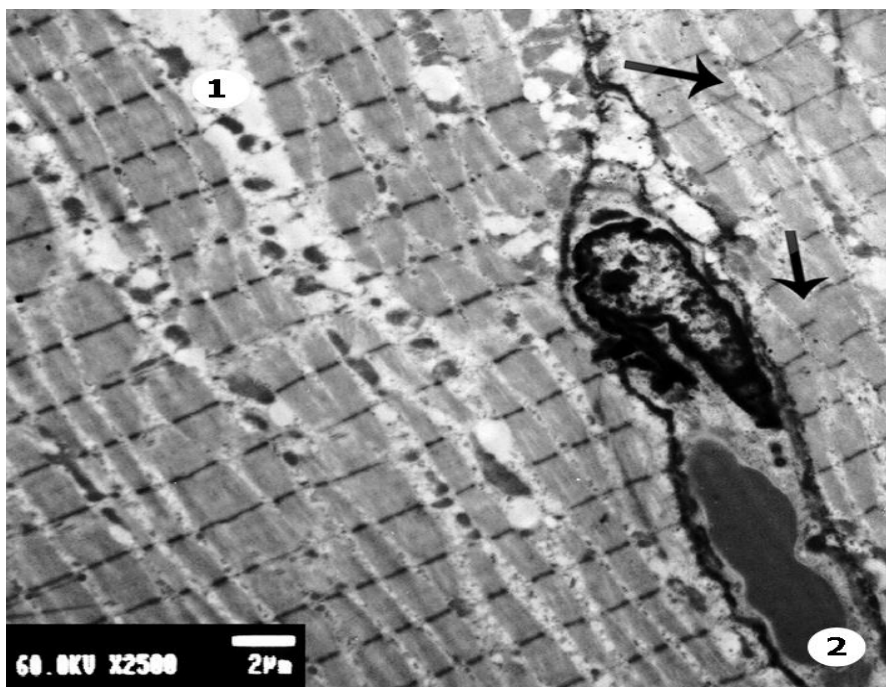


Рисунок 3.11 - Ультраструктура посмугованого м'яза щура зрілого віку, який упродовж 3-х місяців одержував солі Cu, Zn та Fe. Стрілками зазначено вогнища дезорганізації саркомера. 1 – саркоплазматичний ретикулум; 2 – просвіт капіляра

Вивчення мікропрепаратів триголового м'яза литки щурів старечого віку після першого місяця дослідження за допомогою світлового мікроскопа виявило наявність вікових змін, характер яких відповідав останнім у щурів групи контролю. Проте необхідно зазначити, що розвиток сполучнотканинних елементів між м'язовими волокнами та навколо судин був дещо більшим (рис. 3.12).

Зміни органометричних показників щурів дослідної групи щодо представників контролю мали такий характер. АОМ зріс на 4,72 % ($p \leq 0,05$). Щільність м'яза зменшилася на 4,87 % ($p \leq 0,05$). ПППМ зросла на 4,34 % ($p \leq 0,05$). Усі інші параметри достовірних змін не зазнали (Додаток А, табл. А.7).

Дослідження зразків латеральної голівки триголового м'яза щурів із використанням світлового мікроскопа виявило достовірне зростання ШП та ПППВ на 2,97 % і 5,86 % відповідно, якщо порівнювати з контрольними тваринами ($p \leq 0,05$). Інші параметри достовірно не змінились (Додаток А, табл. А.7).

Картина ультрамікроскопічних змін скелетних м'язів щурів старечого віку після першого місяця експерименту характеризувалася наявністю вікових змін, поряд із якими спостерігалися поодинокі порушення регулярності поперечної посмугованості, візуалізувались ділянки дрібновогнищевих контрактур. Ядра симпласта були розміщені не лише на периферії, а й по всій площі м'язових клітин. Досить часто спостерігались ядра зі світлим забарвленням та без глибок хроматину. Мітохондрії мали набряклий вигляд, були незначно дилатованими, містили деформовані кристи. Матрикс їх виглядав дещо просвітленим. Клітини-сателіти мали незмінний вигляд та розташовувались у звичних місцях. При цьому аналіз досліджуваних ультрамікроскопічних параметрів не виявив статистично значущих відмінностей серед щурів груп порівняння (Додаток А, табл. А.8).

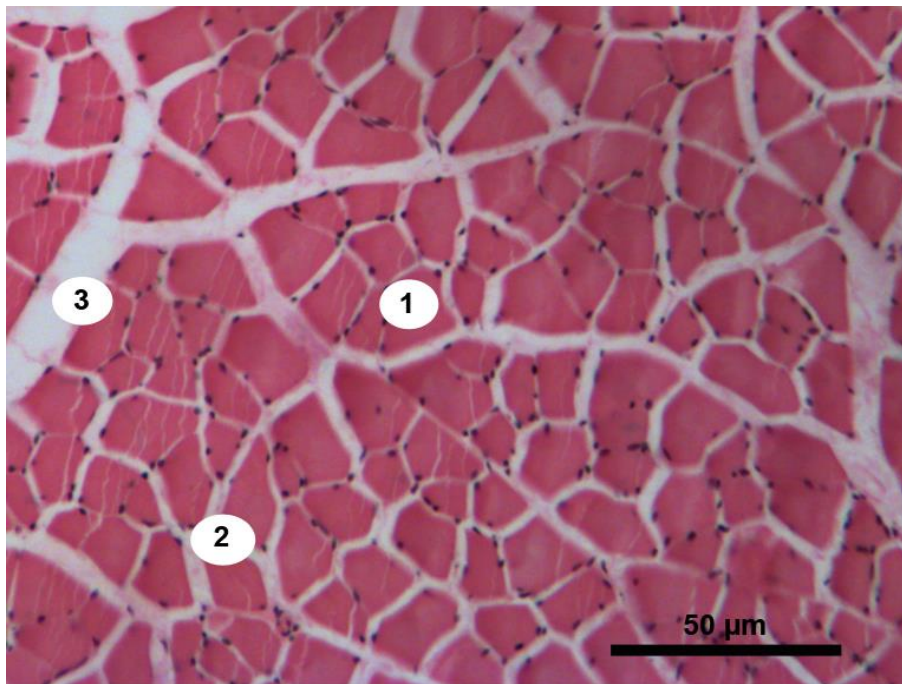


Рисунок 3.12 - Триголовий м'яз щура старечого віку, який упродовж 1-го місяця вживав солі Cu, Zn та Fe. Поперечний зріз. Посилений розвиток сполучнотканинних елементів. Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

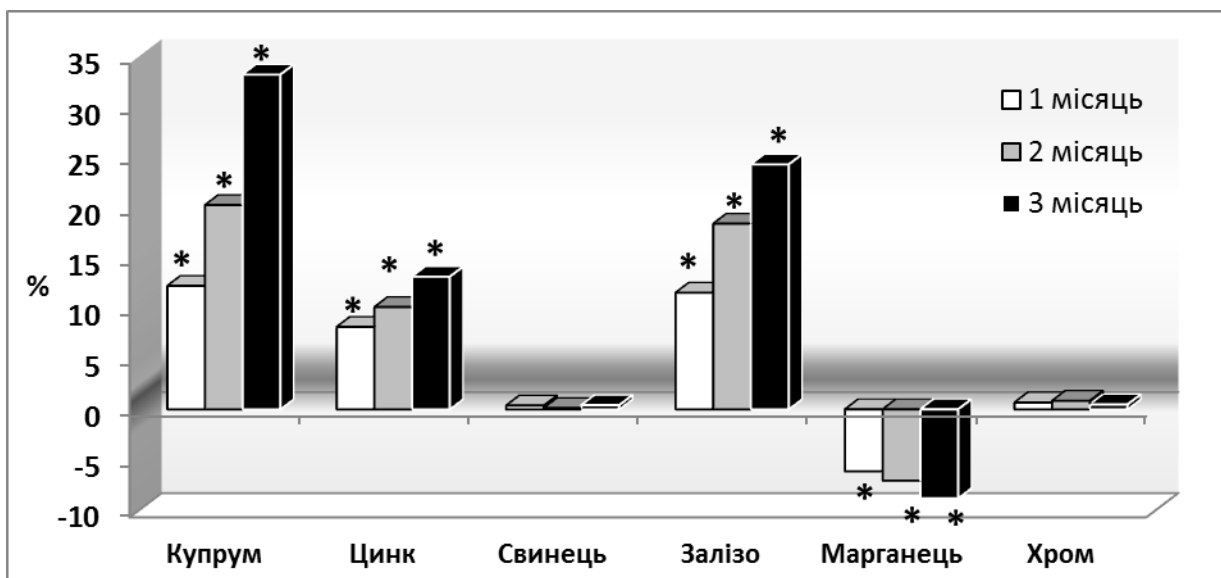


Рисунок 3.13 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів старечого віку за умов вживання солей Cu, Zn та Fe через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Вивчення концентрації хімічних елементів у скелетних м'язах щурів цього терміну дослідження показало збільшення вмісту міді на 12,24 % ($p \leq 0,05$), цинку – на 8,17 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 11,56 % ($p \leq 0,05$). Показник вмісту марганцю знизився на 6,14 % ($p \leq 0,05$). Концентрація хрому та свинцю залишилася сталою (рис. 3.13).

Зміни органоетричних показників триголового м'яза литки щурів старечого віку після другого місяця експерименту мали ті самі тенденції, що і після першого місяця дослідження. Застосування параметричного t-критерію Стьюдента не виявило достовірних змін маси щурів, АММ, ВММ, ДМЧ та ДМСЧ у тварин дослідної групи, якщо порівнювати з особинами групи контролю. При цьому, як і у попередньому терміні експерименту, АОМ зріс на 11,19 %, ПППМ – на 6,99 %, а показник ЩМ зменшився на 10,87 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.7).

Вивчення скелетних м'язів у світловому полі виявило розширення сполучнотканинних прошарків, повнокров'я венозних судин, діapedезні крововиливи. Цитоплазма міоцитів у більшості препаратів мала світлий вигляд. Самі ж волокна були звиті, мали різноманітні товщину та довжину. Посмугованість останніх не візуалізувалась.

Гістоморфометричний аналіз литкового м'яза виявив статистично значуще збільшення ДМВ на 4,34 %, ШП – на 5,03 % та ПППВ – на 8,86 % ($p \leq 0,05$). Достовірним також було зменшення КЯМ у щурів експериментальної групи (на 2,94 %; $p \leq 0,05$). Усі інші шукані гістометричні параметри та індекси істотних змін не зазнали (рис 3.14).

Вивчення препаратів литкового м'яза щурів старечого віку цього терміну експерименту за допомогою електронного мікроскопа виявило незначну кількість ділянок контрактур міофібрил, їх деформацію і часткову деструкцію. Зміни більшості ультраструктурних параметрів не були статистично достовірними. Так, лише зростання ПЯМ на 8,11 %, ОЯМ – на 12,01 % , та ОМ – на 11,48 % були значущими, якщо порівнювати з контролем ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.8).

Динаміка змін хімічного складу скелетних м'язів щурів старечого віку після другого місяця експерименту залишилася незмінною. Відзначалося зростання вмісту

міді на 20,25 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 18,41 % ($p \leq 0,05$), цинку – на 10,14 % ($p \leq 0,05$). Концентрація марганцю знизилася вже на 7,08 % ($p \leq 0,05$). Зміни вмісту свинцю та хрому істотними не були і не виходили за межі статистичної значущості (Додаток А, табл. А.9).

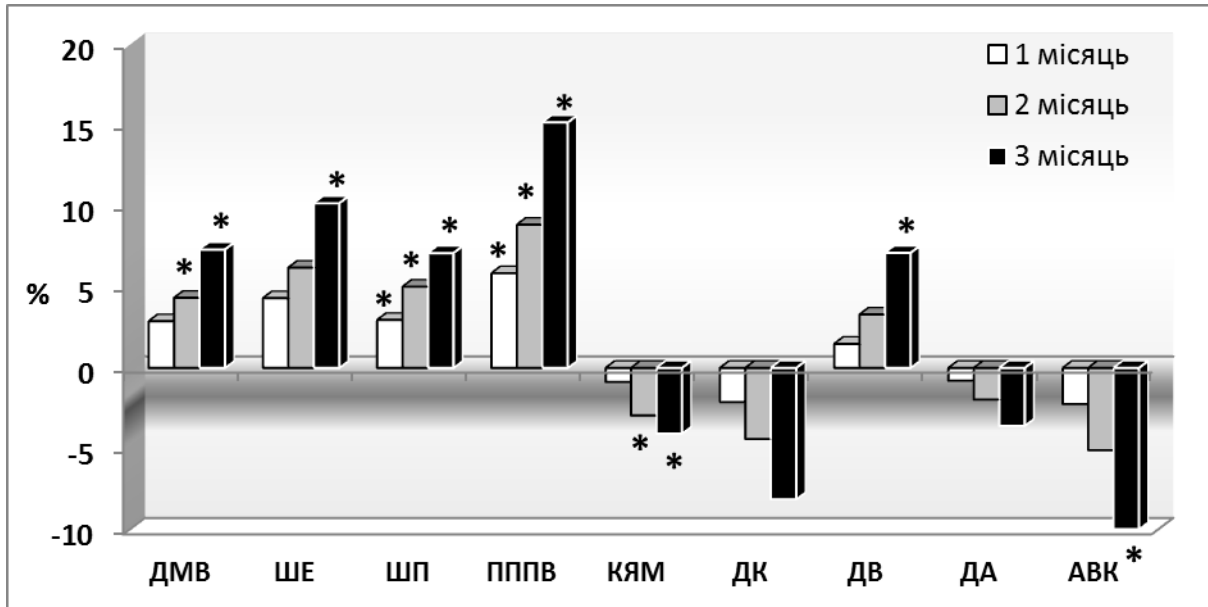


Рисунок 3.14 - Відсоткове співвідношення мікрморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів старечого віку за умов вживання солей Cu, Zn, Fe через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Після третього місяця експерименту у щурів старечого віку простежувалося достовірне зменшення показника абсолютної маси м'яза на 2,33 % ($p \leq 0,05$). При цьому зберігалася тенденція до зростання показників АОМ та ПППМ. Так, останній збільшився на 14,74 %, а АОМ – на 20,33 %, порівняно з контрольною групою ($p \leq 0,05$). ЩМ зменшилася на 18,47 % ($p \leq 0,05$). Зміни показників маси м'яза, ВММ, ДМЧ та ДМСЧ достовірними не були (Додаток А, табл. А.7).

У світловому мікроскопі зразки латеральної голівки триголового м'яза литки тварин старечого віку після третього місяця дослідження характеризувалися посиленням патологічних змін. Спостерігалися виражений набряк волокон та сполучнотканинних прошарків, значне розширення венозних судин, ділянки

крововиливів та деформація контуру базальної мембрани (рис 3.15). Ядра міоцитів характеризувалися поліморфністю та хаотичністю власної локації.

Серед досліджуваних параметрів відбулося зростання ДМВ на 7,29 % ($p \leq 0,05$), ШЕ, ШП та ПППВ – на 9,98, 7,11 та 15,2 % відповідно ($p \leq 0,05$). Співвідн. І при цьому змін не зазнало. Показник КЯМ зменшився на 4,07 % ($p \leq 0,05$). Щодо морфометричних показників гемомікроциркуляторного русла, то відбулися зростання ДВ на 7,12 % ($p \leq 0,05$) та зменшення ДК на 8,13 % ($p \leq 0,05$). Незважаючи на статистично недостовірне зменшення ДА, відбулося значне зменшення АВК на 9,92 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.8).

Вивчення препаратів скелетних м'язів щурів старечого віку після трьох місяців інтоксикації за допомогою електронної мікроскопії показало такі зміни. Відзначалося порушення паралельності розміщення фібрил (рис. 3.16), місцями у них візуалізувалися ділянки контрактур. Структуру та межі саркомера частіше за все вдавалось ідентифікувати. Показник ДМФ достовірно зменшився на 4,69 % ($p \leq 0,05$). Ядра симпласта розміщувалися по всій саркоплазмі, мали численні деформації та розриви мембрани, мали набряклий вигляд. Відзначалося зростання ПЯМ та ОЯМ на 12,15 % і 18,51 % відповідно ($p \leq 0,05$). Мітохондрії були також набряклими, розширеними, мали просвітлений матрикс, що був заповнений здебільшого зруйнованими кристами. ПМ та ОМ збільшилися на 12,44 % і 19,04 % відповідно ($p \leq 0,05$).

Характер змін вмісту хімічних елементів не зазнав відхилень і лише посилювався. Так, після трьох місяців експерименту концентрація міді зросла на 33,19 % ($p \leq 0,05$). Вміст цинку й заліза збільшився на 10,14 % і 18,41 % відповідно ($p \leq 0,05$). Зменшення вмісту марганцю сягнуло 8,82 % ($p \leq 0,05$). Рівні свинцю та хрому залишилися майже незмінними (рис. 3.13).

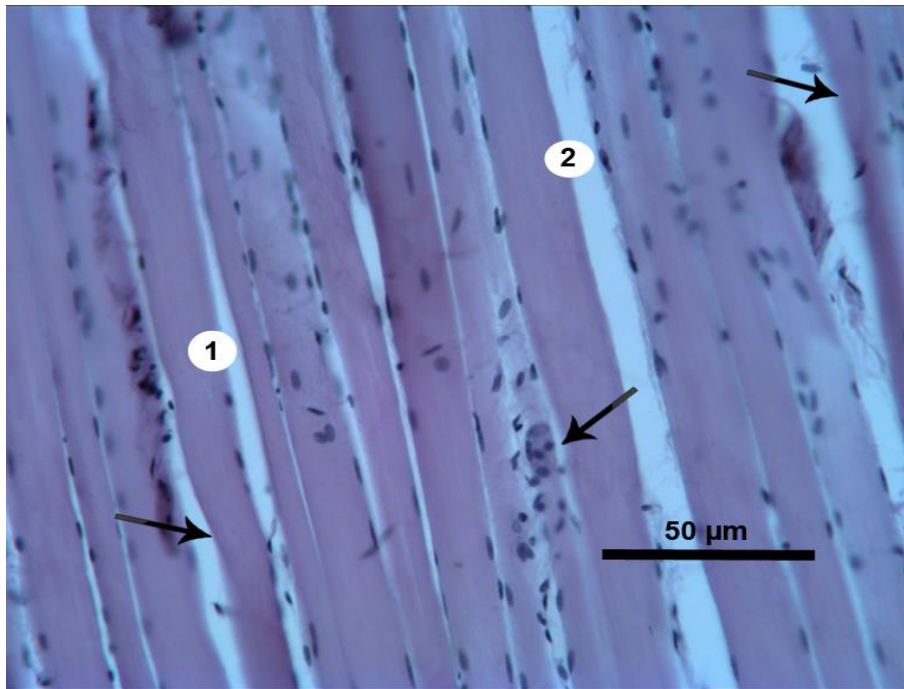


Рисунок 3.15 - Скелетний м'яз щура старечого віку через 3 місяці експерименту (солі Cu, Zn та Fe). Звивистість м'язових волокон, деформація їх контуру (зазначено стрілками). Посилений розвиток сполучної тканини. Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій

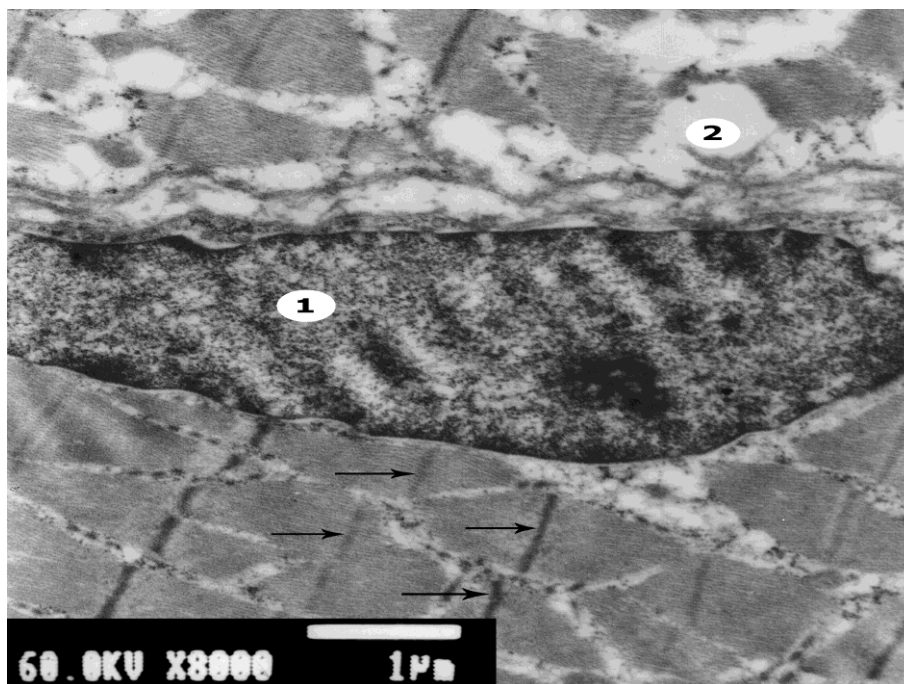


Рисунок 3.16 - Ультраструктура посмугованого м'яза щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців одержував солі Cu, Zn та Fe. Порушення паралельності розміщення міофібрил (зазначено стрілками): 1 – ядро міосимпласта; 2 – саркоплазматичний ретикулум

Таким чином, потрапляння до організму щурів солей цинку, заліза та міді зумовлює накопичення іонів відповідних металів у скелетних м'язах. Значне підвищення концентрації цих іонів призводить до набрякових змін та активації склеротичних і атрофічних процесів у посмугованих м'язах щурів різних вікових груп, що проявляються як на макро-, так і на мікро- та ультраструктурному рівнях.

3.5.2 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різного віку за умов надмірного вживання солей марганцю, свинцю та міді

Дослідження латеральної голівки триголового м'яза литки щурів молодого віку після першого місяця вживання води з концентрацією солей важких металів, що входять до складу суміші № 2, практично не виявило достовірних змін органомеричних показників, якщо порівнювати з тваринами контрольної групи. Лише площа поперечного перерізу м'язового черевця на цьому етапі експерименту у дослідних тварин була на 5,65 % більшою, ніж у щурів групи контролю ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.10). У мікроскопічній картині привертала увагу лише наявність розширення венозних судин та їх виражене повнокров'я. Останнє виявилось у достовірному збільшенні ДВ на 4,17 % ($p \leq 0,05$). Усі інші досліджувані мікроморфометричні показники залишилися майже незмінними (Додаток А, табл. А.11).

Електронна мікроскопія литкового м'яза щурів молодого віку після першого місяця експерименту дала можливість установити, що в усіх ділянках та морфологічних елементах досліджуваних зразків ультраструктурних змін практично не відбулося, за винятком незначного розширення таких клітинних органел як ядра та мітохондрії. Міофібрили розміщувалися чітко паралельно, спостерігалася їх посмугованість. Ділянки ураження останніх були відсутніми. Вимірювання та аналіз ультрамікроскопічних параметрів литкового м'яза молодих щурів на цьому етапі дослідження виявили лише достовірне зростання ОЯМ на 6,12 % ($p \leq 0,05$). Зміни інших показників істотними не були (Додаток А, табл. А.11).

Хімічний склад скелетних м'язів молодих щурів після місяцю дослідів характеризувався так. Відбулося зростання концентрації міді на 12,17 % ($p \leq 0,05$), концентрації свинцю – на 14,22 % ($p \leq 0,05$) та марганцю – на 6,14 % ($p \leq 0,05$). При цьому відбулося статистично достовірне зменшення вмісту цинку на 5,29 % ($p \leq 0,05$). Концентрація заліза зменшилася на 1,14 %, що не було достовірним ($p > 0,05$). Рівень хрому залишився практично сталим (рис. 3.17).

Після другого місяця експерименту органометричні показники латеральної голівки триголового м'яза литки молодих щурів зазнали певних достовірних змін. Так, ПППМ збільшилася вже на 10,18 % ($p \leq 0,05$). Також достовірним було зростання АОМ на 9,57 % ($p \leq 0,05$), та зменшення ЩМ на 9,63 % ($p \leq 0,05$). ДМСЧ зріс на 4,97 %, проте зазначені зміни не перетнули межі статистичної значущості під час аналізу за допомогою t-критерію. Значення АММ, ВММ та ДМЧ залишилися майже сталими (Додаток А, табл. А.10).

Мікроскопічний аналіз препаратів скелетних м'язів молодих тварин після двох місяців інтоксикації виявив незначний набряк м'язових волокон. Волокна здебільшого мали однакову довжину та діаметр. У препаратах чітко диференціювалися пучки м'язових клітин, що були розділені вираженим, дещо розширеним перимізієм. Ядра симпласта розміщувалися по периферії, мали різноманітну форму. Венули і капіляри мали дещо дилатований вигляд, відмічався стаз крові у їхніх просвітах. Аналіз мікроскопічних показників литкового м'яза щурів молодого віку після другого місяця мікроелементозу виявив статистично значуще збільшення ШП на 5,16 % ($p \leq 0,05$) та зростання ПППВ на 6,46 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати з відповідними показниками щурів інтактної групи. Зміни ДМВ, ШЕ, КЯМ та співвідн. І були в межах 3 % і не перетнули межі статистичної значущості (Додаток А, табл. А.10).

Морфометричні показники гемомікроциркуляторного русла зазнали певних змін. ДК зменшився на 9,48 % ($p \leq 0,05$). ДВ збільшився на 7,12 % ($p \leq 0,05$). Зменшення ДА на 2,41 % не було статистично значущим, проте призвело до достовірного зменшення АВК – на 8,89 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.18).

Ультрамікроскопією латеральної голівки триголового м'яза литки тварин молодого віку після двох місяців вживання солей металів виявлено поодинокі вогнища фрагментації міофібрил, поодинокі ділянки перескорочення. Лінії та диски саркомера візуалізувалися не завжди чітко. Ядра та мітохондрії мали набряклий вигляд. Просвіт мітохондрій був дещо просвітленим, кристи здебільшого незміненими. Виявлялися ділянки розширення саркотубулярної системи. У цитоплазмі симпласта траплялися поодинокі вакуолі.

Під час ультрамікроморфометричного вивчення препаратів латеральної голівки триголового м'яза литки молодих щурів після другого місяця вживання солей свинцю, міді та марганцю виявилось значуще зростання ПЯМ та ПМ на 6,89 % та 7,36 % відповідно ($p \leq 0,05$). Більш вагомо збільшились об'єми цих органел. Так, ОЯМ зріс на 10,75 %, а ОМ – на 10,73 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.11). Зміни ДМФ мали недостовірний характер.

Спектральний аналіз вмісту хімічних елементів у посмугованих м'язах щурів молодого віку після двомісячного терміну експерименту виявив збільшення вмісту міді на 19,34 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 24,17 % ($p \leq 0,05$), марганцю – на 10,25 % ($p \leq 0,05$). Концентрація цинку зменшилася на 6,11 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 4,58 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.12). Вміст хрому мав такі самі показники, як і у м'язах щурів контрольної групи (рис. 3.17).

Зміни органометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки молодих щурів після третього місяця інтоксикації солями важких металів характеризувались ознаками гіпергідратації та атрофічними процесами. Так, АММ зменшилася, порівняно з контролем на 2,13 % ($p \leq 0,05$). Натомість показники АОМ, ДМСЧ, ПППМ зросли на 16,3 %, 8,17 % та 17,01 % відповідно ($p \leq 0,05$); (Додаток А, табл. А.10). Зростання об'єму м'яза призвело до зменшення щільності, яка на цьому етапі виявилася на 15,85 % менше, ніж у тварин інтактної серії ($p \leq 0,05$). Зміни маси щурів та відносної маси м'яза щурів прогресивного віку на цьому етапі дослідження достовірними не були.

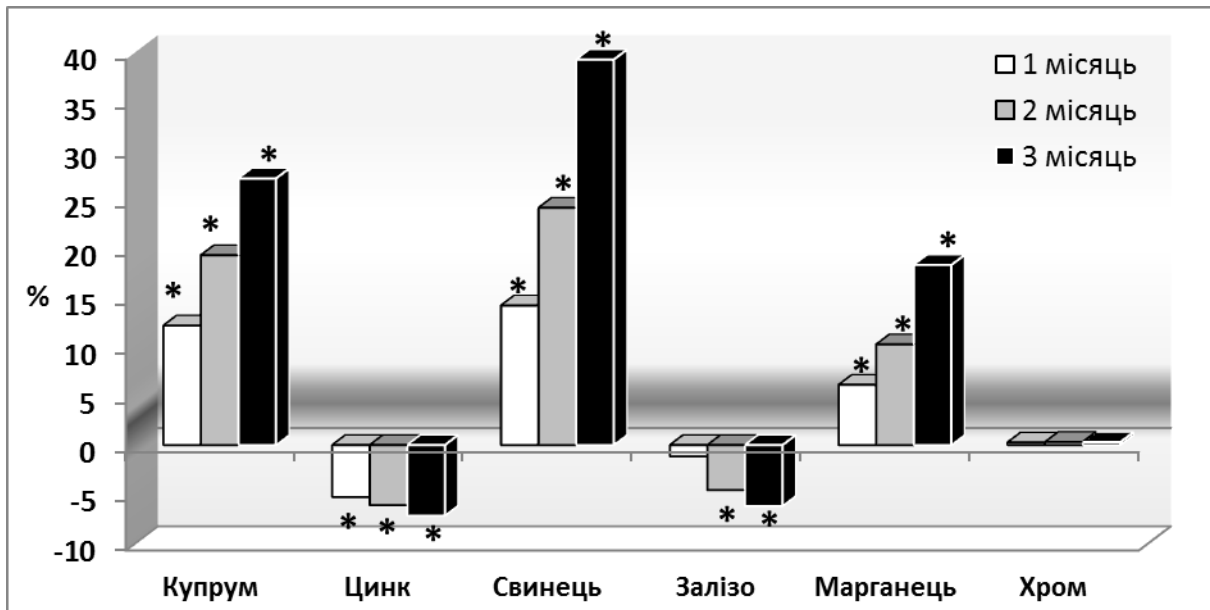


Рисунок 3.17 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів молодого віку за умов вживання солей Рb, Сu та Мn через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

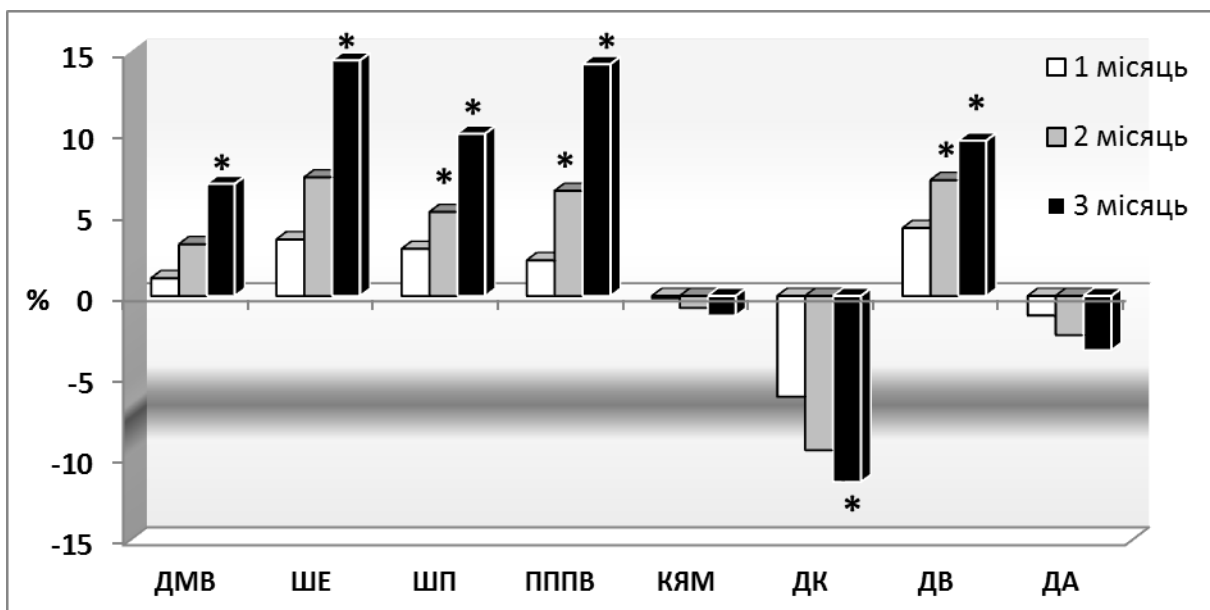


Рисунок 3.18 - Відсоткове співвідношення мікрморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів молодого віку за умов вживання солей Рb, Сu та Мn через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Мікроскопічне дослідження скелетних м'язів щурів молодого віку після 90 діб експерименту виявило набряк м'язових волокон, хвилястість їхнього контуру, деформацію базальної мембрани. Переважна кількість ядер розміщувалась по периферії клітин, проте траплялися й ті, що знаходилися по всій площі симпласта (рис. 3.19). Волокна були розділені розширеними проміжками сполучної тканини. Значно збільшилася кількість колагенових волокон і у складі перимізії. Відмічалось виражене кровонаповнення судин гемомікроциркуляторного русла.

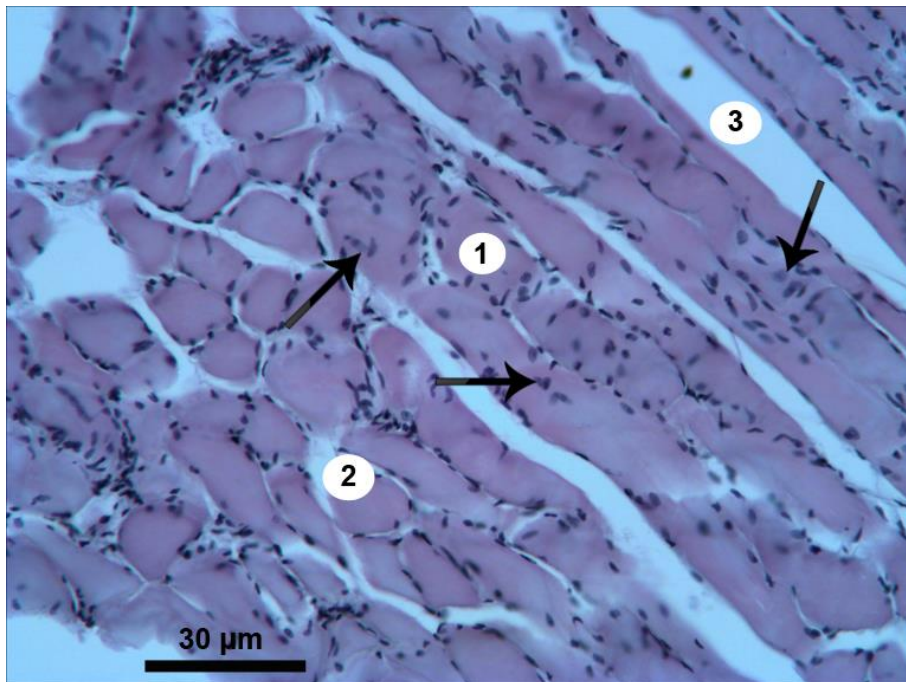


Рисунок 3.19 - Скелетний м'яз щура молодого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Pb, Cu та Mn. Хаотичне розміщення ядер міосимпласта (зазначено стрілками), розширення ендомізії та перимізії. Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

Гістологічний аналіз латеральної голівки триголового м'яза литки молодих щурів після третього місяця дослідження виявив достовірні відхилення у значеннях майже всіх шуканих параметрів. ДМВ у піддослідних тварин зріс на 6,89 % ($p \leq 0,05$). Морфометрія сполучнотканинних прошарків виявила зростання ШЕ на 14,48 % ($p \leq 0,05$), а ШП – на 9,98 % ($p \leq 0,05$). Відбулося достовірне збільшення співвідн. I на 7,10 %, що свідчить про більш виражене збільшення ширини сполучнотканинних прошарків навколо м'язових волокон, ніж діаметра самих

волокон. Останнє можна пояснити проходженням в ендомізії як склеротичних процесів, так і процесів інтерстиційного набряку. У міофібрилах, ймовірно, відбуваються лише набряк та атрофія без явищ склерозу.

Також серед мікроскопічних показників виявлене достовірне збільшення ПППВ на 14,25 % ($p \leq 0,05$) та статистично незначуще зменшення КЯМ на 1,22 % ($p > 0,05$). Щодо гістоморфометрії гемомікроциркуляторного русла латеральної голівки триголового м'яза литки молодих щурів цього терміну експерименту, то відбулося поглиблення змін, що були виявлені після другого місяця дослідження. ДК зменшився вже на 11,44 % ($p \leq 0,05$), ДА став меншим на 3,33 % ($p > 0,05$). На відміну від вище зазначених показників, ДВ зріс на 9,55 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.18). У кінцевому підсумку це призвело до зменшення АВК на 11,76 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.11).

Дослідження довільних м'язів щурів молодого віку після трьох місяців експерименту показало поглиблення тих змін, що спостерігались у попередній термін досліду. Міофібрили містили ділянки контрактур та фрагментації. Не завжди можна було визначити А- та І-диски, у місцях Z-лінії спостерігались місця розривів. Ядра симпласта були розширеними та набряклими. Мітохондрії містили деформовані кристи. Виявлялися ділянки дилатації елементів саркоплазматичного ретикулума.

Разом із цим електронна мікроскопія після трьох місяців експерименту виявила суттєві зміни гістометричних параметрів. Відбулося достовірне зменшення ДМФ на 3,48 % ($p \leq 0,05$). ПЯМ зросла на 11,28 % ($p \leq 0,05$), ПМ – на 12,07 % ($p \leq 0,05$). ОЯМ та ОМ зазнали ще більш істотних змін і збільшилися, порівняно з контрольною групою на 17,83 % та 17,18 % відповідно ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.11).

Хіміко-аналітичне вивчення елементного складу посмугованих м'язів молодих щурів після третього місяця інтоксикації свідчило про збільшення вмісту міді, свинцю та цинку на 27,15 %, 39,25 % і 18,34 % відповідно ($p \leq 0,05$). Концентрація цинку знизилася на 7,18 %, заліза – 6,21 % ($p \leq 0,05$). Кількість хрому не змінилася (Додаток А, табл. А.12).

Після першого місяця експерименту органометрією латеральної голівки триголового м'яза литки щурів зрілого віку було виявлено незначне зростання площі поперечного зрізу м'язового волокна на 7,61 %, порівняно з групою контролю ($p \leq 0,05$). АОМ та ЩМ змінилися в межах 5 %, проте такі зміни не були значущими при застосуванні t-критерію. Несуттєвими були зміни й інших органометричних показників (Додаток А, табл. А.13).

Вживання зрілими щурами води із солями купруму, плюмбуму та марганцю упродовж 1-го місяцю призвело до певних мікроскопічних змін. Поряд із незначним набряком м'язових волокон і розширенням як ендомізія, так і перимізія, привертала увагу наявність поодиноких, але подекуди масивних крововиливів та явищ стазу в судинах (рис. 3.20).

Серед мікроморфометричних показників відзначалося збільшення ШП на 3,07 % ($p \leq 0,05$), ПППВ – на 4,48 % ($p \leq 0,05$) та ДВ – на 5,23 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати з контрольною групою тварин. Змін зазнали й інші мікроморфометричні параметри, але вони не перетнули межі статистичної значущості (Додаток А, табл. А.13, А.14).

Ультрамiкроскопiчна картина препаратiв латеральної голiвки триголового м'яза литки зрiлих щурiв пiсля одного мiсяця експерименту практично вiдповiдала такiй у тварин, що не вживали води iз солями важких металiв. Вiдмiнними були лише наявнiсть розширення та набряку мiтохондрiй та ядер. Змiни майже всiх ультраметричних показникiв були не iстотними, i лише ОЯМ у пiддослiдних тварин виявився на 7,01 % бiльшими, нiж в iнтактних тварин ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.14).

Аналіз хімічного складу скелетних м'язів щурів зрілого віку після першого місяця дослідів виявив зростання вмісту тих елементів, солі яких у надмірній кількості надходили до організму тварин. Концентрація міді зросла на 9,27 % ($p \leq 0,05$), плюмбуму – на 10,24 % ($p \leq 0,05$), марганцю – на 5,44 % ($p \leq 0,05$). Зміни вмісту цинку, заліза й хрому не мали статистичної значущості (рис. 3.21).

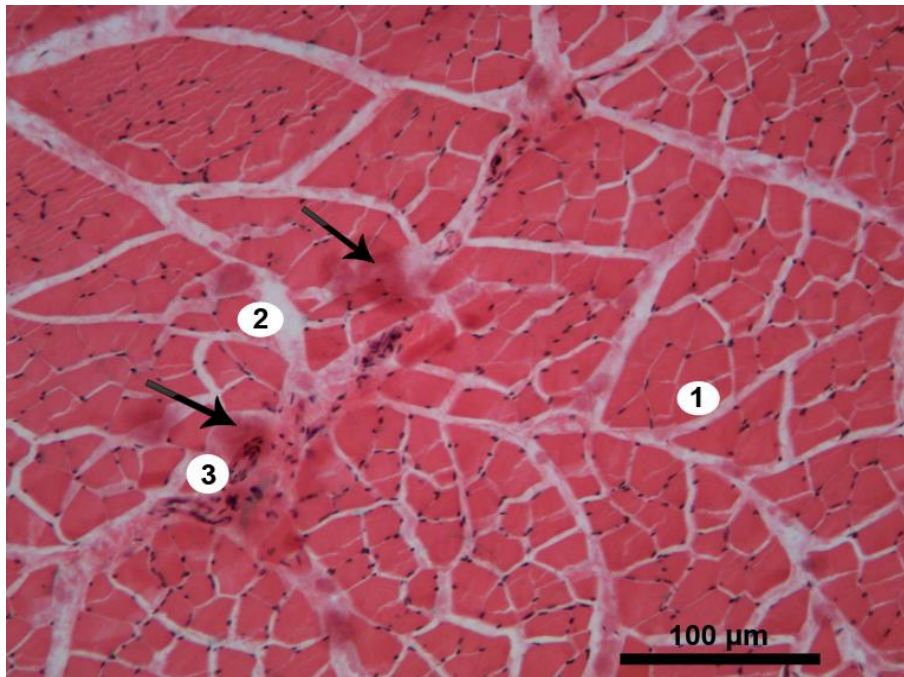


Рисунок 3.20 - Посмугований м'яз щура зрілого віку, який упродовж 1-го місяця вживав солі Pb, Cu та Mn. Крововиливи у м'язові волокна (зазначено стрілками). Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – капіляр

Після 60-ти діб експерименту макроскопічні зміни латеральної голівки триголового м'яза литки щурів зрілого віку були такими. АОМ та ПППМ збільшилися на 9,81 % ($p \leq 0,05$) і 12,10 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ЩМ зменшилася на 9,97 % ($p \leq 0,05$). Маса тварин, АММ, ДМЧ та ДМСЧ істотних змін не зазнали (Додаток А, табл. А.13).

Більш помітними були зміни на гістологічному рівні. Мікроскопічна картина скелетних м'язів дорослих щурів після двох місяців експерименту характеризувалася наявністю фрагментації міосимпласта, поодинокими випадками деструкції волокон, деформацією їхнього контуру. На фоні цього зберігалася поперечна посмугованість. Сполучнотканинні елементи були розширеними та набряклими.

Серед морфометричних параметрів ШЕ та ШП збільшилися на 10,14 % і 8,32 % відповідно ($p \leq 0,05$). Діаметр м'язового волокна збільшився на 4,08 %, проте показник p при аналізі за критерієм Стьюдента був більшим від 0,05. При цьому

співвідн. I достовірно зросло на 5,82 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.13). ПППВ на цьому етапі була на 8,32 % більшою, ніж у відповідному контролі ($p \leq 0,05$). КЯМ майже не змінилася ($p > 0,05$) (рис. 3.22).

Морфометрія судин литкового м'яза зрілих щурів виявила достовірне зменшення ДК на 10,17 % ($p \leq 0,05$). ДА у дослідних зразках також був меншим, ніж в інтактній групі (на 3,59 %), однак це не було підтверджено статистично. ДВ достовірно зріс на 8,47 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.36). Як результат, артеріоло-венулярний коефіцієнт в експериментальних тварин зменшився на 11,12 %, якщо порівнювати із щурами контрольної групи ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.14).

Вивчення електронно-мікроскопічних препаратів скелетних м'язів зрілих щурів після двох місяців інтоксикації солями свинцю, міді та марганцю показало наявність значної кількості вогнищ порушення регулярності поперечної смугастості. Міофібрили часто були перескороченими, відзначалися деформація та руйнація I- та А-дисків.

Аналіз морфометричних показників дав можливість установити зменшення ДМФ на 3,12 % ($p \leq 0,05$), збільшення ПЯМ та ОЯМ – на 8,31 % ($p \leq 0,05$) і 12,59 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Збільшення зазнали також і ПМ та ОМ на 8,12 % ($p \leq 0,05$) і 11,59 % ($p \leq 0,05$) відповідно (Додаток А, табл. А.14).

Вивчення мікроелементного складу посмугованих м'язів зрілих щурів після двох місяців експерименту виявило поглиблення змін, що спостерігались у тварин після першого місяця дослідження. Вміст міді збільшився на 14,42 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 18,64 % ($p \leq 0,05$), марганцю – на 7,63 % ($p \leq 0,05$). Достовірно меншою стала концентрація цинку (на 4,16 %, $p \leq 0,05$) (рис.3.21). Як і раніше, показники вмісту хрому та заліза залишалися практично сталими (Додаток А, табл. А.15).

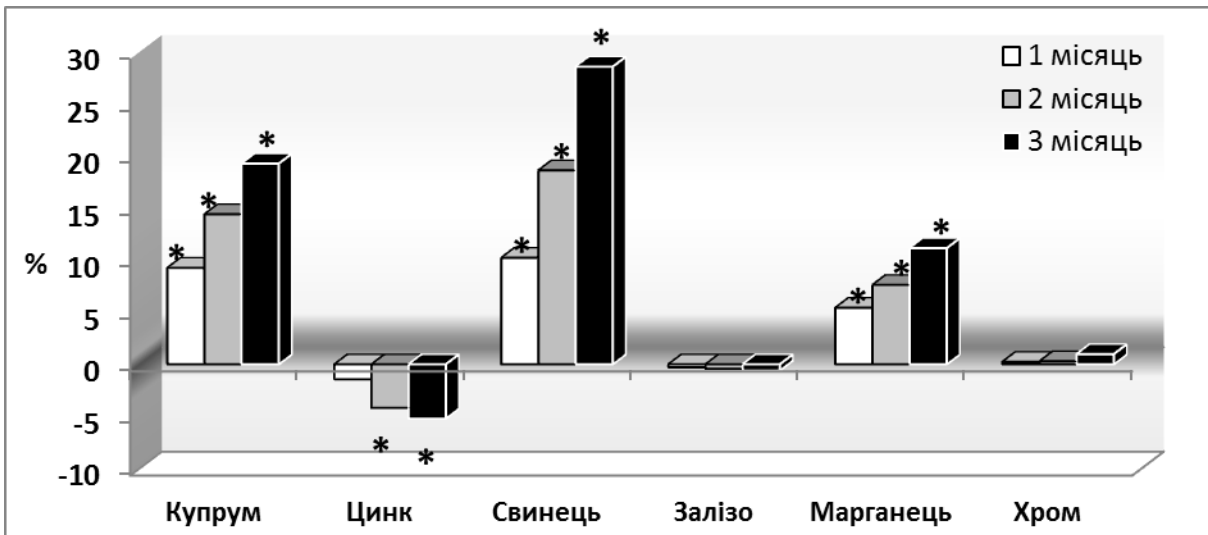


Рисунок 3.21 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів зрілого віку за умов вживання солей Рb, Сu та Мn через 1, 2 і 3 місяці дослідження. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

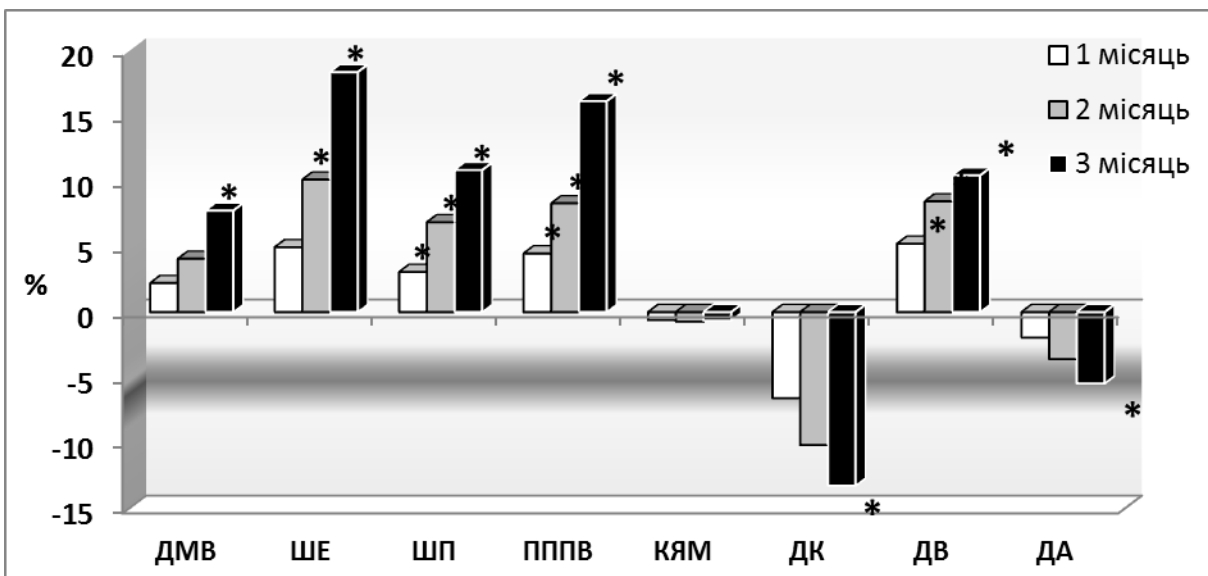


Рисунок 3.22 - Відсоткове співвідношення мікроморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів зрілого віку за умов вживання солей Рb, Сu та Мn через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Після завершення всіх трьох місяців інтоксикації зразки латеральної голівки литкового м'яза щурів зрілого віку на органному рівні зазнали таких змін. АММ зменшилася на 3,28 % ($p \leq 0,05$). Також зменшення зазнала і ЩМ (на 17,93 %, $p \leq 0,05$). При цьому АОМ збільшився на 17,86 %, ПППМ – на 21,41 % ($p \leq 0,05$), ДМСЧ – на 10,19 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.13). Зменшення загальної маси щурів на 1,44 % на цьому етапі достовірним не було ($p \leq 0,05$). ВММ та ДМЧ також значущо не змінилися.

Гістологічна картина посмугованих м'язів щурів дорослого віку цього терміну дослідження характеризувалася прогресуванням патологічних змін у бік склеротичних та набрякових процесів. Волокна міосимпласта були відокремлені один від одного значно розширеним ендомізієм (рис. 3.23). Відзначалися виражена хвилеподібна деформація їхнього контуру, деформація та хаотичне розміщення ядер, наявність значної кількості точкових крововиливів.

Серед мікоморфометричних параметрів лише показник КЯМ залишився практично сталим у скелетних м'язах зрілих щурів після трьох місяців експерименту. ДМВ виявився на 7,77 % більше, ніж у контрольній групі ($p \leq 0,05$). Показники ШЕ та ШП були на 18,37 % та 10,87 % відповідно більшими, ніж в інтактних щурів ($p \leq 0,05$). Співвідн. І зросло на 9,83 % ($p \leq 0,05$). Значення ПППВ збільшилося на 16,14 % ($p \leq 0,05$). Морфометрія судин литкового м'яза виявила зменшення ДК (на 13,29 %, $p \leq 0,05$) та ДА (5,46 %, $p \leq 0,05$). ДВ збільшився на 10,46 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.21). Зміни морфометричних показників дрібних судин призвели до суттєвого зменшення АВК (на 14,41 %, $p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.13, 14).

Дослідження скелетних м'язів дорослих щурів після трьох місяців інтоксикації солями свинцю, міді та марганцю за допомогою електронного мікроскопа виявило посилення деструктивних процесів у м'язових клітинах. Характерним було хвилеподібне розміщення міофібрил, ділянки їх вираженої дезорганізації (рис. 3.24).

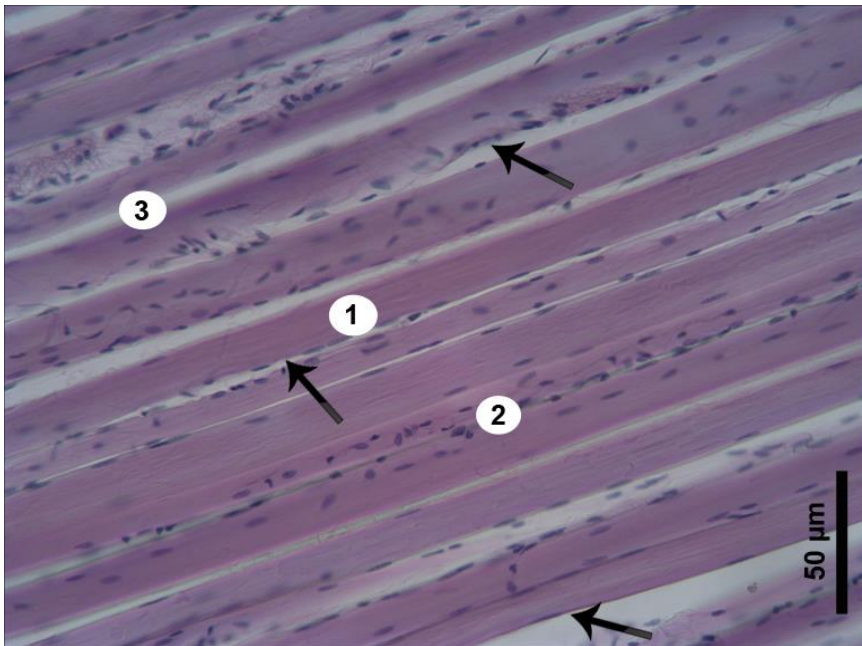


Рисунок 3.23 - Посмугований м'яз щура зрілого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Рb, Сu та Мn. Розширення сполучнотканинних прошарків, деформація м'язових волокон (зазначено стрілками). Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – м'язове волокно; 2 – ядра симпласта; 3 – ендомізій

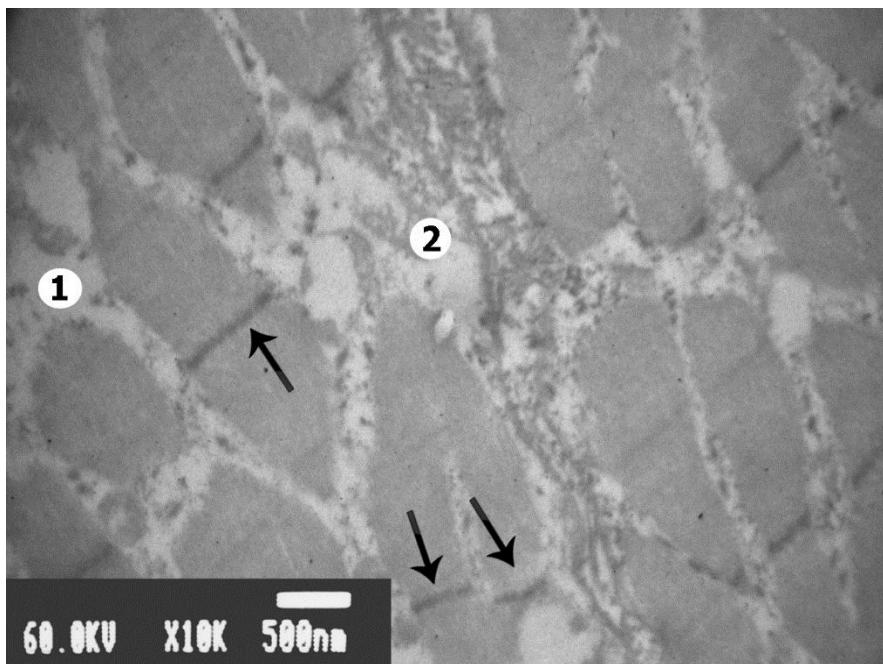


Рисунок 3.24 - Ультраструктура посмугованого м'яза щура зрілого віку, який упродовж 3-х місяців одержував солі Рb, Сu та Мn. Явища дезорганізації та руйнації скорочувального апарату (зазначено стрілками). 1 – набряк елементів саркоплазматичного ретикулула; 2 – мітохондрія

Усі ультрамікроскопічні показники після трьох місяців інтоксикації зазнали виражених змін. ДМФ був на 4,01 % меншим, ніж у контролі ($p \leq 0,05$). ПЯМ та ПМ збільшилися на 12,87 % ($p \leq 0,05$) і на 13,21 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ОЯМ та ОМ зросли на 19,81 % ($p \leq 0,05$) і на 18,56 % ($p \leq 0,05$) відповідно (Додаток А, табл. А.14).

Хімічний аналіз литкового м'яза зрілих щурів після трьох місяців експерименту виявив ті самі тенденції змін мікроелементного складу, що і на попередньому етапі дослідження. Проте вони були більш значущими. Вміст купруму зріс на 19,28 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 28,59 % ($p \leq 0,05$), марганцю – на 11,16 % ($p \leq 0,05$). Концентрація цинку знизилася на 5,21 % ($p \leq 0,05$). Показники вмісту феруму і хрому суттєво не відрізнялися від подібних значень у групі порівняння ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.15).

Після першого місяця інтоксикації солями свинцю, міді та марганцю у препаратах посмугованих м'язів щурів старечого віку були виявлені такі зміни органометричних показників. АОМ і ПППМ зросли на 7,01 % ($p \leq 0,05$) та на 8,71 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Показник ЩМ зменшився порівняно з контрольною групою на 7,42 % ($p \leq 0,05$). Маса тварин, АММ, ВММ, ДМЧ та ДМСЧ суттєвих змін після першого місяця не зазнали (Додаток А, табл. А.16).

Гістологічним вивченням зразків скелетних м'язів піддослідних тварин виявлено набряк та деформацію волокон, склеротичні зміни (рис. 3.25) та ознаки венозного повнокров'я. Так, статистично значущо більшим виявився показник ШП (на 4,21 %, $p \leq 0,05$), ПППВ (на 6,02 %, $p \leq 0,05$) та ДВ (на 5,95 %, $p \leq 0,05$). АВК зменшився на 7,86 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.27). Зміни значень інших гістоморфометричних показників достовірними не були (Додаток А, табл. А.16, А.17).

Реакція клітинних органел міосимпласта щурів старечого віку на 30-добову інтоксикацію не була вираженою. Однак інколи траплялися вогнища дезорганізації міофібрил поряд із гідропічно зміненими ядрами та мітохондріями. Майже всі ультрамікроскопічні параметри на цьому етапі експерименту істотних змін не

зазнали. Лише ОЯМ статистично достовірно збільшився на 7,26 %, якщо порівнювати з інтактними тваринами ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.17).

Хімічний аналіз скелетної мускулатури тварин старечого віку виявив підвищення вмісту міді на 11,56 % ($p \leq 0,05$), плумбуму – на 12,23 % ($p \leq 0,05$) та марганцю – на 5,97 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.26). Значення концентрацій інших елементів залишилися практично незмінними (Додаток А, табл. А.18).

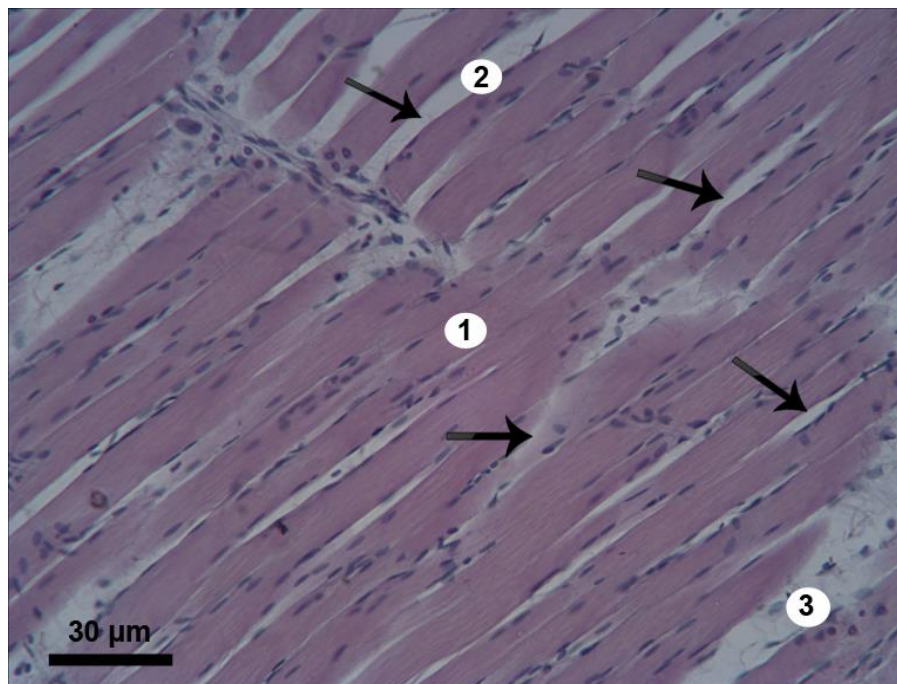


Рисунок 3.25 - Посмугований м'яз щура старечого віку, який упродовж 1-го місяця вживав солі Рb, Сu та Мn. Значний розвиток сполучної тканини ендомізія (зазначено стрілками), хвилястий контур м'язових волокон. Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізієм; 3 – перимізієм

Після двох місяців експерименту не було виявлене достовірне зменшення маси щурів старечого віку. Натомість АММ зменшилась значимо (на 1,91 %; $p \leq 0,05$). При цьому зміни відносної маси м'яза істотними не були. АОМ збільшився на 16,64 % ($p \leq 0,05$), ПППМ – на 17,05 % ($p \leq 0,05$). ДМСЧ став більшим на 8,19 % ($p \leq 0,05$). Натомість ЩМ знизилася на 15,9 % ($p \leq 0,05$). ДМЧ залишилася практично сталою (Додаток А, табл. А.16).

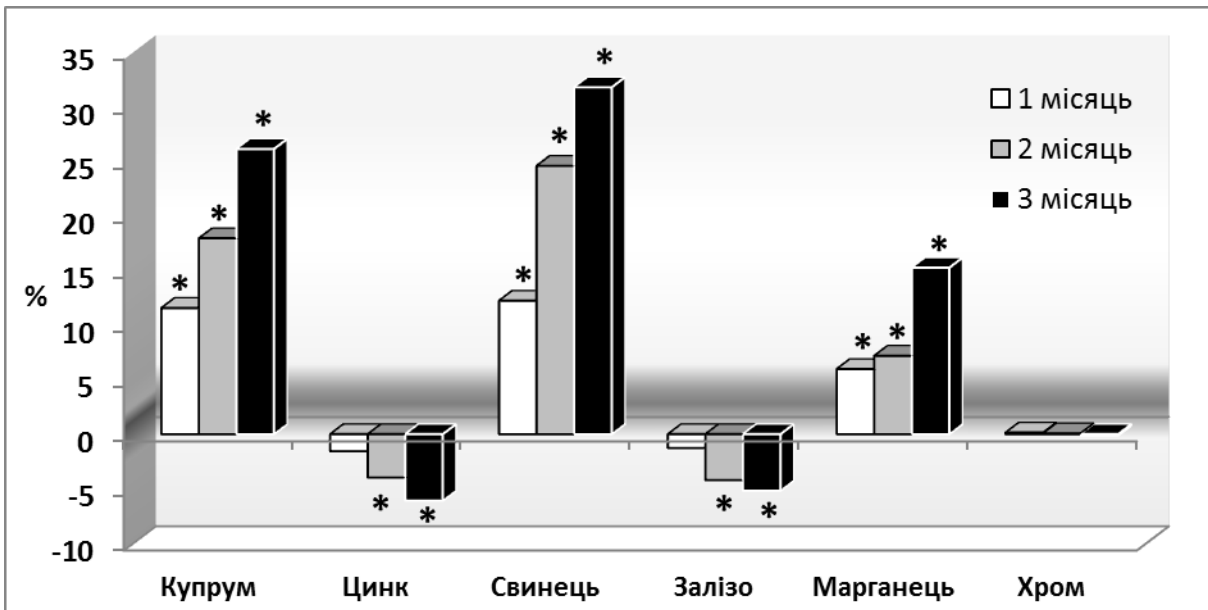


Рисунок 3.26 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів старечого віку за умов вживання солей Рв, Сu та Мп через 1, 2 та 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

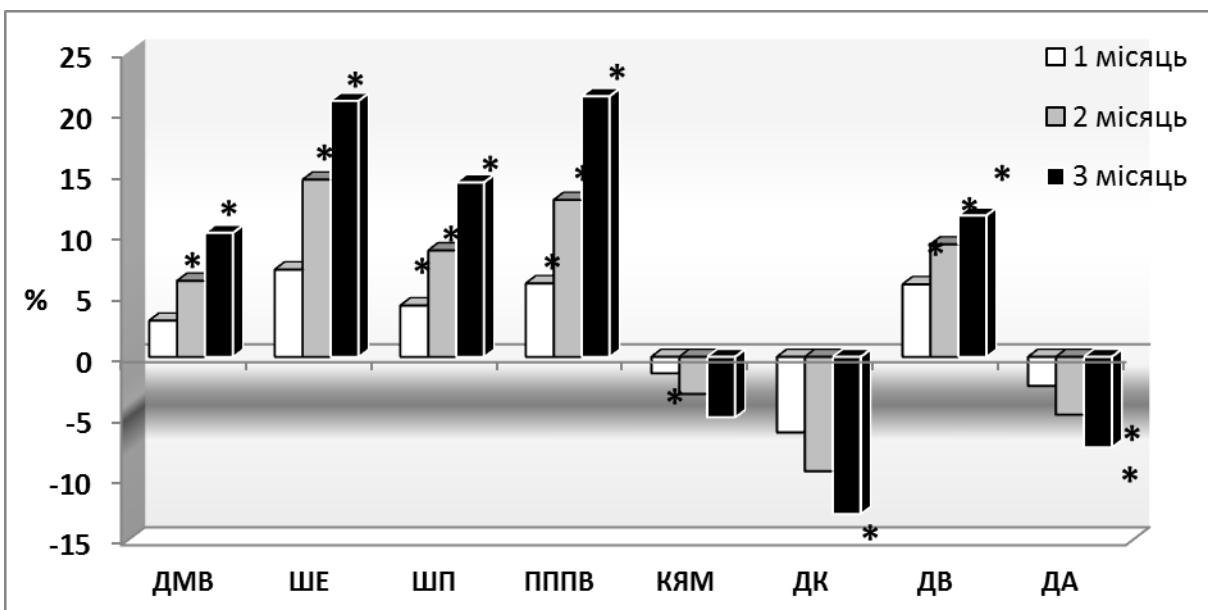


Рисунок 3.27 - Відсоткове співвідношення мікрморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів старечого віку за умов вживання солей Рв, Сu та Мп через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Аналіз гістопрепаратів латеральної голівки щурів старечого віку після двох місяців інтоксикації виявив досить виражені зміни форми волокон міосимпласта, їх деструктуризацію та навіть ділянки руйнації. Ядра м'язових клітин розміщувалися хаотично по всій площі саркоплазми. Усі волокна були розділені яскраво вираженими прошарками ендомізії, пучки волокон оточував масивний перимізій (рис. 3.28). Часто траплялися ділянки точкових і масивних крововиливів.

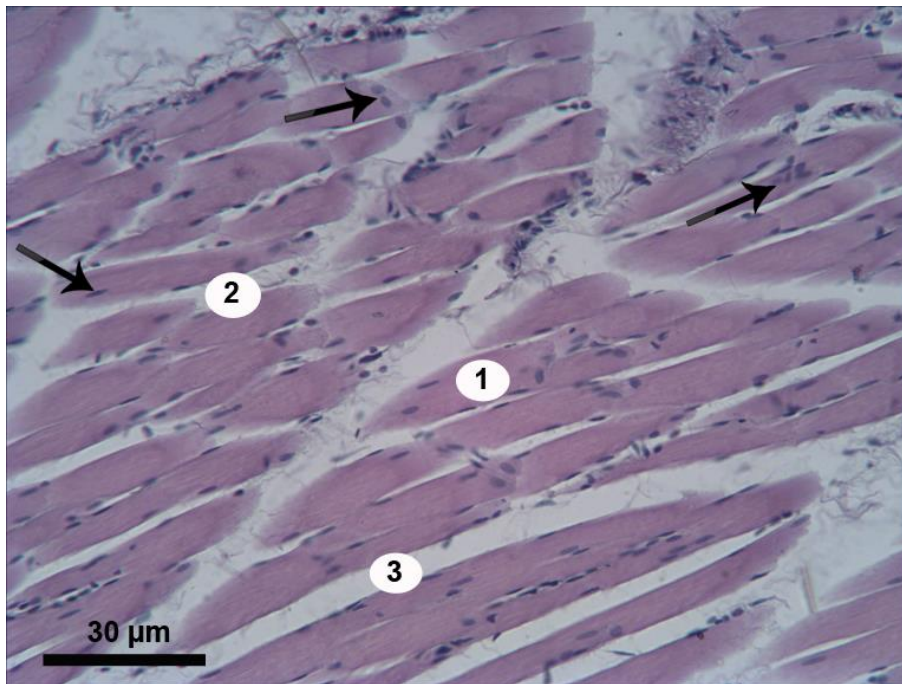


Рисунок 3.28 - Посмугований м'яз щура старечого віку, який упродовж 2-х місяців одержував солі Pb, Cu та Mn. Атрофічні та склеротичні зміни; хаотичне розміщення ядер міоцитів (зазначено стрілками). Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

Вивчення морфометричних показників встановило збільшення ДМВ на 6,24 % ($p \leq 0,05$). ШЕ зросла на 14,53 % ($p \leq 0,05$), а ШПІ – на 8,53 % ($p \leq 0,05$). Показник співвідн. I став більшим на 7,81 % ($p \leq 0,05$). Також відзначалося значуще зростання ПППВ на 12,87 % ($p \leq 0,05$). КЯМ у дослідній групі стала меншою на 3,04 %, проте відповідні зміни не перетнули межі статистичної достовірності ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.18). Вивчення метричних показників судин гемомікроциркуляторного русла виявило збільшення ДВ на 9,22 % ($p \leq 0,05$) та зменшення ДК на 9,37 % ($p \leq 0,05$).

0,05), ДА – на 4,73 % ($p > 0,05$) (рис 3.28). АВК у дослідній групі був меншим на 12,77 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.17).

Вивчення зразків посмугованих м'язів старечих щурів після шістдесяти діб експерименту за допомогою електронного мікроскопу виявило наступні зміни. Міофібрили здебільшого були деформованими, мали розміщувалися хвилеподібно. Не завжди можна було чітко виявити межі саркомерів. Ядра м'язових волокон мали набряклий вигляд, іноді траплялися зруйновані ядра, що не містили гетерохроматину. Також відзначалися набряк мітохондрій, деформація та руйнація крист, фрагментація елементів саркоплазматичного ретикулума. Дослідження метричних показників виявило значну редукцію ДМФ на 3,11 % ($p \leq 0,05$). ПЯМ та ПМ зросли на 7,56 % і 8,34 % відповідно ($p \leq 0,05$). ОЯМ і ОМ виявилися більшими на 11,41 % та 11,63 % відповідно, якщо порівнювати з інтактними тваринами ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.17).

Хіміко-аналітичне дослідження литкового м'яза щурів старечого віку виявило поглиблення зазначених раніше змін. Концентрація міді, свинцю та марганцю зросла відповідно на 17,95 %, 24,59 % ($p \leq 0,05$) і 7,18 % ($p \leq 0,05$). Достовірно меншим став вміст цинку (на 3,97 %, $p \leq 0,05$) та заліза (на 4,22 %, $p \leq 0,05$). Не змінився лише показник вмісту хрому (Додаток А, табл. А.18).

У кінці третього місяця дослідження маса щурів старечого віку порівняно з інтактними тваринами відповідного віку знизилася на 4,84 % ($p \leq 0,05$). АММ зменшилася в експериментальних осіб на 2,77 % ($p \leq 0,05$). Зміни ВММ були далекими від значущих. ДМЧ стала меншою на 6,97 % ($p \leq 0,05$). Також зменшення зазнали ЩМ (на 23,03 %; $p \leq 0,05$). Натомість АОМ, ДМСЧ та ПППМ вагомо збільшились у своїх значеннях на 26,3 %, 14,32 % і 30,69 % відповідно ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.16).

Мікроскопічна картина скелетних м'язів щурів старечого віку після закінчення всього терміну експерименту характеризувалася значно вираженою різноманітністю форм м'язових волокон, зменшенням їх довжини та набряком. Поряд із цим у препаратах траплялися волокна, які були атрофічними та зменшеними в об'ємі. Цитоплазма симпласта забарвлювалася переважно у блідо-

рожевий колір. Ядра м'язових клітин також відзначилися різноманітністю форм: від дрібних кіл до видовжених набряклих еліпсів і трикутників. Розміщувалися вони по всій площі саркоплазми. Сполучнотканинні прошарки зазнали значного розширення (рис. 3.29), містили ділянки крововиливів. Судини гемомікроциркуляторного русла були повнокровними, у структурі їх стінок переважала сполучна тканина.

Результати вимірювання морфологічних параметрів, одержаних за допомогою світлової мікроскопії препаратів посмугованих м'язів, були такими. У тварин старечого віку після трьох місяців експерименту відзначалося збільшення ДМВ на 10,16 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 20,86 % ($p \leq 0,05$), ШП – до 14,31 % ($p \leq 0,05$). Співвідн. І достовірно зросло на 9,82 % ($p \leq 0,05$). ПППВ збільшилася на 21,37 % ($p \leq 0,05$), а КЯМ стала меншою на 4,95 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.27). Статистично значущими виявилися зміни усіх параметрів судинного компонента литкового м'яза щурів старечого віку. ДК та ДА стали меншими на 12,88 % ($p \leq 0,05$) і 7,41 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ДВ збільшився на 11,59 % ($p \leq 0,05$). Значення АВК зменшилося на 16,98 % порівняно з контролем ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.17).

Мікроскопічне вивчення ультратонких зрізів, виготовлених із латеральної голівки триголового м'яза литки щурів старечого віку, після трьох місяців інтоксикації виявило численні ділянки деформації та руйнації міофібрил. Частіше за все не візуалізувались А-, І-диски та Н-зона. Саркоплазма містила значну кількість полісом та вакуолей. На фоні набряклих та розширених ядер симпласта траплялись ядра у стадії пікнозу. Мітохондрії у препаратах виявлялись гідропічними, їхня внутрішня мембрана була зруйнованою, кристи – деформовані, або повністю відсутніми. Структури саркоплазматичного ретикулума частіше за все були дилатованими, містили місця розриву та деформації (рис. 3.30).

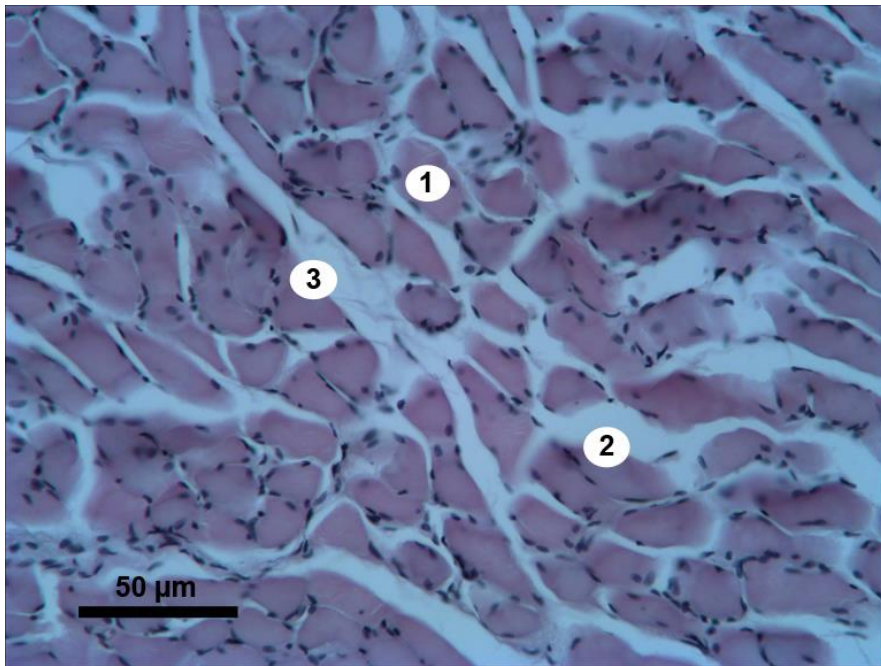


Рисунок 3.29 - Посмугований м'яз щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців одержував солі Рb, Сu та Мn. Атрофічні та склеротичні зміни. Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

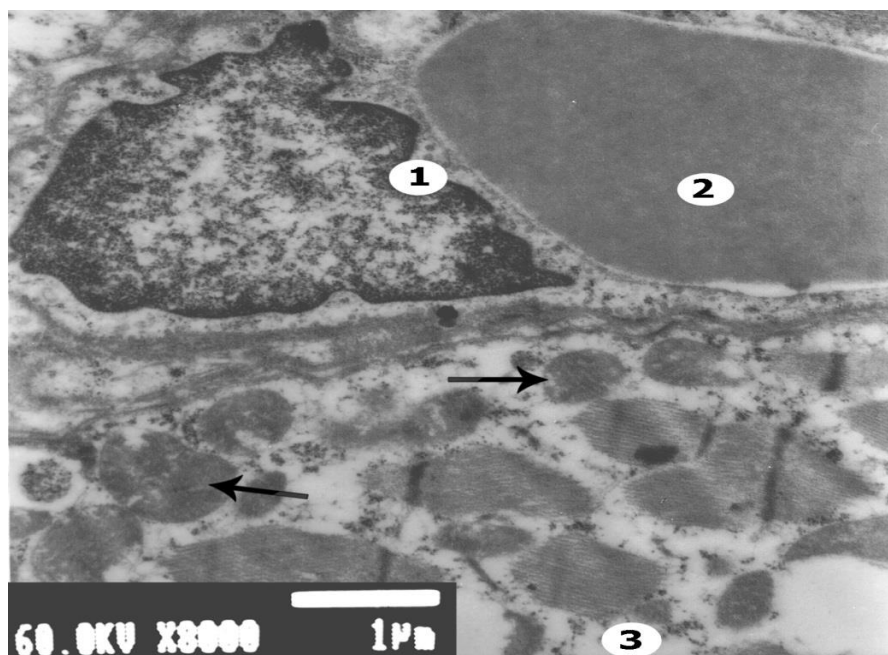


Рисунок 3.30 - Ультраструктура посмугованого м'яза щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців одержував солі Рb, Сu та Мn. Набряк мітохондрій та просвітлення їх матриксу (зазначено стрілками); явища дезорганізації саркомерної будови: 1 – ендотеліоцит; 2 – просвіт капіляра; 3 – саркоплазматичний ретикулум

Морфометричним аналізом встановлено достовірні зміни усіх шуканих параметрів. ДМФ значно зменшився на 5,22 % ($p \leq 0,05$). ПЯМ і ПМ зросли на 12,54 % ($p \leq 0,05$) та 14,46 % ($p \leq 0,05$), а ОЯМ і ОМ – на 19,33 % ($p \leq 0,05$) та 20 % ($p \leq 0,05$) відповідно (Додаток А, табл. А.17).

Спектральний аналіз довільних м'язів виявив поглиблення одержаних раніше змін при збереженні ознак загальної тенденції. Вміст міді збільшився на 26,14 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 31,79 % ($p \leq 0,05$), марганцю – на 15,26 % ($p \leq 0,05$). Показник рівня заліза зменшився на 5,82 % ($p \leq 0,05$), рівня цинку – на 6,1% ($p \leq 0,05$) (рис. 3.26). Концентрація хрому повністю відповідала такій у групі інтактних щурів ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.18).

Таким чином, хронічний вплив солей міді, свинцю та марганцю на посмуговані м'язи щурів викликає активацію склеротичних процесів, що проявило себе вираженим розвитком сполучнотканинних прошарків, накопиченням сполучної тканини у стінках судин гемомікроциркуляторного русла. Поряд із цим у м'язових волокнах спостерігались ознаки набряку, деформації та структурної дезорганізації як скорочувального апарату, так і інших функціональних апаратів симпласта. Хіміко-аналітичне дослідження скелетних м'язів виявило прогресуюче зниження вмісту заліза і цинку поряд зі стрімким накопиченням іонів тих металів, солі яких надходили до організму тварин у підвищеній кількості (свинцю, марганцю та міді).

3.5.3 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різного віку за умов надмірного вживання солей цинку, хрому та свинцю

Аналізом одержаних значень органомеричних параметрів латеральної голівки триголового м'яза литки щурів молодого віку після першого місяця надмірного вживання солей цинку, хрому та свинцю (суміш № 3) виявлено статистично достовірне зростання ПППМ на 6,35 % ($p \leq 0,05$) та значуще зменшення ЩМ на 6,64 % ($p \leq 0,05$). АОМ став більшим у піддослідних щурів на 5,91 %, але показник p при цьому був більшим за 0,05. Зміни інших органомеричних параметрів були неістотними (Додаток А, табл. А.19).

Більш значущими були зміни під час аналізу гістологічних препаратів латеральної голівки триголового м'яза литки молодих щурів. Привертали увагу розмежування волокон елементами сполучної тканини, набряк і розростання ендомізія та перимізія. Судини характеризувалися повнокров'ям і стазом. При дослідженні метричних показників вже після першого місяця відзначалося збільшення ШЕ та ШП на 8,53 % ($p \leq 0,05$) і на 5,11 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ПППВ зросла на 8,76 % ($p \leq 0,05$). ДМВ та співвідн. І збільшилися більш, ніж на 4 %, проте статистично значущих змін виявлено не було. Показник КЯМ залишився у молодих тварин після першого місяця експерименту практично сталим (Додаток А, табл. А.19). Серед параметрів вимірювання судин достовірним було лише зростання ДВ на 5,26 % ($p \leq 0,05$) та зменшення АВК на 6,81 % ($p \leq 0,05$). ДК та ДА в експериментальних щурів були меншими, ніж у контрольній серії, проте статистичним аналізом ці відмінності не було підтверджено (Додаток А, табл. А.20).

Електронною мікроскопією виявлено ознаки набряку клітинних органел, зокрема ядер, мітохондрій та окремих елементів саркоплазматичного ретикулула. ОЯМ та ОМ достовірно зросли на 9,01 % і 8,02 % відповідно ($p \leq 0,05$). Аналіз інших ультрамікроскопічних параметрів не виявив суттєвих змін (Додаток А, табл. А.20).

Спектральний аналіз мікроелементного складу посмугованих м'язів щурів молодого віку після одного місяця вживання солей цинку, хрому та свинцю виявив

зростання вмісту тих елементів, солі яких надходили до організму тварин у надмірній кількості. Концентрація цинку збільшилася на 11,71 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 28,36 % ($p \leq 0,05$), хрому – на 19,64 % ($p \leq 0,05$). На фоні зазначених змін відбулося достовірне зменшення вмісту заліза на 2,78 % ($p \leq 0,05$). Зміни кількості міді та марганцю були у межах одного відсотка, що статистично не відрізнялося від групи контролю (рис. 3.31).

Після другого місяця експерименту на органному рівні у молодих щурів відбулося достовірне зменшення АММ на 1,94 % ($p \leq 0,05$). Натомість ВММ, ДМЧ та загальна маса тварин значуще не відрізнялися від таких у контролі. АОМ, ДМСЧ та ПППМ збільшилися на 11,61 % ($p \leq 0,05$), 6,19 % ($p \leq 0,05$) і 12,76 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ЩМ зменшилася на 12,14 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.19).

Вивчення зразків скелетних м'язів щурів молодого віку після двох місяців експерименту методом світлової мікроскопії показало доволі значні структурні перетворення. Волокна симпласта були набряклими й деформованими, містили різної форми хаотично розміщені ядра та були розділені масивними сполучнотканинними перегородками (рис. 3.32). Просвіт венул та капілярів частіше за все був розширеним, у ньому візуалізувався значний масив формених елементів крові.

Морфометричне дослідження з'ясувало, що лише КЯМ та ДА не зазнали достовірних змін. При цьому ДМВ збільшився на 5,73 % ($p \leq 0,05$). Показники ШЕ та ШП зросли на 13,96 % ($p \leq 0,05$) і на 8,32 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Достовірно зросло і співвідн. І (на 7,78 %, $p \leq 0,05$). ПППВ у цей термін був на 11,79 % більший, ніж у групі контролю ($p \leq 0,05$).

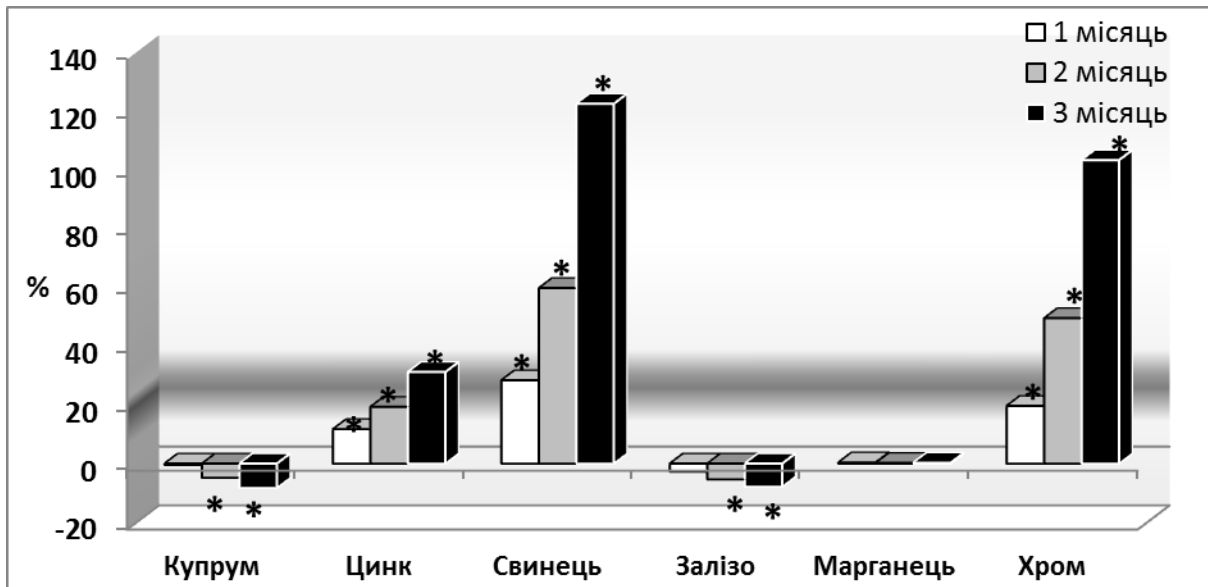


Рисунок 3.31 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів молодого віку за умов вживання солей Zn, Pb та Cr через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

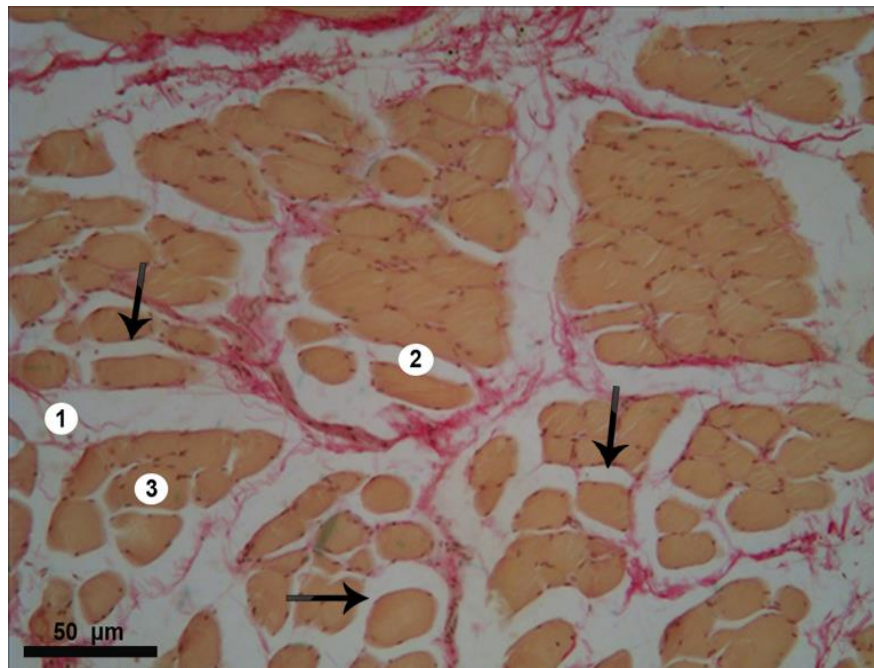


Рисунок 3.32 - Скелетний м'яз щура молодого віку, який упродовж 2-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr. Поперечний зріз. Розширення сполучнотканинних прошарків (зазначено стрілками), деформація м'язових волокон, повнокров'я судин. Зabarвлення за Ван-Гізоном: 1 – перимізій; 2 – ендомізій; 3 – м'язове волокно

Судини гемомікроциркуляторного русла посмугованих м'язів характеризувалися збільшенням ДВ на 8,43 % ($p \leq 0,05$) та зменшенням ДК на 11,12 % ($p \leq 0,05$). ДА хоча також став меншим, але зазначені зміни не перетнули межі статистичної достовірності (рис. 3.33). АВК став меншим у піддослідних тварин на 11,25 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.19, А.20).

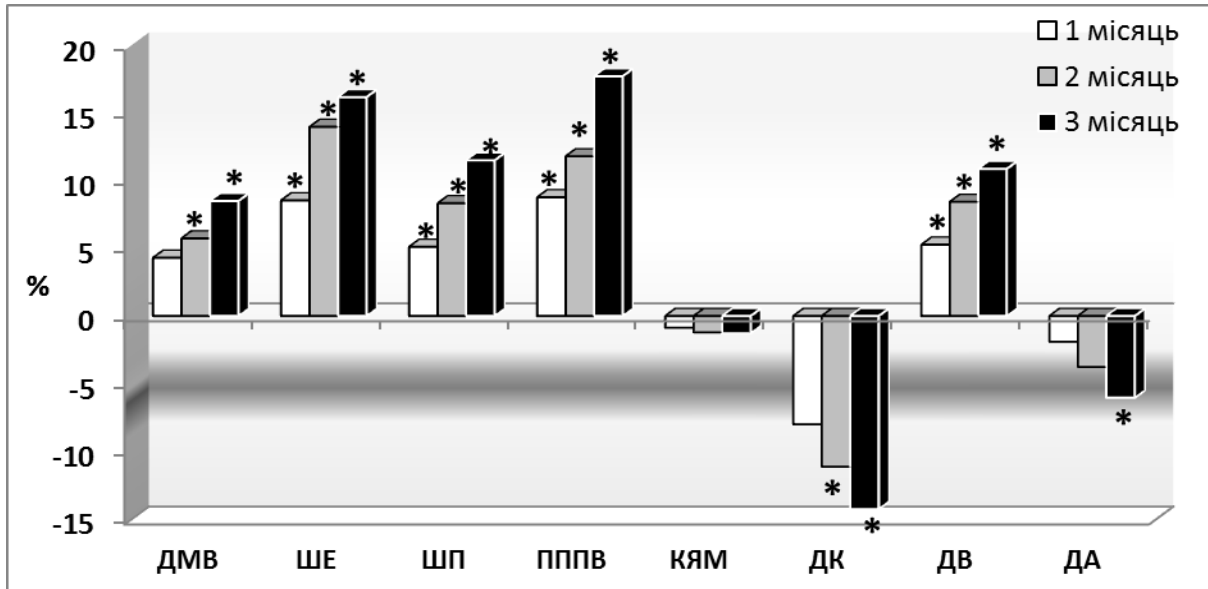


Рисунок 3.33 - Відсоткове співвідношення мікрморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів молодого віку за умов вживання солей Zn, Pb та Cr через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Уживання щурами молодого віку води зі вмістом солей цинку, свинцю та хрому вже після двох місяців призвело до виражених змін на ультрамікроскопічному рівні. Відзначалася реакція майже всіх клітинних структур на дію екзогенних полютантів. Міофібрили містили ділянки контрактур та фрагментації, відзначалася руйнація окремих пучків міофіламентів. Межі саркомера відзначалися не у всіх препаратах. Уже традиційно набряклими були ядра симпласта й мітохондрії. Ядра містили значну кількість конденсованого хроматину. Матрикс мітохондрій був просвітленим, містив велику кількість розширених та звивистих крист. Цитоплазма міосателітоцитів містила незначну кількість вакуолей і лізосом, у ядрах був наявний конденсований гетерохроматин. Ядерця в них візуалізувалися не завжди.

Серед шуканих морфометричних параметрів достовірно меншим став ДМФ – на 2,59 % ($p \leq 0,05$). Натомість такі параметри, як ПЯМ та ОЯМ збільшилися на 8,87 % ($p \leq 0,05$) та на 13,83 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Набряку зазнали й мітохондрії міосимпласта. Так, ПМ зросла на 10,62 % ($p \leq 0,05$), а ОМ – на 15,15 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.20).

Хімічний склад зразків литкових м'язів молодих щурів після двох місяців інтоксикації характеризувався збільшенням вмісту цинку на 19,29 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 59,73 % ($p \leq 0,05$), хрому – на 49,48 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.31). Концентрація міді та заліза зменшилася на 4,81 і 5,41 % відповідно ($p \leq 0,05$). Значення кількості марганцю лишилося практично сталим (Додаток А, табл. А.21).

Після завершення тримісячного терміну експерименту зміни маси молодих щурів були не значущими, проте АММ достовірно знизилася на 2,64 % ($p \leq 0,05$). Показники ВММ та ДМЧ істотних зрушень не зазнали. АОМ збільшився на 20,3 %, ДМСЧ – на 10,33 %, ПППМ – на 21,72 % ($p \leq 0,05$). Щільність м'язової тканини зменшилася на 19,07 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.19).

Характеристика мікроскопічних препаратів посмугованих м'язів щурів прогресивного віку після 3-місячного експерименту показала поглиблення та посилення тих змін, що відбувалися на попередніх етапах дослідження. На фоні цього привертала увагу значна поліморфність м'язових волокон, що було наслідком поєднання набряку та атрофії й альтерації останніх. Також спостерігалася значна кількість точкових і масивних крововиливів як у волокна, так і сполучнотканинні септи.

Інтоксикація солями хрому, свинцю та цинку впродовж 3 місяців не вплинула у щурів молодого віку лише на кількість ядер міосимпласта. Всі інші параметри зазнали статистично достовірних змін. ДМВ збільшився на 8,47 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 16,16 % ($p \leq 0,05$), ШП – на 11,49 % ($p \leq 0,05$), співвідн. І – на 7,07 % ($p \leq 0,05$). ПППВ зросла на 17,7 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.33). Показники морфометрії судин виявили достовірне зменшення ДК та ДА на 14,25 % ($p \leq 0,05$) і 6,03 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ДВ після трьох місяців експерименту став більшим на 10,86 % ($p \leq 0,05$). АВК зменшився на 15,24 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.20).

Вивчення зразків скелетних м'язів щурів молодого віку після трьох місяців експерименту показало виражений пошкоджувальний вплив солей свинцю, хрому та цинку на внутрішньоклітинну структуру м'язових волокон. Насамперед потрібно зазначити, що більшість міофібрил були хвилясто деформовані, перескорочені, відзначалися численні місця розриву Z-ліній (рис. 3.34). I- та A-диски, H-зона практично не візуалізувались. У ділянках телофрагми спостерігалися руйнація філаментів, втрата їх паралельного розміщення. У саркоплазмі була наявна велика кількість лізосом та вакуолей. Ядра симпласта хаотично розміщувалися по всьому об'єму цитоплазми м'язового волокна. Мітохондрії були значно набряклими, містилися деформовані кристи й мали ознаки руйнації внутрішньої мембрани. Саркотубули були розширеними, у ділянці тріад спостерігалися місця розриву.

Усі шукані ультрамікроскопічні параметри після 12 тижнів експерименту зазнали статистично достовірних відхилень між групами порівняння. Тенденції змін відповідали таким у попередній термін дослідження та характеризувалися лише посиленням своїх проявів. ДМФ у піддослідних щурів зменшився на 4,41 % ($p \leq 0,05$). ПЯМ та ОЯМ зазнали збільшень на 13,11 % та 20,38 % відповідно ($p \leq 0,05$). ПМ та ОМ зросли на 14,88 % і 21,65 % відповідно ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.20).

Вивчення мікроелементного складу скелетних м'язів молодих щурів по завершенні тримісячного терміну дослідження виявило максимальне накопичення тих елементів, солі яких надходили до організму тварин. Концентрація цинку зросла на 31,15 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 122,46 % ($p \leq 0,05$), хрому – на 103,29 % ($p \leq 0,05$). Вміст міді став меншим на 8,29 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 7,86 % ($p \leq 0,05$) (додаток А, табл. А.21). Вміст марганцю практично відповідав контрольним значенням ($p > 0,05$) (рис. 3.31).

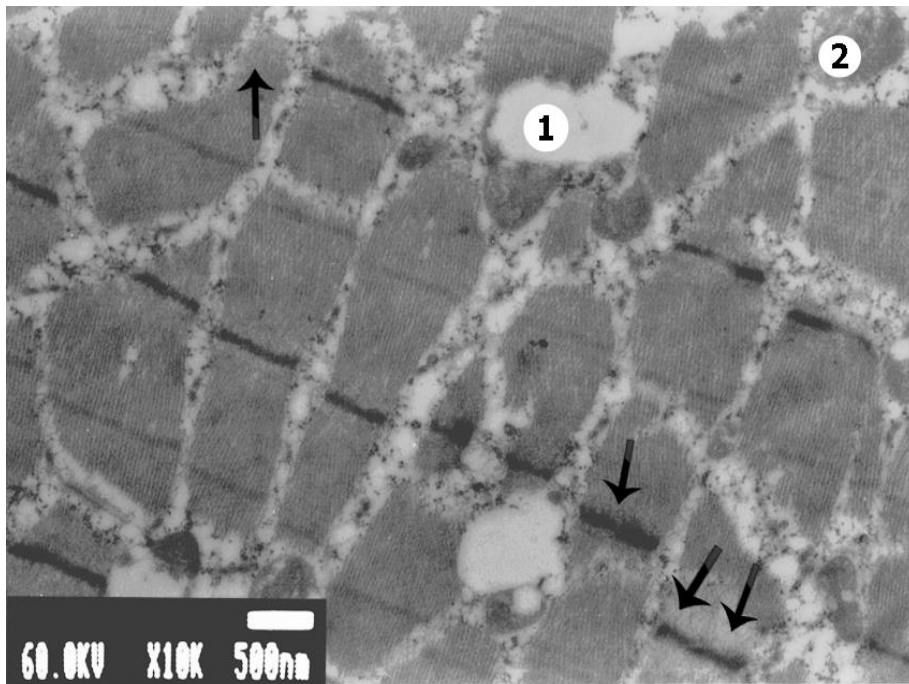


Рисунок 3.34 - Ультраструктура посмугованого м'яза щура молодого віку, який упродовж 3-х місяців вживав Zn, Pb та Cr. Деформація та руйнація міофібрил (зазначено стрілками): 1 – саркоплазматичний ретикулум; 2 – мітохондрія

Один місяць інтоксикації солями хрому, свинцю та цинку вплинув на органометричні показники латеральної голівки триголового м'яза литки щурів віку стабільного росту незначним чином. Лише АОМ та ПППМ збільшилися на 7,47 % і 8,71 % відповідно ($p \leq 0,05$), а ЩМ зменшилася на 7,59 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.22).

На мікроскопічному рівні зміни характеризувалися набряком м'язових волокон, деформацією їх зовнішнього контуру (рис. 3.36), значним розвитком елементів сполучної тканини, ділянками поодиноких крововиливів, венозним повнокров'ям. Серед метричних параметрів ДМВ зріс на 4,25 % ($p \leq 0,05$). ШЕ зросла на 7,17 % ($p \leq 0,05$), проте індекс співвідн. І змінився неістотно. ШП збільшилася на 4,19 % ($p \leq 0,05$). ПППВ була на 8,68 % більша, ніж у серії контрольних щурів ($p \leq 0,05$). КЯМ зменшилася на 1,65 % ($p > 0,05$). Морфометрія судинного компонента показала зростання ДВ 6,21 % ($p \leq 0,05$). ДК зменшився на

7,89 % ($p \leq 0,05$), ДА – на 2,03 % ($p > 0,05$). Показник АВК зменшився на 7,75 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.22, А.23).

Електронна мікроскопія виявила, що місяць інтоксикації значним чином вплинув лише на ядра симпласта й мітохондрії скелетних м'язів щурів стабільного віку. Зазначені органели мали вигляд гідропічних. Матрикс мітохондрій був блідим, проте кристи змін не зазнали. ОЯМ збільшився на 6,8 % ($p \leq 0,05$), ОМ – на 6,16 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.23).

Хімічний склад триголового м'яза литки характеризувався збільшенням вмісту цинку, свинцю, хрому та зниженням вмісту міді. Так, після першого місяця досліду концентрація цинку зросла на 10,49 % ($p \leq 0,05$), свинцю – 21,71 % ($p \leq 0,05$), хрому – на 15,66 % ($p \leq 0,05$). Кількість міді зменшилася на 3,29 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.35). Вміст заліза та марганцю значуще не змінився (Додаток А, табл. А.24).

Після двох місяців експерименту маса щурів зрілого віку, маса латеральної голівки триголового м'яза литки, її відносна маса та довжина черевця дещо зменшились у своїх значеннях, проте це не було підтверджено статистично. Натомість достовірно збільшилися такі органометричні показники, як АОМ (на 12,55 %, $p \leq 0,05$), ДМСЧ (на 6,65 %, $p \leq 0,05$) та ПППМ (на 13,74 %, $p \leq 0,05$). ЩМ зменшилася на 12,05 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.22).

Результат опрацювання гістологічних препаратів показав наступні зміни. М'язові волокна виглядали набряклими, саркоплазма мала переважно рожеве та блідо – рожеве забарвлення. Ядра були різного забарвлення і характеризувались різномантністю форм. Цікавим виявилася наявність численних ліній розриву м'язових волокон, хід яких у переважній кількості був перпендикулярним до поздовжньої осі міосимпласта (рис. 3.37). Сполучнотканинний компонент скелетних м'язів відзначався задовільним розвитком та набряковими змінами.

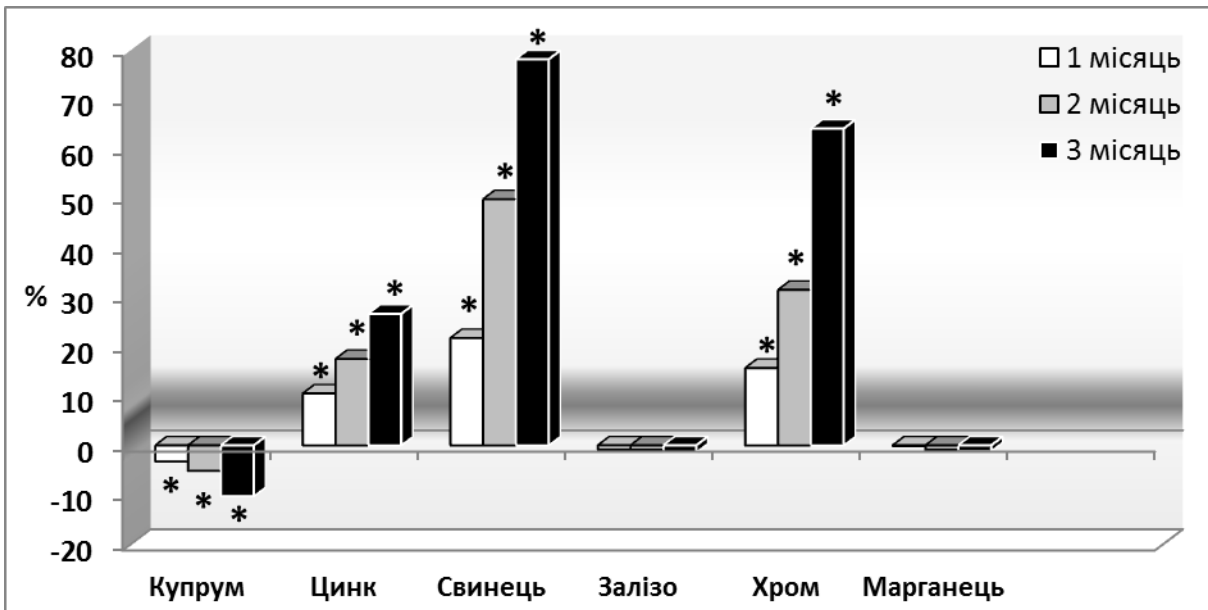


Рисунок 3.35 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів зрілого віку за умов вживання солей Zn, Pb та Cr через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

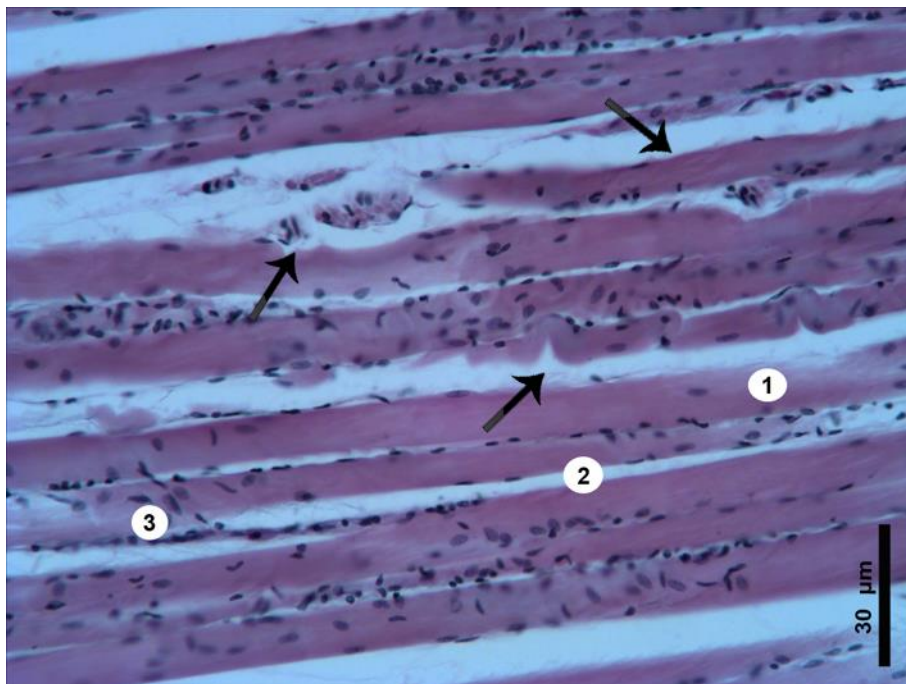


Рисунок 3.36 - Скелетний м'яз щура зрілого віку, який упродовж 1-го місяця вживав солі Zn, Pb та Cr. Поздовжній зріз. Хвилеподібна деформація м'язових волокон (зазначено стрілками). Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – ядра міоцитів

Дані аналізу мікроморфометричних показників виявилися такими. ДМВ збільшився на 6,78 % ($p \leq 0,05$). Ще більш вираженим було зростання ШЕ (на 14,23 %; $p \leq 0,05$). Вище зазначене призвело до достовірного зростання співвідн. І на 6,97 % ($p \leq 0,05$). Поряд із цим ШП стала більшою на 7,16 % ($p \leq 0,05$), а ПППВ – на 14,02 % ($p \leq 0,05$). КЯМ зменшилася незначуще (Додаток А, табл. А.22). При аналізі судинних морфологічних показників виявилось достовірне зростання ДВ на 10,99 %, порівняно з контролем ($p \leq 0,05$) (рис. 3.38). ДК зменшився на 14,56 % ($p \leq 0,05$), ДА – на 3,56 % ($p > 0,05$), а АВК – на 11,62 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.23).

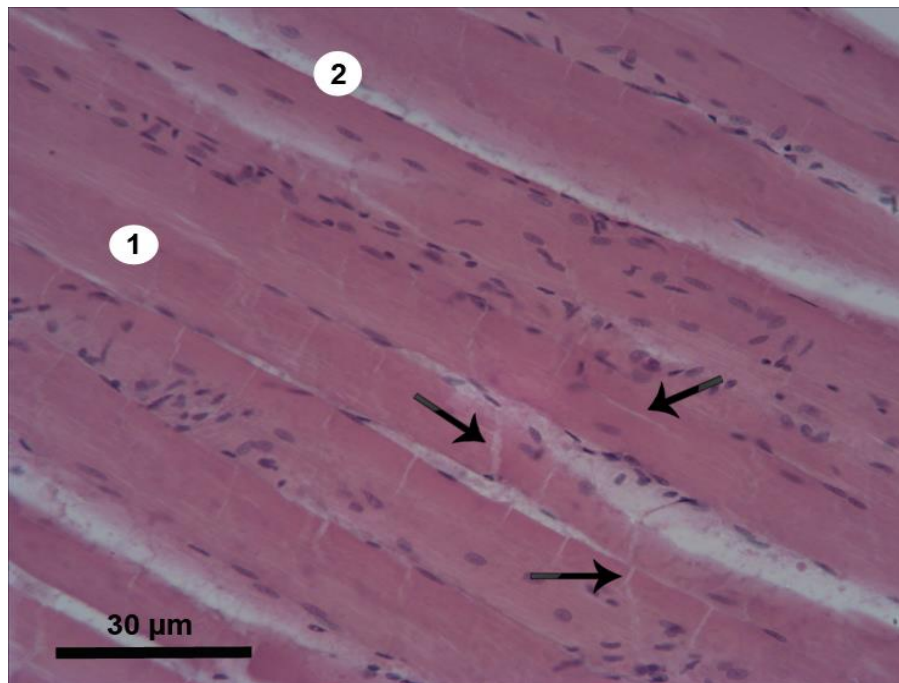


Рисунок 3.37 - Скелетний м'яз щура зрілого віку, який упродовж 2-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr. Поздовжній зріз. Деформація та розрив м'язових волокон (зазначено стрілками). Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій

Після двох місяців вживання солей свинцю, цинку та хрому сталися такі ультрамікроскопічні зміни посмугованих м'язів щурів стабільного віку. У саркоплазмі відзначалося зростання кількості лізосом та вакуолей, особливо навколо міофібрил. Останні містили вогнища контрактур та розриву, зокрема у ділянках Z-

ліній. А- та І-диски визначалися не завжди. Ядра м'язових клітин були набряклими, мали різноманітну форму, розміщувалися ближче до центра симпласта. Відзначалося інтенсивне розширення перинуклеарного простору. Всередині гідропічних мітохондрій розміщувалися деформовані кристи. Гладкий ендоплазматичний ретикулум характеризувався дилатацією своїх структурних елементів.

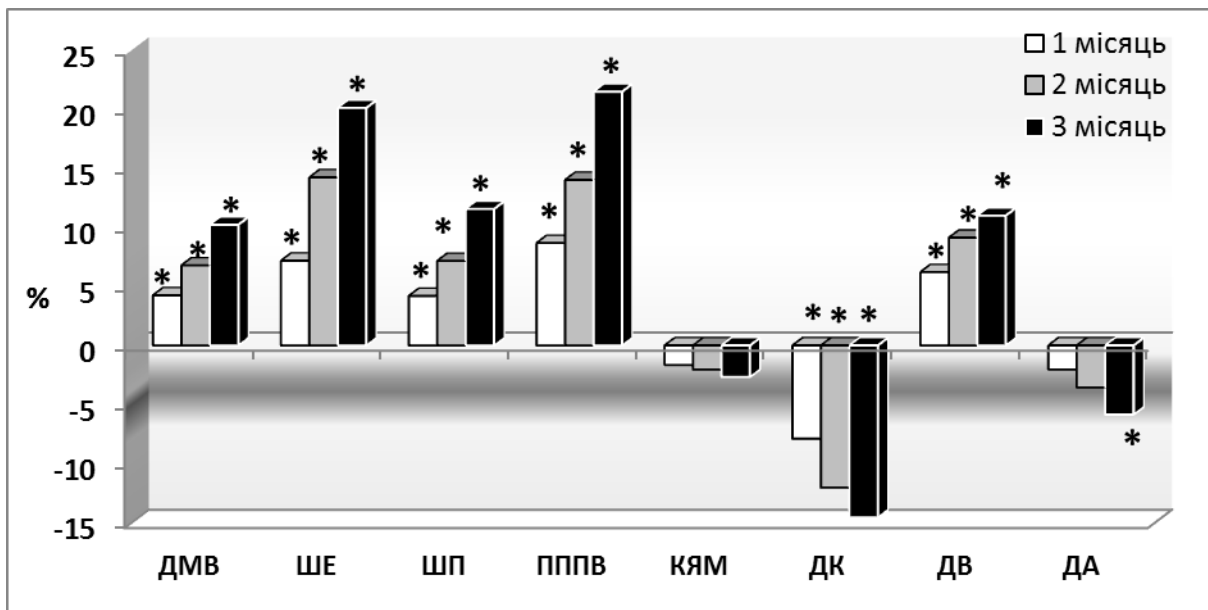


Рисунок 3.38 - Відсоткове співвідношення мікроморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів зрілого віку за умов вживання солей Zn, Pb та Cr через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Результати морфометричного аналізу мали такий вигляд. ДМФ зменшився на 2,43 % ($p \leq 0,05$). Площі та об'єми ядер і мітохондрій традиційно зросли. ПЯМ та ПМ – на 8,5 % ($p \leq 0,05$) і 8,73 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ОЯМ став більшим на 12,4 % ($p \leq 0,05$), а ОМ – на 12,49 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.22).

Спектральний аналіз мікроелементного складу скелетних м'язів зрілих щурів після двох місяців дослідження характеризувався зростанням вмісту цинку на 17,49 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 49,82 % ($p \leq 0,05$), хрому – на 31,48 % ($p \leq 0,05$). Вміст міді знизився на 5,17 %, порівняно з контрольними тваринами ($p \leq 0,05$). Зміни

концентрації заліза та марганцю знаходилися в межах 1 відсотка, що не було статистично значуще (Додаток А, табл. А.24).

Після трьох місяців затравки у зрілих щурів спостерігалось достовірне зменшення маси тварин на 5,04 % ($p \leq 0,05$), АММ – на 2,78 % ($p \leq 0,05$). ВММ та ДМЧ зменшилися недостовірно. Доволі вираженими стали ознаки набряку м'язів. Так, АОМ збільшився вже на 21,8 % ($p \leq 0,05$), ДМСЧ – на 12,48 % ($p \leq 0,05$), ПППМ – на 26,51 % ($p \leq 0,05$). Як наслідок зазначених перетворень ЩМ зменшилась у своїх показниках на 20,18 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.22).

На мікроскопічному рівні зміни скелетних м'язів дорослих тварин після трьох місяців отруєння проявлялись у вигляді прогресу склеротичних, атрофічних і набрякових процесів. Потрібно відзначити збільшення кількості й довжини ліній розриву м'язових волокон. Траплялись і такі, що повністю перетинали діаметр симпласта. Цитоплазма міоцитів була блідою, містила хаотично розкидані ядра. На фоні цього спостерігалось збільшення вмісту сполучної тканини як у міжволоконних септах, так і стінках дрібних судин.

Вивчення гістоморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів зрілого віку виявило достовірні зміни значень практично всіх параметрів. Лише КЯМ хоча і зменшилася, проте зазначені зміни не вийшли за межу статистичної значущості. Отже, ДМВ після трьох місяців інтоксикації виявився на 10,22 % більшим, ніж в інтактних тварин ($p \leq 0,05$). ШЕ збільшилася на 20,11 % ($p \leq 0,05$). Співвідн. І при цьому зросло на 26,51 % ($p \leq 0,05$), ПППВ – на 21,48 % ($p \leq 0,05$), а ШП – на 11,48 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.38). При цьому ДВ зріс на 10,99 % ($p \leq 0,05$), ДК зменшився на 14,56 % ($p \leq 0,05$), ДА – на 5,85 % ($p \leq 0,05$), АВК – на 15,17 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.23).

Після завершення всього терміну експерименту посилилися зміни і на рівні клітинних органел. Електронна мікроскопія показала значні ділянки дезорганізації міофібрил, виражені контрактурні зміни, місця розриву (рис 3.39). Ядра симпласта були здебільшого набряклими, розміщувалися по всьому об'єму цитоплазми. Мітохондрії мали блідий матрикс і розширені, звиті та частково зруйновані кристи. Саркотубули були розширеними, містили місця розриву.

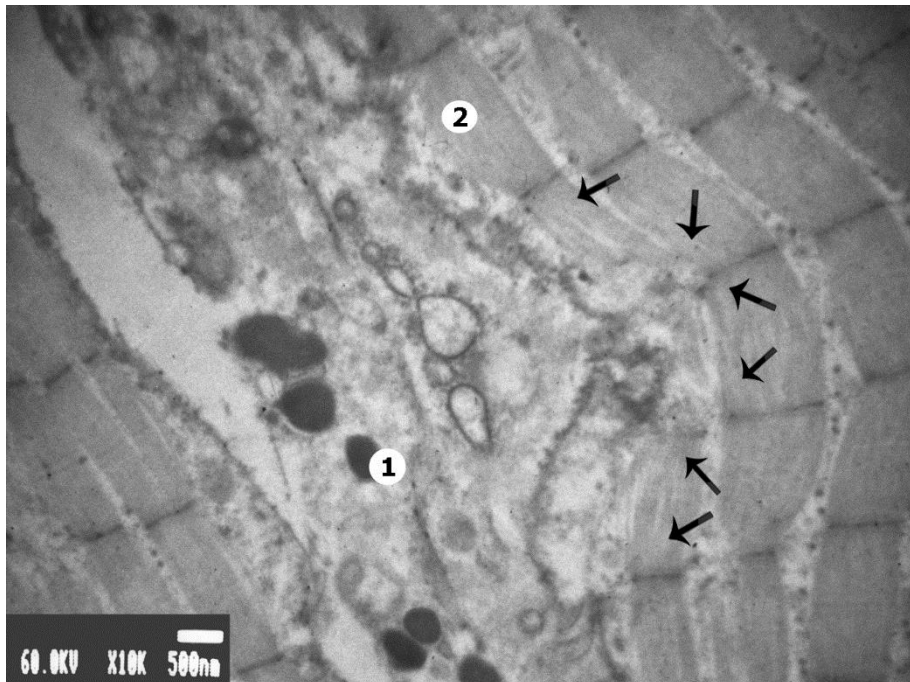


Рисунок 3.39. - Ультраструктура посмугованого м'яза щура зрілого віку, який упродовж 3-х місяців вживав Zn, Pb та Cr. Явища дезорганізації саркомера, контрактурні зміни (зазначені стрілками). 1 – лізосома; 2 – міофібрила

Аналіз морфометричного дослідження встановив, що ДМФ став меншим у піддослідних щурів на 4,14 % ($p \leq 0,05$). ПЯМ зросла на 13,55 % ($p \leq 0,05$), а ОЯМ – на 20,49 % ($p \leq 0,05$). ПМ збільшилася на 12,28 % ($p \leq 0,05$), ОМ – на 17,82 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.23).

Хіміко-аналітичне вивчення посмугованих м'язів зрілих щурів показало посилення накопичення елементів, солі яких надходили до організму тварин протягом 3 місяців експерименту. Вміст цинку зріс на 26,63 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 78,16 % ($p \leq 0,05$), хрому – на 64,12 % ($p \leq 0,05$). Кількість міді стала меншою на 10,3 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.35). Незмінними лишилися концентрації заліза та марганцю (Додаток А, табл. А.24).

Результати вивчення зразків латеральної голівки триголового м'яза литки старечих щурів уже після першого місяця експерименту свідчили про значні зміни скелетних м'язів на всіх рівнях організації за умов впливу на неї солей хрому, цинку та свинцю. На органному рівні відзначалося достовірне зменшення АММ на 1,94 %

($p \leq 0,05$). Зменшився і показник ЩМ (на 11,83 %, $p \leq 0,05$). Водночас АОМ зріс на 11,22 % ($p \leq 0,05$), ДМСЧ – на 7,83 % ($p \leq 0,05$), ПППМ – на 16,27 % ($p \leq 0,05$). Зменшення маси тварин, ВММ та ДМЧ не було статистично значущим (Додаток А, табл. А.25).

Вираженою була і реакція мікроскопічних структур. Уже після першого місяця інтоксикації відзначався виражений набряк м'язових волокон (рис 3.40). Волокна були чітко розмежовані розширеними септами сполучної тканини, в якій візуалізувалися дилатовані венозні судини. Просвіт артеріол та капілярів був, навпаки, зменшеним, проте стінка судин виглядала розширеною за рахунок збільшення в ній кількості сполучної тканини. Щодо метричних показників, то ДМВ старечих щурів зріс на 5,16 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 11,43 % ($p \leq 0,05$). У відповідь на це співвідн. І стало достовірно більшим на 5,96 % ($p \leq 0,05$). ШП на цьому етапі дослідження була на 6,23 % більшою, ніж у контролі ($p \leq 0,05$). ПППВ збільшилася на 10,59 % ($p \leq 0,05$). КЯМ зменшилася на 3,11 % ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.25). При аналізі параметрів виміру судин відзначалося зростання збільшення ДВ на 6,99 % ($p \leq 0,05$), зменшення ДК на 8,18 % ($p \leq 0,05$), ДА – на 3,79 % ($p > 0,05$). Індекс АВК став достовірно меншим на 10,08 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.26).

Аналіз ультрамікроскопічної картини виявив часті, але не масивні ділянки деформації міофібрил, порушення паралельної орієнтації філаментів. Місця розриву фібрил були відсутніми. Ядра та мітохондрії виглядали здебільшого набряклими, їх внутрішні структури були майже не ураженими. Серед ультраструктурних параметрів посмугованих м'язів старечих щурів після одного місяця досліду достовірного збільшення зазнали лише ОЯМ (на 8,52 %, $p \leq 0,05$) та ОМ (на 6,29 %, $p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.26).

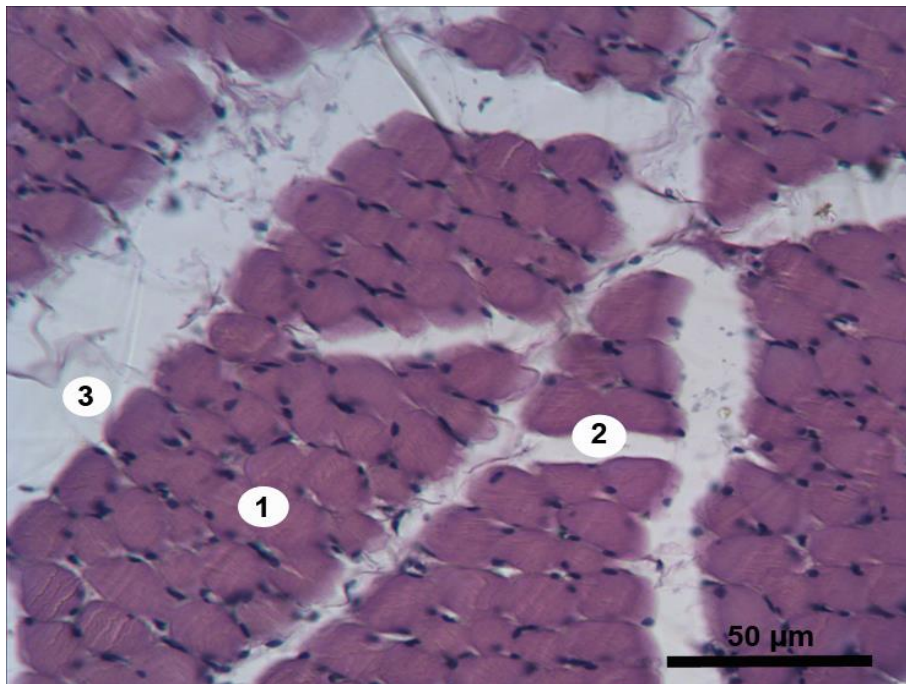


Рисунок 3.40 - Скелетний м'яз щура старечого віку, який упродовж 1-го місяця вживав солі Zn, Pb та Cr. Поперечний зріз. Набряк м'язових волокон. Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

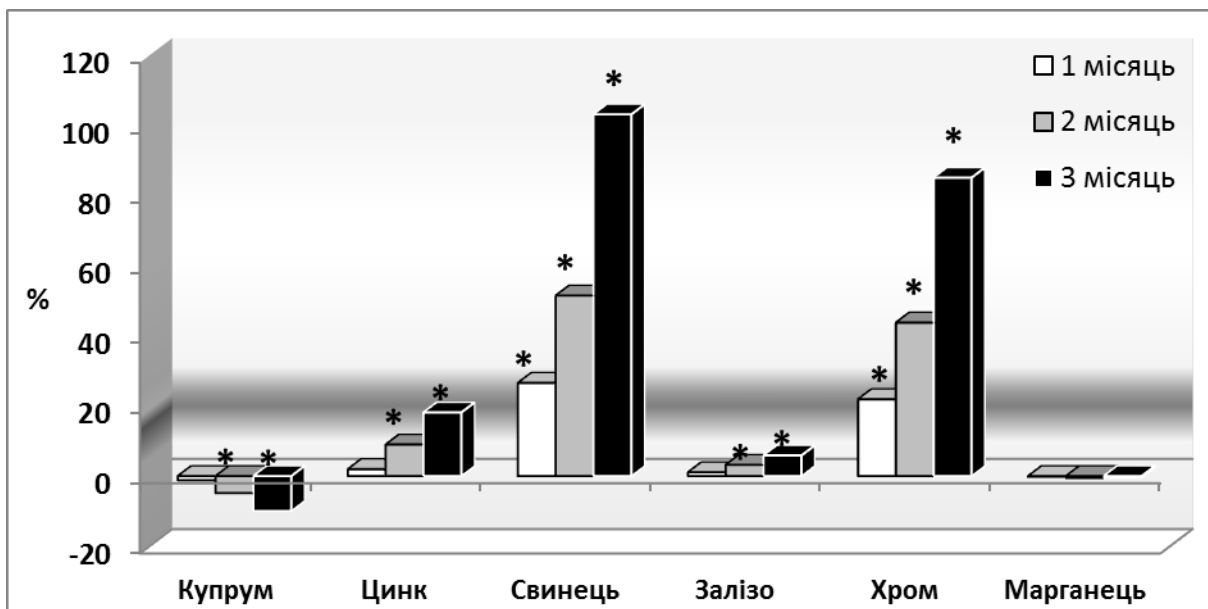


Рисунок 3.41 - Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів старечого віку за умов вживання солей Zn, Pb та Cr через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

Що стосується хімічного складу посмугованих м'язів щурів регресивного віку після першого місяця експерименту, то привертав увагу той факт, що вміст цинку, незважаючи на надходження його солей до організму тварин, достовірно не змінився (на 1,97 % більше, ніж у контрольній серії; $p > 0,05$). Концентрації свинцю і хрому достовірно зросли на 26,59 % ($p \leq 0,05$) та на 21,92 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Незначними були зміни вмісту міді, заліза та марганцю (Додаток А, табл. А.27).

Після другого місяця експерименту на макроскопічному рівні лише ВММ та за гальна маса тварин змінилися не достовірно. АММ стала меншою на 3,19 % ($p \leq 0,05$), ДМЧ – на 4,59 % ($p \leq 0,05$). АОМ збільшився на 19,19 % ($p \leq 0,05$), ДМСЧ – на 10,22 % ($p \leq 0,05$), ПППМ – на 21,48 % ($p \leq 0,05$). ЩМ знизилася на 18,78 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.25).

Вивчення зразків скелетних м'язів тварин старечого віку після 60 діб експерименту за допомогою світлового мікроскопа показало наявність значних змін. М'язові волокна мали різну довжину, об'єм та форму. Їх зовнішній контур був деформованим, велика кількість міоцитів містила ділянки розриву та місця роз'єднання колагеновими волокнами. Ядра симпласта виглядали набряклими, розміщувалися по всій площі саркоплазми, їх кількість була зниженою. Прошарки сполучної тканини виглядали розширеними, добре розвиненими, містили значну кількість розширених венозних судин.

Усі шукані мікроморфометричні показники після двох місяців досліду зазнали статистично достовірних змін. ДМВ збільшився на 7,33 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 17,28 % ($p \leq 0,05$). Співвідн. І за таких умов зросло вже на 9,27 % ($p \leq 0,05$). ШП збільшилася на 10,23 % ($p \leq 0,05$), ПППВ – на 15,2 % ($p \leq 0,05$). КЯМ зменшилася на 4,95 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.25). Структурний аналіз мікроциркуляторного русла виявив зростання ДВ на 10,24 % ($p \leq 0,05$), зменшення ДК на 10,49 % ($p \leq 0,05$), ДА – на 6,44 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3. 42). АВК на цьому терміні експерименту в дослідних щурів був на

15,13 % меншим, ніж у тварин контрольної групи ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.25, А.26).

Електронна мікроскопія після двох місяців дії екзополютантів виявила значні ознаки ураження скоротливого апарату м'язових волокон. Міофібрили частіше за все були деформовані, а місцями й зруйновані. Структура саркомера здебільшого порушилася, майже не вдавалося вирізнити А-, І-диски, Н-зону. М-лінії мали хвилястий вигляд, у місцях Z-ліній відзначалися місця розриву. Поодинокі філаменти хаотично розміщувалися у саркоплазмі поблизу численних вакуолей та лізосом. Ядра м'язових клітин були набряклими, деякі містили місця розриву. Гідропічні мітохондрії мали блідий матрикс та деформовані кристи. Елементи саркотубулярної системи зазнали дилатації і також містили місця розриву. Морфометрія виявила достовірне зменшення ДМФ на 3,59 % ($p \leq 0,05$). Статистично значущим виявилось збільшення ПЯМ на 9,53 % ($p \leq 0,05$). ОЯМ при цьому зріс вже 14,76 % ($p \leq 0,05$). Достеменно зросли й значення вимірів мітохондрій. ПЯ збільшилася на 11,24 % ($p \leq 0,05$), ОМ – на 15,67 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.26).

Спектральний аналіз скелетних м'язів старечих щурів свідчив про достовірне збільшення вмісту цинку (на 8,99 %, $p \leq 0,05$), свинцю (на 51,49 %, $p \leq 0,05$), хрому (на 43,78 %, $p \leq 0,05$) і заліза (на 3,19 %, $p \leq 0,05$). Концентрація міді зменшилася на 4,87 % ($p \leq 0,05$). Кількість марганцю майже не змінилася (Додаток А, табл. А.27).

Після трьох місяців інтоксикації солями цинку, хрому та свинцю органометричні показники латеральних голівок триголових м'язів литки щурів регресивного віку зазнали виражених відхилень у своїх показниках від відповідних значень у групі контролю. АММ зменшилася на 4,43 % ($p \leq 0,05$), ДМЧ – на 8,18 % ($p \leq 0,05$). Загальна маса тварини також достовірно стала меншою у піддослідних тварин на 5,13 % ($p \leq 0,05$), що стало причиною сталості показника ВММ. Досить істотними виявились ознаки набряку м'язових структур. Так, АОМ збільшився на

30,97 % ($p \leq 0,05$), ДМСЧ – на 16,47 % ($p \leq 0,05$), а ПППМ – на 35,65 % ($p \leq 0,05$). У відповідь на останнє ЩМ зменшилася на 27,04 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.25).

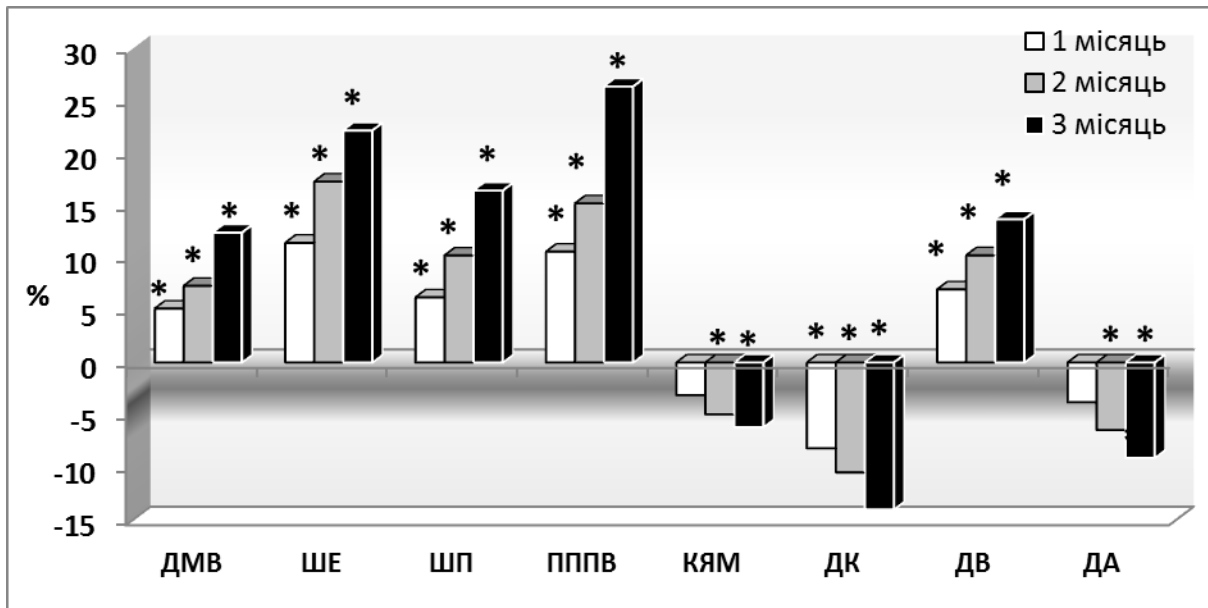


Рисунок 3.42 - Відсоткове співвідношення мікроморфометричних показників латеральної голівки триголового м'яза литки щурів старечого віку за умов вживання солей Zn, Pb та Sr через 1, 2 та 3 місяці експерименту. * – $p \leq 0,05$ (порівняно з контролем)

На мікроскопічному рівні також спостерігалися значні зміни. Увагу привертав виражений розвиток сполучнотканинних елементів. Крім розширення міжволоконних оболонок, елементи сполучної тканини ніби врзались у м'язові волокна та розщеплювали їх (рис. 3.43). Самі ж волокна були набряклими і разом із цим атрофічними та деформованими. Містили численні місця розривів. Кількість ядер була зменшеною, вони мали різну форму й забарвлення, хаотично розміщувались по всій площі саркоплазми. Венозні судини були кровонаповненими, в них траплявся стаз крові (рис. 3.44). Капіляри та артеріоли, навпаки, майже не містили крові, їх стінки були розширеними за рахунок значної кількості

колагенових волокон. Також відзначалися периваскулярний набряк, численні ділянки крововиливів.

Вивчення гістоморфометричних показників скелетних м'язів щурів старечого віку встановило, що ДМВ збільшився на 12,40 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 21,99 % ($p \leq 0,05$). Зростання співвідн. І було достовірним (на 8,67 %, $p \leq 0,05$), проте меншим, ніж у щурів після двох місяців експерименту. Останнє можна пояснити вираженим збільшенням ДМВ після третього місяця досліду, після другого внаслідок зриву компенсаторних механізмів. ШП зросла на 16,42 % ($p \leq 0,05$), ПППВ – на 26,36 % ($p \leq 0,05$). КЯМ зменшилася на 6,17 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.42).

Серед морфологічних вимірів судин скелетних м'язів спостерігалось зменшення діаметрів капілярів та артеріол на 14,02 % ($p \leq 0,05$) і 9,11 % ($p \leq 0,05$) відповідно. ДВ збільшився на 13,69 % ($p \leq 0,05$), показник АВК став меншим на 19,97 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.26).

Цікавими були результати вивчення препаратів латеральної голівки триголового м'яза литки щурів старечого віку після трьох місяців інтоксикації із використанням електронного мікроскопа. Структура саркомера не диференціювалася, фібрили були здебільшого фрагментовані, містили множинні ділянки розриву (рис. 3.45). Саркоплазма – сповнена різної форми лізосом та вакуолей. Серед загальної кількості гідропічних ядер траплялись явища каріопікнозу і каріорексису. Мітохондрії були значно набряклими, їх матрикс – просвітлений і майже не містив крист. Фрагментації зазнала і саркотубулярна система. Окремі її елементи були істотно дилатованими, розмежованими та розірваними.

Морфометричний аналіз виявив зменшення ДМФ на 6,04 % ($p \leq 0,05$). Набряк ядер призвів до збільшення їх площі на 14,4 % ($p \leq 0,05$), об'єму – на 22,02 % ($p \leq 0,05$). ПМ зросла на 16,48 % ($p \leq 0,05$), ОМ – на 22,86 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А.26).

Динаміка змін хімічного складу скелетних м'язів старечих щурів по завершенні третього місяця експерименту мала ті самі тенденції, що й після другого місяця дослідження. Вміст цинку збільшився на 18,13 % ($p \leq 0,05$), свинцю – на 103,64 % ($p \leq 0,05$), хрому – на 85,48 % ($p \leq 0,05$), заліза – на 5,86 % ($p \leq 0,05$). На 9,98 % зменшилася концентрація міді ($p \leq 0,05$). Вміст марганцю зменшився на 0,43 % ($p > 0,05$) (Додаток А, табл. А.27).

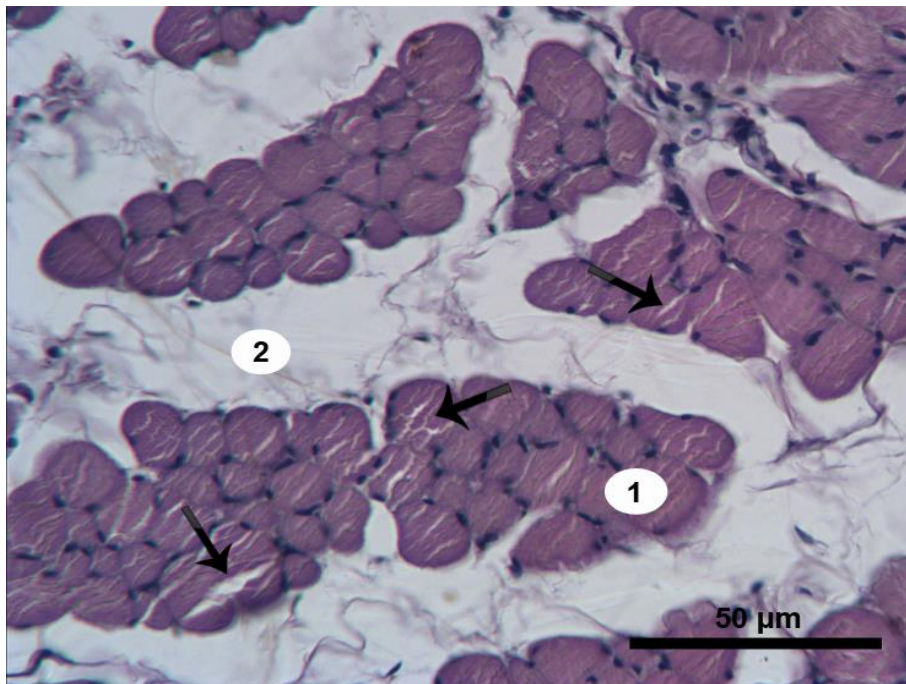


Рисунок 3.43 - Скелетний м'яз щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr. Поперечний зріз. Виразений розвиток сполучної тканини, розрив м'язових волокон (зазначено стрілками). Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – перимізій

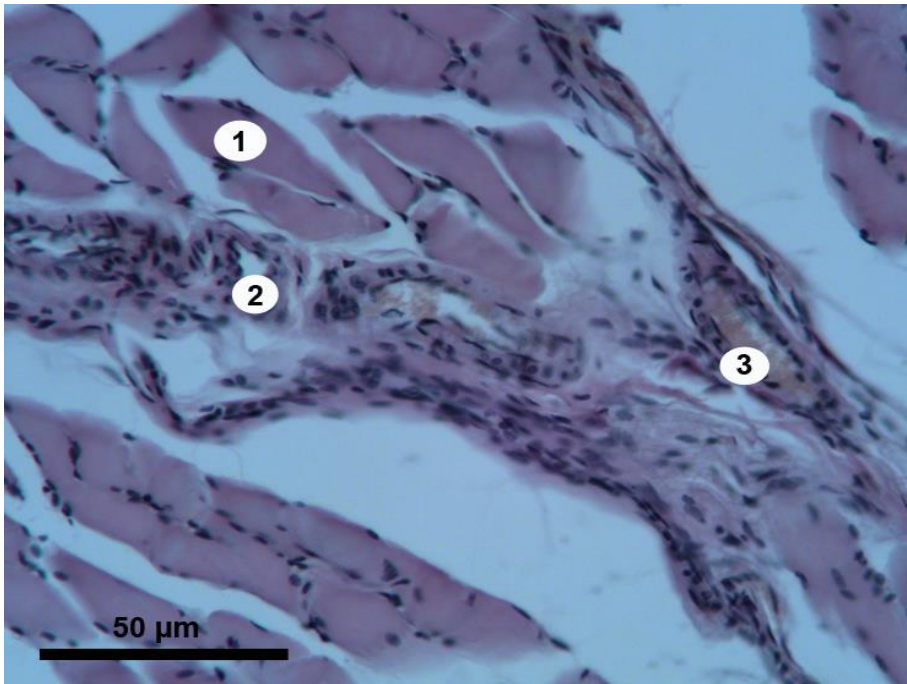


Рисунок 3.44 - Скелетний м'яз щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr. Поперечний зріз. Повнокров'я та розширення судин. Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – стінка капіляра; 3 – просвіт капіляра (явище стазу)

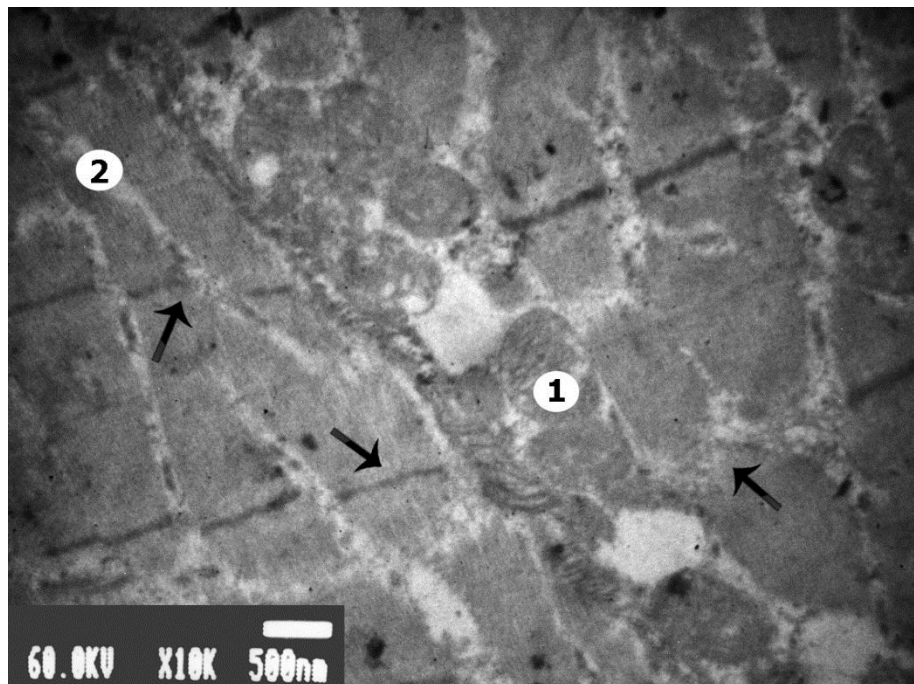


Рисунок 3.45 - Ультраструктура посмугованого м'яза щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців вживав Zn, Pb та Cr. Дезорганізація та руйнація міофібрил (зазначено стрілками): 1 – мітохондрія; 2 – саркоплазматичний ретикулум

Отже, можна вважати, що внаслідок надмірної дії солей хрому, цинку та свинцю у посмугованих м'язах щурів відбуваються прогресуючі морфологічні перебудови у тварин різних вікових груп. Ступінь вираженості зазначених структурних змін збільшується з віком тварин і тривалістю впливу на організм екзополітантів. Найбільш істотно структурна реорганізація скелетних м'язів виявила себе на фоні вікових зрушень у піддослідних щурів регресивного віку, що позначилося посиленням та прискореним розвитком атрофічних, склеротичних та фіброзних змін. На ультрамікроскопічному рівні найбільше значення мала тотальна дезорганізація скоротливого апарату. Спектральне дослідження посмугованих м'язів характеризувалося зростанням концентрації іонів цинку, хрому, заліза і свинцю поряд зі зниженням вмісту міді.

3.5.4 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різних вікових груп за умов надмірного вживання солей цинку, хрому, свинцю та препарату Мексикор®

У ході експериментального вивчення впливу інтоксикації солями важких металів на організм щурів виявлено, що зміни, які відбуваються у посмугованих м'язах тварин, різняться залежно від того, яке поєднання солей металів використане у дослідженні. Так, найбільш негативний вплив на скелетні м'язи експериментальних щурів мала комбінація солей хрому, цинку та свинцю (суміш № 3).

Структурні перетворення, що виникали у відповідь на патогенний вплив екзополютантів, характеризувалися набряком тканин, атрофічними, склеротичними процесами та явищами фіброзу. На клітинному та субклітинному рівнях зазначені зміни проявлялися збільшенням площі та діаметру м'язових волокон і сполучнотканинних прошарків, зменшенням діаметра міофібрил, сателітних клітин, зростанням площі та діаметра ядер симпласта і мітохондрій, накопиченням сполучної тканини між м'язовими волокнами та навколо дрібних судин.

Фармокологічний препарат Мексикор®, завдяки особливостям своєї фармакодинаміки перешкоджає негативним ефектам, що чинять на організм солі важких металів, таким чином зменшуючи розвиток та інтенсивність структурних перебудов у посмугованих м'язах щурів.

При аналізі органометричних параметрів посмугованих м'язів щурів молодого віку вже після другого місяця експерименту відзначалася різниця у деяких показниках між групами порівняння. Так, у тварин, які отримували коректор, АОМ був на 6,21 % меншим ($p \leq 0,05$), а ЩМ – а 8,05 % більшою ($p \leq 0,05$), ніж у щурів, які вживали лише солі важких металів. Після третього місяця дослідження достовірно меншими виявилися показники ДМСЧ та ПППМ у групі, які отримували Мексикор®. Так, ДМСЧ виявився на 7,54 % ($p \leq 0,05$), а ПППМ – на 14,51 % ($p \leq 0,05$) меншим ніж у тварин, які не отримували препарат. Показник АОМ був

меншим на 13,29 % ($p \leq 0,05$), ЩМ – на 17,67 % більшою ($p \leq 0,05$) у групі тварин, що отримували коректор, якщо порівнювати із щурами, які вживали солі важких металів без фармакологічної корекції (Додаток А, табл. А.28).

Дослідження мікропрепаратів посмугованих м'язів щурів молодого віку після трьох місяців затравки солями важких металів у поєднанні із вживанням коректора показало наявність незначного збільшення масиву сполучнотканинних прошарків, поодинокі набряклі м'язові волокна. Зовнішній контур та форма останніх видимих змін не зазнали. Незначна кількість дрібних судин, зокрема венул, знаходились у стані повнокров'я.

Аналіз даних вивчення мікрморфометричних показників посмугованих м'язів молодих щурів показав, що після першого місяця експерименту значення у групі, що отримували препарат-коректор, істотно не відрізнялися від тварин інтактної серії. Після другого місяця ШЕ та ПППВ були достовірно меншими в особин, які отримували фармакологічний препарат, ніж у щурів, які вживали лише солі важких металів (на 9,96 % та 7,89 % відповідно, ($p \leq 0,05$)). Ще істотнішими виявилися зміни після останнього місяця експерименту. ДМВ у молодих щурів, які отримували коректор, був меншим на 6,14 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати із тваринами, яким коректора не давали. ШЕ була меншою на 12,42 % ($p \leq 0,05$), ШП – на 9,08 % ($p \leq 0,05$) у серії тварин, що отримували Мексикор® (рис. 3.46). Значення співвідн. І виявилось також достовірно меншим на 6,69 % ($p \leq 0,05$). ПППВ посмугованих м'язів молодих щурів, які на фоні інтоксикації вживали коректор, був меншим на 11,9 %, якщо порівнювати із тваринами, яким препарат не давали ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А. 28).

Щодо морфометричних показників гемомікроциркуляторного русла, то після третього місяця експерименту у тварин, які отримували медикаментозну корекцію, ДК виявився на 9,07 % більшим, ніж у тварин, які вживали лише солі металів ($p \leq 0,05$). ДВ, навпаки, був у тварин із корекцією на 7,85 % меншим ($p \leq 0,05$). ДА виявився на 4,06 % більшим, ніж у групі порівняння, проте ці зміни не мали

статистичної значущості ($p > 0,05$). Однак, АВК зріс на 12,92 % ($p \leq 0,05$) (Додаток А, табл. А. 29).

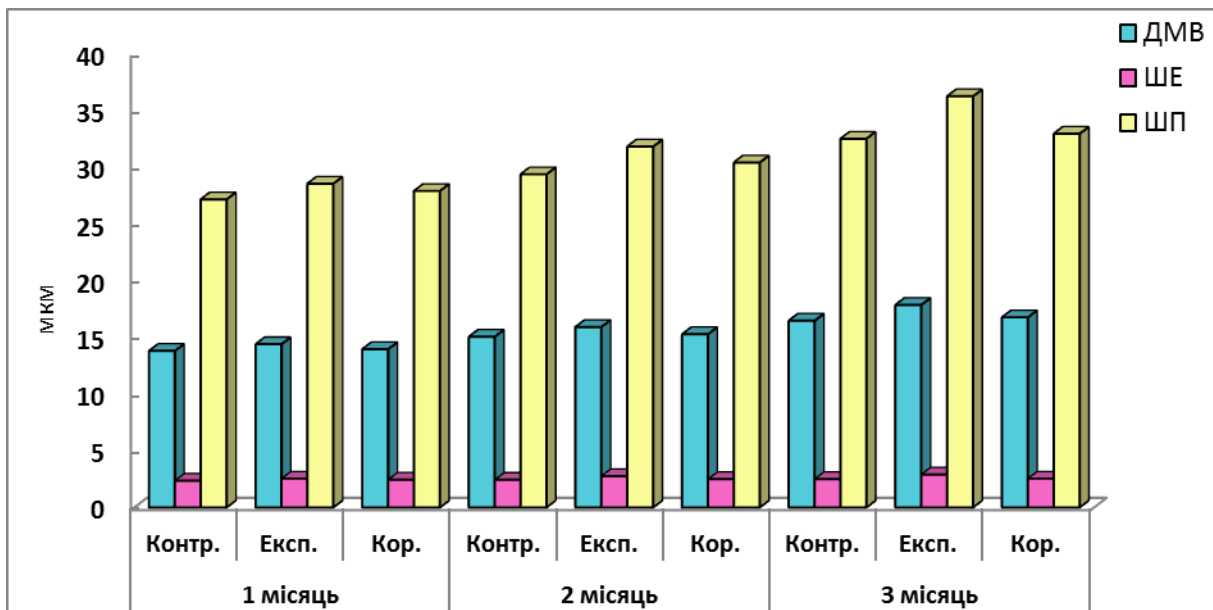


Рисунок 3.46 - Співвідношення гістоморфометричних параметрів посмугованих м'язів щурів молодого віку контрольної серії, експериментальної групи та групи тварин, які отримували препарат Мексикор®

Аналіз препаратів посмугованих м'язів молодих щурів із використанням електронного мікроскопа лише після другого та третього місяців експерименту виявив поодинокі вогнища дезорганізації міофібрил, незначний набряк ядер симпласта й мітохондрій. І лише після третього місяця дослідження були виявлені дилатовані саркотубули, показана наявність підвищеної кількості вакуолей та лізосом у саркоплазмі.

Вивчення ультрамікроскопічних параметрів уже після першого місяця дослідження дало змогу встановити, що показники ОЯМ і ОМ у щурів, які отримували препарат-коректор, були статистично значуще меншими, ніж у тварин, які вживали лише воду із солями цинку, хрому та свинцю (на 6,14 % ($p \leq 0,05$) та 6,41 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Після другого місяця експерименту ОЯМ виявився меншим на 8,77 % ($p \leq 0,05$) а ОМ – на 10,72 % ($p \leq 0,05$), ніж у групі без препарату. Достовірними виявилися зміни ПМ, яка на цьому етапі у серії тварин з корекцією

була меншою на 7,69 % ($p \leq 0,05$), ніж у серії щурів, які медикаментозної підтримки не отримували (Додаток А, табл. А. 29).

Ультрамiкроскопiчна картина пiсля трьох мiсяцiв експерименту характеризувалася ще бiльш вираженою протективною дiєю коректора щодо морфологiчних перетворень посмугованих м'язiв за умов надходження до органiзму солей хрому, свинцю та цинку. У групi тварин, якi отримували коректор, ДМФ виявився достовiрно бiльшим на 3,19 % ($p \leq 0,05$), нiж у групi порiвняння. ПЯМ i ПМ виявилися меншими на 7,75 % ($p \leq 0,05$) та 9,06 % ($p \leq 0,05$). Ще бiльшi зрушення були встановленi при аналізi показникiв об'єму органел. Так, ОЯМ у групi щурiв, якi отримували медичний препарат, був меншим на 11,23 % ($p \leq 0,05$), а ОМ – на 12,89 % ($p \leq 0,05$), нiж у тварин, якi вживали лише солi важких металiв (Додаток А, табл. А.29).

Спектральний аналіз вiмiсту хiмiчних елементiв у посмугованих м'язах щурiв молодого вiку пiсля першого мiсяця дослiдження виявив, що змiни концентрацiї хрому, свинцю та цинку в скелетних м'язах щурiв, що отримували лише солi важких металiв, практично вiдповiдали таким, як у серiї тварин зi корекцiєю. Рiзниця у вiдповiдних показниках не перевищувала 1 % i не була статистично достовiрною (Додаток А, табл. А.30). Подiбнi результати отримали i пiд час вивчення посмугованих м'язiв молодих тварин пiсля двох та трьох мiсяцiв експерименту.

Аналіз дослiджуваних параметрiв на органному рiвнi у щурiв зрiлого вiку лише пiсля другого мiсяця експерименту виявив достовiрне зменшення АОМ у тварин, якi разом зi солями важких металiв отримували фармакологiчний захист (на 6,94 %, $p \leq 0,05$), якщо порiвнювати зi щурами, якi вживали лише солi важких металiв. Вiдповiдно до цього виявилось значуще зростання ЩМ на 8,45 % ($p \leq 0,05$) у серiї тварин, якi отримували коректор. Пiсля третього мiсяця вивчення препаратiв посмугованих м'язiв щурiв було з'ясовано, що у щурiв, якi на фонi вживання екзополютантiв отримували Мексикор®, АОМ стало меншим на 11,2 % ($p \leq 0,05$), ДМСЧ – на 7,31 % ($p \leq 0,05$), ПППМ – на 14,08 % ($p \leq 0,05$), нiж у тварин, яким медичного коректора не давали (Додаток А, табл. А.31).

Гістологічне дослідження зразків скелетних м'язів щурів зрілого віку лише після третього місяця експерименту показало наявність певної кількості набряклих та деформованих м'язових волокон. Їх зовнішній контур мав хвилястий вигляд, ядра в цитоплазмі розміщувалися здебільшого по периферії симпласта, проте траплялися і такі, що знаходилися ближче до центру. Прошарки ендомізія та перимізія виглядали дещо розширеними, містили повнокровні венули та капіляри. Крововиливів не спостерігалось.

Аналіз даних мікроморфометричного аналізу латеральної голівки триголового м'яза литки щурів порівнюваних груп виявив відсутність значущих змін після першого місяця дослідження. Після другого місяця достовірні зміни виявилися лише під час розрахунку АВК. Так, у щурів, які отримували медичну корекцію, цей показник був на 7,66 % вищим, ніж у тих, які вживали лише солі металів ($p \leq 0,05$). Більш виражені зміни мікроскопічних параметрів посмугованих м'язів зрілих щурів були встановлені після третього місяця експерименту. У тварин, які отримували фармакологічну протекцію, ДМВ зменшився на 6,41 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 11,32 % ($p \leq 0,05$), ШП – на 7,17 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.47), ПППВ – на 12,41 % ($p \leq 0,05$), ДВ – на 7,18 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати із групою щурів, які вживали лише солі важких металів. ДК у серії щурів, які отримували Мексикор®, був більшим на 9,17 % ($p \leq 0,05$), АВК – на 11,09 % ($p \leq 0,05$), порівняно з відповідними показниками групи тварин, які вживали солі металів (Додаток А, табл. А.31, А.32).

Вивчення зразків триголового м'яза литки щурів зрілого віку з використанням електронного мікроскопа показало наявність незначних патологічних змін лише після третього місяця досліду. Привертала увагу наявність поодиноких ділянок контрактур та дезорганізації міофібрил. При цьому межі саркомера простежувалися чітко. Ядра міосимпласта й мітохондрії були незначно дилатованими. Матрикс останніх – дещо просвітлений, містив нормальні на вигляд кристи. Елементи сарко-тубулярної системи зазвичай мали незмінену структуру, проте іноді спостерігались ділянки деформації та розширення. Міосателітоцити під час дослідження за допомогою електронного мікроскопа мали звичайну будову.

Аналіз ультрамікроморфометричних показників показав відсутність достовірних змін у шуканих параметрах між групами порівняння після перших двох місяців експерименту. Після тримісячного терміну дослідження у щурів, які отримували поряд із солями металів медичний коректор, значуще меншими виявилися значення ПЯМ (на 5,61 %, $p \leq 0,05$), ОЯМ (на 7,74 %, $p \leq 0,05$), ПМ (на 5,23 %, $p \leq 0,05$), ОМ (на 7,29 %, $p \leq 0,05$), якщо порівнювати з відповідними показниками у групі, у якій не вживали коректора (Додаток А, табл. А.32).

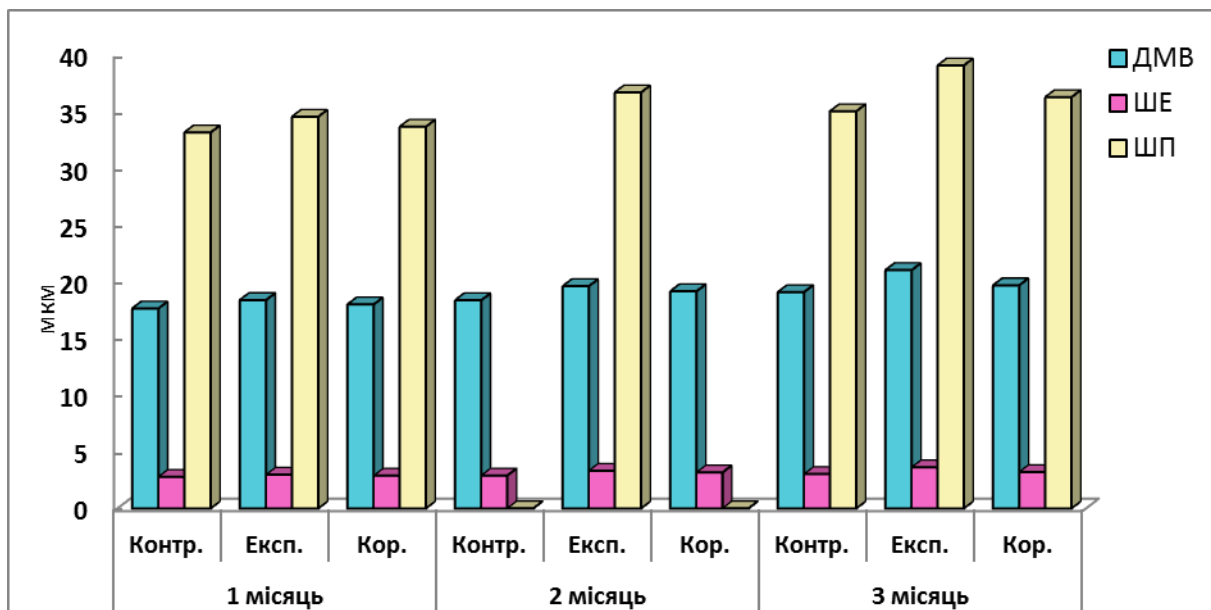


Рисунок 3.47 - Співвідношення гістоморфометричних параметрів посмугованих м'язів щурів зрілого віку контрольної серії, експериментальної групи та групи тварин, які отримувала препарат Мексикор®

Так само, як і в групі молодих тварин, аналіз вмісту хімічних елементів у скелетних м'язах щурів зрілого віку впродовж усього терміну експерименту встановив, що зміни мікроелементного складу посмугованих м'язів щурів, які разом із інтоксикацією отримували медичну корекцію, практично відповідали змінам у групі тварин, які вживали лише солі важких металів (Додаток А, табл. А.33).

Вивчення органометричних параметрів латеральної голівки триголового м'яза литки щурів регресивного віку дало змогу встановити доволі незначну кількість достовірних відмінностей у зазначених показниках між групами з коректором і без

нього. Так, лише після третього місяця дослідження у серії щурів, які на фоні інтоксикації солями важких металів вживали медичний препарат, АОМ та ПППМ виявилися значуще меншими (на 7,18 % і 5,87 % відповідно ($p \leq 0,05$)), ніж у тварин, які отримували лише солі металів. Показник ЩМ у тварин із коректором у раціоні був більшим на 10,06 % ($p \leq 0,05$), ніж у щурів, які піддавалися лише інтоксикації (Додаток А, табл. А.34).

Вивчення зразків скелетних м'язів щурів старечого віку, які вживали солі важких металів на фоні приймання фармакологічного коректора, показало наявність змін гістологічної структури після другого і третього місяців. Так, м'язові волокна виглядали дещо набряклими, вкороченими та деформованими. Траплялися місця розщеплення волокон сполучною тканиною. Остання мала гарний розвиток і чітко розмежовувала кожне волокно та групи волокон. Ядра симпласта мали різну форму й забарвлення, проте майже завжди розміщувались по периферії саркоплазми (рис. 3.49).

Щодо судинного компонента скелетних м'язів щурів старечого віку, які отримували разом із солями металів фармакологічний коректор, то після другого місяця експерименту відзначалося розширення стінок дрібних та середніх судин за рахунок підвищення кількості елементів сполучної тканини в них. Також у просвіті багатьох судин спостерігалось значне скупчення формених елементів крові, їх стаз (рис. 3.50).

Після першого місяця експерименту шукані гістоморфометричні параметри та індекси істотно не відрізнялися між групами порівняння. Після другого місяця дослідження достовірних відмінностей зазнав лише АВК, який у тварин, які разом із солями металів отримували Мексикор®, виявився більшим на 7,06 % ($p \leq 0,05$), ніж у щурів, які вживали лише солі хрому, свинцю та цинку (Додаток А, табл. А.34, А.35). Більш істотними гістологічні зміни у тварин старечого віку виявилися після останнього місяця експерименту. У тварин, які отримували фармакологічний захист,

ДМВ був меншим на 4,19 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 7,59 % ($p \leq 0,05$), ШП – на 6,18 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.48).

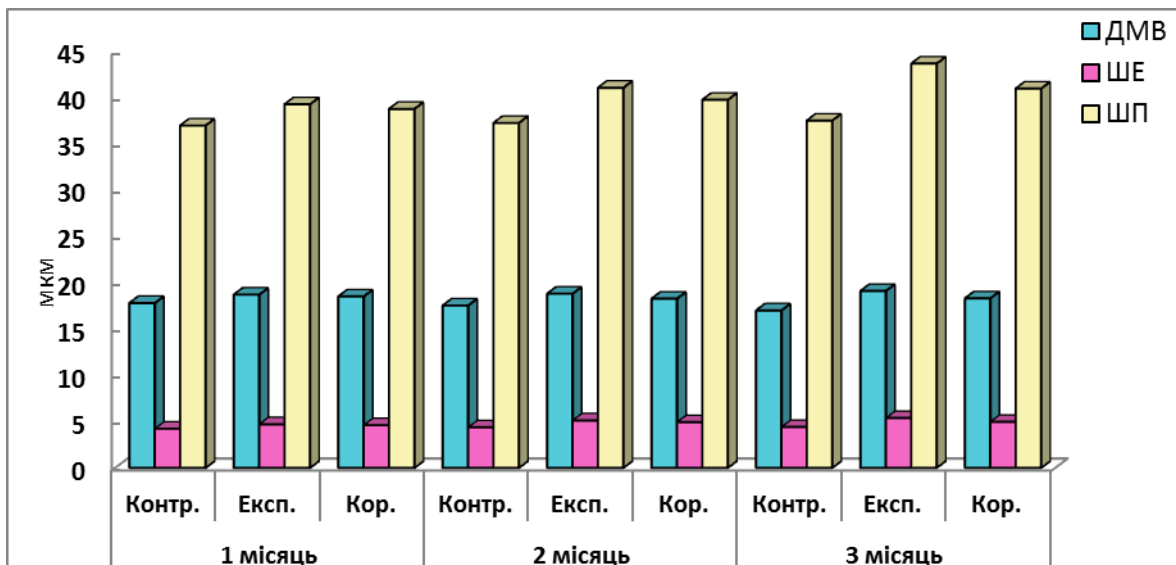


Рисунок 3.48 - Співвідношення гістоморфометричних параметрів посмугованих м'язів щурів старечого віку контрольної серії, експериментальної групи та групи тварин, які отримували препарат Мексикор®

Аналіз гістоморфометричних параметрів показав також достовірні відмінності між групами порівняння у значеннях ПППВ та практично всіх структурних показниках гемомікроциркуляторного русла. ПППВ у старечих щурів, які разом із солями металів отримували фармакологічний препарат, виявився на 8,2 % меншим ($p \leq 0,05$), ніж у тварин, яким коректор не давали. Також у щурів, які піддавалися фармакопротекції, ДВ був меншим на 5,92 %, а ДК і АВК – більшими на 6,83 % ($p \leq 0,05$) та 10,71 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати з тваринами, які піддавалися лише інтоксикації (Додаток А, табл. А.35).

Аналіз посмугованих м'язів старечих тварин за допомогою електронної мікроскопії показав наявність морфологічних змін у тварин, які отримували коректор лише після третього місяця експериментального дослідження. Проте необхідно зауважити, що вираженість зазначених змін мала набагато менший

ступінь, ніж при аналізі препаратів щурів старечого віку, які не отримували коректор. Скорочувальний апарат м'ясопласта містив поодинокі вогнища контрактур, деформації та дезорганізації за збереження своєї цілісності (рис. 3.51). Ядра та мітохондрії були гідропічними. Хроматин мав звичайний вигляд, кристи мітохондрій – деформовані. У саркоплазмі розміщувалися скупчення вакуолей та поодинокі лізосоми. Саркотубули виглядали дещо дилатованими, проте не мали ділянок розриву. Сателітоцити мали нормальний розмір і розміщувались під базальною мембраною міоцитів.

Серед ультрамікроскопічних показників статистично достовірні зміни спостерігалися лише в кінці експерименту. Після третього місяця дослідження у старечих щурів, які отримували Мексикор® були значуще меншими ОЯМ (на 6,54 %, $p \leq 0,05$) і ОМ (на 6,19 %, $p \leq 0,05$), ніж у тварин групи порівняння (Додаток А, табл. А.35).

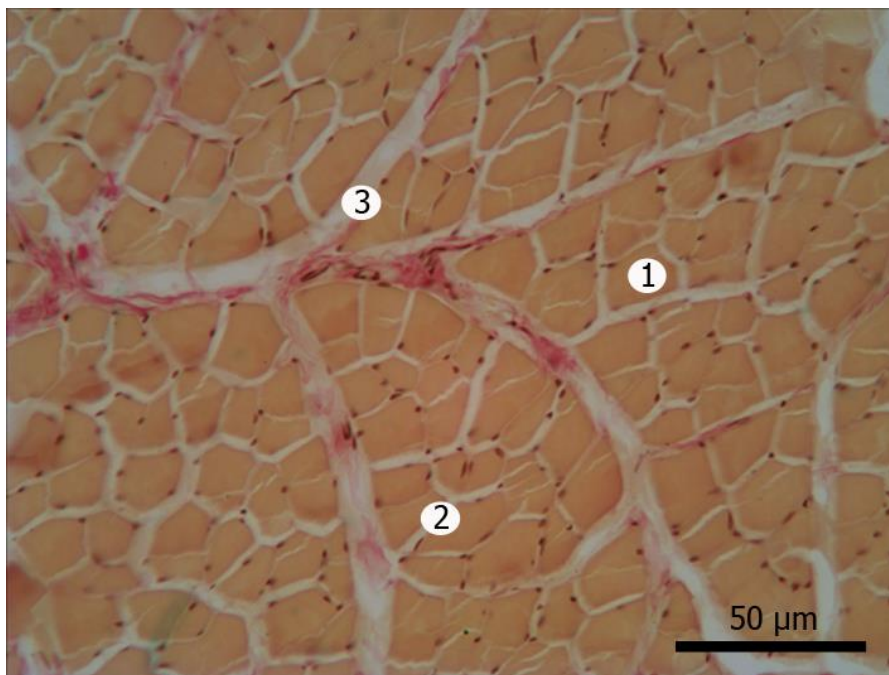


Рисунок 3.49 - Скелетний м'яз щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr і протектор Мексикор®. Поперечний зріз. Розширення сполучнотканинних прошарків, набряк та деформація м'язових волокон, повнокров'я судин. Забарвлення за Ван-Гізоном: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

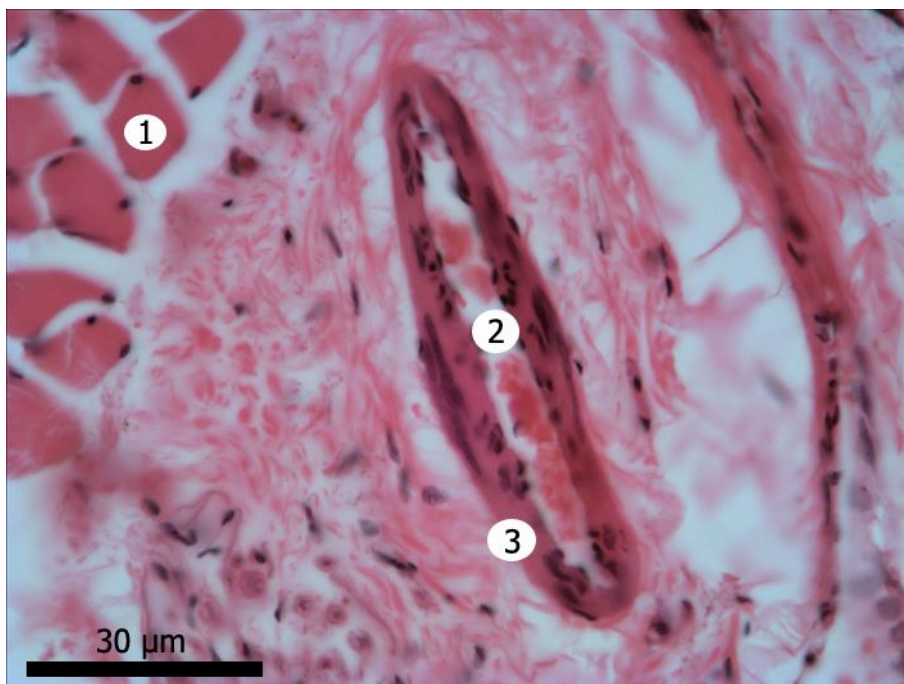


Рисунок 3.50 - Скелетний м'яз щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr і протектор Мексикор®. Збільшення сполучної тканини у стінці судини, перивазальний набряк, явище повнокров'я.

Поперечний зріз. Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – просвіт венули; 3 – стінка венули

Спектральний аналіз вмісту хімічних елементів у посмугованих м'язах щурів старечого віку після першого, другого та третього місяців спостереження показав, що концентрація шуканих хімічних елементів у посмугованих м'язах тварин, які піддавалися лише інтоксикації, практично відповідала такій у м'язах тварин, які отримували солі цинку, свинцю, хрому та Мексикор® (Додаток А, табл. А.36).

Таким чином, використання медичного препарату Мексикор® сприяє запобіганню розвитку атрофічних, склеротичних та набрякових процесів у скелетних м'язах щурів усіх вікових груп. У тварин прогресивного та зрілого віку негативний вплив солей важких металів майже повністю нівелюється. Разом із цим потрібно відзначити, що вищезазначений фармакологічний агент практично не впливає на характер та інтенсивність накопичення металів у скелетних м'язах щурів.

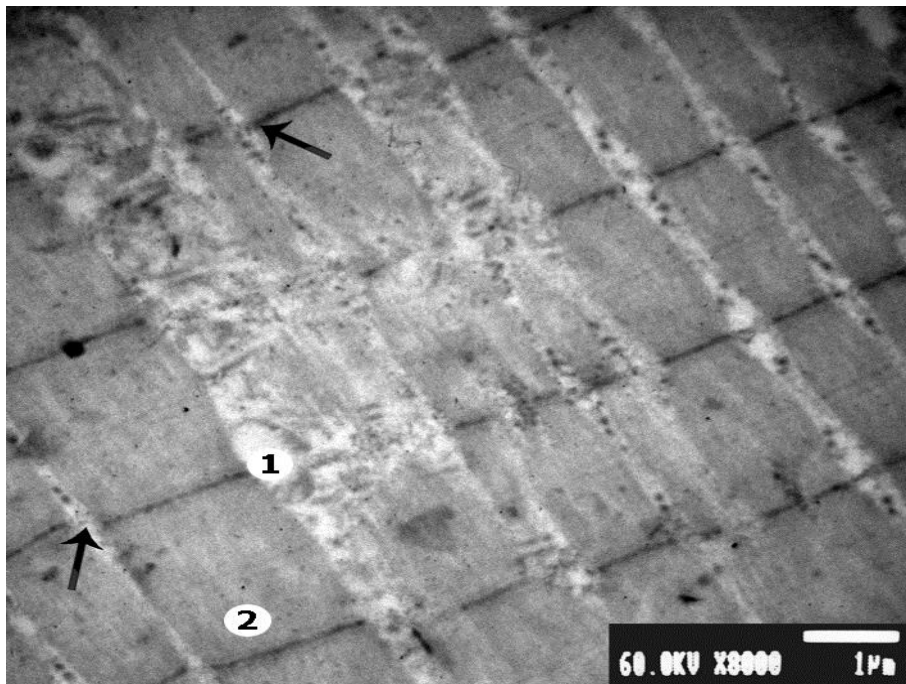


Рисунок 3.51 - Ультраструктура посмугованого м'яза щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців отримував Zn, Pb та Cr і протектор Мексикор®. Поодинокі ділянки розриву Z-ліній (зазначені стрілками): 1 – саркоплазматичний ретикулум; 2 – міофібрила

ВИСНОВКИ

1. Захворюваність на РЦЗ в Сумській області за період з 2004 по 2014 рр. в середньому склала $8,22 \pm 0,83\%$, тоді як цей показник по Україні складає $5,3 \pm 0,49\%$. Має місце зростання захворюваності на РЦЗ в Сумській області з 6,9 на 100 тис. населення в 2004 р. до 15,1 на 100 тис. населення в 2014 р. Пік захворюваності на РЦЗ відмічався у хворих від 40 до 59 років ($49,55 \pm 4,15$). Із зареєстрованих 1131 випадків РЦЗ питома частка ПРЦЗ склала 837 (в середньому – 74,0%), ФРЦЗ – 226 випадки (20%), МРЦЗ – 45 випадки (4%), інші форми – 23 випадки (2%).

2. При біомінералізації ПРЦЗ було виділено такі її типи: псамомні тільця, стромальна та васкулярна біомінералізація. При аналізі випадків ПРЦЗ не виявлено різниці між розмірами пухлин за наявності та відсутності кальцифікатів ($p > 0,05$). Частота виявлення біомінералізації ПРЦЗ у чоловіків нижча, ніж у жінок. Зв'язку між біомінералізацією та віком пацієнтів не було виявлено.

3. Результати рентгенівської дифракції (XRD-EDS) та СЕМ з мікроаналізом показують подібний хімічний склад і співвідношення Са та Р у всіх типах біомінералізації ПРЦЗ, який відповідає нанокристалічному дефектному гідроксиапатиту кальцію зі значним вмістом карбонатних заміщень у решітці. У EDX спектрах, крім основних ліній Са і Р, часто присутні слабкі лінії Fe, S, K, Cl і деяких інших елементів. Згідно з даними скануючої та просвічуючої мікроскопії, мінералізований матеріал депозитів складався з різнорозмірних частинок довільної форми з ознаками крихких зламів по краях. Кристалічні частинки біомінералів були полідисперсні у широкому діапазоні. За сумарною оцінкою морфології і розмірів кристалів, електронної дифракції, кожен зразок має свої специфічні особливості.

4. Встановлена різниця між результатами імуногістохімічного дослідження експресії бах ($p < 0,001$), OPN ($p < 0,001$) та VEGF ($p < 0,05$) у групах зразків ПРЦЗ з наявністю та відсутністю біомінералізації, що свідчить про їх участь у процесах патологічної біомінералізації за умов даної патології. Висока експресія білка бах та низька експресія його антагоніста bcl-2 у мінералізованій тканині ПРЦЗ свідчить про посилення апоптозу у пухлинних клітинах. Виявлена гіперпродукція OPN пухлинними клітинами є

можливим фактором протидії біомінералізації ПРЦЗ. Високий рівень експресії VEGF може свідчити про більш високий рівень гіпоксії в тканині мінералізованого ПРЦЗ.

5. Порівнюючи випадки ПРЦЗ з наявністю метастазів, відзначили, що мінералізовані зразки пухлин досягають більших розмірів у порівнянні з випадками без проявів кальцифікації ($p < 0,02$), у них виявлено достовірно вищий рівень експресії *bax* ($p < 0,001$), *OPN* ($p < 0,008$) і *VEGF* ($p < 0,012$). У групі зразків ПРЦЗ без мінералізації виявлено вищий рівень експресії *bcl-2* ($p < 0,04$). Таким чином, оцінюючи вплив біомінералізації на перебіг ПРЦЗ, можна стверджувати про її сприяння в обмеженні росту та поширенню пухлини.

6. У групі хворих на ПРЦЗ з біомінералізацією псамомні тільця виявлялися у 80%, їх кількість у кожному випадку варіювала від одного до кількох десятків. Величина діаметра ПТ варіювала від 39,79 до 181,87 мкм (в середньому $77,49 \pm 7,24$ мкм). Товщина шару (ламели) псамомного тільця коливалася від 3,5 до 9,3 мкм ($7,08 \pm 0,91$ мкм). Остеопонтин, відкладаючись на поверхні псамомних тілець і з'єднуючись зі сполуками кальцію, стимулює їх ущільнення та організацію, приймаючи участь у формуванні їх шаруватої структури.

7. Тривалий вплив на організм експериментальних щурів солей цинку, заліза та міді призводив до набрякових змін та розростання сполучної тканини у посмугованих м'язах щурів усіх вікових груп, однак більшою мірою проявляється у тварин регресивного віку. Найбільш значущим було зростання абсолютного об'єму м'яза (на 20,33 %; $p = 0,0001$), діаметра м'язового волокна (на 7,29 %; $p = 0,002$), ширини ендомізію (на 9,98 %; $p = 0,039$), зменшення артеріоло-венулярного коефіцієнта (на 9,92 %; $p = 0,003$), зростання об'єму ядра симпласта (на 18,51 %; $p = 0,0001$), та об'єму мітохондрії (на 19,04 %; $p = 0,0002$). Вищезазначені цифрові показники здебільшого залежали від віку піддослідних тварин.

8. Тривала дія солей міді, свинцю та марганцю на посмуговані м'язи щурів виявила себе атрофічними змінами, вираженим розвитком сполучнотканинних прошарків, накопиченням сполучної тканини у стінках судин мікроциркуляторного русла, що у тварин старечого віку призвело до зменшення маси тварин (на 4,84 %; $p = 0,046$), абсолютної маси м'яза (на 2,77 %; $p = 0,005$), зростання ширини ендомізію (на 20,86 %;

$p = 0,0004$), зменшення артеріоло-венулярного коефіцієнта (на 16,98 %; $p = 0,0001$). Поряд із цим у м'язових волокнах спостерігались ознаки набряку, деформації та структурної дезорганізації як скоротливого апарату, так й інших функціональних апаратів симпласта. Останнє відобразилось у збільшенні діаметра м'язового волокна (на 10,16 %; $p = 0,0001$), об'єму ядра симпласта (на 19,33 %; $p = 0,0001$) та об'єму мітохондрії (на 20 %; $p = 0,0002$).

9. Найбільша структурна реорганізація скелетних м'язів на фоні надмірної дії на організм солей хрому, цинку та свинцю виявлена у тварин старечого віку, що проявлялося зменшенням їх маси (на 5,13 %; $p = 0,032$), абсолютної маси м'яза (на 4,43 %; $p = 0,0002$), зростанням абсолютного об'єму м'яза (на 30,97 %; $p = 0,0001$), діаметра м'язового волокна (на 12,40 %; $p = 0,0001$), ширини ендомізію (на 21,99 %; $p = 0,001$), зменшенням артеріоло-венулярного коефіцієнта (на 19,97 %; $p = 0,0004$), зростанням об'єму ядра симпласта (на 22,02 %; $p = 0,0001$), та об'єму мітохондрії (на 22,86 %; $p = 0,0001$). Світлооптично такі морфометричні зміни супроводжувались посиленням розростанням сполучної тканини, зменшенням м'язових елементів, явищами тканинної та клітинної гіпоксії.

10. Солі важких металів, що надходили до організму тварин у підвищеній кількості призводили до зростання в посмугованих м'язах щурів різних груп концентрації іонів тих металів, які входили до складу цих солей. Найбільшою органотропністю характеризувалися свинець та хром, вміст яких у скелетних м'язах піддослідних щурів у кінці терміну дослідження був найбільшим (зростання концентрації на 103,64 % ($p = 0,0001$) і 85,48 % ($p = 0,0001$) відповідно). Характерно, що саме в цій групі тварин структурні зміни довільних м'язів були максимальними.

11. Застосування препарату Мексикор® сприяє запобіганню розвитку атрофічних, склеротичних та набрякових процесів у скелетних м'язах щурів усіх вікових груп на фоні негативного впливу на організм комбінації солей важких металів. При цьому він практично не впливає на характер та інтенсивність накопичення металів у посмугованих м'язах тварин.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Атаман О.В. Венозна стінка: загальнотеоретичні й експериментальні аспекти. – Суми: Видавництво СумДУ, Ангіо, 2001. – 248 с.
2. Бебешко В.Г. Иммунотерапия с применением дендритных клеток – новый тренд в лечении пациентов с миеломной болезнью. Український медичний часопис. 2002. - №4 (30). – С. 9-16.
3. Богданова Т.И. Патология щитовидной железы у детей / Т.И. Богданова, В.Г. Козырницкий, Н.Д. Тронько // Атлас.-К.: Чернобыльинформ, 2000. – 160 с.
4. Бондаренко О.О. Біологічні властивості метастазів раку щитоподібної залози та їх імуноморфологічна діагностика / О.О. Бондаренко, І.С. Шпонька // Морфологія. – 2007. – Т.1, №2. – С.29-35.
5. Бондаренко О.О. Експресія Na^+/I^- симпортеру в новоутвореннях щитоподібної залози: імуногістохімічне дослідження / О.О. Бондаренко, І.С. Шпонька, В.І. Шпонька // Морфологія. – 2008. – Т.ІІІ, №1. – С.28-31.
6. Винник Ю.А. Частота анапластического рака щитовидной железы в структуре других гистологических форм рака щитовидной железы / Ю.А. Винник, В.Н. Горбенко, А.Р. Васько [и др] / Клінічна хірургія. – 2014. - №1. – С. 32-34.
7. Волков В.Т. Хламидийная теория узлового зоба и сахарного диабета / В.Т. Волков, Г.В. Смирнов, Н.Н. Волкова // Бюллетень СО РАМН. - 2006. - №1 (199). -С.117-123.
8. Володько Н.А. Метастазування злоякісних пухлин: роль факторів пухлинного мікрооточення.- Львів: «Медицина світу», 2002. - 200 с.
9. Гіперплазія щитоподібної залози у дітей, які проживають у ІV зоні радіоекологічного контролю і її кореляція з накопиченням солей важких металів / В. Санніков, А. Мучник, С. Колосова [та ін]. Український радіологічний журнал . – 1995. – №3. – С. 14-16.
10. Горбенко В.Н. Рак щитовидной железы в Украине (1989-2004) / В.Н. Горбенко, Л.О. Гулак, З.П. Федоренко [та ін] // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – Т.8.-№2 – С.34-38.

11. Ивахно И.В. Диагностическое и прогностическое значение васкуляризации папиллярных карцином / И.В. Ивахно // Патология. – 2015. - №1 (33). – С.70-72.

12. Лукаш А.В. Злоякісні пухлини щитоподібної залози в Сумській області (2000-2009 рр.) / А.В. Лукаш, Д.Ф. Половинка, Р.А. Москаленко // Актуальні питання теоретичної медицини. Актуальні питання клінічної медицини. Клінічні та патогенетичні аспекти мікроелементозів. Actual problems of fundamental and clinical medicine: матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, Суми, 20-22 квітня 2011 року / Відп. за вип. Л.Н. Приступа. — Суми: СумДУ, 2011. — Ч.1. — С. 42.

13. Манских В. Н. Пути гибели клетки и их биологическое значение / В. Н. Манских // Цитология. — 2007. — Т. 49, № 11. — С. 909-915.

14. Мелеховець О.К. Клініко-географічне районування Сумської області за ступенем йододефіциту / О.К. Мелеховець, Н.В. Климанська, Р.А. Москаленко // Вісник СумДУ, серія Медицина. –2005. – №3. – С. 96-101.

15. Москаленко Р.А. Морфологические аспекты биоминерализации при патологии щитовидной железы / Р.А. Москаленко, А.Н. Романюк, С.Н.Данильченко, А.В. Резник // Современные подходы в клинико-морфологической диагностике и лечении заболеваний человека: сб. научн. тр. пятых научных чтений Всероссийской конференции с международным участием, посвященной памяти член-корр. РАМН, з.д.н. РФ, профессора Олега Константиновича Хмельницкого (4-5 октября 2013, г. Санкт-Петербург). - СПб.: Медпресса, 2013. - С.244-245.

16. Москаленко Р.А. Морфогенез щитоподібної залози в умовах впливу модельованого мікроелементозу та корекції його впливу глутаргіном / Р.А. Москаленко // Вісник СумДУ, серія Медицина. – 2010. – Т.1, № 1. – С.31–38.

17. Москаленко Р.А. Морфологічне дослідження щитоподібної залози при захворюваннях, які супроводжуються біомінералізацією / Р.А. Москаленко, А.В. Резнік, А.В. Гапченко [та ін] // Вісник біології і медицини. – 2015. - Вип.2, Т.3 (120). - С. 324-331.

18. Москаленко Р.А. Папілярний рак з біомінералізацією: клініко-морфологічні особливості / Р.А. Москаленко, А.М. Романюк, А.В. Резнік [та ін] // Патологія. – 2016. - №1.
19. Москаленко Р.А. Хімічний гомеостаз щитоподібної залози під впливом модельованого мікроелементозу / Р.А. Москаленко // Морфологія. – 2009. – Т. 3, № 3. – С. 15–19.
20. Патологічна біомінералізація при патології щитоподібної залози / А.М.Романюк, Р.А. Москаленко, А.В. Резнік [та ін] // Український морфологічний альманах. - 2013. - Т.16., №3 (додаток)- С.212.
21. Пинский С. Б. Опухоли щитовидной железы / С.Б. Пинский, В.В. Дворниченко, В.А. Белобородов // Иркутск. 1999. – 318 с.
22. Осинский С.П. Микрофизиология опухолей / С.П. Осинский, П. Ваупель // Київ, НВП «Видавництво «Наукова думка» НАН України», 2009. 253 с.
23. Резнік А.В. Аналіз захворюваності на злоякісні пухлини щитоподібної залози у Сумській області / А.В. Резнік, В.А. Сміянов, С.В. Тарасенко [та ін.] // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2015. - Vol.3, № 4. – С.609-617.
24. Резнік А.В. Імуногістохімічне дослідження папілярного раку щитоподібної залози з явищами біомінералізації/ А.В. Резнік // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2016. –Т. 4, № 2. – С.759-767.
25. Резнік А.В. Ультразвукове ехо біомінералізації щитоподібної залози / А.В. Резнік, А.В. Гапченко [та ін] // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2015. Vol.3, № 2. – С.188-198.
26. Романюк А.М. Еволюція поглядів на будову і функцію щитоподібної залози / А. М. Романюк, Р. А. Москаленко // Вісник СумДУ, серія Медицина. – 2008. – Т. 2, № 2. – С. 23–28.
27. Романюк А.М. Особливості обміну мікроелементів у щитоподібній залозі при проліферативних захворюваннях в умовах впливу солей важких металів / А.М. Романюк, Р.А. Москаленко // Вісник СумДУ, серія Медицина. – 2007. – №1. – С.9-13.

28. Романюк А.Н. Особенности фолликулогенеза в щитовидной железе крыс в условиях влияния солей тяжелых металлов / А.Н.Романюк, Р.А.Москаленко, А.В.Логвин // Российский медико-биологический вестник. – 2010. - №4. – С.8-15.
29. Тимченко А.М. Сучасні особливості регіональної розповсюдженості тиреопатології серед населення / А.М.Тимченко // Проблеми ендокринної патології. – 2003. -№3. – С.36-45.
30. Федоренко З. П. Рак в Україні, 2007–2013 / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Є. Л. Горох та ін. // Бюл. Національного канцер-реєстру України. – 2006-2013. – т. 7-13. <http://users.i.kiev.ua/~ucr/>.
31. Федченко Н.Н. Новые теоретические и патоморфологические подходы к метастазированию опухолей / Н.Н. Федченко // Морфология. – 2007. – Т.1, №2. – С. 12-17.
32. Хмельницкий О.К. Гистологическая диагностика неопухолевых заболеваний щитовидной железы: [Пособие для врачей] / О.К. Хмельницкий – С-П., 1999. –вып. 26. – 100 с.
33. Яковцова И.И. Морфологическая характеристика стромы папиллярных микрокарцином щитовидной железы и ее роль в диагностике и прогнозе заболевания / И.И. Яковцова, И.В. Ивахно, О.В. Долгая // Азейбержанский журнал онкологии – 2015. - №1. – С. 72-77.
34. Adeniran A.J. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas / A.J. Adeniran, Z. Zhu, M. Gandhi [et al] // Am. J Surg Pathol. - 2006. – Vol. 30. – P. 2016-222.
35. Albores-Saavedra J. Histologic variants of papillary and follicular carcinomas associated with anaplastic spindle and giant cell carcinomas of the thyroid: an anaplastic of the rhabdoid and thyroglobulin inclusions / J. Albores-Saavedra, M. Hernandez, S. Sanchez-Sosa [et al] // Am J Clin Pathol. – 2007. - Vol. 31. – P. 729-36.
36. Aluminum silicate –containing psammoma bodies in a cervicovaginal smear (Pap): cytological, ultrastructural, and radiographic microprobe studies / Li S., Boudousquie A.C., Baloch Z.W. [et al] // Diagn. Cytopathol. 1999. – Vol. 21. – P. 122-4.

37. Asioli S. Emerin immunohistochemistry reveals diagnostic features of nuclear membrane arrangement in thyroid lesions / S. Asioli, G. Bussolati // *Histopathology*. – 2009. – Vol. 54. – P. 571-579.
38. Association between MMP1-1607 1G>2G Polymorphism and Head and Neck Cancer Risk: A Meta-Analysis / C. Zhang, X. Song, M. Zhu, S. Shi. // *PloS One*. – 2013. – №2. – P. 285-293.
39. Association between osteopontin expression and thyroid disease biomineralization / [Reznik A. V., Moskalenko R. A, Reznik M. A.] // *Folia medica Cassoviensia*. – 2014. – Tomus 69, No.1, Suppl. 1. – P.112.
40. Azzopardi P.V. Roles of electrostatics and conformation in protein-crystal interactions / P.V. Azzopardi, J. O'Young, G. Lajoie [et al] // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5(2). P. e9330. doi:10.1371/journal.pone.0009330.
41. Bai Y. Subclassification of non-solid-type papillary thyroid carcinoma identification of high-risk group in common type / Y. Bai, K. Kakudo, Li Y. [et al] // *Cancer Sci*. – 2008. – Vol. 99. – P. 1908-1915.
42. Baloch Z.W. Follicular patterned lesion of the thyroid: the bane of the pathologist / Z. W. Baloch, V. A. LiVolsi // *Am J Clin Pathol*. – 2002. – Vol. – 117. – P. 141-150.
43. Begum S. BRAF mutations in anaplastic thyroid carcinoma: implications for tumor origin, diagnosis and treatment / S. Begum, E. Rosenbaum, E. Henrique [et al] // *Mod Pathol*. – 2004. – Vol. 17. – P. 1359-1363.
44. Bertazzo S. Nano-analytical electron microscopy reveals fundamental insights into human cardiovascular tissue calcification / S. Bertazzo, E. Gentleman, K. L. Cloyd [et al] // *Nature Materials*. – 2013. – Vol. 12 (6). – P. 576–583. doi:10.1038/nmat3627.
45. Calcification of multi-potent, prostate tumor endothelium / A.C. Dudley, Z.A. Khan, S-C. Shih, S-Y. Kang, B.M.M. Zwaans [et al] // *Cancer Cell*. – 2008. – Vol.14, No. 3. – P. 201-11.
46. Calcifications in thyroid nodule identified o preoperative computed tomography: patterns and clinical significance / Wu C.W., Dionigi G., Lee K.W. [et al] // *Surgery*. - 2012. - Vol. 151(3). – P. 464-70. Doi 10.2016/j.surg.2011.07.032.

47. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 / J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. Dikshit [et al.] // *Int J Cancer*. – 2015. – Vol.136, № 5 - E359- E386.

48. Chem K.T. Follicular variant of thyroid papillary carcinoma: a clinopathologic study of six cases / K.T. Chem, J. Rosai // *Am J Surg Pathol*. – 1977. – Vol. 1 (2). – P. 123-130.

49. Chemical diversity of calcifications in thyroid and hypothetical link to disease / Mathonnet M, Dessombz A, Bazin D [et al] // *Comptes Rendus Chimie*. 2016. - Available online 21 January 2016. doi: 0.1016/j.crci.2015.02.008.

50. Chien Y.C. [Modulation of calcium oxalate dihydrate growth by selective crystal-face binding of phosphorylated osteopontin and polyaspartate peptide showing occlusion by sectoral \(compositional\) zoning](#) / Y.C. Chien, D.L. Masica, J.J. Gray [et al] // *J. Biol. Chem*. 2009. – Vol. 284 (35). – P. 23491–501.

51. Chiampi R. HOOK3 RET: a novel type of RET/PTC rearrangement in a papillary thyroid carcinoma / R. Chiampi, T.J. Giordano, K. Wikenheiser-Brokamp [et al] // *Endocr Relat Cancer*. – 2007. – Vol. 14. – P. 445-452.

52. Chipuk. J.E. The BCL-2 family reunion / J. E. Chipuk, T. Moldoveanu, L. Lambi [et al.] // *Molecular Cell*. – 2010. – V.37. – P. 299-310.

53. Chow E.J. Risk of thyroid dysfunction and subsequent thyroid cancer among survivors of acute lymphoblastic leukaemia: a report from Childhood cancer survivors study / E.J. Chow, D.L. Friedman, M. Stovall [et al] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2009. – Vol. 53. – P. 432-437.

54. Consorti F. Clinical value of calcifications in thyroid carcinoma and multinodular goiter / F. Consorti, A. Anello, C. Benvenuti [et al] // *Anticancer Res*. – 2003. – Vol. 23. – P. 3089-3092.

55. Contribution of the BRAF mutation analysis in calcified thyroid nodules [Yoo E.Y., Shin J.H., Ko E.Y, Han B.K] // *Am J Roentgenol*. - 2012; 198(4). – P. 891-5. doi: 10.2214/AJR.11.6866.

56. Correlation between calcification and bone sialoprotein and osteopontin in papillary thyroid carcinoma / Gang Wu, Jing-Jing Guo, Zhen-Yu Ma [et al] // *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(2):2010-2017, www.ijcep.com/ISSN:1936-2625/IJCEP0002994.

57. Das D.K. Psammoma body: a product of dystrophic calcification or of a biologically active process that aims at limiting the growth and spread of tumor? / D.K. Das // *Diagn Cytopathol.* - 2009. – Vol.37 (7). – P.534-41. doi: 10.1002/dc.21081.

58. Davies L. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002 / L. Davies, H.G. Welch // *JAMA.* – 2006. – Vol. 295. – P. 2164-2167.

59. Denhardt D., Giachelli C., Rittling R. Role of osteopontin in cellular signaling and toxicant injury./*Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2001, V.41, P.723 - 749.

60. DiCiccio T.J. Bootstrap confidence intervals / T.J. DiCiccio, B. Efron // *Statistical Science.* – 1996. – Vol. 11 (3). – P. 189-228.

61. Diseases of the thyroid/ Edited by Lewis E. Braverman. Humana Press, New Jersey. 2000; 432 pp.

62. Durante C. BRAF mutations in papillary thyroid carcinomas inhibit genes involved in iodine metabolism / C. Durante, E. Puxeddu, E. Ferreti [et al] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2007. – Vol. 92. – P.2840-2843.

63. Ebina A. Risk-adapted management of papillary thyroid carcinoma according to our own risk-group classification system: Is thyroid lobectomy the treatment of choice for low-risk patients? / A. Ebina, I. Sugitani, Y. Fujimoto [et al] // *Surgery.* – 2014. – Vol. 156. – P. 1579-1589.

64. Eloy C. TGF-beta/Smad pathway and BRAF mutation play different roles in circumscribed and infiltrative papillary thyroid carcinoma / C. Eloy, J. Santos, J. Cameselle-Teijero [et al] // *Virchows Arch.* – 2012. doi 10.1007-s00428-012-1234-y.

65. Elsheich T.M. Interobserver and intraobserver variation among experts in the diagnosis of thyroid follicular lesions with the borderline nuclear features of papillary carcinoma / T.M. Elsheich, S.L. Asa, J.K. Chan [et al] // *Am J Clin Pathol.* – 2008. – Vol. 130 (5). – P. 736-744.

66. Faggiano A. Functional characterization human thyroid tissue with immunohistochemistry / A. Faggiano, B. Caillou, L. Lacroix [et al] // *Thyroid*. – 2007. – Vol. 17 (3). – P. 203-211.

67. Fatherazi S. Phosphate regulates osteopontin gene transcription / S. Fatherazi, D. Matsa-Dunn, B.L. Foster [et al] // *J Dent Res*. – 2009. – Vol. 88 (1). – P. 39–44. doi:10.1177/0022034508328072. PMC 3128439. PMID 19131315.

68. Fenton C.L. Nuclear localization of thyroid transcription factor-1 correlates with serum thyrotropin activity and may be increased in differentiated thyroid carcinomas with aggressive clinical course / C.L. Fenton, A. Patel, H.B. Burch [et al] // *Ann Clin Lab Sci*. – 2001. – Vol. 31. – P. 245–252.

69. Ferrara N. The biology of VEGF and its receptors / N. Ferrara, H. P. Gerber, J. LeCouter. // *Nature Medicine*. – 2003. – №9. – P. 669 – 676.

70. Fisher A.H. Papillary thyroid carcinoma oncogene (RET/PTC) alters the nuclear envelope and chromatin structure / A. H. Fisher, J. A. Bond, P. Taysavang [et al] // *Am J Pathol*. – 1998. – Vol. 153. – P. 1443-1450.

71. Fisher L.W. Six genes expressed in bones and teeth encode the current members of the SIBLING family of proteins / L. W. Fisher, N.S. Fedarko // *Connect. Tissue Res*. – 2003. – Vol. 44 Suppl 1. – P. 33–40. doi:10.1080/03008200390152061. PMID 12952171.

72. Franzen A. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix / A. Franzen, D. Heinegard // *Biochemical J*. 1985; 232: 715-24.

73. Fukuoka O. Natural history of asymptomatic papillary thyroid microcarcinoma: time-dependent changes in calcification and vascularity during active surveillance / O. Fukuoka, I. Sugitani, A. Ebina [et al] // *World J Surg*. – 2016. – Vol. 40. – P. 529–537. DOI 10.1007/s00268-015-3349-1.

74. Fukushima M. Clinicopathologic characteristics and prognosis of diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma in Japan: an 18-year experience at a single institution / M. Fukushima, Y. Ito, M. Hirokawa [et al] // *World J Surg*. – 2009. – Vol. 33. – P. 958-962.

75. Gardner R.E. Prognostic importance of vascular invasion in papillary thyroid carcinoma / R.E. Gardner, R. M. Tuttle, K.D. Burman // Arch Otolaryngol Head Neck Surg. – 2000. – Vol. 126. – P. 309-312.
76. Garris A.L. Hypoxia – a key regulatory factor in tumor growth / A.L. Garris // Nature Rev Cancer. – 2002. – Vol. 2.- P. 38-47.
77. Ge G. BMP1 controls TGFbeta1 activation via cleavage of latent TGFbeta-binding protein / G. Ge, D.S. Greenspan // J Cell Biol. – 2006. – Vol. 175. – P. 111-120.
78. Giachelli C.M. Ectopic calcification: gathering hard facts about soft tissue mineralization / C.M. Giachelli // Am J Pathol. – 1999. – Vol. 154, No. 3. – P.671-5.
79. Giachelli C.M. Osteopontin: a versatile regulator of inflammation and biomineralization/ C.M. Giachelli, S. Steitz // Matrix. Biol. – 2000. – Vol. 19. – P. 615-622.
80. Ghossein R. A. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma without extra-thyroid extension: biologic behavior and clinical implications / R.A. Ghossein, R. Leboef, K.N. Patel [et al] // Thyroid. – 2007. – Vol. 17. – P. 655-661.
81. Ghossein R. Papillary thyroid carcinoma tall cell variant / R. Ghossein, V. Livolsi // Thyroid. – 2008. – Vol. 18. – P. 1179-1181.
82. Gong T. [The analysis of the calcification in differentiating malignant thyroid neoplasm and the molecular mechanisms for the formation of the calcification]. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. – 2012. – Vol. 26(16). – P. 763-6. [Article in Chinese].
83. Graeber T.G. Hypoxia mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours / T.G. Graeber, C. Osmanian, T. Jacks [et al] // Nature. – 1996. – Vol. 379. – P. 88-91.
84. Guarino V. Osteopontin is overexpressed in human papillary thyroid carcinomas and enhances thyroid carcinoma cell invasiveness / V. Guarino, P. Faviana, G. Salvatore [et al] // J Clin Endocr Metab. – 2005. – Vol. 90. – P. 5270-5278.
85. Gungor B. Do the calcifications in the thyroid gland predict malignancy? / Gungor B., Polat A.C., Polat C. // Bratisl Lek Listy. 2012; 113 (9):552-5.

86. Guo H. Osteopontin is a negative feedback regulator of nitric oxide synthesis in murine macrophages / H. Guo, C.Q. Cai, R.A. Schroeder J [et al] // *Immunol.* – 2001. – Vol. 166 (1). – P. 1079–1086. doi:10.4049/jimmunol.166.2.1079.
87. Haynes W.M. *CRC Handbook of Chemistry and Physics* / W.M. Haynes // Boca Raton, (96th ed). FL: CRC Press. 2015. [ISBN 978-1-4822-6096-0](#).
88. Hasebe T. Highly proliferative intratumoral fibroblasts and a high proliferative microvessel index are significant predictor- type colorectal cancer / T. Hasebe, S. Sasaki, M. Sugito et al. // *Hum. Pathol.* 2001. – Vol. 32 (4). – P. 401-9.
89. Hasebe T. Highly proliferative intratumoral fibroblasts is closely correlated with lymph node and distant organ metastases of invasive ductal carcinoma of the breast / T. Hasebe, S. Sasaki, S. Imoto et al. // *Am. J Pathol.* 2000. – Vol. 156 (5). – P. 1701-1710.
90. Hatakeyama S. Expression of bone morphogenetic proteins of human neoplastic epithelial cells / S. Hatakeyama, Y.N. Gao, Y. Ohara-Nemoto [et al] // *Biochem Mol Biol Intern.* – 1997. – Vol. 42. – P. 497-505.
91. He B. An osteopontin splice variant induces anchorage independence in human breast cancer cells / B. He, M. Mirza, G.F. Weber // *Oncogene.* – 2006. – Vol. 25 (1). – P. 2192–2202. doi:10.1038/sj.onc.1209248. PMID 16288209.
92. Herring G.M. The organic matrix of bone.// *The Biochemistry and Physiology of bone.*, 1999., G.H. Bourne, Ed. V. 1., P. 127 - 189., Academic Press., New York.
93. Hijiya N. Cloning and characterization of the human osteopontine gene and its promoter / N. Hijiya, M. Setoguchi, Y. Higuchi [et al] // *Biochem. J.* - 1999. - V. 303. - P. 255 - 262.
94. Hoang J.K. US features of thyroid malignancy: pearls and pitfalls / J.K. Hoang, W.K.Lee, M. Lee [et al] // *Radiographics.* - 2007. – Vol. 27. – P. 847-865.
95. Hoie J. Distant metastases in papillary thyroid cancer. A review of 91 patients / J. Hoie, A.E. Stenwig, G. Kulman [et al] // *Cancer.* – 1988. – Vol. 61. – P. 1-6.
96. Hoji B.E. Papillary thyroid carcinoma with an adenoid cystic pattern: report of a case with fine-needle aspiration cytology and immunohistochemistry / B.E. Hoji, M.S. Ahmed, A. Prasad [et al] // *Diagn Cytopathol.* – 2004. – Vol. 30. – P. 418-421.

97. Hopkins D.R. The bone morphogenetic protein 1 / Tolloid-like metalloproteinases / D.R. Hopkins, S. Keles, D.S. Greenspan // *Matrix Biol.* – 2007. – Vol. 26. – P. 508-523.
98. Hudelist G. Presence of nanobacteria in psammoma bodies of ovarian cancer. Evidence for pathogenetic role in intratumoral biomineralization / G. Hudelist, C.F. Singer, E. Kubista [et al] // *Histopathology.* - 2004. – Vol.45. – P. 633-7.
99. Hullinger T.G. TGFbeta and BMP-2 activation of the OPN promoter: roles of smad- and hox-binding elements / T.G. Hullinger, Q. Pan, H.L. Viswanathan // *Exp Cell Res.* – 2001. – Vol. 262 (1). – P. 69–74. doi:10.1006/excr.2000.5074. PMID 11120606.
100. Hunt J.L. Non-tumor-associated psammoma bodies in the thyroid / J.L. Hunt, L. Barnes // *Am J Pathology.* – 2003. – Vol. 128. – P. 90-94.
101. Hunt J.L. Radiation induced thyroid diseases / J.L. Hunt // *Pathol Case Rev.* – 2009. – Vol. 14. – P. 224-230.
102. Hypoxia and high glucose cause exaggerated mesangial cell growth and collagen synthesis: role of osteopontin [C.P. Sodhi, S.A. Phadke, D. Battle, A. Sahai] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2001. – Vol. 280 (1). – P. 667–674. PMID 11249858.
103. Ikeda T. Osteopontin mRNA is expressed by smooth muscle-derived foam cells in human atherosclerotic lesions of the aorta / T. Ikeda, T. Shirasawa, Y. Esaki [et al] // *J. Clin. Invest.* – 1993. – Vol. 92 (6). – P. 2814–20. doi:10.1172/JCI116901.PMC 288482. PMID 8254036.
104. Jen-Der L. Early recurrence of papillary and follicular thyroid carcinoma predicts a worse outcome / Jen-Der L, C. Hsueh, T. Chao // *Thyroid.* 2009. – Vol. 19(10). – P. 1053-1059. doi:10.1089/thy.2009.0133.
105. Johannessen J.V. The origin and significance of thyroid psammoma bodies / J.V. Johannessen, M. Sobrinho-Simoes // *Lab. Invest.* -1980. – Vol. 43. – P.287-96.
106. Kerbel R.S. Tumor angiogenesis: past, present and near future / R.S. Kerbel // *Carcinogenesis.* - 2000. – Vol.21. – P. 505-515.
107. Khan A. Endocrine pathology: differential diagnosis and molecular advances / Khan, Nose V. In: 2nd ed. New York: Springer 2010: p. 181-236.

108. Khoo M.L. Thyroid calcification and its association with thyroid carcinoma / M.L. Khoo, S.L. Asa, I.J. Witterick [et al] // *Head Neck*. – 2002. – Vol. 24. – P. 651-655.
109. Kim B.K. Relationship between patterns of calcification in thyroid nodules and histopathologic findings / B.K. Kim, Y.S. Choi, H.J. Kwon [et al] // *Endocr J*. 2013. – Vol. 28;60 (2). - P. 155-60.
110. Kirsch T. Physiological and pathological mineralization: a complex multifactorial process / T. Kirsch // *Current Opinion in Orthopaedics*. – 2007. – Vol. 18. – P. 425–427.
111. Koo J.S. Diffuse sclerosing variant is a major subtype of papillary thyroid carcinoma in the young / J.S. Koo, S. H. Hong, C.S. Park [et al] // *Thyroid*. – 2009. – Vol. 19. – P. 1225-1231.
112. Kouvaraki M. A. Role of preoperative ultrasonography in the surgical management of patients with thyroid cancer / M. A. Kouvaraki // *Surgery*, 2003. – Vol. 134 (6). – P. 946-954.
113. Kurzbach D. Cooperative unfolding of compact conformations of the intrinsically disordered protein osteopontin / D. Kurzbach, G. Platzer, T.C. Schwarz [et al] // *Biochemistry*. – 2013. - Vol. 52 (31). P. 5167–75. doi:10.1021/bi400502c.PMC 3737600. PMID 23848319.
114. Kwak J.Y. Diffuse sclerosing variant of papillary carcinoma of thyroid gland: specimen radiographic features with histopathological correlation / J.Y. Kwak, E-K. Kim, S.W. Hong [et al] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2009. – Vol. 94. – P. 1491-1492.
115. Kwak J.Y. Papillary thyroid carcinoma manifested solely as microcalcifications on sonography / J.Y. Kwak, E-K. Kim, E.J. Son [et al] // *Am J Roentgenol*. – 2007. – Vol. 189. – P.227-31. doi: 10.2214/AJR.06.0750.
116. Lee J. Fine needle aspiration of thyroid nodules with macrocalcification / J. Lee, S.Y. Lee, S.H. Cha [et al] // *Thyroid*. - 2013. – Vol. 12 (8). – P. 153-162.
117. Lin J.-D. Early recurrence of papillary and follicular thyroid carcinoma predicts a worse outcome / J-D. Lin, Chuen Hsueh, Tzu-Chieh Chao // *Thyroid*. – 2009. – Vol. 19(10). – P. 1053-1059. doi:10.1089/thy.2009.0133.

118. Liotta L.A. The microenvironment of the tumor-host interface / L.A. Liotta, E.C. Kohn // *Nature*. – Vol. 411. – P.375-379.

119. Liu H.F., Tang W.S., Yang Z.Y. [Thyroid nodules with calcification and thyroid carcinoma]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 2003; 25(5):626-9 [Article in Chinese].

120. LiVolsi V. A. Papillary thyroid carcinoma: an update / V.A. LiVolsi // *Modern Pathology*. – 2011. – Vol. 24. – P.1-9.

121. LiVolsi L. A. The many faces of follicular variant of papillary thyroid carcinoma / V.A. LiVolsi, Z.W. Baloch // *Pathol Case Rev*. – 2009. – Vol. 14. – P. 214-218.

122. LiVolsi V.A., Mazzaferri E.L., Schneider A.B., Albores-Savedra J., Hay I. Papillary carcinoma. In: Delellis R.A., Lloyd R.V., Heitz P.U., Eng C. editors. *World Health Organization Classification of tumors, pathology and genetics of tumors of endocrine organs*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2004. p. 57-66.

123. Lloyd R.V. Papillary thyroid carcinoma variants / R.V. Lloyd, D. Buchner, E. Khanafshar // *Head and Neck Pathol*. – 2011. – Vol. 5. – P. 51-56.

124. Lubitz C.C, Cong C.Y, McMahon P.M, et al. Annual financial impact of well-differentiated thyroid cancer care in United States. *Cancer*. 2014; 120 (9):1345-1252.

125. Lupi C. Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma / C. Lupi, R. Giannini, C. Ugolini [et al] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2007. – Vol. 92 (11). – P. 4085-4090.

126. Lyons R. An unusual presentation of calcified thyroid gland / R. Lyons, P.S. Waters, C. Sugrue [et al] // *BMJ Case Rep*. 2012. Pii: bcr 2012007844. Doi:10.1136/bcr-2012-007844.

127. Maceri D. Lateral neck mass: sole presenting sign of metastatic thyroid cancer / D. Maceri, J. Babyak, S. Ossakow // *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. – 1986. – Vol. 112. – P. 47-49.

128. Matrix gla protein inhibits ectopic calcification by a direct interaction with hydroxyapatite crystals / J. O'Young, Y. Liao, Y. Xiao [et al] // *J Am Chem Soc.* – 2011. – Vol. 133. – P. 18406-12.

129. Matrix metalloproteinase Mmp-1a is dispensable for normal growth and fertility in mice and promotes lung cancer progression by modulating inflammatory responses / [M. Fanjul-Fernández, A. R. Folgueras, A. Fueyo at all.]. // *J Biol Chem.* – 2013. – V.288. – P. 14647-14656.

130. Mazzaferri E.L. Long-term outcome of patients with differentiated thyroid carcinoma: effect of therapy / E.L. Mazzaferri // *Endocr Pract.* – 2000. – Vol. 6. – P. 469-476.

131. Mazzaferri E.L. Management of low-risk differentiated thyroid cancer / E.L. Mazzaferri // *Endocr Pract.* – 2007. – Vol. 13. – P. 498-512.

132. Mazzaferri E.L. Management of a solitary thyroid nodule / E.L. Mazzaferri // *N Engl J Med.* – 1993. – Vol. 328. – P. 553–559.

133. McKee M.D. Hierarchies of extracellular matrix and mineral organization in bone of the craniofacial complex and skeleton / M.D. McKee, W.N. Addison, M.T. Kaartinen // *Cells Tissues Organs.* – 2005. – Vol. 181 (3-4). – P. 176–88.
[doi:10.1159/000091379](https://doi.org/10.1159/000091379).

134. McKee M.D. Postembedding colloidal-gold immunocytochemistry of noncollagenous extracellular matrix proteins in mineralized tissues / M.D. McKee, A. Nanci // *Microsc. Res. Tech.* – 1995. – Vol. 31(1). – P. 44–62.
[doi:10.1002/jemt.1070310105](https://doi.org/10.1002/jemt.1070310105).

135. Merlin Olivera P.S. A study on inorganic elements in psammomas from ovarian & thyroid cancer / P.S. Merlin Olivera, P. del C. Leyva Bohorquez, R. Martinez-Cruz [et al] // *Indian J Med Res.* – 2012. – Vol. 135. – P. 217-220.

136. Mestdagh C. Correlated autoradiographic and ion-microscopic study of the role of iodine in the formation of “cold” follicles in young and old mice / C. Mestdagh, M.C. Many, S. Halpern [et al] // *Cell Tissue Res.* – 1990. – Vol. 260. – P. 449–457.

137. Mezosi E. Abberant apoptosis in thyroid epithelial cells from goiter nodules / E. Mezosi, H. Yamazaki, J.D. Bretz // *J. Clin. Endocrinology & Metabolism*. – 2002. – Vol. 87. - №9. – P. 4264-4272.

138. Miller J. D. Cardiovascular calcification: Orbicular origins / J.D. Miller // *Nature Materials*. – 2013. – Vol. 12 (6). – P. 476–478. doi:10.1038/nmat3663.

139. Mirza M. Osteopontin-c is a selective marker of breast cancer / M. Mirza, E. Shaughnessy, J.K. Hurley [et al] // *Int J Cancer*. – 2008. – Vol. 122(1). – P. 889–897. doi:10.1002/ijc.23204.

140. Mizukami Y. Papillary thyroid carcinoma in Kanazawa, Japan / Y. Mizukami, M. Yoguchi, T. Michigishi [et al] // *Histopathology*. – 2000. – Vol. 55. – P. 243-250.

141. Moreno-Egea A. Multivariate analysis of histopathological features as prognostic factors in patients with papillary thyroid carcinoma / A. Moreno-Egea, M. Rodriguez-Gonzales, J. Sola-Perez [et al] // *Br J Surg*. – 1995. – Vol. 82. – p. 1092-1095.

142. Morphogenetic aspects of biomineralization on the background of benign prostatic hyperplasia / R. Moskalenko, A. Romanyuk, S. Danilchenko [et al] // *Georgian medical news*. - 2013. - № 1 (214). - P. 54-61.

143. Moskalenko R. A. Rare case of pathological biomineralization of eye tissue / R. A. Moskalenko, A. N. Romanyuk, S. N. Danilchenko [et al] // *Čes. a slov. Oftal.* – 2014. – Vol. 70 (4). - P. 160-163.

144. Moskalenko R. Intrafollicular pressure of colloid thyroid gland determinate the type of folliculogenesis / R. Moskalenko, A. Romanyuk, A. Logvin // *Georgian medical news*. – 2012. - №4 (205). – C. 67-73.

145. Nakachi K. Sixty years of follow up of Hiroshima and Nagasaki survivors: cancer progress in molecular epidemiology / K. Nakachi, T. Haryashi, K. Hamatani [et al] // *Mutat Res*. – 2008. – Vol. 659. – P. 109-117.

146. Nakashima K. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation / K. Nakashima, X. Zhou, G. Kunkel [et al] // *Cell*. – 2002. – Vol. 108 (1). – P. 17–29. doi:10.1016/S0092-8674(01)00622-5.

147. Nemir M. Normal rat kidney cells secrete both phosphorylated and nonphosphorylated forms of osteopontin showing different physiological properties / M. Nemir, W. DeVouge, B. Mukherjee // *J. Biol. Chem.* - 2007. - V. 164. - P. 18202 - 18208.

148. Nikiforova M.N. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas / M.N. Nikiforova, E.T. Kimura, M. Gandhi [et al] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2003. Vol. 88. – P. 5399-5404.

149. Nikiforova M.N. RAS point mutations and PAX/PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma / M.N. Nikiforova, R.A. Lynch, P.W. Biddiger [et al] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2003. – Vol. 88. – P. 2318-2326.

150. Nikiforov Yu. Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors / Yu. E. Nikiforov, R.R. Seethala, G. Tallini [et al] // *JAMA Oncology.* – 2016. doi:10.1001/jamaoncol.2016.0386. Published online April 14.2016.

151. Nikiforov Yu.E. Molecular analysis of thyroid tumors / Yu.E. Nikiforov // *Modern Pathology.* – 2011. – Vol. 24. - S34–S43.

152. Nikiforov Yu.E. Pediatric thyroid cancer after the Chernobyl disaster. Pathomorphologic study of 84 cases (1991-1992) from the Republic of Belarus / Yu.E. Nikiforov, D.R. Gnepp // *Cancer.* – 1994. – Vol. 74. – P. 748-766.

153. Nikiforov Yu.E. Thyroid lesions in children and adolescents after the Chernobyl disaster: implications for the study of radiation tumorigenesis / Ye. Nikiforov, D.R. Gnepp, J.A. Faggin // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1996. – Vol. 81. – P. 9-14.

154. Nishio S. Calcium phosphate crystal-associated proteins: alpha2-HS-glycoprotein, prothrombin F1, and osteopontin/ S. Nishio, M. Hatanaka, H. Takeda [et al] // *Mol. Urol.* – 2000. - V.4. - P. 383 - 390.

155. Nomura S. Developmental expression of 2ar (osteopontin) and SPARC (osteonectin) RNA as revealed by in situ hybridization/ S. Nomura, A. Wills, D. Edwards // *J. Cell Biol.*, 2006. - V. 106. - P. 441 - 450.

156. Nose V. Familial cancer of thyroid gland / V. Nose // *Modern Pathology*. - 2011. – Vol. 24. - S. 19-33.

157. Oldbarg A. Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell-binding sequence / A. Oldbarg, A. Franzen, D. Heinegard // *PNAS USA*. - 2004. - Vol. 83. - P. 8819 - 8823.

158. Oltvai Z.N. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death / Z.N. Oltvai, C.L. Milliman, S.J. Korsmeyer // *Cell*. – 1993. – Vol. 74 (4). – P. 609–19. doi:10.1016/0092-8674(93)90509-O. PMID 8358790.

159. Ordonez N. Thyroid transcription factor 1 is a marker of lung and thyroid carcinomas / N. Ordonez // *Adv. Anat. Pathol.* – 2000. – Vol. 7. – P. 123-127.

160. O'Regan A. Osteopontin: a key cytokine in cell-mediated and granulomatous inflammation/ A. O'Regan, J. Berman // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2000. - V. 81. - P. 373 - 390.

161. Osteopontin facilitates angiogenesis, accumulation of osteoclasts, and resorption in ectopic bone / Asou Y, Rittling SR, Yoshitake H, [et al] // *Endocrinology* 2001., V. 142., P. 1325 - 32.

162. Osteopontin expression profiles predict pathological and clinical outcome in breast cancer / [N. Patani, F. Jouhra, W. Jiang at all.]. // *Anticancer*. – 2008. – №6. – P. 4105-10.

163. O'Young J. Phosphorylation of osteopontin peptides mediates adsorption to and incorporation into calcium oxalate crystal / J. O'Young, S. Chirico, N. Al Tarhuni [et al] // *Cells Tissues Organs*. – 2009. – Vol. 189 (1-4). – P. 51–5. doi:10.1159/000151724.

164. Park S.H. A histopathologic study on 1095 surgically resected thyroid specimens / S.H. Park, E.H. Suh, J.G. Chi // *Jpn J Clin Oncol*. -1988. – Vol. 18. – P. 297-302.

165. Patarca R. Structural and functional studies of the early T-lymphocyte activation 1 (Eta-1) gene/ R. Patarca, G. Freeman, R.Singh [et al] // *J. Exp. Med.* - 2001. - V. 170. - P. 145 - 161.

166. Pedrazzini L. Cancer recurrence in papillary thyroid microcarcinoma: a multivariate analysis on 231 patients with a 12-year follow-up / L. Pedrazzini, A. Baroli, L. Marzoli [et al] // *Minerva Endocrinol.* – 2013. – Vol. 38 (3). –P.269-79

167. Phosphorylation-dependent inhibition of mineralization by osteopontin ASARM peptides is regulated by PHEX cleavage / [Addison W.N, Masica D.L, Gray J.J, McKee M.D.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2010. – Vol. 25 (4). - P. 695–705. doi:10.1359/jbmr.090832.PMID 19775205.

168. Presence of nanobacteria in psammoma bodies of ovarian cancer. Evidence for pathogenetic role in intratumoral biomineralization / Hudelist G., Singer C.F., Kubista E. [et al] // *Histopathology.* - 2004. – Vol. 45. – P. 633-7.

169. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis / [D. C. Allred, J. M. Harvey, M. Berardo, G. M. Clark] // *Mod. Path.* – 1998. – V.11. – P. 155-168.

170. Pyo J.S. The prognostic relevance of psammoma bodies and ultrasonographic intratumoral calcifications in papillary thyroid carcinoma / J.S. Pyo, G. Kang, D.H. Kim [et al] // *World J Surg.* - 2013. –Vol. 37. – P. 2330-2335.

171. Rangaswami H. Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression / H. Rangaswami, A. Bulbule, G.C. Kundu // *Trends Cell Biol.* – 2006. – Vol. 16 (2). – Vol. 79–87. doi:10.1016/j.tcb.2005.12.005.

172. Reichert T.E. The number of intratumoral dendritic cells and survival biomarkers in patients with oral carcinoma / T.E. Reichert, C. Schreuer, R. Day et al // *Cancer.* 2001. – Vol. 91 (11). – P. 2136-47.

173. Relationship between patterns of calcification in thyroid nodules and histopathologic findings / Kim B.K., Choi Y.S., Kwon H.J. [et al] // *Endocr J.* 2013. 28;60 (2):155-60.

174. Retrospective analysis of thyroid nodules by clinical and pathological characteristics, and ultrasonographically detected calcification correlated to thyroid carcinoma in South China / Chen G., Zhu X.Q., Zou X. [et al] // *Eur Surg Res.* 2009; 42 (3):137-42. doi:10.1159/000196506.

175. Ricardo S.D. Angiotensinogen and AT(1) antisense inhibition of osteopontin translation in rat proximal tubular cell / S.D. Ricardo, D.F. Franzoni, C.D. Roesener // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2000. – Vol. 278 (1). –P. 708–716. PMID 10807582.

176. Rivera M. Histopathologic characterization of radioactive iodine-refractory fluorodeoxyglucose-positron emission tomography – positive thyroid carcinoma / M. Rivera, R.A. Ghossein, H. Schoder [et al] // *Cancer.* – 2008. – Vol. 113. – P. 48-56.

177. Rodolico V. BRAF V600E mutation and p27 kip1 expression in papillary carcinomas of the thyroid <or-1 cm and their paired lymph node metastases / V. Rodolico, D. Cabibi, G. Pizzolanti [et al] // *Cancer.* – 2007. – Vol. 110. – P. 1218-1226.

178. Romei C. RET/PTC Translocations and clinico-pathological features in human papillary thyroid carcinoma / C. Romei, R. Elisei // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2012. - Apr 11; 3:54. doi: 10.3389/fendo.2012.00054.

179. Rosai J. Tumors of the thyroid gland. Atlas of tumor pathology, fascicle 5. Armed Forces Institute of Pathology: Washington, DC, 1992.

180. Rosai J. Immunohistochemical markers of thyroid tumors: significance and diagnostic applications / J. Rosai // *Tumori.* – 2003. – Vol. 89. – P. 517–519.

181. Ross D.S. Recurrence after treatment of micropapillary thyroid cancer / D.S. Ross, D. Litofsky, K.B. Ain [et al] // *Thyroid.* 2009. – Vol. 19(10). P. 1043-8. doi: 10.1089/thy.2008.0407.

182. Rossi E.D. Morphological parameters able to predict BRAF (V600E) - mutated malignancies on thyroid fine-needle aspiration cytology: Our institutional experience / E.D. Rossi, T. Bizzarro, M. Martini [et al] // *Cancer Cytopathol.* – 2014. – Vol. 122(12). – P. 883-91. doi: 10.1002/cncy.21475. Epub 2014 Aug 25.

183. Rossi E.D. Uncommon BRAF mutations in the follicular variant of thyroid papillary carcinoma: New insights / E.D. Rossi, M. Martini, T. Bizzarro [et al] // *Cancer Cytopathol.* - 2015. – Vol. 123 (10). – P. 593-602. doi: 10.1002/cncy.21586. Epub 2015 Jul 31.

184. Salren P. Vascular endothelial growth factor in squamous head and neck carcinoma: expression and prognosis significance / P. Salren, P. Heikkila, A. Anttonen [et al] // *Modern Pathol.* – 2007. – Vol. 10. – P. 1128-1133.

185. Sargent R. BRAF mutation is unusual in chronic lymphocytic thyroiditis-associated papillary thyroid carcinomas and absent in non-neoplastic nuclear atypia of thyroiditis / R. Sargent, V. LiVolsi, J. Murphy [et al] // *Endocr Pathol.* – 2006. – Vol. 17. – P. 35-41.

186. Scatena M. Osteopontin: A multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease / M. Scatena, L. Liaw, C.M. Giachelli // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2007. – P. 27. – P. 2302–2309.

187. Schneider N.I. Pancreatic adenocarcinoma with multiple eosinophilic extracellular deposits consistent with noncalcified psammoma bodies / N.I. Schneider, T. Bauernhofer, H. Schollnast [et al] // *Virchows Arch.* – 2011. – P. 459:623-625.

188. Seiberling K.A. Role of intrathyroidal calcifications detected on ultrasound as a marker of malignancy / K.A. Seiberling, J.C. Dutra, T. Grant [et al] // *Laryngoscope.* – 2004. – Vol. 114. – P. 1753-1757.

189. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012 / Howlader N, Noone A.M, Krapcho M [et al] (eds). National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012.

190. Sendger D. Secreted phosphoproteins associated with neoplastic transformation / D. Sendger, C. Perruzzi, C. Gracey [et al] // *Cancer Res.* - 1988. - V.48. - P. 5770 - 5774.

191. Sherman S.I. Thyroid carcinoma / S.I. Sherman // *Lancet.* – 2003. – Vol. 361(9356). – P.501-11.

192. Shi C. Correlation between thyroid nodule calcification morphology on ultrasound and thyroid carcinoma / C. Shi, S. Li, T. Shi [et al] // *J Int Med Res.* – 2012. – Vol. 40 (1). – P.350-7.

193. Smith R.A. Correlation between BRAF mutation and the clinicopathological parameters in papillary thyroid carcinoma with particular reference to follicular variant / R.A. Smith, A. Salajegheh, S. Weinstein [et al] // *Hum Pathol.* – 2011. – Vol. 42(4). – P. 500-6. doi: 10.1016/j.humpath.2009.09.023. Epub 2010 Dec 16.

194. Soares P. BRAF mutations and RET/PTC rearrangements are alternative events in the etiopathogenesis of PTC. *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22. – P. 4578-4580.

195. Sodek J. Osteopontin and mucosal protection / J. Sodek, A.P. Batista Da Silva, R. Zohar // J. Dent. Res. – 2006. – Vol. 85 (5). P. 404–15. doi:10.1177/154405910608500503.

196. Steinman L. A brief history of T (H) 17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage / L. Steinman // Nat. Med. – 2007. – Vol. 13 (2). – P. 139–45. doi:10.1038/nm1551.

197. Steitz S.A. [Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification](#) / S.A. Steitz, M.Y. Speer, M.D. McKee [et al] // Am. J. Pathol. – 2002. – Vol. 161 (6). – P. 2035–46. doi:10.1016/S0002-9440(10)64482-3.

198. Structural disorder in proteins brings order to crystal growth in biomineralization [Kalmar L, Homola D, Varga G, Tompa P] // Bone. – 2012. – Vol. 51 (3): 528–34. doi:10.1016/j.bone.2012.05.009. PMID 22634174.

199. Sugg S.L. Distinct multiple RET/PTC gene rearrangements in multifocal papillary thyroid neoplasia / S.L. Sugg, S. Ezzat, I.B. Rosen [et al] // J Clin Endocrinol Metab. 1998. – Vol. 83. – P. 4116-4122.

200. Sung J-Y. ALK-1 and BMP-9 overexpression as a cause of ossifying papillary thyroid carcinoma / J-Y Sung, K.Y. Na, S.K. Lee [et al] // Virchows Arch. 2012; 461 (Suppl. 1): S 104.

201. Survival impact of psammoma bodies, stromal calcifications, and bone formation in papillary thyroid carcinoma / Bai Y., Zhou G., Nakamura M. [et al] // Modern pathology. 2009. 22, 887-894.

202. Suzuki K. Colocalization of intracellular osteopontin with CD44 is associated with migration, cell fusion, and resorption in osteoclasts / K. Suzuki, B. Zhu, S.R. Rittling [et al] // J Bone Miner Res. -2002. – Vol. 17 (1). – P. 1486–1497. doi:10.1359/jbmr.2002.17.8.1486. PMID 12162503.

203. Szala S. Podłoże molekularne angiogenezy nowotworów / S. Szala, Cz. Radzikowski // Nowotwory. - 1997. – Vol. 47. – P. 1-19.

204. Tanaka K. Relationship between prognostic score and thyrotropin receptor (TSH-R) in papillary thyroid carcinoma: immunohistochemical detection of TSH-R / K. Tanaka, H. Inoue, H. Miki [et al] // Br J Cancer. – 1997. – Vol. 76. – P. 594–599

205. The BCL-2 Family Reunion / [J. E. Chipuk, T. Moldoveanu, L. Lambi at all.]. // *Molecular Cell*. – 2010. – V.37. – P. 299-310.

206. The mineral component of human cardiovascular deposits: morphological, structural and crystal-chemical characterization / S.N. Danilchenko, V.N. Kuznetsov, A.S.Stanislavov [et al] // *Crystal research and technology*. -2013. – Vol. 48, No. 3. – P.153-62.

207. The flexible polyelectrolyte hypothesis of protein-biomineral interaction / [G.K. Hunter, J. O'Young, B. Grohe at all.]. // *Langmuir*. – 2010. – №24. – P. 18639-46.

208. Thyroid papillary microcarcinoma: a descriptive and meta-analysis study / [E. Roti, E.C. degli Uberti, M. Bondanelli, L. E. Braverman] // *Eur J. of Endocrinology*. – 2008. – Vol. 159. – P. 659-673.

209. Triggiani V., Guastamacchia E., Licchelli B, et al. Microcalcifications and psammoma bodies in thyroid tumors / V. Triggiani, E. Guastamacchia, B. Licchelli [et al] // *Thyroid*. – 2008. – Vol. 18. – P. 1017-1018.

210. Tunio G.M. Possible relation of osteopontin to development of psammoma bodies in human papillary thyroid cancer / G.M. Tunio, S. Hirota, S. Nomura [et al] // *Arch Pathol Laby Med*. – 1998. – P. 122. – P. 1087-1090.

211. Ugolini C. The role BRAF V600E mutation in the management of thyroid papillary carcinoma / C. Ugolini, P. Agnese, F. Basolo [et al] // *Path Case Rev*. – 2009. – Vol. 14. – P. 231-235.

212. Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer / M. Xing // *Endocr Relat Cancer*. – 2005. – Vol. 12. – P. 245-262.

213. Wang K.X. Osteopontin: role in immune regulation and stress responses / K.X. Wang, D.T. Denhardt // *Cytokine Growth Factor Rev*. – 2008. – Vol. 19 (5-6). – P. 333–45.doi:10.1016/j.cytogfr.2008.08.001. PMID 18952487.

214. Welch H.G. Overdiagnosis in cancer / H.G. Welch, W.C. Black // *J. Natl Cancer Inst*. – 2010. – Vol. 102 (9). – P. 605-613.

215. Werner A.B. Bcl-2 family member Bfl-1/A1 sequesters truncated bid to inhibit its collaboration with pro-apoptotic Bak or Bax / A. B. Werner, E. de Vries, S. W. Tait [et al] // *The Journal of biological chemistry*. – 2002. – Vol. 25. – P. 22781-22788.

216. Williams E.D. Two proposals regarding the terminology of thyroid tumors / E.D. Williams, A. Abrosimov, T. Bogdanova [et al] // *Intl J Surg Pathol.* – 2002. – Vol. 8. – P. 181-183.

217. Williams E.D. Morphologic characteristics of Chernobyl-related childhood papillary thyroid carcinomas are independent of radiation exposure but vary with iodine intake / E.D. Williams, A. Abrosimov, T. Bogdanova [et al] // *Thyroid.* – 2008. – Vol. 18. – P. 847-852.

218. Wu C.W. Calcifications in thyroid nodule identified on preoperative computed tomography: patterns and clinical significance / C.W. Wu, G. Dionigi, K.W. Lee [et al] // *Surgery.* - 2012. - Vol. 151(3). – P. 464-70. Doi 10.2016/j.surg.2011.07.032.

219. Wynford-Thomas D. Origin and progression of thyroid epithelial tumours: cellular and molecular mechanisms / D. Wynford-Thomas // *Horm. Res.* – 1997. - Vol. 47. – P. 145–157.

220. Value of additional von Kossa staining in thyroid nodules with echogenic spots on ultrasound / [H. Chae, H.J. Kwon, E-K. Kim, J-Y. Kwak] // *Research and Practice.* – 2016. – Vol. 212 (5). • DOI: 10.1016/j.prp.2016.02.014.

221. Volante M. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach / M. Volante, P. Collini, Yu. E. Nikiforov [et al] // *Am J Surg Pathol.* – 2007. – Vol. 31. – P. 1256-1264.

222. Yoon Y.D. Peripheral calcification in thyroid nodules. Ultrasonographic features and prediction of malignancy / Y.D. Yoon, J.W. Lee, S.K. Chang [et al] // *J. Ultrasound Med.* – 2007. Vol. 26., P.1349-1355.

223. Yui S., Mikami M., Yamazaki M. *J. Leuc. Biol.* 1997, 61: 50-57

224. Zohar R. Intracellular osteopontin is an integral component of the CD44-ERM complex involved in cell migration / R. Zohar, N. Suzuki, K. Suzuki [et al] // *J Cell Physiol.* – 2000. – Vol. 184 (1). – P. 118–130. doi:10.1002/(SICI)1097-4652(200007)184:1<118::AID-JCP13>3.0.CO;2-Y.

225. Zhu B. Osteopontin modulates CD44-dependent chemotaxis of peritoneal macrophages through G-protein-coupled receptors: evidence of a role for an intracellular

form of osteopontin / B. Zhu, K. Suzuki, H.A. Goldberg [et al] // J Cell Physiol. – 2004. – Vol. 198(1). – P.155-67.

226. Бакарев М. А. Структурные особенности острых очаговых метаболических повреждений волокон соматической мускулатуры, вызванных диметилпарафенилендиамином / М. А. Бакарев, Л. М. Непомнящих, В. Г. Циммерман [и соавт.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – № 6. – С. 700 – 705.

227. Балабекова М. К. Изучение в эксперименте влияния ванадия и хрома на некоторые показатели клеточного звена иммунитета крыс / М. К. Балабеков // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 624 – 628.

228. Богуцька К. І. Вплив іонів цинку на АТФазну активність міозину і реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого м'яза / К. І. Богуцька, Ю. І. Прилуцький // Biopolymers and Cell. – 2011. – В. 27. – Р. 446 – 452.

229. Борхунова Е. Н. Морфобиохимическая характеристика скелетных мышц кур в эмбриогенезе на примере линий Б-56 и Б-79 / Е. Н. Борхунова, Г. В. Кондратов, В. Ю. Титов // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2014. – № 3. – С. 22 – 30.

230. Брязкало В. В. Характеристика забруднення навколишнього середовища і залежності від нього захворюваності населення окремих областей України за результатами комп'ютерно-аналітичної програми «Медекопортал» / В. В. Брязкало // Гігієна населених місць. – 2012. – № 59. – С. 359 – 365.

231. Васильцова И. В. Влияние растительного сырья на детоксикацию свинца и кадмия в опытах *in vitro* / И. В. Васильцова // Инновации – приоритетный путь развития АПК: сб. материалов 8-й Междунар. науч.-практ. конф./ Кемеров. ГСХИ. – Кемерово, 2009. – С. 70 – 71.

232. Воздействие гидрокортизона, АТФ и аденозина на скелетную мышцу крысы / Р. Р. Камалиев, С. Н. Гришин, Ж. Ю. Фалу [и соавт.] // Казанский медицинский журнал. – 2009. – Т. 90, № 4. – С. 556 – 559.

233. Вопросы диагностики и патогенеза хронической алкогольной миопатии / Ю. В. Казанцева, О. Е. Зиновьева, Б. С. Шенкман [и соавт.] // Нервно-мышечные болезни. – 2013. – № 2. – С. 35 – 38.

234. Воронков Л. Г. Цитопротекция скелетных мышц как перспективное направление в лечении пациентов с болезнью периферических артерий / Л. Г. Воронков // Здоров'я України. – 2011. – № 17. – С. 32 – 34.

235. Геращенко С. Б. Стовбурові клітини посмугованих м'язів / С. Б. Геращенко, О. І. Дельцова, Ю. Б. Чайковський // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2013. – Т. 46. – С. 188 – 191.

236. Гінч О. В. Радіаційна обстановка на Сумщині / О. В. Гінч, Ю. В. Кук // Стан природного середовища та проблеми його охорони на Сумщині. – Суми : Джерело, 1997. – С. 44 – 52.

237. Гістологічна характеристика найдовшого м'яза спини у кролів при згодовуванні комбікорму з різним вмістом хрому / Л. П. Горальський, І. І. Ібатулін, І. А. Волківський [та співавт.] // Ветеринарія. – 2012. – № 2. – С. 62-68.

238. Гнатейко О. З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричинені впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О. З. Гнатейко, Н. С. Лук'яненко // Здоров'я ребенка. – 2007. - № 6 (9). – С. 82 – 85.

239. Гончаренко О. В. Вивчення дії токсичних доз свинцю на мінеральний обмін щурів та його корекція / О. В. Гончаренко, О. О. Коновалова // Природничий альманах. – 2009. – № 13. – С. 5 – 13.

240. Данченко О. П. Структура печінки, серця та скелетних м'язів щурів за умов корекції гіперхолестеринемії симвастатином та його поєднання із триметазидином або тіотриазоліном / О. П. Данченко, М. С. Пушкар, О. О. Пентюк // Вісник морфології. – 2008. – № 14(2). – С. 280 – 284.

241. Дмитруха Т. І. Забруднення довкілля ртуттю – найгостріша екологічна проблема сучасності / Т.І. Дмитруха // Екологічна безпека та природокористування. – 2014. – № 3. – С. 46 – 52.

242. Довгалюк А. Забруднення довкілля токсичними металами та його індикація за допомогою рослинних тестових систем / А. Довгалюк // Біологічні студії. – 2013. – Т. 7, № 1. – С. 197 – 204.

243. Драпкина О. М. Статины и миопатия: молекулярные механизмы / О. М. Драпкина, Е. М. Чернова, О. Н. Корнеева // Рациональная Фармакотерапия в кардиологии. – 2012. – №8 (3). – С. 469 – 473.

244. Зиновьева О. Е. Алкогольная миопатия / О. Е. Зиновьева, Б. С. Шенкман // Неврол журн. – 2007. – Т. 12. – С. 4 – 8.

245. Золотова А. В. Рост соматических структур и морфометрическая характеристика скелетной мускулатуры Нильской тилапии (*Oreochromis niloticus* L.) / А. В. Золотова, В. П. Панов, Ю. И. Есавкин // Известия ТСХА. – 2013. – № 2. – С. 76 – 87.

246. Исследование хронического действия никотина на *m. soleus* крысы при помощи силиконовых имплантатов / А. В. Прокофьев, И. А. Разговорова, В. В. Кравцова [и соавт.] // Вестник СПбГУ. – 2010. – № 1 – С. 72 – 29.

247. Коваль И. В. Механизмы дегидратации при интенсивной мышечной деятельности и способы её коррекции в тренировочной и соревновательной деятельности спортсменов / И. В. Коваль, Н. В. Вдовенко, С. А. Олейник // Спортивна медицина. – 2007. – № 2. – С. 111 – 117.

248. Козлов В. И. Миоангион как структурно-функциональная единица микроциркуляторного русла // тез. докл. / Конгресс Международной ассоциации морфологов. – Морфология. – 2002. – Т. 121, № 2. – С. 73 – 77.

249. Коршун М. М. Неспецифічні патогенетичні механізми поєднаної дії на організм іонізуючого випромінення та хімічних забруднювачів довкілля / М. М. Коршун, Н. А. Колесова, Н. М. Юрженко [та співавт.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2006. – № 10 (2). – С. 342 – 343.

250. Котляров А. А. Влияние метаболической терапии мексикором на течение брадиаритмий / А. А. Котляров, О. И. Аросланкина // Медицинский совет. – 2007. – №. 4. – С. 71 – 75.

251. Кравців Р. Й. Вміст мікроелементів у м'язах та печінці коропа, що живиться водою з різних річок басейну Дністра / Р. Й. Кравців, Н. Є. Янович // Науковий вісник ЛНАВМ. – 2008. - № 2 - С. 62 – 68.

252. Кубасова Н. А. Молекулярный механизм работы актин-миозинового мотора в мышце / Н. А. Кубасова, А. К. Цатурян // Успехи биологической химии. – 2011. – Т. 51. – С. 233 – 282.

253. Людина та забруднення навколишнього середовища / М. Г. Яковенко, О. І. Зазимко, В. В. Россіхін [та співавт.] // Наукові праці. Техногенна безпека. – 2013. – Т. 210. – С. 66 – 69.

254. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / М. В. Погорелов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач та ін. – Суми : Сумський державний університет. – 2010. – 146 с.

255. Малышева Е. С. Влияние возраста на технологические и микроструктурные характеристики говядины в условиях влияния на организм солей тяжелых металлов на примере крупного рогатого скота черно-пестрой породы / Е. С. Малышева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 7. – С. 97 – 100.

256. Михайлова Н. Н. Влияние вдыхания угольно-породной пыли на морфологические изменения сердечной мышцы (экспериментальные исследования) / Н. Н. Михайлова, М. С. Бугаева, О. И. Бондарев // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №5(87). – С. 112 – 114.

257. Морфологическая характеристика дифференцировки миобластов эмбрионов свиньи / Г. Л. Мкртчян, К. Т. Саакян, А. С. Аветисян [и соавт.] // Ветеринарная медицина. – 2012. – № 96. – С. 312 – 313.

258. Морфометрична оцінка особливостей ремоделювання артерій стінки шлунка та дванадцятипалої кишки при виразковій хворобі дванадцятипалої кишки / Л. Я. Ковальчук, А. Д. Беденюк, М. С. Гнатюк [та інші] // Український Журнал Хірургії. – 2011. – № 5. – С. 55 – 59.

259. Москаленко Р. А. Морфогенез щитоподібної залози в умовах модельованого мікроелементозу та корекції його впливу глютаргіном / Р. А. Москаленко // Вісник СумДУ. Серія «Медицина». – 2010. – №1. – С. 27 – 36.

260. Непомнящих Л. М. структурные реакции скелетных мышц крыс охус и вистар при острых токсико-метаболических повреждениях, вызванных бупивакаином / Л. М. Непомнящих, М. А. Бакарев, В. Г. Циммерман // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – №6 (134). – С. 156 – 162.

261. Особенности морфологических изменений при алкогольной и диабетической полиневропатии / М. М. Одинак, О. Н. Гайкова, А. Ю. Емельянов [и соавт.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2010. – №1(29). – С. 15 – 19.

262. Особенности поражения периферических нервов и скелетных мышц / Н. С. Щеглова, Э. Г. Алтаева, О. Е. Зиновьева [и соавт] // Медицинский совет. – 2013. - №4. – С. 64 – 68.

263. Параняк Р. П. Шляхи надходження важких металів в довкілля та їх вплив на живі організми / Р. П. Параняк, Л. П. Васильцева, Х. І. Макух // Біологія тварин. – 2007. – № 3. – С. 26 – 32.

264. Пауков В. С. Патологическая анатомия пьянства и алкоголизма / В. С. Пауков // Арх. патологии. – 2004. – Т. 66. – С.3 – 9.

265. Пашков А. П. Проблеми забруднення поверхневих, підземних і стічних вод та заходи щодо їх ліквідації і запобігання в Україні / А. П. Пашков // Екологічна безпека. – 2011. – № 4. – С. 10 – 16.

266. Петров В. И. Безопасность статинов / В. И. Петров, О. Н. Смусева, Ю. В. Соловкина // Вестник ВолгГМУ. – 2012. – №. 44. – С. 9 – 14.

267. Петров В. И. Комплексная оценка предикторов статин-ассоциированного поражения мышечной ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца / В. И. Петров, О. Н. Смусева, Ю. В. Соловкина // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2013. – № 9(3). – С. 247 – 250.

268. Погорелова О. С. Структурно-метаболические изменения сердца шуров различного возраста в норме та в условиях экспериментальных микроэлементозов / О. С. Погорелова // Морфология. – 2008. – Т. II, № 2. – С. 47 – 55.

269. Поляризаційне дослідження скелетних м'язів шуров допродуктивного віку за умов експериментальної гіперурикемії в динаміці / А. М. Пришляк, І. І. Юрик, Т. К. Головата, Л. М. Головатюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Т. 2, № 2 (129). – С. 276 – 286.

270. Попик П. М. Морфометрична характеристика змін ланок гемомікроциркуляторного русла підшлункової залози під впливом налбуфіну / Попик П. М. // ВІСНИК ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». – 2007. – Т. 13, № 4. – С. 158 – 161.

271. Поражение скелетных мышц у пациентов с хронической алкогольной интоксикацией / О. Е. Зиновьева, Н. С. Щеглова, Ю. В. Казанцева [и соавт.] // Медицинский совет. – 2013. – № 2. – С. 39 – 42.

272. Рустембекова С. А. Микроэлементозы и факторы экологического риска / С. А. Рустембекова, Т. А. Барабошкина // Издательство: Логос, – 2006. – 112 с.

273. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513 – 1516.

274. Савченко Ю. І. Вміст ^{137}Cs і важких металів у молоці корів залежно від різного рівня цукру і мікроелементів у раціоні / Ю. І. Савченко, І. М. Савчук, М. Г. Савченко // Вісн. Держ. агрокол. ун-ту. – 2007. – Спецвип. (трав.). – С. 106 – 111.

275. Садовников Н. В. Структурные изменения в сердечной мышце, грудных и бедренных мышцах у цыплят-бройлеров при хронической интоксикации солями тяжелых металлов / Н. В. Садовников, Е. А. Фесенко, Н. А. Кольберг // Аграрный вестник Урала. – 2010. – № 9(75). – С. 98 – 105.

276. Сезонные изменения фосфорилирования регуляторных легких цепей миозина и С-белка в миокарде зимнеящего суслика *Citellus undulates* / С. Л. Малышев, Д. А. Осипова, И. М. Вихлянцева [и соавт.] // Биофизика. – 2006. – Т. 51, № 5. – С. 929 – 933.

277. Сікора В. З. Вікові зміни в легенях інтактних щурів та щурів старечого віку в умовах техногенних мікроелементозів із використанням препарату емоксипін / В. З. Сікора, А. Д. Волкогон // Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – № 2 – С. 192 – 197.

278. Структурные изменения в конечностях крыс и сосудах гемомикроциркуляторного русла при повреждении спинномозговых нервов / В. В. Кошарный, Л. В. Абдул - Оглы, И. А. Демьяненко [и соавт.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1. – С. 119 – 123.

279. Тимошенко О. О. Морфологічні зміни скелетної мускулатури за умов впливу зовнішніх факторів / О. О. Тимошенко, Г. Ф. Ткач // Український морфологічний альманах. – 2014. – Т. 12, № 2. – С. 135 – 140.

280. Тимошенко О. О. Зміни хімічного складу та мікроскопічної структури посмугованих м'язів білих щурів за умов впливу на організм солей важких металів / О. О. Тимошенко, Г. Ф. Ткач [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т. 14, № 4 (48). – С. 232 – 235.

281. Тимошенко О. О. Хіміко - аналітичне дослідження скелетно – м'язової системи за умов впливу на організм солей важких металів / О. О. Тимошенко, Г. Ф. Ткач [та ін.] // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2015. – Том. 3, № 4, – С. 557 – 563.

282. Тимошенко О. О. Мікроструктурні зміни посмугованих м'язів щурів за умов техногенного мікроелементозу з використанням препарату Мексикор® / О. О. Тимошенко, Г. Ф. Ткач, В. І. Бумейстер [та ін.] // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Том. 2, № 1. – С. 177 – 187.

283. Тимошенко О. О. Зміни хімічного складу та структури посмугованих м'язів щурів за умов впливу на організм комбінації солей свинцю, марганцю та міді / О. О. Тимошенко // Морфологія. – 2015. – Том. 9, № 4. – С. 85 – 90.

284. Тимошенко О. О. Вивчення впливу солей важких металів на вміст мікроелементів у посмугованих м'язах білих щурів / О. О. Тимошенко, Г. Ф. Ткач //

Бюллетень материалов научной конференции «XIII чтения В. В. Подвысоцкого». – Одесса, 2014. – С. 254 – 255.

285. Тимошенко О. О. Гістоморфометричні показники м'язів білих щурів за умов токсичного впливу солей важких металів / О. О. Тимошенко // Матеріали науково-практ. конференції «Актуальні питання теоретичної медицини». – Суми, 2014. – С. 92.

286. Тимошенко А. А. Влияние солей тяжелых металлов на органометрические показатели мышц крыс старческого возраста / А. А. Тимошенко // Материалы 79 - й Всероссийской научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Молодежная наука и современность». – Курск, 2014. – С. 253.

287. Тимошенко О. О. Структурні зміни посмугованих м'язів білих статевозрілих щурів за умов хронічної інтоксикації солями важких металів / О. О. Тимошенко // Матеріали науково-практ. конференції «Сучасні аспекти медицини і фармації». – Запоріжжя, 2014. – С. 35 – 36.

288. Тимошенко О. О. Структурні зміни судин скелетних м'язів щурів різного віку за умов інтоксикації солями важких металів / О. О. Тимошенко, Г. Ф. Ткач, А. О. Масленко // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини», – Суми, 2015. – С. 148 – 149.

289. Ультраструктура скелетных мышц нижних конечностей при хронической венозной недостаточности / В. В. Бойко, В. П. Невзоров, В. А. Прасол [и др.] // Серце і судини. – 2013. – № 3. – С. 72 – 76.

290. Федорова Н. Н. Развитие патологии внутренних органов карпа в зависимости от концентрации сульфата меди / Н. Н. Федорова, Г. Ф. Журавлева, Г. В. Земков // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. – 2004. – № 2. – С. 156 – 162.

291. Федюкіна Д. В. Оцінка забруднення нафтопродуктами басейну Південного Бугу та Бузького лиману в Миколаївській області / Д. В. Федюкіна, Г. Г. Трохименко // Екологічна безпека. – 2010. – № 1. – С. 23 – 27.

292. Филимонова Г. Н. Морфофункциональная характеристика капилляров эндомизия передней большеберцовой мышцы при дистракционном остеосинтезе по Илизарову / Г. Н. Филимонова // International journal of applied and fundamental research. – 2014. – В. 11. – С. 126 – 130.

293. Хапчаев А. Ю. Структура, свойства и регуляция белковых продуктов генетического локуса киназы легких цепей миозина / А. Ю. Хапчаев, В. П. Ширинский, А. В. Воротников // Успехи биологической химии. – 2003. – Т. 43. – С. 365 – 420.

294. Царев А. А. Макро-микроскопическая характеристика скелетной мускулатуры задней конечности крыс в норме и при травме ее нервов / А. А. Царев, А. В. Кривошапов // Морфология. – 2008. – Т. II, № 2. – С. 66 – 70.

295. Чучков В. М. Системный многофакторный анализ реактивной перестройки микроциркуляторных модулей различных типов скелетных мышц млекопитающих в условиях нарушенного кровотока / В. М. Чучков, Г. П. Котельников, П. А. Гелашвили // Морфологические ведомости. – 2006. – № 3. – С. 68 – 70.

296. Шурыгин М. Г. Миосателлитоциты как источник регенерации скелетной мышечной ткани / М. Г. Шурыгин, А. В. Болбат, И. А. Шурыгина // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1. – С. 1741 – 1746.

297. 3D reconstitution of nerve-blood vessel networks using skeletal muscle-derived multipotent stem cell sheet pellets / T. Tamaki, S. Soeda, H. Hashimoto [et al.] // Regen Med. – 2013. – V. 8(4). – P. 437 – 451.

298. A Case of Cocaine-Induced Myopathy / V. Selvaraj, L. R. Gollamudi, A. Sharma [et al.] // Prim Care Companion CNS Disord. – 2013. – V. 15. – P. 37 – 43.

299. A Study on Characteristics of Atmospheric Heavy Metals in Subway Station / C. H. Kim, D. C. Yoo, Y. M. Kwon [et al.] // Toxicol Res. – 2010. – V. 26 (22). – P. 157 – 162.

300. Abdel-Aal H. A. Changes in the ultrastructure of lamb muscles as influenced by freezing and sodium tripolyphosphate (stpp) / H. A. Abdel-Aal, H. M. A. Mohamed // Lucrări Științifice. – 2011. – V. 56. – P. 286 – 293.

301. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf / H. Agah, M. Leermakers, M. Elskens [et al.] // *Environ Monit Assess.* – 2009. – V. 157. – P. 499 – 514.

302. Age - and Stroke-Related Skeletal Muscle Changes: A Review for the Geriatric Clinician / J. M. Sions, C. M. Tyrell, B. A. Knarr [et al.] // *Geriatr Phys Ther.* – 2012.- V. 35. – P. 155 – 161.

303. Alcoholic myopathy and acetaldehyde / V. R. Preedy, D. W. Crabb, J. Farrés [et al.] // *Novartis Found Symp.* – 2007. – V. 285. – P. 158 – 177.

304. Alcohol-induced disruption of endocrine signaling / M. J. Ronis, J. R. Wands, T. M. Badger [et al.] // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2007. – V. 31. – P. 1269 – 1285.

305. Antimalarial myopathy: an underdiagnosed complication? Prospective longitudinal study of 119 patients / E. Casado, J. Gratacós, C. Tolosa [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2006. – V. 65. – P. 385-390.

306. Antisense oligonucleotide experiments elucidate the essential role of titin in sarcomerogenesis in adult rat cardiomyocytes in long-term culture / V. Person, S. Kostin, K. Suzuki [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2000. – V. 21. – P. 3851 – 3859.

307. Autophagy is defective in collagen V muscular dystrophies, and its reactivation rescues myofiber degeneration / P. Grumati, L. Coletto, P. Sabatelli [et al.] // *Nat Med.* – 2010. – V. 16(11). – P. 1313 – 1320.

308. Azevedo-Marques M. M. Rhabdomyonecrosis experimentally induced in Wistar rats by Africanized bee venom / M. M. Azevedo-Marques, D. B. Ferreira, R. S. Costa // *Toxicon.* – 1992. – V. 30(3). – P. 344 – 348.

309. Bailey P. The origin of skeletal muscle stem cells in the embryo and the adult / P. Bailey, T. Holowacz, A. B. Lassar // *Curr Opin Cell Biol.* – 2010. – V. 13 (6). – P. 679 – 689.

310. Bakeeva L. E. Mitochondrial framework (reticulum mitochondriale) in rat diaphragm muscle / L. E. Bakeeva, Yu. S Chentsov, V. P. Skulachev // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1978. – V.501. – P. 349 – 369.

311. Basic Apoptotic Mechanisms of Lead Toxicity in Human Leukemia (HL-60) Cells / C. G. Yedjou, N. J. Milner, C. B. Howard [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2010. – V. 7. – P. 2008 – 2017.

312. Benard G. Ultrastructure of the mitochondrion and its bearing on function and bioenergetics / G. Benard, R. Rossignol // *Antioxidants and redox signaling*. – 2008. – V. 10. – P. 1313 – 1342.

313. Biomechanics of the sarcolemma and costameres in single skeletal muscle fibers from normal and dystrophin-null mice / K. P. García-Pelagio, R. J. Bloch, A. Ortega [et al.] // *J Muscle Res Cell Motil*. – 2011. – V. 31 (5 – 6). – P. 323 – 336.

314. Blood vessels and desmin control the positioning of nuclei in skeletal muscle fibers. E. Ralston, Z. Lu, N. Biscocho [et al.] // *J Cell Physiol*. – 2006. – V. 209. – P. 874 – 882.

315. Boekema E. J. Supramolecular structure of the mitochondrial oxidative phosphorylation system / E. J. Boekema, H. P. Braun // *J. Biol. Chem*. – 2007. – V. 282. – P. 11 – 14.

316. Bonaldo P. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy / P. Bonaldo M. Sandri // *Dis Model Mech*. – 2013. – V. 6, № 1. – P. 25 – 39.

317. Borg T. K. Morphology of connective tissue in skeletal muscle / T. K. Borg, J. B. Caulfield // *Tissue and Cell*. – 1980. – V. 12. – P. 197 – 207.

318. Bornman M. S. Environmental pollutants and diseases of sexual development in humans and wildlife in South Africa: harbingers of impact on overall health / M. S. Bornman, H. Bouwman // *Reprod Domest Anim*. – 2012. – V. 47. – P. 327 – 332.

319. Bupivacaine-induced regeneration of rat soleus muscle: ultrastructural and immunohistochemical aspects / P. K. Politi, S. Havaki, P. Manta [et al.] // *Ultrastruct Pathol*. – 2006. – V. 30(6). – P. 461 – 469.

320. Calcium and zinc supplementation protects lead (Pb)-induced perturbations in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in developing mouse brain / R. Prasanthi, C. B. Devi, D. C. Basha [et al.] // *Int. J. Dev. Neurosci*. – 2010. – V. 28. – P. 161–167.

321. Characterisation of connective tissue from the hypertrophic skeletal muscle of myostatin null mice / I. M. Elashry, H. Collins-Hooper, S. Vaiyapuri [et al.] // *J. Anat.* – 2012. – V. 220. – P. 603–611.

322. Cheng W. H. Potential human health risks from toxic metals via mangrove snail consumption and their ecological risk assessments in the habitat sediment from Peninsular Malaysia / W. H. Cheng, C. K. Yap // *Chemosphere.* – 2015. – V. 135. – P. 156 – 165.

323. Ciciliot S. Regeneration of mammalian skeletal muscle: Basic mechanisms and clinical implications / S. Ciciliot, S. Schiaffino // *Current Pharmaceutical Design.* – 2010. – V. 16. – P. 906 – 914.

324. Cigarette smoke-induced skeletal muscle atrophy is associated with up-regulation of USP-19 via p38 and ERK MAPKs / Q. Liu, W. G. Xu, Y. Luo [et al.] // *J Cell Biochem.* – 2011. – V. 112. – P. 2307-2316.

325. Colchicine myopathy and neuromyopathy: two cases with different characteristics / L. Cantarini, N. Volpi, M. Galeazzi [et al.] // *J Clin Rheumatol.* – 2010. – V. 16. – P. 229 – 232.

326. Comparison of the Mechanism of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties / T. Xia, M. Kovoichich, M. Liong [et al.] // *ACS Nano.* – 2008. – V. 2 (10). – P. 2121 – 2134.

327. Comprehensive analysis of titin protein isoform and alternative splicing in normal and mutant rats / S. Li, W. Guo, B.M. Schmitt [et al.] // *J Cell Biochem.* – 2012. – V. 113 (4). – P. 1265 – 1273.

328. Connective tissue fibroblasts and Tcf4 regulate myogenesis / S. J. Mathew, J. M. Hansen, A. J. Merrel [et al.] // *Development.* – 2011. – V. 138 (2). – P. 371 – 384.

329. Coordinated collagen and muscle protein synthesis in human patella tendon and quadriceps muscle after exercise / B. F. Miller, J. L. Olesen, M. Hansen [et al.] // *J. Physiol.* – 2005. – V. 567. – P. 1021 – 1033.

330. Cossu G. Oriented cell divisions and muscle satellite cell heterogeneity / G. Cossu, S. Tajbakhsh // *Cell.* – 2007. – V. 129. – P. 859 – 861.

331. Costameric proteins in human skeletal muscle during muscular inactivity / G. Anastasi, G. Cutroneo, G. Santoro [et al.] // *J Anat.* – 2008. – V. 213 (3). – P. 284 – 295.
332. Coupled gating of skeletal muscle ryanodine receptors is modulated by Ca^{2+} , Mg^{2+} , and ATP / M. Porta, P. L. Diaz-Sylvester, J. T. Neumann [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell.* – 2012. – V.15. – P. 682 – 697.
333. Cranial neural crest cells regulate head muscle patterning and differentiation during vertebrate embryogenesis / A. Rinon, S. Lazar, H. Marshall [et al.] // *Development.* – 2007. – V. 134. – P. 3065 – 3075.
334. Cytotoxic edema: mechanisms of pathological cell swelling / D. Liang, S. Bhatta, V. Gerzanich [et al.] // *Neurosurg Focus.* – 2007. – V. 22. – P 316 – 329.
335. Dalakas M. C. Toxic and drug-induced myopathies / M. C. Dalakas // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2009. – V. 80. – P. 832 – 838.
336. Defining the transcriptional signature of skeletal musclestem cells / Z. Yablonka-Reuveni, K. Day, A. Vine [et al.] // *J. Anim. Sci.* – 2008. – V. 86. – P. 207 – 216.
337. Differences in sodium voltage-gated channel properties according to myosin heavy chain isoform expression in single muscle fibres / F. Rannou, M. Droguet, M. A. Giroux-Metges [et al.] // *J Physiol.* – 2009. – V. 587. – P. 5249 – 5258.
338. Dirksen R.T. Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial through-space coupling in skeletal muscle / R. T. Dirksen // *Appl Physiol Nutr Metab.* – 2009. – V. 34 (3). – P. 389 – 395.
339. Dirks-Naylor A. J. Glucocorticoid-induced apoptosis and cellular mechanisms of myopathy / A. J. Dirks-Naylor, C. L. Griffiths // *J Steroid Biochem Mol. Biol.* – 2009. – V. 117. – P. 1 – 7.
340. Distribution of costameric proteins in normal human ventricular and atrial cardiac muscle / D. D. Mauro, R. Gaeta, A. Arco [et al.] // *Folia Histochem Cytobiol.* – 2009. – V. 47 (4). – P. 605 – 608.
341. Dominguez R. Actin structure and function / R. Dominguez, K. C. Holmes // *Annu Rev Biophys.* – 2011. – V. 40. – P. 169 – 186.

342. Duruibe J. O. Heavy metal pollution and human biotoxic effects / J. O. Duruibe, M. C. Ogwuegbu, J. N. Egwurugwu // *International Journal of Physical Sciences*. – 2007. – V. 2. – № 5. – P. 112 – 118.

343. Dynamic regulation of sarcoplasmic reticulum $\text{Ca}(2^+)$ stores by stromal interaction molecule 1 and sarcolipin during muscle differentiation / M. Seth, T. Li, V. Graham [et al.] // *Dev Dyn*. – 2012. – V. 241 (4). – P. 639 – 647.

344. Effects of HCM cTnI mutation R145G on troponin structure and modulation by PKA phosphorylation elucidated by molecular dynamics simulations / S. Lindert, Y. Cheng, P. Kekenes-Huskey [et al.] // *Biophys J*. – 2015. – V. 108 (2). – P. 395 – 407.

345. Eman M. A. Heavy Metal Poisoning and Cardiovascular Disease / M. A. Eman, A. F. Gordon // *J Toxicol*. – 2011. – V. 114. – P. 1 – 21.

346. Emetine myopathy in a patient with an eating disorder / D. Thyagarajan, B. J. Day, J. Wodak [et al.] // *Med J Aust*. – 1993. – V. 159. – P. 757 – 760.

347. Emetine myopathy in the rat / W. G. Bradley, J. D. Fewings, J. B. Harris [et al.] // *Br J Pharmacol*. – 1976. – V. 57. – P. 29 – 41.

348. Endocrine disruptor & nutritional effects of heavy metals in ovarian hyperstimulation / E. H. Dickerson, T. Sathyapalan, R. Knight [et al.] // *J Assist Reprod Genet*. – 2011. – V. 28. – P. 1223 – 1228.

349. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases / M. Chin-Chan, J. Navarro-Yepes, B. Quintanilla-Vega [et al.] // *Front Cell Neurosci*. – 2015. – V. 10. – P. 124 – 131.

350. Evidence for a role of human anion transporters in the muscular side effects of HMG-CoA reductase inhibitors / M. Takeda, R. Noshiro, M. Onozato [et al.] // *Eur J Pharmacol*. – 2007. – V. 483. – P. 133 – 138.

351. Evidence for the oligomeric state of ‘elastic’ titin in muscle sarcomeres / A. Houmeida, A. Baron, J. Keen [et al.] // *Journal of Molecular Biology*. – 2008. – V. 384. – P. 299 – 312.

352. Extracellular matrix adaptation of tendon and skeletal muscle to exercise / M. Kjaer, P. Magnusson, M. Krogsgaard [et al.] // *J Anat*. – 2006. – V. 208. – P. 445 – 450.

353. Fatigue as the only clinical manifestation of colchicine induced myopathy / Y. C. Lo, K. P. Lin, C. Y. Lin [et al.] // *Acta Neurol Taiwan*. – 2010. – V. 19. – P. 184 – 188.

354. Fiber types in canine muscles: myosin isoform expression and functional characterization / L. Toniolo, L. Maccatrozzo, M. Patrino [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2007. – V. 292. – P. 1915 – 1926.

355. Flora G. Toxicity of lead: A review with recent updates / G. Flora, D. Gupta, A. Tiwari // *Interdiscip Toxicol*. – 2012. – V. 5. – P. 4 – 58.

356. FOXO3 Promotes Quiescence in Adult Muscle Stem Cells during the Process of Self-Renewal / S. D. Gopinath, A. E. Webb, A. Brunet [et al.] // *Stem Cell Reports*. – 2013. – V. 2. – P. 1 – 13.

357. From analgesia to myopathy: When local anesthetics impair the mitochondrion / K. Nouette-Gaulain, C. Jose, X. Capdevila [et al.] // *Int J Biochem Cell Biol*. – 2011. – V. 43. – P. 14 – 19.

358. Frye J. Structure of the Tropomyosin Overlap Complex from Chicken Smooth Muscle: Insight into the Diversity of N-Terminus Recognition / J. Frye, V. A. Klenchin, I. Rayment // *Biochemistry*. – 2010. – V. 49. – P. 4908 – 4920.

359. Genetics of mechanosensation in the heart / B. Buyandelger, S. Miocic, S. Gunkel [et al.] // *J. Cardiovasc. Transl. Res*. – 2011. – V. 4. – P. 238 – 244.

360. Granzier H. Structure-function relations of the giant elastic protein titin in striated and smooth muscle cells / H. Granzier, S. Labeit // *Muscle Nerve*. – 2007. – V. 36(6). – P. 740 – 755.

361. Growing collagen, not muscle, with weightlifting and ‘growth’ hormone / N. A. Burd, D. D. West, T. A. Churchward-Venne [et al.] // *J Physiol*. – 2010. – V. 588. – P. 395 – 396.

362. Guarnieri M. Outdoor air pollution and asthma / M. Guarnieri, J. R. Balmes [et al.] // *Lancet*. – 2014. – V. 383. – P. 1581 – 1592.

363. Guo Z. Arterio-venous balance studies of skeletal muscle fatty acid metabolism: What can we believe? / Z. Guo, M. D. Jensen // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2013. – V. 305. – P. 925 – 930.

364. Gupta A. Glucocorticoid-induced myopathy: Pathophysiology, diagnosis, and treatment / A. Gupta, Ya. Gupta // *Indian J Endocrinol Metab.* – 2013. – V. 17 (5). – P. 913 – 916.

365. Gustafsson T. Vascular remodelling in human skeletal muscle / T. Gustafsson // *Biochem Soc Trans.* – 2011. – V. 39. – P. 1628 – 1632.

366. Gutiérrez-Gutiérrez G. Toxic myopathies caused by industrial, animal and vegetal toxins / G. Gutiérrez-Gutiérrez // *Rev. Neurol.* – 2010. – V. 51. – P. 360 – 366.

367. Hanson J. Structural basis of the cross-striations in muscle / J. Hanson, H. E. Huxley // *Nature.* – 1953. – V. 172. – P. 530 – 532.

368. Heavy metal availability and impact on activity of soil microorganisms along a Cu/Zn contamination gradient / Y. P. Wang, J. Y. Shi, Q. Lin [et al.] // *J Environ Sci (China).* – 2007. – V. 19 (7). – P. 848 – 853.

369. Heavy metal contamination of soil and water in the vicinity of an abandoned e-waste recycling site: implications for dissemination of heavy metals / Q. Wu, J. Y. Leung, X. Geng [et al.] // *Sci Total Environ.* – 2015. – V. 506. – P. 217 – 225.

370. Heavy Metal Risk Management: Case Analysis / J. A. Kim, S. H. Lee, S. H. Choi [et al.] // *Toxicol Res.* – 2012. – V. 28. – P. 143 – 149.

371. Heavy metal toxicity and the environment / P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla [et al.] // *EXS.* – 2012. – V. 101. – P. 133 – 164.

372. Heavy metal toxicity of kidney and bone tissues in South Australian adult bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) / T. J. Lavery, C. M. Kemper, K. Sanderson [et al.] // *Mar Environ Res.* – 2009. – V. 67. – P. 1 – 7.

373. Heavy metals and living systems: An overview / R. Singh, N. Gautam, A. Mishra [et al.] // *Indian J Pharmacol.* – 2011. – V. 43 (3). – P. 246 – 253.

374. Heavy metals in selected tissues and histopathological changes in liver and kidney of common moorhen (*Gallinula chloropus*) from Anzali Wetland, the south Caspian Sea, Iran / N. Salamat, E. Etemadi-Deylami, A. Movahedinia [et al.] // *Ecotoxicol Environ Saf.* – 2014. – V. 110. – P. 298 – 307.

375. Histochemical changes in muscle of rats exposed subchronically to low doses of heavy metals / M. Méndez-Armentaa, C. Nava-Ruiza, F. Fernández-Valverdea [et al.] // *Environmental toxicology and pharmacology*. – 2011. – V. 32. – P. 107 – 112.

376. Holmes A. L. Chronic exposure to lead chromate causes centrosome abnormalities and aneuploidy in human lung cells / A. L. Holmes, S. S. Wise, S. J. Sandwick, W. L. Lingle [et al.] // *Cancer Research*. – 2006. – V. 66, № 8. – P. 4041 – 4048.

377. Homogenates of skeletal muscle injected with snake venom inhibit myogenic differentiation in cell culture / P. Saravia-Otten, B. Robledo, T. Escalante [et al.] // *Muscle Nerve*. – 2013. – V. 47 (2). – P. 202 – 212.

378. Hoppeler H. Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function / H. Hoppeler, M. Fluck // *Med Sci Sports Exerc*. – 2006. – V. 35. – P. 95 – 104.

379. Human and ecological risk assessment of a crop protection chemical: a case study with the azole fungicide epoxiconazole / J. E. Chambers, H. Greim, R. J. Kendall [et al.] // *Crit Rev Toxicol*. – 2014. – V. 44 (2). – P. 176 – 210.

380. Huxley A. F. Structural changes in muscle during contraction; interference microscopy of living muscle fibres / A. F. Huxley, R. Niedergerke // *Nature*. – 1954. – V. 173. – P. 971 – 973.

381. Huxley H. E. Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation / H. E. Huxley, J. Hanson // *Nature*. – 1954. – V. 173. – P. 973 – 976.

382. Ibatullina R. B. Protective and restorative effect of antioxidants in experimental intoxication with chlorophenols / R. B. Ibatullina, V. A. Myshkin // *Med Tr Prom Ekol*. – 2008. – V. 5. – P. 28 – 31.

383. Impact of environmental air pollutants on disease control in asthmatic patients / R. Fernandez, M. Ariza, M. Iscar [et al.] // *Lung*. – 2015. – V. 193. – P. 195 – 198.

384. Impaired Muscle Mitochondrial Biogenesis and Myogenesis in Spinal Muscular Atrophy / M. Ripolone, D. Ronchi, R. Violano [et al.] // *JAMA Neurol*. – 2015. – V. 72 (6). – P. 666 – 675.

385. Increased autophagy accelerates colchicine-induced muscle toxicity / J. K. Ching, J. S. Ju, S. K. Pittman [et al.] // *Autophagy*. – 2013. – V. 9. – P. 2115 – 2125.

386. Interaction forces between F-actin and titin PEVK domain measured with optical tweezers / P. Bianco, A. Nagy, A. Kengyel [et al.] // *Biophys. J.* – 2007. – V. 93. – P. 2102–2109.

387. Interactions with titin and myomesin target obscurin and obscurin-like 1 to the M-band-implications for hereditary myopathies / A. Fukuzawa, S. Lange, M. Holt [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2008. – V. 121. – P. 1841–1851.

388. International Olympic Committee consensus statement: molecular basis of connective tissue and muscle injuries in sport / A. Ljungqvist, M. P. Schwellnus, N. Bachl [et al.] // *Clin Sports Med.* – 2008. – V. 27 (1). – P. 231 – 239.

389. Kalajian A. H. Myopathy induced by antimalarial agents: the relevance of screening muscle enzyme levels / A. H. Kalajian, J. P. Callen // *Arch Dermatol.* – 2009. – V. 145. – P. 597 – 600.

390. Kan H. Environment and Health in China: Challenges and Opportunities / H. Kan // *Environ Health Perspect.* – 2009. – V. 117. – P. 530 – 531.

391. Kawada S. Skeletal muscle hypertrophy after chronic restriction of venous blood flow in rats / S. Kawada, N. Ishii // *Med Sci Sports Exerc.* – 2005. – V. 37 (7). – P. 1144 – 1150.

392. Kidney, muscle and vascular structural and ultrastructural damages produced by toxic aggression of bee (*Apis mellifera*) venom / G. Rojas, A. R. Acosta, H. J. Finol [et al.] // *Revista Científica.* – 2006. – V. 12. – P. 46 – 52.

393. Kim H. C. Evidence of skeletal muscle dysfunction in patients with COPD / H. C. Kim, M. Mofarrahi, S. Hussain // *International Journal of COPD.* – 2008. – V. 3. – P. 637 – 658.

394. Kimura T. Molecular mechanism involved in chromium(VI) toxicity / T. Kimura // *Yakugaku Zasshi.* – 2007. – V. 127. – P. 1957 – 1965.

395. Klopstock T. Drug-induced myopathies / T. Klopstock // *Curr Opin Neurol.* – 2008. – V. 21. – P. 590 – 595.

396. Kuncel R. W. Agents and mechanisms of toxic myopathy / R. W. Kuncel // *Curr Opin Neurol.* – 2009. – V. 22. – P. 506 – 515.

397. Lee E. J. Calcium sensitivity and the Frank-Starling mechanism of the heart are increased in titin N2B region-deficient mice / E. J. Lee, J. Peng, H. L. Granzier // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2010. – V. 49. – P. 449–458.

398. Lieber R. L. Skeletal muscle design to meet functional demands / R. L. Lieber, S. R. Ward // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2011. – V. 366. – P. 1466 – 1467.

399. Lim S. R. Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with flat panel displays / S. R. Lim, J. M. Schoenung // *J Hazard Mater.* – 2010. – V. 15. – P. 251 – 259.

400. Linke W. A. Sense and stretchability: the role of titin and titin-associated proteins in myocardial stress-sensing and mechanical dysfunction / W. A. Linke // *Cardiovascular Research.* – 2008. – V. 77. – P. 637 – 648.

401. Longo M. V. Morphology of the claw closer muscle in two estuarine crab species (Crustacea, Varunidae): an ultrastructural study / M. V. Longo, A. O. Díaz // *Zoolog Sci.* – 2013. – V. 30 (8). – P. 663 – 669.

402. Lymphedema: a comprehensive review / A. G. Warren, H. Brorson, L. J. Borud [et al.] // *Ann Plast Surg.* – 2007. – V. 59. – P. 464 – 472.

403. Macroscopic–microscopic characterization of the passive mechanical properties in rat soleus muscle / S. Bensamouna, L. Stevensb, M. J. Fleury [et al.] // *Journal of Biomechanics.* – 2006. – V. 39. – P. 568–578.

404. Mannella C. A. Structural Diversity of Mitochondria: Functional Implications / C. A. Mannella // *Ann N Y Acad Sci.* – 2008. – V. 1147. – P. 171 – 179.

405. Mechanics on myocardium deficient in the N2B region of titin: the cardiac-unique spring element improves efficiency of the cardiac cycle / J. Nedrud, S. Labeit, M. Gotthardt [et al.] // *Biophys J.* – 2011. – V. 101. – P. 1385 – 1392.

406. Mechanisms underlying iron and copper ions toxicity in biological systems: Pro-oxidant activity and protein-binding effects / M. E. Letelier, S. Sánchez-Jofré, L. Peredo-Silva [et al.] // *Chem Biol Interact.* – 2010. – V. 188. – P. 220 – 227.

407. Metabolic effects of mexidol in complex treatment of chronic brain ischemia / E. I. Demchenko, N. V. Kulakova, T. A. Semiglazova [et al.] // *Eksp Klin Farmakol.* – 2008. – V. 71. – P. 13 – 15.

408. Metformin increases the PGC-1 protein and oxidative enzyme activities possibly via AMPK phosphorylation in skeletal muscle in vivo / M. Suwa, T. Egashira, H. Nakano [et al.] // *J Appl Physiol.* – 2006. – V. 101. – P. 1685 – 1692.

409. Microbial and chemical contamination of water, sediment and soil in the Nakivubo wetland area in Kampala, Uganda / S. Fuhrmann, M. Stalder, M.S. Winkler [et al.] // *Environ Monit Assess.* – 2015. – V. 187 (7). – P. 475 – 482.

410. Mitochondria: isolation, structure and function / M. Picard, T. Taivassalo, G. Gousspillou [et al.] // *J Physiol.* – 2011. – V. 15. – P. 4413 – 4421.

411. Mitochondrial bioenergetics and structural network organization / G. Benard, N. Bellance, D. James [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2007. – V. 120. – P. 838 – 848.

412. Modulation of skeletal muscle fiber type by mitogen-activated protein kinase signaling / H. Shi, J. M. Scheffler, J. V. Pleitner [et al.] // *FASEB J.* – 2008. – V. 22. – P. 2990 – 3000.

413. Molecular signatures define myogenic stem cell populations / C. M. Martin, J. L. Russell, A. Ferdous [et al.] // *Stem Cell Reviews.* – 2006. – V. 2. – P. 37 – 42.

414. Monesi V. Differential rate of ribonucleic acid synthesis in the autosomes and sex chromosomes during male meiosis in the mouse / V. Monesi // *Chromosoma.* – 1965. – V. 17. – P. 11 – 21.

415. Monitoring atmospheric pollutants in the biosphere reserve Wienerwald by a combined approach of biomonitoring methods and technical measurements / V. Krommer, H. G. Zechmeister, I. Roder [et al.] // *Chemosphere.* – 2007. – V.67. – P. 1956 – 1966.

416. Morphological, Electrophysiological, and Metabolic Characteristics of Skeletal Muscle in People with End-Stage Renal Disease: A Critical Review / A. Sawant, S. J. Garland, A. A. House [et al.] // *Physiotherapy Canada.* – 2008. – Vol. 63. – P. 355 – 376.

417. Muscle connective tissue controls development of the diaphragm and is a source of congenital diaphragmatic hernias / A. J. Merrell, B. J. Ellis, Z. D. Fox [et al.] // *Nat Genet.* – 2015. – V. 47 (5). – P. 496 – 504.

418. Muscle Response to the Association of Statin and Physical Exercise in Rats / M. R. Bonfim, C. F. Silva, L. C. Vanderlei [et al.] // *Int. J. Morphol.* – 2009. – V.27. – P. 1155 – 1161.

419. Myofibrillar and collagen protein synthesis in human skeletal muscle in young men after maximal shortening and lengthening contractions / D. R. Moore, S. M. Phillips, J. A. Babraj [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2005. – V. 288. – P. 1153 – 1159.

420. Myopathy: a possible effect of chronic low level lead exposure / K. Buchheim, G. Stoltenburg-Didinger, H. Lilienthal [et al.] // *Neurotoxicology.* – 1998. – V. 19. – P. 539 – 545.

421. Odewande A. A. Contamination indices and heavy metal concentrations in urban soil of Ibadan metropolis, southwestern Nigeria / A. A. Odewande, A. F. Abimbola // *Environ Geochem Health.* – 2008. – V. 30. – P. 243 – 254.

422. On the anatomy and histology of the pubovisceral muscle entheses in women / J. Kim, R. Ramanah, O. L. DeLancey [et al.] // *Neurourol Urodyn.* – 2011. – V. 30 (7). – P. 1366 – 1370.

423. Optical nanosphere sensor based on shell-by-shell fabrication for removal of toxic metals from human blood / S. A. El-Safty, S. Abdellatef, M. Ismael [et al.] // *Adv Health Mater.* – 2013. – V. 6. – P. 854 – 862.

424. Organization and distribution of intramuscular connective tissue in normal and immobilized skeletal muscles. An immunohistochemical, polarization and scanning electron microscopic study / T. A. Jarvinen, L. Jozsa, P. Kannus [et al.] // *J. Muscle Res. Cell Motil.* – 2007. – V.23. – P. 245 – 254.

425. Otto A. The origin, molecular regulation and therapeutic potential of myogenic stem cell populations / A. Otto, H. Collins-Hooper, K. Patel // *J. Anat.* – 2009. – V. 215. – P. 477 – 497.

426. Oxidative metabolism of chemical pollutants in marine organisms: molecular and biochemical biomarkers in environmental toxicology / M. Benedetti, M. E. Giuliani, F. Regoli [et al.] // *Ann N Y Acad Sci.* – 2015. – V. 1340. – P. 8 – 19.

427. Palindromic assembly of the giant muscle protein titin in the sarcomeric Z-disk / P. Zou, N. Pinotsis, S. Lange [et al.] // *Nature.* – 2006. – V. 439. – P. 229 – 233.

428. Patrick L. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity / L. Patrick // *Altern Med Rev.* – 2006. – V. 11. – P. 114 – 127.

429. Patrick L. Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment / L. Patrick // *Altern Med Rev.* – 2006. – V. 11. – P. 2 – 22.

430. Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells / P. S. Zammit, F. Relaix, Y. Nagata [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2006. – V. 119. – P. 1824 – 1832.

431. Pereira R. M. Glucocorticoid-induced myopathy / R. M. Pereira, J. F. de Carvalho // *Joint Bone Spine.* – 2011. – V. 78. – P. 41 – 44.

432. Perturbations in skeletal muscle sarcomere structure in patients with heart failure and type 2 diabetes: restorative effects of (-)-epicatechin-rich cocoa / P. R. Taub, I. Ramirez-Sanchez, T. P. Ciaraldi [et al.] // *Clin Sci.* – 2013. – V. 125. – P. 383 – 389.

433. Peterson C. M. Skeletal muscle mitochondria and aging: a review / C. M. Peterson, D. L. Johannsen, E. Ravussin // *Journal of aging research.* – 2012. – V. 20. – P. 21 – 41.

434. Protective effect of 3-oxypyridine and succinic acid derivatives under conditions of acute alloxan-induced intoxication in mice / I. A. Volchegorskiĭ, I. L. Miroshnichenko, L. M. Rassokhina [et al.] // *Eksp Klin Farmakol.* – 2014. – V. 77. – P. 13 – 16.

435. Ramirez G. G. Mechanisms of striated muscle dysfunction during acute exacerbations of COPD / G. G. Ramirez, M. Decramer // *J Appl Physiol.* – 2013. – V. 114. – P. 1291 – 1299.

436. Rana S. V. Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals: a review / S. V. Rana // *Biol Trace Elem Res.* – 2014. – V. 160. – P. 1 – 14.

437. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells / F. S. Tedesco, A. Dellavalle, J. Diaz-Manera [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2010. – V. 120. – P. 11 – 19.

438. Report: Central nervous system (CNS) toxicity caused by metal poisoning: Brain as a target organ / S. R. Gilani, S. R. Zaidi, M. Batool [et al.] // *Pak J Pharm Sci*. – 2015. – V. 28. – P. 1417 – 1423.

439. Rosenbluth J. The ultrastructure and contractile properties of a fast-acting, obliquely striated, myosin-regulated muscle: the funnel retractor of squids // J. Rosenbluth, A. G. Szent-Györgyi, J. T. Thompson // *J. Exp. Biol.* – 2010. – V.213 (14). – P. 2430–2443.

440. Rossi A. E. Sarcoplasmic reticulum: the dynamic calcium governor of muscle / A. E. Rossi, R. T. Dirksen // *Muscle Nerve*. – 2006. – V. 33 (6). – P. 715 – 731.

441. Sabath E. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity / E. Sabath, M. L. Robles-Osorio // *Nefrologia*. – 2012. – V. 32. – P. 279 – 286.

442. Sabine M. Human Health Effects of Heavy Metals / M. Sabine, W. Griswold // *Environmental Science and Technology Briefs for Citizens*. – 2009. – V. 15, № 4. – P. 1 – 6.

443. Sagar A. Zidovudine-induced myopathy: A study in Indian patients // A. Sagar, A. P. Mohanty, A. Bahal // *J Neurosci Rural Pract*. – 2010. – V. 1. – P. 63 – 66.

444. Saliba W. R. Myopathy from the combination of simvastatin and amiodarone / W. R. Saliba, M. Elias // *Eur J Intern Med*. – 2006. – V. 17 (2). – P. 148 – 151.

445. Schiaffino S. Fiber types in mammalian skeletal muscles / S. Schiaffino, C. Reggiani // *Physiol Rev*. – 2011. – V. 91 (4). – P. 1447 – 1531.

446. Schweitzer R. Connecting muscles to tendons: tendons and musculoskeletal development in flies and vertebrates / R. Schweitzer, E. Zelzer, T. Volk // *Development* – 2010. – V. 137 (17). – P. 2807 – 2817.

447. Scott W. Human skeletal muscle fiber type classifications. W. Scott, J. Stevens, S.A. Binder-Macleod // *Phys Ther*. – 2011. – V. 81. – P. 1810 – 1816.

448. Severe dermatomyositis triggered by interferon beta-1a therapy and associated with enhanced type I interferon signaling / A. K. Somani, A. R. Swick, K. D. Cooper [et al.] // *Arch Dermatol.* – 2008. – V. 144. – P. 1341 – 1349.

449. Skeletal Muscle Development and Regeneration / S. Grefte, A. M. Kuijpers-Jagtman, R. Torensma [et al.] // *Stem cells and development.* – 2007. – V. 16. – P. 857 – 868.

450. Skeletal Muscle Ultrastructural and Plasma Biochemical Signs of Endothelium Dysfunction Induced by a High-Altitude Expedition (Pumori, 7161m) / J. Magalhães, A. Ascensão, F. Marques [et al.] // *Basic Appl. Myol.* – 2006. – V. 15. – P. 29 – 35.

451. Solomon P. A. Air Pollution and Health: Bridging the Gap from Sources to Health Outcomes / P. A. Solomon // *Environ Health Perspect.* – 2011. – V. 119. – P. 156 – 157.

452. Spriet L. L. Taurine and skeletal muscle function / L. L. Spriet, J. Whitfield // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* – 2015. – V. 18. – P. 96 – 101.

453. Statin-induced muscle necrosis in the rat: distribution, development, and fibre selectivity / F. R. Westwood, A. Bigley, K. Randall [et al.] // *Toxicol Pathol.* – 2005. – V. 33. – P. 246 – 257.

454. Stejskal V. Metal-induced inflammation triggers fibromyalgia in metal-allergic patients / V. Stejskal, K. Ockert, G. Bjørklund // *Neuro Endocrinol Lett.* – 2013. – V. 34 (6). – P. 559 – 565.

455. Structural and regulatory roles of muscle ankyrin repeat protein family in skeletal muscle / I. A. Barash, M. L. Bang, L. Mathew [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell.* – 2007. – V. 293. – P. 218 – 227.

456. Structure of the Ca(2⁺)-saturated C-terminal domain of scallop troponin C in complex with a troponin I fragment / Y. S. Kato, F. Yumoto, H. Tanaka [et al.] // *Biol Chem.* – 2013. – V. 394 (1). – P. 55 – 68.

457. Structure of the rigor actin-tropomyosin-myosin complex / E. Behrmann, M. Müller, P. A. Penczek [et al.] // *Cell.* – 2012. – V. 150 (2). – P. 327 – 338.

458. Syamaladevi D. P. Structural and Functional Insights on the Myosin Superfamily / D. P. Syamaladevi, J. A. Spudich, R. Sowdhamin // *Bioinform Biol Insights*. – 2012. – V. 6. – P. 11 – 21.

459. Tajbakhsh S. Skeletal muscle stem cells in developmental versus regenerative myogenesis / S. Tajbakhsh // *J. Inter. Med.* – 2008. – V. 266. – P. 372 – 389.

460. Ten Broek R. W. Regulatory factors and cell population involved in skeletal muscle regeneration / R. W. Ten Broek, S. Greffe, J. W. Hoff // *J. Cell.* – 2010. – V. 224. – P. 7 – 16.

461. The costamere bridges sarcomeres to the sarcolemma in striated muscle / A. K. Peter, H. Cheng, R. S. Ross [et al.] // *Prog Pediatr Cardiol.* – 2011. – V. 31 (2). – P. 83 – 88.

462. The effects of caffeine, nicotine, ethanol, and tetrahydrocannabinol on exercise performance / D. H. Pesta, S. S. Angadi, M. Burtscher [et al.] // *Nutr Metab (Lond)*. – 2013. – V. 10. – P. 71 – 93.

463. The role of manganese in the human organism / K. Szentmihalyi, P. Vinkler, J. Fodor [et al.] // *Orvosi hetilap.* – 2006. - V. 147. - № 42. — P. 2027 – 2030.

464. The embryonic muscle transcriptome of *Caenorhabditis elegans* / R. M. Fox, J. D. Watson, S. E. Von Stetina [et al.] // *Genome Biol.* – 2007. – V. 8. – P. 188 – 208.

465. The hexameric structure of the human mitochondrial replicative helicase Twinkle / P. Fernández-Millán, M. Lázaro, Ş. Cansız-Arda [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2015. – V. 43 (8). – P. 4284 – 4295.

466. The importance of alcoholinduced muscle disease / V. R. Preedy, A. K. Hlendieck, J. Adachi [et al.] // *J Muscle Res Cell Motil.* – 2008. – V. 24. – P. 55 – 63.

467. The kinase domain of titin controls muscle gene expression and protein turnover / S. Lange, F. Xiang, A. Yakovenko [et al.] // *Science.* – 2005. – V. 308. – P. 1599 – 1603.

468. The Role of Skeletal Muscle Glycogen Breakdown for Regulation of Insulin Sensitivity by Exercise / J. Jensen, P. I. Rustad, A. J. Kolnes [et al.] // *Front Physiol.* – 2011. – V. 2. – P. 21 – 31.

469. The shape and flexibility of tropomyosin coiled coils: implications for actin filament assembly and regulation / X. E. Li, K. C. Holmes, W. Lehman [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 2010. – V. 395. – P. 327 – 339.

470. Three-dimensional structure of the M-region (Bare zone) of Vertebrate striated muscle myosin filaments by single-particle analysis / H. A. AL-Khayat, R. W. Kensler, E. P. Morris [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 2010. – V. 403. – P. 763 – 776.

471. Time course of cigarette smoke-induced changes of systemic inflammation and muscle structure / K. Krüger, G. Dischereit, M. Seimetz [et al.] // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2015. – V. 309. – P. 119 – 128.

472. Tissue metal concentrations and histopathology of rats gavaged with vitrified soil obtained from the former Charleston Naval Shipyard (SC, USA) / C. R. Garipay, C. Muro-Cachob, A. Khlifi [et al.] // *Journal of Hazardous Materials.* – 2003. – V. 100. – P. 1 – 12.

473. Titin based viscosity in ventricular physiology: an integrative investigation of PEVK-actin interactions / C. S. Chung, M. Methawasin, O. L. Nelson [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2011. – V.51. – P. 428 – 434.

474. Titin diversity--alternative splicing gone wild / W. Guo, S. J. Bharmal, K. Esbona [et al.] // *J Biomed Biotechnol.* – 2010. – V. 75. – P. 675 – 682.

475. Titin-actin interaction: PEVK-actin-based viscosity in a large animal / C. S. Chung, J. Bogomolovas, A. Gasch [et al.] // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2011. – V. 47. – P. 378 – 391.

476. Tompson J. T. Mechanical specialization of the obliquely striated circular mantle muscle fibres of the long-finned squid *Doryteuthis pealeii* / J. T. Tompson, J. A. Szczepanski, J. Brody // *J. Exp. Biol.* – 2008. – V. 211. – P. 1463 – 1474.

477. Towards a 3-dimensional atlas of the developing human embryo: the Amsterdam experience / B. S. de Bakker, K. H. de Jong, J. Hagoort [et al.] // *Reproductive Toxicology.* – 2012. – V. 34. – P. 225 – 236.

478. Toxic effects of lead exposure in Wistar rats: Involvement of oxidative stress and the beneficial role of edible jute (*Corchorus olitorius*) leaves / S. Dewanjee, R. Sahu, S. Karmakar [et al.] // *Food and Chemical Toxicology.* – 2013. – V. 55. – P. 78 – 91.

479. Toxicity of organic pollutants to seven aquatic organisms: effect of polarity and ionization / W. C. Qin, L. M. Su, X. J. Zhang [et al.] // SAR QSAR Environ Res. – 2010. – V. 21. – P. 389 – 401.

480. Toxicity, accumulation, and removal of heavy metals by three aquatic macrophytes / A. Basile, S. Sorbo, B. Conte [et al.] // Int J Phytoremediation. – 2012. – V. 14. – P. 374 – 387.

481. Trachtenberg I. M. Priority aspects of environmental health and preventive toxicology / I. M. Trachtenberg // Zdorovya Ukrainy. – 2011. – V. 473. – P. 60 – 63.

482. Traffic-related air pollution, particulate matter, and autism / H. E. Volk, F. Lurmann, B. Penfold [et al.] // JAMA Psychiatry. – 2013. – V. 70. – P. 71 – 77.

483. Trumbull K. A. Role for Copper in the Toxicity of Zinc-Deficient Superoxide Dismutase to Motor Neurons in Amyotrophic Lateral Sclerosis / K. A. Trumbull, J. S. Beckman // Antioxidants & redox signaling. – 2009. – V. 11. – P. 1627 – 1639.

484. Tskhovrebova L. Roles of Titin in the Structure and Elasticity of the Sarcomere / L. Tskhovrebova, J. Trinick // Journal of Biomedicine and Biotechnology. – 2010. – V. 20. – P. 40 – 47.

485. Ultrastructural changes and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} regulation in red vastus muscle following eccentric exercise in the rat / W. Chen, P. A. Ruell, M. Ghoddusi [et al.] // Exp. Physiol. – 2007. – V. 92. – P. 437 – 447.

486. Ultrastructure of pedal muscle as a function of temperature in nautilus limpets / G. Lurman, T. Blaser, M. Lamare [et al.] // Marine Biology. – 2010. – V. 157. – P. 1705 – 1712.

487. Understanding the organisation and role of myosin binding protein C in normal striated muscle by comparison with MyBP-C knockout cardiac muscle / P. K. Luther, P. M. Bennett, C. Knupp [et al.] // J. Mol. Biol. – 2008. – V. 384. – P. 60 – 72.

488. Valiyil R. Drug-related Myopathies of Which the Clinician Should Be Aware / R. Valiyil, L. C. Stine // Curr Rheumatol Rep. – 2010. – V. 12 (3). – P. 213 – 220.

489. Ventura-Clapier R. Beneficial effects of endurance training on cardiac and skeletal muscle energy metabolism in heart failure // R. Ventura-Clapier, B. Mettauer, X. Bigard // Cardiovasc Res. – 2007. – V. 73. – P. 10 – 18.

490. Voelkel T. Conformation-regulated mechanosensory control via titin domains in cardiac muscle / T. Voelkel, W. A. Linke // *Pflugers Arch.* – 2011. – V. 462. – P. 143 – 154.

491. Wal J. The architecture of the connective tissue in the musculoskeletal system – an often overlooked functional parameter as to proprioception in the locomotor apparatus / Jaap Wal // *International journal of therapeutic massage and bodywork.* – 2009. – V. 2. – P. 9 – 23.

492. Wang X. Distribution characteristics and ecological risk assessment of toxic heavy metals and metalloids in surface water of lakes in Daqing Heilongjiang Province, China / X. Wang, S. Zang // *Ecotoxicology.* – 2014. – V. 23 (4). – P. 609 – 617.

493. Wang Y. Functional classification of skeletal muscle networks. I. Normal physiology / Y. Wang, J. Winters, S. Subramaniam // *J Appl Physiol.* – 2012. – V. 113. – P. 1884 – 1901.

494. Wei L. Myopathy induced by amiodarone treatment: a case report / L. Wei, XQ Li, Z. H. Liu // *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* – 2007. – V. 35. – P. 93 – 97.

495. Yang X. Research progress on biological toxicity of zinc oxide nanoparticle and its mechanism / X. Yang, M. Z. Jiang // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2014. – V. 43. – P. 218 – 226.

496. Zammit P. S. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came from the cold / P. S. Zammit, T. A. Partridge, Z. Yablonka-Reuveni // *J. Histochem. Cytochem.* – 2006. – V. 54. – P. 1177 – 1191.

497. Zick M. Cristae formation-linking ultrastructure and function of mitochondria / M. Zick, R. Rabl, S. A. Reichert // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2009. – V. 1793. – P. 5 – 19.

498. Zink W. Local anesthetic myotoxicity / W. Zink, B. M. Graf // *Reg Anesth Pain Med.* – 2008. – V. 29. – P. 333 – 340.

Додаток А

Таблиця А.1

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 1, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса шура, г	165,43 ±2,11	164,91 ±2,25	199,18 ±3,71	197,81 ±3,22	232,34 ±3,59	229,97 ±3,42
АММ, г	2,87 ±0,01	2,87 ±0,02	3,11 ±0,01	3,11 ±0,01	3,43 ±0,02	3,42 ±0,01
ВММ	1,73 ±0,01	1,74 ±0,02	1,56 ±0,01	1,57 ±0,01	1,48 ±0,01	1,48 ±0,01
АОМ, см ³	0,338 ±0,005	0,345 ±0,004	0,371 ±0,005	0,391 ±0,005*	0,422 ±0,006	0,460 ±0,005*
ЩМ, г/см ³	8,47 ±0,13	8,31 ±0,09	8,36 ±0,10	7,93 ±0,11*	8,12 ±0,09	7,41 ±0,08*
ДМЧ, мм	22,29 ±0,33	22,21 ±0,36	24,73 ±0,41	24,53 ±0,29	26,12 ±0,35	25,78 ±0,37
ДМСЧ, мм	6,12 ±0,13	6,16 ±0,14	6,51 ±0,18	6,62 ±0,10	6,74 ±0,14	6,91 ±0,12
ППІМ, мм ²	29,42 ±0,14	29,83 ±0,14	33,29 ±0,12	34,42 ±0,16	35,57 ±0,13	37,48 ±0,12*
ДМВ, мкм	13,78 ±0,21	13,88 ±0,22	15,03 ±0,19	15,35 ±0,22	16,44 ±0,2	17,11 ±0,24
ШЕ, мкм	2,34 ±0,11	2,36 ±0,12	2,42 ±0,10	2,48 ±0,09	2,49 ±0,13	2,61 ±0,13
Співвідн. І	0,169 ±0,008	0,170 ±0,006	0,161 ±0,007	0,162 ±0,009	0,151 ±0,006	0,152 ±0,005
ШП, мкм	27,13 ±0,31	27,51 ±0,29	29,34 ±0,26	30,31 ±0,28	32,47 ±0,34	33,78 ±0,32*
ППІВ, мкм ²	149,13 ±1,03	151,47 ±1,07	177,42 ±0,95	185,16 ±0,99*	212,27 ±0,97	230,12 ±1,01*
КЯМ	128,21 ±1,12	128,05 ±1,21	137,29 ±1,27	136,56 ±1,16	142,61 ±1,43	140,94 ±0,96

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.2

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 1, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	5,01 ±0,19	4,99 ±0,21	5,37 ±0,11	5,31 ±0,17	5,86 ±0,22	5,75 ±0,18
ДВ, мкм	19,19 ±0,29	19,27 ±0,24	19,85 ±0,31	20,08 ±0,32	20,73 ±0,22	21,14 ±0,37
ДА, мкм	16,11 ±0,22	16,09 ±0,19	16,24 ±0,21	16,09 ±0,27	16,57 ±0,20	16,38 ±0,24
АВК	0,839 ±0,009	0,834 ±0,011	0,818 ±0,012	0,801 ±0,010	0,799 ±0,008	0,774 ±0,007
ДМФ, нм	732,18 ±5,62	731,37 ±5,98	743,39 ±6,19	739,74 ±5,86	753,11 ±6,53	745,72 ±6,04
КДЯМ, мкм	2,96 ±0,09	2,99 ±0,12	3,01 ±0,08	3,08 ±0,11	3,13 ±0,10	3,25 ±0,13
ДДЯМ, мкм	4,11 ±0,11	4,16 ±0,14	4,19 ±0,12	4,31 ±0,08	4,28 ±0,09	4,47 ±0,08
ПЯМ, мкм ²	9,55 ±0,14	9,77 ±0,18	9,91 ±0,12	10,42 ±0,12	10,52 ±0,21	11,43 ±0,19*
ОЯМ, мкм ³	18,85 ±0,19	19,51 ±0,24	19,88 ±0,25	21,41 ±0,26*	21,95 ±0,28	24,81 ±0,34*
КДМ, мкм	0,53 ±0,008	0,53 ±0,007	0,55 ±0,010	0,56 ±0,011	0,59 ±0,012	0,61 ±0,007
ДДМ, мкм	2,71 ±0,09	2,75 ±0,11	2,99 ±0,14	3,08 ±0,08	3,14 ±0,13	3,31 ±0,11
ПМ, мкм ²	1,12 ±0,07	1,16 ±0,07	1,29 ±0,08	1,37 ±0,06	1,46 ±0,07	1,59 ±0,10
ОМ, мкм ³	0,398 ±0,024	0,417 ±0,025	0,474 ±0,024	0,516 ±0,031	0,572 ±0,027	0,651 ±0,029

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.3

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 1, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	1,74 ±0,02	1,91 ±0,01*	1,77 ±0,01	1,99 ±0,02*	1,76 ±0,03	2,09 ±0,03*
Цинк, мкг/г	24,89 ±0,14	25,95 ±0,15*	24,88 ±0,17	26,73 ±0,21*	24,88 ±0,09	26,91 ±0,11*
Свинець, мкг/г	0,163 ±0,001	0,164 ±0,002	0,163 ±0,001	0,165 ±0,003	0,164 ±0,002	0,163 ±0,002
Залізо, мкг/г	33,17 ±0,26	38,62 ±0,46*	33,21 ±0,21	42,68 ±0,31*	33,49 ±0,21	46,61 ±0,19*
Марганець, мкг/г	0,743 ±0,003	0,691 ±0,002*	0,763 ±0,003	0,698 ±0,002*	0,753 ±0,002	0,669 ±0,002*
Хром, мкг/г	0,0154 ±0,0002	0,0154 ±0,0003	0,0157 ±0,0003	0,0156 ±0,0002	0,0155 ±0,0002	0,0153 ±0,0003

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.4

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 1, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса щура, г	257,12 ±4,02	256,06 ±3,79	277,73 ±4,11	275,61 ±3,85	282,59 ±5,36	279,36 ±4,57
АММ, г	3,77 ±0,02	3,77 ±0,01	3,91 ±0,02	3,90 ±0,01	4,12 ±0,01	4,09 ±0,2
ВММ	1,46 ±0,01	1,47 ±0,01	1,41 ±0,01	1,42 ±0,02	1,46 ±0,01	1,46 ±0,02
АОМ, см ³	0,463 ±0,006	0,478 ±0,005	0,524 ±0,004	0,562 ±0,005*	0,658 ±0,006	0,741 ±0,005*
ЩМ, г/см ³	8,14 ±0,11	7,88 ±0,09	7,46 ±0,11	6,94 ±0,10*	6,26 ±0,10	5,52 ±0,09*
ДМЧ, мм	27,98 ±0,37	27,89 ±0,41	29,11 ±0,39	28,89 ±0,33	31,21 ±0,38	30,85 ±0,37
ДМСЧ, мм	7,12 ±0,17	7,24 ±0,14	7,56 ±0,16	7,79 ±0,12	8,44 ±0,14	8,86 ±0,19
ППІМ, мм ²	39,82 ±0,29	41,21 ±0,28*	44,89 ±0,19	47,79 ±0,31*	55,95 ±0,32	61,63 ±0,28*
ДМВ, мкм	17,61 ±0,24	17,78 ±0,21	18,33 ±0,26	18,75 ±0,19	19,05 ±0,27	19,95 ±0,22*
ШЕ, мкм	2,77 ±0,12	2,86 ±0,11	2,89 ±0,11	3,03 ±0,12	3,01 ±0,09	3,29 ±0,14
Співвідн. І	0,157 ±0,002	0,161 ±0,004	0,157 ±0,001	0,162 ±0,002	0,158 ±0,003	0,164 ±0,002
ШП, мкм	33,12 ±0,34	33,77 ±0,27	34,21 ±0,26	35,33 ±0,32*	34,99 ±0,31	36,55 ±0,33*
ППІВ, мкм ²	243,56 ±1,12	248,41 ±1,17*	263,81 ±1,24	276,37 ±1,22*	285,02 ±1,07	312,68 ±1,34*
КЯМ	144,33 ±1,14	144,17 ±1,24	151,65 ±1,53	150,59 ±1,12	158,18 ±1,41	157,58 ±1,37

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.5

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 1, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	6,11 ±0,13	6,08 ±0,25	6,43 ±0,16	6,36 ±0,15	6,87 ±0,25	6,74 ±0,16
ДВ, мкм	21,88 ±0,23	21,98 ±0,24	22,57 ±0,28	22,86 ±0,31	22,87 ±0,32	23,35 ±0,34
ДА, мкм	16,98 ±0,24	16,93 ±0,25	17,24 ±0,22	17,06 ±0,17	17,47 ±0,29	17,24 ±0,31
АВК	0,776 ±0,01	0,770 ±0,012	0,763 ±0,009	0,746 ±0,011	0,763 ±0,011	0,738 ±0,009
ДМФ, нм	761,63 ±5,25	756,14 ±4,98	769,97 ±5,92	754,95 ±7,11	777,31 ±6,25	753,91 ±6,53*
КДЯМ, мкм	3,31 ±0,1	3,35 ±0,13	3,48 ±0,1	3,57 ±0,09	3,64 ±0,08	3,80 ±0,12
ДДЯМ, мкм	4,36 ±0,12	4,41 ±0,13	4,48 ±0,11	4,61 ±0,1	4,58 ±0,12	4,79 ±0,11
ПЯМ, мкм ²	11,34 ±0,15	11,62 ±0,15	12,25 ±0,13	12,97 ±0,18*	13,09 ±0,19	14,32 ±0,17*
ОЯМ, мкм ³	25,01 ±0,23	25,97 ±0,29*	28,41 ±0,34	30,94 ±0,36*	31,77 ±0,29	36,29 ±0,37*
КДМ, мкм	0,66 ±0,005	0,66 ±0,006	0,73 ±0,011	0,75 ±0,009	0,77 ±0,01	0,80 ±0,009*
ДДМ, мкм	3,53 ±0,08	3,58 ±0,1	3,87 ±0,12	3,99 ±0,09	4,54 ±0,12	4,80 ±0,14
ПМ, мкм ²	1,83 ±0,07	1,88 ±0,08	2,22 ±0,08	2,35 ±0,07	2,75 ±0,08	3,03 ±0,08*
ОМ, мкм ³	0,805 ±0,029	0,840 ±0,031	1,079 ±0,031	1,178 ±0,036*	1,409 ±0,02	1,618 ±0,029*

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.6

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 1, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	1,75 ±0,02	1,89 ±0,02*	1,77 ±0,03	1,98 ±0,02*	1,77 ±0,03	2,04 ±0,02*
Цинк, мкг/г	24,48 ±0,14	25,49 ±0,15*	24,67 ±0,17	26,33 ±0,21*	24,42 ±0,09	26,23 ±0,11*
Свинець, мкг/г	0,172 ±0,001	0,174 ±0,002	0,172 ±0,002	0,172 ±0,003	0,172 ±0,004	0,172 ±0,005
Залізо, мкг/г	33,19 ±0,32	36,32 ±0,46*	33,29 ±0,31	38,11 ±0,34*	33,34 ±0,22	39,77 ±0,18*
Марганець, мкг/г	0,782 ±0,002	0,735 ±0,002*	0,793 ±0,003	0,734 ±0,003*	0,794 ±0,003	0,729 ±0,002*
Хром, мкг/г	0,0153 ±0,0002	0,0152 ±0,0003	0,0154 ±0,0004	0,0155 ±0,0003	0,0148 ±0,0003	0,0149 ±0,0002

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.7

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 1, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса щура, г	297,21 ±4,89	294,26 ±5,17	304,57 ±5,11	300,33 ±4,76	303,88 ±4,97	297,92 ±4,68
АММ, г	3,69 ±0,02	3,66 ±0,01	3,67 ±0,02	3,64 ±0,02	3,61 ±0,02	3,54 ±0,02*
ВММ	1,24 ±0,02	1,25 ±0,02	1,21 ±0,01	1,21 ±0,02	1,19 ±0,01	1,19 ±0,01
АОМ, см ³	0,495 ±0,007	0,519 ±0,006*	0,472 ±0,006	0,525 ±0,006*	0,423 ±0,005	0,509 ±0,006*
ЩМ, г/см ³	7,45 ±0,12	7,088 ±0,09*	7,77 ±0,11	6,93 ±0,09*	8,53 ±0,14	6,95 ±0,12*
ДМЧ, мм	30,73 ±0,34	30,55 ±0,39	30,08 ±0,36	29,77 ±0,31	29,87 ±0,31	29,39 ±0,39
ДМСЧ, мм	7,32 ±0,17	7,48 ±0,14	7,19 ±0,15	7,44 ±0,12	7,03 ±0,19	7,53 ±0,21
ППІМ, мм ²	42,08 ±0,17	43,91 ±0,12*	40,61 ±0,16	43,44 ±0,13*	38,81 ±0,12	44,54 ±0,13*
ДМВ, мкм	17,82 ±0,22	18,33 ±0,19	17,55 ±0,17	18,31 ±0,11*	17,02 ±0,21	18,26 ±0,22*
ШЕ, мкм	4,23 ±0,13	4,41 ±0,12	4,37 ±0,11	4,64 ±0,12	4,41 ±0,11	4,85 ±0,15*
Співвідн. І	0,237 ±0,006	0,240 ±0,007	0,249 ±0,006	0,253 ±0,004	0,259 ±0,008	0,266 ±0,005
ШП, мкм	37,01 ±0,26	38,10 ±0,28*	37,29 ±0,37	39,16 ±0,32*	37,55 ±0,31	40,21 ±0,19*
ППІВ, мкм ²	249,41 ±1,02	264,03 ±1,03*	241,91 ±1,16	263,36 ±1,01*	227,52 ±1,04	262,09 ±1,02*
КЯМ	152,41 ±1,26	151,65 ±1,04	149,11 ±0,94	145,05 ±1,41*	147,46 ±1,16	141,19 ±1,07*

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.8

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 1, (M±m), n=6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	7,01 ±0,12	6,86 ±0,15	7,09 ±0,22	6,77 ±0,23	7,12 ±0,21	6,54 ±0,18*
ДВ, мкм	23,44 ±0,22	23,78 ±0,21	23,46 ±0,24	24,23 ±0,23	23,46 ±0,19	25,13 ±0,29*
ДА, мкм	17,37 ±0,21	17,23 ±0,19	17,33 ±0,20	16,99 ±0,21	17,29 ±0,19	16,67 ±0,28
АВК	0,741 ±0,012	0,724 ±0,016	0,738 ±0,011	0,701 ±0,009	0,736 ±0,015	0,663 ±0,011*
ДМФ, нм	764,49 ±5,89	755,16 ±6,08	763,78 ±5,33	744,76 ±6,47	763,72 ±7,03	727,90 ±6,21*
КДЯМ, мкм	3,25 ±0,11	3,29 ±0,12	3,21 ±0,09	3,32 ±0,15	3,19 ±0,12	3,37 ±0,18
ДДЯМ, мкм	4,37 ±0,14	4,43 ±0,12	4,35 ±0,13	4,54 ±0,11	4,32 ±0,09	4,58 ±0,12
ПЯМ, мкм ²	11,16 ±0,12	11,47 ±0,25	10,97 ±0,12	11,86 ±0,25*	10,82 ±0,21	12,14 ±0,16*
ОЯМ, мкм ³	24,17 ±0,33	25,18 ±0,39	23,47 ±0,40	26,28 ±0,33*	23,02 ±0,32	27,28 ±0,21*
КДМ, мкм	0,71 ±0,006	0,72 ±0,005	0,71 ±0,009	0,73 ±0,010	0,71 ±0,008	0,74 ±0,007*
ДДМ, мкм	4,11 ±0,09	4,18 ±0,11	4,02 ±0,11	4,18 ±0,14	3,99 ±0,13	4,26 ±0,11
ПМ, мкм ²	2,29 ±0,06	2,38 ±0,07	2,24 ±0,07	2,41 ±0,08	2,23 ±0,07	2,51 ±0,08*
ОМ, мкм ³	1,09 ±0,02	1,15 ±0,03	1,06 ±0,03	1,18 ±0,03*	1,05 ±0,03	1,25 ±0,02*

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.9

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 1, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	2,69 ±0,03	3,02 ±0,03*	2,71 ±0,03	3,26 ±0,03*	2,74 ±0,03	3,65 ±0,03*
Цинк, мкг/г	21,17 ±0,12	22,90 ±0,21*	20,99 ±0,22	23,11 ±0,32*	21,13 ±0,19	23,91 ±0,19*
Свинець, мкг/г	0,234 ±0,001	0,235 ±0,001	0,239 ±0,002	0,239 ±0,002	0,247 ±0,003	0,248 ±0,003
Залізо, мкг/г	33,41 ±0,29	37,28 ±0,31*	33,39 ±0,36	39,54 ±0,35*	33,48 ±0,33	41,61 ±0,29*
Марганець, мкг/г	0,956 ±0,002	0,898 ±0,002*	0,951 ±0,003	0,884 ±0,003*	0,950 ±0,002	0,866 ±0,003*
Хром, мкг/г	0,0234 ±0,0001	0,0236 ±0,0002	0,0241 ±0,0004	0,0243 ±0,0004	0,0241 ±0,0002	0,0242 ±0,0002

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.10

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса щура, г	165,43 ±2,11	164,63 ±2,51	199,18 ±3,71	197,31 ±3,37	232,34 ±3,59	229,36 ±3,19
АММ, г	2,87 ±0,01	2,85 ±0,02	3,11 ±0,01	3,08 ±0,01	3,43 ±0,02	3,36 ±0,01*
ВММ	1,73 ±0,01	1,74 ±0,02	1,56 ±0,01	1,56 ±0,02	1,48 ±0,01	1,46 ±0,02
АОМ, см ³	0,338 ±0,005	0,354 ±0,004	0,371 ±0,005	0,406 ±0,006*	0,422 ±0,006	0,491 ±0,006*
ЩМ, г/см ³	8,47 ±0,13	8,07 ±0,13	8,36 ±0,10	7,56 ±0,12*	8,12 ±0,09	6,83 ±0,22*
ДМЧ, мм	22,29 ±0,33	22,24 ±0,27	24,73 ±0,41	24,53 ±0,31	26,12 ±0,35	25,81 ±0,39
ДМСЧ, мм	6,12 ±0,13	6,29 ±0,14	6,51 ±0,18	6,83 ±0,11	6,74 ±0,14	7,28 ±0,16*
ППІМ, мм ²	29,42 ±0,14	31,08 ±0,16*	33,29 ±0,12	36,68 ±0,15*	35,57 ±0,13	41,62 ±0,15*
ДМВ, мкм	13,78 ±0,21	13,93 ±0,21	15,03 ±0,19	15,51 ±0,17	16,44 ±0,2	17,57 ±0,23*
ШЕ, мкм	2,34 ±0,11	2,42 ±0,14	2,42 ±0,10	2,59 ±0,15	2,49 ±0,13	2,85 ±0,12*
Співвідн. І	0,169 ±0,008	0,173 ±0,007	0,161 ±0,007	0,167 ±0,005	0,151 ±0,006	0,162 ±0,008
ШП, мкм	27,13 ±0,31	27,91 ±0,22	29,34 ±0,26	30,85 ±0,25*	32,47 ±0,34	35,71 ±0,31*
ПППВ, мкм ²	149,13 ±1,03	152,41 ±1,07	177,42 ±0,95	188,89 ±1,23*	212,27 ±0,97	242,53 ±1,01*
КЯМ	128,21 ±1,12	128,03 ±1,11	137,29 ±1,27	136,28 ±1,17	142,61 ±1,43	140,87 ±1,06

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.11

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	5,01 ±0,19	4,69 ±0,21	5,37 ±0,11	4,86 ±0,17*	5,86 ±0,22	5,18 ±0,18*
ДВ, мкм	19,19 ±0,29	19,99* ±0,24	19,85 ±0,31	21,26 ±0,32*	20,73 ±0,22	22,71 ±0,33*
ДА, мкм	16,11 ±0,22	15,91 ±0,19	16,24 ±0,21	15,84 ±0,27	16,57 ±0,20	16,01 ±0,24
АВК	0,839 ±0,009	0,796 ±0,011	0,818 ±0,012	0,745 ±0,010*	0,799 ±0,008	0,705* ±0,007
ДМФ, нм	732,18 ±5,62	726,76 ±5,98	743,39 ±6,19	728,67 ±5,86*	753,11 ±6,53	726,90 ±6,04*
КДЯМ, мкм	2,96 ±0,09	3,02 ±0,12	3,01 ±0,08	3,11 ±0,11	3,13 ±0,10	3,31 ±0,13*
ДДЯМ, мкм	4,11 ±0,11	4,18 ±0,14	4,19 ±0,12	4,32 ±0,08	4,28 ±0,09	4,49 ±0,08*
ПЯМ, мкм ²	9,55 ±0,14	9,93 ±0,18	9,91 ±0,12	10,59 ±0,12*	10,52 ±0,21	11,71 ±0,19*
ОЯМ, мкм ³	18,85 ±0,19	20,01 ±0,24*	19,88 ±0,25	22,01 ±0,26*	21,95 ±0,28	25,87 ±0,34*
КДМ, мкм	0,53 ±0,008	0,53 ±0,007	0,55 ±0,010	0,56 ±0,011	0,59 ±0,012	0,61 ±0,007
ДДМ, мкм	2,71 ±0,09	2,76 ±0,11	2,99 ±0,14	3,11 ±0,08	3,14 ±0,13	3,36 ±0,11*
ПМ, мкм ²	1,12 ±0,07	1,17 ±0,07	1,29 ±0,08	1,39 ±0,06*	1,46 ±0,07	1,63 ±0,09*
ОМ, мкм ³	0,398 ±0,024	0,421 ±0,024	0,474 ±0,024	0,524 ±0,031*	0,572 ±0,027	0,671 ±0,029*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.12

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n=6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	1,74 $\pm 0,02$	1,95 $\pm 0,02^*$	1,77 $\pm 0,01$	2,12 $\pm 0,01^*$	1,76 $\pm 0,03$	2,24 $\pm 0,02^*$
Цинк, мкг/г	24,89 $\pm 0,14$	23,58 $\pm 0,15^*$	24,88 $\pm 0,17$	23,36 $\pm 0,29^*$	24,88 $\pm 0,09$	23,11 $\pm 0,14^*$
Свинець, мкг/г	0,163 $\pm 0,001$	0,186 $\pm 0,003^*$	0,163 $\pm 0,001$	0,203 $\pm 0,005^*$	0,164 $\pm 0,002$	0,228 $\pm 0,009^*$
Залізо, мкг/г	33,17 $\pm 0,26$	32,79 $\pm 0,36$	33,21 $\pm 0,21$	31,69 $\pm 0,20^*$	33,49 $\pm 0,21$	31,42 $\pm 0,12^*$
Марганець, мкг/г	0,743 $\pm 0,003$	0,789 $\pm 0,002^*$	0,763 $\pm 0,003$	0,841 $\pm 0,002^*$	0,753 $\pm 0,002$	0,891 $\pm 0,001^*$
Хром, мкг/г	0,0154 $\pm 0,0002$	0,0154 $\pm 0,0003$	0,0157 $\pm 0,0003$	0,0158 $\pm 0,0001$	0,0155 $\pm 0,0002$	0,0154 $\pm 0,0004$

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.13

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса щура, г	257,12 ±4,02	255,60 ±3,92	277,73 ±4,11	274,64 ±4,22	282,59 ±5,36	278,52 ±4,56
АММ, г	3,77 ±0,02	3,73 ±0,01	3,91 ±0,02	3,87 ±0,02	4,12 ±0,01	3,98 ±0,02*
ВММ	1,46 ±0,01	1,46 ±0,02	1,41 ±0,01	1,41 ±0,02	1,46 ±0,01	1,43 ±0,02
АОМ, см ³	0,463 ±0,006	0,488 ±0,005	0,524 ±0,004	0,575 ±0,004*	0,658 ±0,006	0,776 ±0,007*
ЩМ, г/см ³	8,14 ±0,11	7,66 ±0,12	7,46 ±0,11	6,72 ±0,13*	6,26 ±0,10	5,14 ±0,13*
ДМЧ, мм	27,98 ±0,37	27,89 ±0,35	29,11 ±0,39	28,84 ±0,31	31,21 ±0,38	30,82 ±0,29
ДМСЧ, мм	7,12 ±0,17	7,39 ±0,13	7,56 ±0,16	8,01 ±0,18	8,44 ±0,14	9,30 ±0,21*
ППІМ, мм ²	39,82 ±0,29	42,85 ±0,20*	44,89 ±0,19	50,32 ±0,24*	55,95 ±0,32	67,93 ±0,37*
ДМВ, мкм	17,61 ±0,24	18,01 ±0,24	18,33 ±0,26	19,07 ±0,21	19,05 ±0,27	20,53 ±0,19*
ШЕ, мкм	2,77 ±0,12	2,90 ±0,14	2,89 ±0,11	3,18 ±0,08*	3,01 ±0,09	3,56 ±0,11*
Співвідн. І	0,157 ±0,002	0,161 ±0,003	0,157 ±0,001	0,166 ±0,002*	0,158 ±0,003	0,173 ±0,002*
ШП, мкм	33,12 ±0,34	34,13 ±0,22*	34, 21 ±0,26	36,56 ±0,29*	34,99 ±0,31	38,79 ±0,21*
ППІВ, мкм ²	243,56 ±1,12	254,49 ±1,29*	263,81 ±1,24	285,85 ±1,41*	285,02 ±1,07	331,03 ±1,16*
КЯМ	144,33 ±1,14	144,33 ±1,43	151,65 ±1,53	150,55 ±1,27	158,18 ±1,41	157,15 ±1,34

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.14

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	6,11 ±0,13	5,70 ±0,22	6,43 ±0,16	5,77 ±0,12*	6,87 ±0,25	5,95 ±0,11*
ДВ, мкм	21,88 ±0,23	23,02 ±0,28*	22,57 ±0,28	24,48 ±0,33*	22,87 ±0,32	25,26 ±0,27*
ДА, мкм	16,98 ±0,24	16,64 ±0,23	17,24 ±0,22	16,62 ±0,26	17,47 ±0,29	16,51 ±0,17*
АВК	0,776 ±0,01	0,723 ±0,011	0,763 ±0,009	0,678 ±0,014*	0,763 ±0,011	0,653 ±0,012*
ДМФ, нм	761,63 ±5,25	752,56 ±5,07	769,97 ±5,92	751,64 ±6,19*	777,31 ±6,25	746,13 ±5,46*
КДЯМ, мкм	3,31 ±0,1	3,38 ±0,16	3,48 ±0,1	3,61 ±0,11	3,64 ±0,08	3,86 ±0,14*
ДДЯМ, мкм	4,36 ±0,12	4,45 ±0,19	4,48 ±0,11	4,66 ±0,09	4,58 ±0,12	4,86 ±0,10*
ПЯМ, мкм ²	11,34 ±0,15	11,85 ±0,16	12,25 ±0,13	13,26 ±0,19*	13,09 ±0,19	14,78 ±0,22*
ОЯМ, мкм ³	25,01 ±0,23	26,76 ±0,32*	28,41 ±0,34	31,98 ±0,26*	31,77 ±0,29	38,07 ±0,29*
КДМ, мкм	0,66 ±0,005	0,67 ±0,007	0,73 ±0,011	0,75 ±0,016	0,77 ±0,01	0,80 ±0,008*
ДДМ, мкм	3,53 ±0,08	3,61 ±0,09	3,87 ±0,12	4,05 ±0,07*	4,54 ±0,12	4,91 ±0,17*
ПМ, мкм ²	1,83 ±0,07	1,90 ±0,06	2,22 ±0,08	2,41 ±0,05*	2,75 ±0,08	3,11 ±0,07*
ОМ, мкм ³	0,805 ±0,029	0,852 ±0,032	1,079 ±0,031	1,21 ±0,04*	1,409 ±0,02	1,67 ±0,03*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.15

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	1,75 ±0,02	1,92 ±0,03*	1,77 ±0,03	2,03 ±0,02*	1,77 ±0,03	2,11 ±0,03*
Цинк, мкг/г	24,48 ±0,14	24,13 ±0,21	24,67 ±0,17	23,65 ±0,19*	24,42 ±0,09	23,15 ±0,13*
Свинець, мкг/г	0,172 ±0,001	0,191 ±0,001*	0,172 ±0,002	0,204 ±0,002*	0,172 ±0,004	0,221 ±0,003*
Залізо, мкг/г	33,19 ±0,32	33,10 ±0,32	33,29 ±0,31	33,15 ±0,26	33,34 ±0,22	33,14 ±0,28
Марганець, мкг/г	0,782 ±0,002	0,825 ±0,002*	0,793 ±0,003	0,853 ±0,002*	0,794 ±0,003	0,882 ±0,002*
Хром, мкг/г	0,0153 ±0,0002	0,0153 ±0,0002	0,0154 ±0,0004	0,0154 ±0,0003	0,0148 ±0,0003	0,0150 ±0,0002

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.16

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса щура, г	297,21 ±4,89	294,56 ±4,94	304,57 ±5,11	299,72 ±4,77	303,88 ±4,97	289,16 ±4,11*
АММ, г	3,69 ±0,02	3,65 ±0,01	3,67 ±0,02	3,59 ±0,02*	3,61 ±0,02	3,51 ±0,02*
ВММ	1,24 ±0,02	1,24 ±0,02	1,21 ±0,01	1,20 ±0,02	1,19 ±0,01	1,18 ±0,02
АОМ, см ³	0,495 ±0,007	0,531 ±0,005*	0,472 ±0,006	0,551 ±0,007*	0,423 ±0,005	0,535 ±0,008*
ЩМ, г/см ³	7,45 ±0,12	6,90 ±0,12*	7,77 ±0,11	6,54 ±0,12*	8,53 ±0,14	6,56 ±0,16*
ДМЧ, мм	30,73 ±0,34	30,19 ±0,31	30,08 ±0,36	29,14 ±0,37	29,87 ±0,31	27,78 ±0,29*
ДМСЧ, мм	7,32 ±0,17	7,63 ±0,13	7,19 ±0,15	7,78 ±0,20*	7,03 ±0,19	8,04 ±0,24*
ППІМ, мм ²	42,08 ±0,17	45,75 ±0,23*	40,61 ±0,16	47,53 ±0,20*	38,81 ±0,12	50,73 ±0,29*
ДМВ, мкм	17,82 ±0,22	18,34 ±0,16	17,55 ±0,17	18,64 ±0,12*	17,02 ±0,21	18,75 ±0,19*
ШЕ, мкм	4,23 ±0,13	4,53 ±0,09	4,37 ±0,11	5,01 ±0,11*	4,41 ±0,11	5,33 ±0,14*
Співвідн. І	0,237 ±0,006	0,247 ±0,006	0,249 ±0,006	0,268 ±0,005*	0,259 ±0,008	0,284 ±0,009*
ШП, мкм	37,01 ±0,26	38,56 ±0,21*	37,29 ±0,37	40,54 ±0,24*	37,55 ±0,31	42,92 ±0,37*
ППІВ, мкм ²	249,41 ±1,02	264,44 ±1,03*	241,91 ±1,16	273,04 ±1,01*	227,52 ±1,04	276,14 ±1,03*
КЯМ	152,41 ±1,26	150,36 ±1,13	149,11 ±0,94	144,57 ±0,1	147,46 ±1,16	140,16 ±1,26*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.17

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	7,01 ±0,12	6,57 ±0,19	7,09 ±0,22	6,42 ±0,21*	7,12 ±0,21	6,20 ±0,19*
ДВ, мкм	23,44 ±0,22	24,83 ±0,16*	23,46 ±0,24	25,62 ±0,31*	23,46 ±0,19	26,17 ±0,41*
ДА, мкм	17,37 ±0,21	16,95 ±0,14	17,33 ±0,20	16,51 ±0,22	17,29 ±0,19	16,01 ±0,23*
АВК	0,741 ±0,012	0,682 ±0,021*	0,738 ±0,011	0,644 ±0,019*	0,736 ±0,015	0,611 ±0,014*
ДМФ, нм	764,49 ±5,89	753,48 ±5,20	763,78 ±5,33	740,02 ±6,11*	763,72 ±7,03	723,85 ±6,48*
КДЯМ, мкм	3,25 ±0,11	3,33 ±0,14	3,21 ±0,09	3,32 ±0,12	3,19 ±0,12	3,38 ±0,17*
ДДЯМ, мкм	4,37 ±0,14	4,46 ±0,09	4,35 ±0,13	4,51 ±0,12	4,32 ±0,09	4,58 ±0,14*
ПЯМ, мкм ²	11,16 ±0,12	11,68 ±0,21	10,97 ±0,12	11,80 ±0,31*	10,82 ±0,21	12,18 ±0,25*
ОЯМ, мкм ³	24,17 ±0,33	25,92 ±0,29*	23,47 ±0,40	26,14 ±0,24*	23,02 ±0,32	27,47 ±0,19*
КДМ, мкм	0,71 ±0,006	0,71 ±0,006	0,71 ±0,009	0,73 ±0,008	0,71 ±0,008	0,74 ±0,005*
ДДМ, мкм	4,11 ±0,09	4,21 ±0,12	4,02 ±0,11	4,22 ±0,11*	3,99 ±0,13	4,36 ±0,06*
ПМ, мкм ²	2,29 ±0,06	2,38 ±0,06	2,24 ±0,07	2,43 ±0,07*	2,23 ±0,07	2,55 ±0,05*
ОМ, мкм ³	1,09 ±0,02	1,14 ±0,02	1,06 ±0,03	1,18 ±0,03*	1,05 ±0,03	1,26 ±0,02*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.18

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 2, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	2,69 ±0,03	3,01 ±0,01*	2,71 ±0,03	3,20 ±0,03*	2,74 ±0,03	3,46 ±0,04*
Цинк, мкг/г	21,17 ±0,12	20,84 ±0,30	20,99 ±0,22	20,16 ±0,22*	21,13 ±0,19	19,84 ±0,19*
Свинець, мкг/г	0,234 ±0,001	0,263 ±0,001*	0,239 ±0,002	0,298 ±0,002*	0,247 ±0,003	0,326 ±0,002*
Залізо, мкг/г	33,41 ±0,29	32,99 ±0,22	33,39 ±0,36	31,99 ±0,25*	33,48 ±0,33	31,74 ±0,26*
Марганець, мкг/г	0,956 ±0,002	1,01 ±0,002*	0,951 ±0,003	1,02 ±0,002*	0,950 ±0,002	1,11 ±0,004*
Хром, мкг/г	0,0234 ±0,0001	0,0235 ±0,0002	0,0241 ±0,0004	0,0241 ±0,0003	0,0241 ±0,0002	0,0241 ±0,0002

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.19

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 3, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса щура, г	165,43 ±2,11	164,78 ±2,48	199,18 ±3,71	189,31 ±3,26	232,34 ±3,59	224,36 ±3,21
АММ, г	2,87 ±0,01	2,84 ±0,01	3,11 ±0,01	3,05 ±0,01*	3,43 ±0,02	3,34 ±0,01*
ВММ	1,73 ±0,01	1,72 ±0,03	1,56 ±0,01	1,54 ±0,01	1,48 ±0,01	1,46 ±0,01
АОМ, см ³	0,338 ±0,005	0,359 ±0,004	0,371 ±0,005	0,415 ±0,005*	0,422 ±0,006	0,508 ±0,006*
ЩМ, г/см ³	8,47 ±0,13	7,92 ±0,13*	8,36 ±0,10	7,35 ±0,09*	8,12 ±0,09	6,57 ±0,08*
ДМЧ, мм	22,29 ±0,33	22,12 ±0,22	24,73 ±0,41	24,18 ±0,38	26,12 ±0,35	25,33 ±0,32
ДМСЧ, мм	6,12 ±0,13	6,31 ±0,13	6,51 ±0,18	6,91 ±0,13*	6,74 ±0,14	7,43 ±0,13*
ППІМ, мм ²	29,42 ±0,14	31,29 ±0,15*	33,29 ±0,12	37,53 ±0,13*	35,57 ±0,13	43,30 ±0,13*
ДМВ, мкм	13,78 ±0,21	14,37 ±0,23	15,03 ±0,19	15,89 ±0,19*	16,44 ±0,2	17,83 ±0,24*
ШЕ, мкм	2,34 ±0,11	2,53 ±0,13*	2,42 ±0,10	2,75 ±0,12*	2,49 ±0,13	2,89 ±0,14*
Співвідн. І	0,169 ±0,008	0,176 ±0,006	0,161 ±0,007	0,173 ±0,008*	0,151 ±0,006	0,162 ±0,007*
ШП, мкм	27,13 ±0,31	28,51 ±0,26*	29,34 ±0,26	31,78 ±0,24*	32,47 ±0,34	36,21 ±0,27*
ППІВ, мкм ²	149,13 ±1,03	162,21 ±1,06*	177,42 ±0,95	198,34 ±1,33*	212,27 ±0,97	249,85 ±1,02*
КЯМ	128,21 ±1,12	127,09 ±1,13	137,29 ±1,27	135,62 ±1,14	142,61 ±1,43	140,79 ±1,22

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.20

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 3, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	5,01 ±0,19	4,61 ±0,19	5,37 ±0,11	4,77 ±0,14*	5,86 ±0,22	5,02 ±0,19*
ДВ, мкм	19,19 ±0,29	20,19 ±0,27*	19,85 ±0,31	21,52 ±0,29*	20,73 ±0,22	22,98 ±0,25*
ДА, мкм	16,11 ±0,22	15,80 ±0,17	16,24 ±0,21	15,62 ±0,24	16,57 ±0,20	15,57 ±0,21*
АВК	0,839 ±0,009	0,782 ±0,014*	0,818 ±0,012	0,726 ±0,011*	0,799 ±0,008	0,677* ±0,009
ДМФ, нм	732,18 ±5,62	722,81 ±6,02	743,39 ±6,19	724,13 ±5,32*	753,11 ±6,53	719,89 ±6,39*
КДЯМ, мкм	2,96 ±0,09	3,04 ±0,15	3,01 ±0,08	3,14 ±0,12	3,13 ±0,10	3,33 ±0,12*
ДДЯМ, мкм	4,11 ±0,11	4,22 ±0,12	4,19 ±0,12	4,36 ±0,11	4,28 ±0,09	4,54 ±0,07*
ПЯМ, мкм ²	9,55 ±0,14	10,10 ±0,16	9,91 ±0,12	10,79 ±0,12*	10,52 ±0,21	11,90 ±0,16*
ОЯМ, мкм ³	18,85 ±0,19	20,55 ±0,26*	19,88 ±0,25	22,65 ±0,29*	21,95 ±0,28	26,43 ±0,31*
КДМ, мкм	0,53 ±0,008	0,54 ±0,009	0,55 ±0,010	0,57 ±0,009*	0,59 ±0,012	0,62 ±0,008*
ДДМ, мкм	2,71 ±0,09	2,81 ±0,09	2,99 ±0,14	3,17 ±0,07*	3,14 ±0,13	3,41 ±0,12*
ПМ, мкм ²	1,12 ±0,07	1,19 ±0,06	1,29 ±0,08	1,43 ±0,05*	1,46 ±0,07	1,67 ±0,73*
ОМ, мкм ³	0,398 ±0,024	0,43 ±0,01*	0,474 ±0,024	0,55 ±0,02*	0,572 ±0,027	0,71 ±0,03*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.21

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 3, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	1,74 ±0,02	1,73 ±0,02	1,77 ±0,01	1,69 ±0,02*	1,76 ±0,03	1,62 ±0,01*
Цинк, мкг/г	24,89 ±0,14	27,81 ±0,12*	24,88 ±0,17	29,68 ±0,26*	24,88 ±0,09	32,63 ±0,21*
Свинець, мкг/г	0,163 ±0,001	0,211 ±0,002*	0,163 ±0,001	0,261 ±0,004*	0,164 ±0,002	0,364 ±0,009*
Залізо, мкг/г	33,17 ±0,26	32,25 ±0,09*	33,21 ±0,21	31,42 ±0,19*	33,49 ±0,21	31,86 ±0,13*
Марганець, мкг/г	0,743 ±0,003	0,746 ±0,002	0,763 ±0,003	0,765 ±0,002	0,753 ±0,002	0,755 ±0,003
Хром, мкг/г	0,0154 ±0,0002	0,0184 ±0,0001*	0,0157 ±0,0003	0,0235 ±0,0002*	0,0155 ±0,0002	0,0315 ±0,0004*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.22

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 3, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	Контроль	дослід
Маса щура, г	257,12 ±4,02	255,08 ±4,16	277,73 ±4,11	265,89 ±4,54	282,59 ±5,36	268,34 ±3,48*
АММ, г	3,77 ±0,02	3,74 ±0,02	3,91 ±0,02	3,87 ±0,02	4,12 ±0,01	4,01 ±0,01*
ВММ	1,46 ±0,01	1,47 ±0,02	1,41 ±0,01	1,40 ±0,02	1,46 ±0,01	1,44 ±0,02
АОМ, см ³	0,463 ±0,006	0,498 ±0,007*	0,524 ±0,004	0,591 ±0,006*	0,658 ±0,006	0,802 ±0,006*
ЩМ, г/см ³	8,14 ±0,11	7,53 ±0,13*	7,46 ±0,11	6,56 ±0,11*	6,26 ±0,10	4,99 ±0,14*
ДМЧ, мм	27,98 ±0,37	27,74 ±0,26	29,11 ±0,39	28,55 ±0,32	31,21 ±0,38	30,24 ±0,21
ДМСЧ, мм	7,12 ±0,17	7,42 ±0,14	7,56 ±0,16	8,06 ±0,11*	8,44 ±0,14	9,49 ±0,19*
ППІМ, мм ²	39,82 ±0,29	43,28 ±0,22*	44,89 ±0,19	51,06 ±0,30*	55,95 ±0,32	70,78 ±0,40*
ДМВ, мкм	17,61 ±0,24	18,35 ±0,18*	18,33 ±0,26	19,57 ±0,23*	19,05 ±0,27	20,99 ±0,17*
ШЕ, мкм	2,77 ±0,12	2,96 ±0,13*	2,89 ±0,11	3,31 ±0,09*	3,01 ±0,09	3,61 ±0,12*
Співвідн. І	0,157 ±0,002	0,161 ±0,004	0,157 ±0,001	0,168 ±0,002*	0,158 ±0,003	0,172 ±0,002*
ШП, мкм	33,12 ±0,34	34,51 ±0,29*	34, 21 ±0,26	36,65 ±0,22*	34,99 ±0,31	39,03 ±0,28*
ППІВ, мкм ²	243,56 ±1,12	264,71 ±1,38*	263,81 ±1,24	300,88 ±1,25*	285,02 ±1,07	346,25 ±1,21*
КЯМ	144,33 ±1,14	141,94 ±1,26	151,65 ±1,53	148,57 ±1,43	158,18 ±1,41	153,95 ±1,52

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.23

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 3, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	6,11 ±0,13	5,62 ±0,18*	6,43 ±0,16	5,65 ±0,14*	6,87 ±0,25	5,86 ±0,19*
ДВ, мкм	21,88 ±0,23	23,23 ±0,24*	22,57 ±0,28	24,62 ±0,36*	22,87 ±0,32	25,38 ±0,19*
ДА, мкм	16,98 ±0,24	16,63 ±0,16	17,24 ±0,22	16,62 ±0,33	17,47 ±0,29	16,44 ±0,21*
АВК	0,776 ±0,01	0,715 ±0,014*	0,763 ±0,009	0,675 ±0,012*	0,763 ±0,011	0,647 ±0,016*
ДМФ, нм	761,63 ±5,25	752,41 ±5,92	769,97 ±5,92	751,25 ±5,03*	777,31 ±6,25	745,12 ±5,81*
КДЯМ, мкм	3,31 ±0,1	3,38 ±0,12	3,48 ±0,1	3,61 ±0,14	3,64 ±0,08	3,86 ±0,19*
ДДЯМ, мкм	4,36 ±0,12	4,46 ±0,21	4,48 ±0,11	4,69 ±0,13	4,58 ±0,12	4,91 ±0,11*
ПЯМ, мкм ²	11,34 ±0,15	11,85 ±0,17	12,25 ±0,13	13,29 ±0,18*	13,09 ±0,19	13,87 ±0,19*
ОЯМ, мкм ³	25,01 ±0,23	26,71 ±0,25*	28,41 ±0,34	31,93 ±0,29*	31,77 ±0,29	38,28 ±0,34*
КДМ, мкм	0,66 ±0,005	0,67 ±0,009	0,73 ±0,011	0,76 ±0,013	0,77 ±0,01	0,81 ±0,009*
ДДМ, мкм	3,53 ±0,08	3,63 ±0,08	3,87 ±0,12	4,06 ±0,11*	4,54 ±0,12	4,85 ±0,12*
ПМ, мкм ²	1,83 ±0,07	1,91 ±0,05	2,22 ±0,08	2,41 ±0,06*	2,75 ±0,08	3,08 ±0,06*
ОМ, мкм ³	0,805 ±0,029	0,855 ±0,041*	1,079 ±0,031	1,21 ±0,038*	1,409 ±0,02	1,66 ±0,025*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.24

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 3, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Мідь, мкг/г	1,75 ±0,02	1,69 ±0,02*	1,77 ±0,03	1,68 ±0,02*	1,77 ±0,03	1,58 ±0,03*
Цинк, мкг/г	24,48 ±0,14	27,05 ±0,19*	24,67 ±0,17	28,99 ±0,21*	24,42 ±0,09	30,93 ±0,16*
Свинець, мкг/г	0,172 ±0,001	0,209 ±0,001*	0,172 ±0,002	0,258 ±0,002*	0,172 ±0,004	0,307 ±0,003*
Залізо, мкг/г	33,19 ±0,32	32,94 ±0,29	33,29 ±0,31	32,99 ±0,30	33,34 ±0,22	32,86 ±0,24
Марганець, мкг/г	0,782 ±0,002	0,781 ±0,002	0,793 ±0,003	0,786 ±0,002	0,794 ±0,003	0,784 ±0,003
Хром, мкг/г	0,0153 ±0,0002	0,0177 ±0,0002*	0,0154 ±0,0004	0,0202 ±0,0003*	0,0148 ±0,0003	0,0244 ±0,0003*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.25

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 3, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Маса щура, г	297,21 ±4,89	294,74 ±4,02	304,57 ±5,11	295,51 ±4,62	303,88 ±4,97	288,29 ±3,87*
АММ, г	3,69 ±0,02	3,62 ±0,01*	3,67 ±0,02	3,55 ±0,02*	3,61 ±0,02	3,45 ±0,02*
ВММ	1,24 ±0,02	1,23 ±0,01	1,21 ±0,01	1,19 ±0,02	1,19 ±0,01	1,16 ±0,02
АОМ, см ³	0,495 ±0,007	0,551 ±0,006*	0,472 ±0,006	0,563 ±0,006*	0,423 ±0,005	0,554 ±0,006*
ЩМ, г/см ³	7,45 ±0,12	6,57 ±0,14*	7,77 ±0,11	6,31 ±0,20*	8,53 ±0,14	6,22 ±0,11*
ДМЧ, мм	30,73 ±0,34	29,98 ±0,25	30,08 ±0,36	28,69 ±0,26*	29,87 ±0,31	27,42 ±0,26*
ДМСЧ, мм	7,32 ±0,17	7,89 ±0,16*	7,19 ±0,15	7,92 ±0,19*	7,03 ±0,19	8,19 ±0,20*
ППІМ, мм ²	42,08 ±0,17	48,93 ±0,20*	40,61 ±0,16	49,33 ±0,19*	38,81 ±0,12	52,65 ±0,21*
ДМВ, мкм	17,82 ±0,22	18,73 ±0,13*	17,55 ±0,17	18,83 ±0,14*	17,02 ±0,21	19,13 ±0,22*
ШЕ, мкм	4,23 ±0,13	4,71 ±0,11*	4,37 ±0,11	5,12 ±0,13*	4,41 ±0,11	5,38 ±0,18*
Співвідн. І	0,237 ±0,006	0,251 ±0,007*	0,249 ±0,006	0,272 ±0,008*	0,259 ±0,008	0,281 ±0,007*
ШП, мкм	37,01 ±0,26	39,31 ±0,17*	37,29 ±0,37	41,10 ±0,28*	37,55 ±0,31	43,71 ±0,32*
ППІВ, мкм ²	249,41 ±1,02	275,81 ±1,05*	241,91 ±1,16	278,67 ±1,02*	227,52 ±1,04	287,49 ±1,03*
КЯМ	152,41 ±1,26	147,67 ±1,15	149,11 ±0,94	141,72 ±0,12*	147,46 ±1,16	138,36 ±1,19*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.26

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 3, (M±m), n=6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДК, мкм	7,01 ±0,12	6,43 ±0,16*	7,09 ±0,22	6,34 ±0,18*	7,12 ±0,21	6,12 ±0,15*
ДВ, мкм	23,44 ±0,22	25,07 ±0,15*	23,46 ±0,24	25,86 ±0,28*	23,46 ±0,19	26,67 ±0,32*
ДА, мкм	17,37 ±0,21	16,71 ±0,17	17,33 ±0,20	16,21 ±0,19*	17,29 ±0,19	15,71 ±0,21*
АВК	0,741 ±0,012	0,666 ±0,019*	0,738 ±0,011	0,626 ±0,021*	0,736 ±0,015	0,589 ±0,024*
ДМФ, нм	764,49 ±5,89	749,35 ±5,57	763,78 ±5,33	736,36 ±5,92*	763,72 ±7,03	717,59 ±6,03*
КДЯМ, мкм	3,25 ±0,11	3,34 ±0,12	3,21 ±0,09	3,36 ±0,13*	3,19 ±0,12	3,41 ±0,18*
ДДЯМ, мкм	4,37 ±0,14	4,47 ±0,11	4,35 ±0,13	4,54 ±0,13*	4,32 ±0,09	4,63 ±0,12*
ПЯМ, мкм ²	11,16 ±0,12	11,76 ±0,20	10,97 ±0,12	12,01 ±0,29*	10,82 ±0,21	12,38 ±0,28*
ОЯМ, мкм ³	24,17 ±0,33	26,23 ±0,19*	23,47 ±0,40	26,93 ±0,18*	23,02 ±0,32	28,09 ±0,35*
КДМ, мкм	0,71 ±0,006	0,72 ±0,005	0,71 ±0,009	0,73 ±0,004*	0,71 ±0,008	0,74 ±0,003*
ДДМ, мкм	4,11 ±0,09	4,23 ±0,11*	4,02 ±0,11	4,31 ±0,12*	3,99 ±0,13	4,41 ±0,05*
ПМ, мкм ²	2,29 ±0,06	2,39 ±0,06	2,24 ±0,07	2,49 ±0,06*	2,23 ±0,07	2,59 ±0,06*
ОМ, мкм ³	1,09 ±0,02	1,15 ±0,02*	1,06 ±0,03	1,23 ±0,02*	1,05 ±0,03	1,29 ±0,02*

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.27

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 3, (M±m), n=6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Мідь, мкг/г	2,69 ±0,03	2,66 ±0,02	2,71 ±0,03	2,58 ±0,03*	2,74 ±0,03	2,47 ±0,03*
Цинк, мкг/г	21,17 ±0,12	21,59 ±0,34	20,99 ±0,22	22,88 ±0,17*	21,13 ±0,19	24,96 ±0,30*
Свинець, мкг/г	0,234 ±0,001	0,296 ±0,001*	0,239 ±0,002	0,614 ±0,002*	0,247 ±0,003	0,503 ±0,003*
Залізо, мкг/г	33,41 ±0,29	33,78 ±0,26	33,39 ±0,36	34,46 ±0,25*	33,48 ±0,33	35,43 ±0,22*
Марганець, мкг/г	0,956 ±0,002	0,955 ±0,002	0,951 ±0,003	0,946 ±0,003	0,950 ±0,002	0,946 ±0,003
Хром, мкг/г	0,0234 ±0,0001	0,0286 ±0,0003*	0,0241 ±0,0004	0,0346 ±0,0003*	0,0241 ±0,0002	0,0447 ±0,0002*

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.28

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
Маса шура, г	165,27 ±2,51	164,78 ±2,48	198,91 ±4,14	189,31 ±3,26	231,31 ±4,07	224,36 ±3,21
АММ, г	2,86 ±0,01	2,84 ±0,01	3,09 ±0,01	3,05 ±0,01	3,41 ±0,02	3,34 ±0,01
ВММ	1,73 ±0,0114	1,72 ±0,03	1,56 ±0,0122	1,54 ±0,01	1,47 ±0,0098	1,46 ±0,01
АОМ, см ³	0,343 ±0,005	0,359 ±0,004	0,391 ±0,005*	0,415 ±0,005	0,441 ±0,006*	0,508 ±0,006
ЩМ, г/см ³	8,33 ±0,13	7,92 ±0,13	7,94 ±0,15*	7,35 ±0,09	7,73 ±0,09*	6,57 ±0,08
ДМЧ, мм	22,26 ±0,38	22,12 ±0,22	24,65 ±0,36	24,18 ±0,38	25,98 ±0,41	25,33 ±0,32
ДМСЧ, мм	6,18 ±0,13	6,31 ±0,13	6,76 ±0,16	6,91 ±0,13	6,87 ±0,12*	7,43 ±0,13
ППІМ, мм ²	30,04 ±0,15	31,29 ±0,15	35,91 ±0,16	37,53 ±0,13	37,02 ±0,13*	43,30 ±0,13
ДМВ, мкм	13,93 ±0,23	14,37 ±0,23	15,25 ±0,18	15,89 ±0,19	16,74 ±0,18*	17,83 ±0,24*
ШЕ, мкм	2,43 ±0,12	2,53 ±0,13	2,48 ±0,08*	2,75 ±0,12	2,53 ±0,11*	2,89 ±0,14
Співвідн. І	0,174 ±0,009	0,176 ±0,006	0,162 ±0,011	0,173 ±0,008	0,151 ±0,006*	0,162 ±0,007
ШП, мкм	27,87 ±0,29	28,51 ±0,26	30,38 ±0,24	31,78 ±0,24	32,91 ±0,22*	36,21 ±0,27
ППІВ, мкм ²	152,28 ±1,05	162,21 ±1,06	182,67 ±1,07*	198,34 ±1,33	220,11 ±1,09*	249,85 ±1,02
КЯМ	127,8 ±1,11	127,09 ±1,13	136,9 ±1,29	135,62 ±1,14	142,23 ±1,36	140,79 ±1,22

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.29

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (М ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
ДК, мкм	4,81 ±0,17	4,61 ±0,19	5,06 ±0,16	4,77 ±0,14	5,48 ±0,19*	5,02 ±0,19
ДВ, мкм	19,45 ±0,27	20,19 ±0,27	20,53 ±0,33	21,52 ±0,29	21,17 ±0,21*	22,98 ±0,25
ДА, мкм	16,01 ±0,24	15,80 ±0,17	16,02 ±0,19	15,62 ±0,24	16,2 ±0,21	15,57 ±0,21
АВК	0,823 ±0,011	0,782 ±0,014	0,780 ±0,019	0,726 ±0,011	0,765 ±0,009*	0,677 ±0,009
ДМФ, нм	729,67 ±6,02	722,81 ±6,02	737,53 ±7,14	724,13 ±5,32	742,86 ±6,19*	719,89 ±6,39
КДЯМ, мкм	2,98 ±0,1	3,04 ±0,15	3,05 ±0,07	3,14 ±0,12	3,21 ±0,09	3,33 ±0,12
ДДЯМ, мкм	4,13 ±0,07	4,22 ±0,12	4,22 ±0,14	4,36 ±0,11	4,36 ±0,08	4,54 ±0,07
ПЯМ, мкм ²	9,69 ±0,15	10,10 ±0,16	10,14 ±0,13	10,79 ±0,12	10,98 ±0,19*	11,90 ±0,16
ОЯМ, мкм ³	19,29 ±0,20*	20,55 ±0,26	20,64 ±0,24*	22,65 ±0,29	23,46 ±0,26*	26,43 ±0,31
КДМ, мкм	0,53 ±0,011	0,54 ±0,009	0,55 ±0,011	0,57 ±0,009	0,59 ±0,009	0,62 ±0,008
ДДМ, мкм	2,71 ±0,1	2,81 ±0,09	3,04 ±0,16	3,17 ±0,07	3,23 ±0,19	3,41 ±0,12
ПМ, мкм ²	1,14 ±0,07	1,19 ±0,06	1,32 ±0,07*	1,43 ±0,05	1,52 ±0,06*	1,67 ±0,73
ОМ, мкм ³	0,403 ±0,032*	0,43 ±0,01	0,487 ±0,023*	0,55 ±0,02	0,606 ±0,022*	0,71 ±0,03

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.30

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів молодого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
Мідь, мкг/г	1,72 ±0,03	1,73 ±0,02	1,68 ±0,02	1,69 ±0,02	1,61 ±0,03	1,62 ±0,01
Цинк, мкг/г	27,61 ±0,13	27,81 ±0,12	29,49 ±0,12	29,68 ±0,26	32,36 ±0,09	32,63 ±0,21
Свинець, мкг/г	0,208 ±0,002	0,211 ±0,002	0,259 ±0,002	0,261 ±0,004	0,363 ±0,008	0,364 ±0,009
Залізо, мкг/г	32,24 ±0,31	32,25 ±0,09	31,46 ±0,22	31,42 ±0,19	30,98 ±0,38	31,86 ±0,13
Марганець, мкг/г	0,744 ±0,002	0,746 ±0,002	0,765 ±0,002	0,765 ±0,002	0,753 ±0,003	0,755 ±0,003
Хром, мкг/г	0,0184 ±0,0001	0,0184 ±0,0001	0,0234 ±0,0002	0,0235 ±0,0002	0,0319 ±0,0002	0,0315 ±0,0004

Примітка: * $p \leq 0,05$

Таблиця А.31

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
Маса щура, г	256,97 ±3,14	255,08 ±4,16	277,47 ±4,16	265,89 ±4,54	281,10 ±4,45	267,06 ±4,33
АММ, г	3,77 ±0,013	3,74 ±0,02	3,91 ±0,021	3,87 ±0,029	4,11 ±0,019	4,01 ±0,01
ВММ	1,47 ±0,01	1,47 ±0,02	1,41 ±0,02	1,40 ±0,02	1,46 ±0,02	1,44 ±0,02
АОМ, см ³	0,474 ±0,005	0,498 ±0,007	0,549 ±0,004*	0,591 ±0,006	0,585 ±0,006*	0,802 ±0,006
ЩМ, г/см ³	7,96 ±0,13	7,53 ±0,13	7,12 ±0,15*	6,56 ±0,11	7,01 ±0,11*	4,99 ±0,14
ДМЧ, мм	27,97 ±0,32	27,74 ±0,26	29,034 ±0,42	28,55 ±0,32	31,99 ±0,37	30,24 ±0,21
ДМСЧ, мм	7,27 ±0,14	7,42 ±0,14	7,83 ±0,13	8,06 ±0,11	7,82 ±0,14*	9,49 ±0,19
ППІМ, мм ²	41,49 ±0,29	43,28 ±0,22	48,15 ±0,41	51,06 ±0,30	48,07 ±0,38*	70,78 ±0,40
ДМВ, мкм	17,96 ±0,25	18,35 ±0,18	19,12 ±0,29	19,57 ±0,23	19,65 ±0,21*	20,99 ±0,17
ШЕ, мкм	2,87 ±0,11	2,96 ±0,13	3,16 ±0,14	3,31 ±0,09	3,20 ±0,08*	3,61 ±0,12
Співвідн. І	0,159 ±0,003	0,161 ±0,004	0,165 ±0,002	0,168 ±0,002	0,164 ±0,004	0,172 ±0,002
ШП, мкм	33,62 ±0,38	34,51 ±0,29	35,23 ±0,28	36,65 ±0,22	36,23 ±0,29*	39,03 ±0,28
ППІВ, мкм ²	253,34 ±1,21	264,71 ±1,38	287,25 ±1,51	300,88 ±1,25	303,29 ±1,16*	346,25 ±1,21
КЯМ	143,99 ±1,22	141,94 ±1,26	151,34 ±1,37	148,57 ±1,43	156,91 ±1,25	153,95 ±1,52

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.32

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
ДК, мкм	5,85 ±0,17	5,62 ±0,18	5,94 ±0,21	5,65 ±0,14	6,41 ±0,26*	5,86 ±0,19
ДВ, мкм	22,51 ±0,28	23,23 ±0,24	23,45 ±0,29	24,62 ±0,36	23,56 ±0,24*	25,38 ±0,19
ДА, мкм	16,83 ±0,21	16,63 ±0,16	17,04 ±0,28	16,62 ±0,33	16,95 ±0,23	16,44 ±0,21
АВК	0,747 ±0,021	0,715 ±0,014	0,726 ±0,008*	0,675 ±0,012	0,719 ±0,013*	0,647 ±0,016
ДМФ, нм	755,80 ±6,17	752,41 ±5,92	757,94 ±6,12	751,25 ±5,03	761,22 ±5,65	745,12 ±5,81
КДЯМ, мкм	3,34 ±0,06	3,38 ±0,12	3,55 ±0,11	3,61 ±0,14	3,77 ±0,09	3,86 ±0,19
ДДЯМ, мкм	4,43 ±0,13	4,46 ±0,21	4,59 ±0,16	4,69 ±0,13	4,73 ±0,13	4,91 ±0,11
ПЯМ, мкм ²	11,63 ±0,13	11,85 ±0,17	12,83 ±0,14	13,29 ±0,18	14,03 ±0,16*	13,87 ±0,19
ОЯМ, мкм ³	25,92 ±0,35	26,71 ±0,25	30,37 ±0,32	31,93 ±0,29	35,32 ±0,26*	38,28 ±0,34
КДМ, мкм	0,66 ±0,007	0,67 ±0,009	0,74 ±0,014	0,76 ±0,013	0,79 ±0,012	0,81 ±0,009
ДДМ, мкм	3,59 ±0,12	3,63 ±0,08	3,97 ±0,16	4,06 ±0,11	4,71 ±0,14	4,85 ±0,12
ПМ, мкм ²	1,88 ±0,07	1,91 ±0,05	2,33 ±0,06	2,41 ±0,06	2,92 ±0,07*	3,08 ±0,06
ОМ, мкм ³	0,833 ±0,039	0,855 ±0,041	1,16 ±0,035	1,21 ±0,038	1,54 ±0,021*	1,66 ±0,025

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.33

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів зрілого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
Мідь, мкг/г	1,69 ±0,02	1,69 ±0,02	1,67 ±0,03	1,68 ±0,02	1,58 ±0,03	1,59 ±0,03
Цинк, мкг/г	26,82 ±0,15	27,05 ±0,19	28,78 ±0,14	28,99 ±0,21	30,75 ±0,09	30,93 ±0,16
Свинець, мкг/г	0,21 ±0,002	0,209 ±0,001	0,26 ±0,003	0,258 ±0,002	0,30 ±0,002	0,307 ±0,003
Залізо, мкг/г	32,99 ±0,27	32,94 ±0,29	32,94 ±0,31	32,99 ±0,30	32,85 ±0,20	32,86 ±0,24
Марганець, мкг/г	0,779 ±0,004	0,781 ±0,002	0,787 ±0,003	0,786 ±0,002	0,783 ±0,003	0,784 ±0,003
Хром, мкг/г	0,0179 ±0,0002	0,0177 ±0,0002	0,0202 ±0,0004	0,0202 ±0,0003	0,0243 ±0,0002	0,0244 ±0,0003

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.34

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (M±m), n=6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
Маса щура, г	296,27 ±4,44	294,74 ±4,02	302,32 ±4,15	295,51 ±4,62	301,13 ±4,56	289,56 ±3,87
АММ, г	3,63 ±0,02	3,62 ±0,01	3,59 ±0,02	3,55 ±0,02	3,52 ±0,02	3,45 ±0,02
ВММ	1,23 ±0,02	1,23 ±0,01	1,19 ±0,01	1,19 ±0,02	1,17 ±0,01	1,16 ±0,02
АОМ, см ³	0,539 ±0,005	0,551 ±0,006	0,538 ±0,005	0,563 ±0,006	0,514 ±0,006*	0,554 ±0,006
ЩМ, г/см ³	6,74 ±0,14	6,57 ±0,14	6,67 ±0,15	6,31 ±0,20	6,85 ±0,13*	6,22 ±0,11
ДМЧ, мм	30,24 ±0,29	29,98 ±0,25	29,31 ±0,31	28,69 ±0,26	28,29 ±0,33	27,42 ±0,26
ДМСЧ, мм	7,75 ±0,15	7,89 ±0,16	7,75 ±0,16	7,92 ±0,19	7,93 ±0,22	8,19 ±0,20
ППІМ, мм ²	47,12 ±0,13	48,93 ±0,20	47,23 ±0,15	49,33 ±0,19	49,56 ±0,13*	52,65 ±0,21
ДМВ, мкм	18,53 ±0,14	18,73 ±0,13	18,29 ±0,16	18,83 ±0,14	18,33 ±0,12*	19,13 ±0,22
ШЕ, мкм	4,61 ±0,12	4,71 ±0,11	4,94 ±0,17	5,12 ±0,13	4,97 ±0,12*	5,38 ±0,18
Співвідн. І	0,248 ±0,005	0,251 ±0,007	0,271 ±0,009	0,272 ±0,008	0,272 ±0,007	0,281 ±0,007
ШП, мкм	38,81 ±0,21	39,31 ±0,17	39,79 ±0,33	41,10 ±0,28	41,01 ±0,22*	43,71 ±0,32
ППІВ, мкм ²	269,72 ±1,12	275,81 ±1,05	262,90 ±1,16	278,67 ±1,02	263,90 ±1,02*	287,49 ±1,03
КЯМ	148,83 ±0,87	147,67 ±1,15	145,25 ±1,16	141,72 ±0,12	144,28 ±1,21	138,36 ±1,19

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.35

Результати дослідження посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (М ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
ДК, мкм	6,63 ±0,19	6,43 ±0,16	6,62 ±0,28	6,34 ±0,18	6,53 ±0,18*	6,12 ±0,15
ДВ, мкм	24,78 ±0,19	25,07 ±0,15	24,94 ±0,17	25,86 ±0,28	25,09 ±0,22*	26,67 ±0,32
ДА, мкм	17,01 ±0,12	16,71 ±0,17	16,74 ±0,25	16,21 ±0,19	16,36 ±0,24	15,71 ±0,21
АВК	0,686 ±0,018	0,666 ±0,019	0,671 ±0,014*	0,626 ±0,021	0,652 ±0,012*	0,589 ±0,024
ДМФ, нм	755,04 ±6,12	749,35 ±5,57	745,85 ±6,07	736,36 ±5,92	728,92 ±6,59	717,59 ±6,03
КДЯМ, мкм	3,34 ±0,12	3,34 ±0,12	3,31 ±0,11	3,36 ±0,13	3,32 ±0,16	3,41 ±0,18
ДДЯМ, мкм	4,46 ±0,13	4,47 ±0,11	4,47 ±0,12	4,54 ±0,13	4,52 ±0,11	4,63 ±0,12
ПЯМ, мкм ²	11,70 ±0,16	11,76 ±0,20	11,63 ±0,16	12,01 ±0,29	11,83 ±0,22	12,38 ±0,28
ОЯМ, мкм ³	26,06 ±0,36	26,23 ±0,19	25,65 ±0,39	26,93 ±0,18	26,25 ±0,39*	28,09 ±0,35
КДМ, мкм	0,71 ±0,011	0,72 ±0,005	0,72 ±0,008	0,73 ±0,004	0,73 ±0,006	0,74 ±0,003
ДДМ, мкм	4,22 ±0,12	4,23 ±0,11	4,24 ±0,15	4,31 ±0,12	4,31 ±0,18	4,41 ±0,05
ПМ, мкм ²	2,38 ±0,06	2,39 ±0,06	2,42 ±0,06	2,49 ±0,06	2,48 ±0,06	2,59 ±0,06
ОМ, мкм ³	1,14 ±0,06	1,15 ±0,02	1,17 ±0,03	1,23 ±0,02	1,21 ±0,02*	1,29 ±0,022

Примітка: * p ≤ 0,05

Таблиця А.36

Результати спектрального аналізу посмугованих м'язів щурів старечого віку, які одержували суміш № 3 та препарат-коректор Мексикор®, (M ± m), n = 6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.	З кор.	Без кор.
Мідь, мкг/г	2,65 ±0,02	2,66 ±0,02	2,57 ±0,03	2,58 ±0,03	2,48 ±0,03	2,47 ±0,03
Цинк, мкг/г	21,52 ±0,16	21,59 ±0,34	22,71 ±0,21	22,88 ±0,17	24,75 ±0,15	24,96 ±0,30
Свинець, мкг/г	0,294 ±0,001	0,296 ±0,001	0,359 ±0,002	0,614 ±0,002	0,502 ±0,003	0,503 ±0,003
Залізо, мкг/г	33,77 ±0,33	33,78 ±0,26	34,45 ±0,29	34,46 ±0,25	35,49 ±0,39	35,43 ±0,22
Марганець, мкг/г	0,953 ±0,003	0,955 ±0,002	0,944 ±0,002	0,946 ±0,003	0,944 ±0,002	0,946 ±0,003
Хром, мкг/г	0,0285 ±0,0002	0,0286 ±0,0003	0,0346 ±0,0004	0,0346 ±0,0003	0,0451 ±0,0002	0,0447 ±0,0002

Примітка: * p ≤ 0,05