

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Тимакова Олена Олександрівна**

УДК 616.44-092.9:613.63(043.5)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ У**  
**ПРИЩИТОПОДІБНИХ ЗАЛОЗАХ ЗА УМОВ ВПЛИВУ**  
**НЕСПРИЯТЛИВИХ ФАКТОРІВ**  
**(СОЛІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ)**

за спеціальністю 091 Біологія

09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ О.О. Тимакова

Науковий керівник: **Романюк Анатолій Миколайович**, доктор  
медичних наук, професор

Суми – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Тимакова О. О.* Морфофункціональні зміни у прищитоподібних залозах за умов впливу несприятливих факторів (солі важких металів). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія. – Сумський державний університет, Суми, 2021.

Сумський державний університет, Суми, 2021.

Забруднення біосфери полютантами являє собою глобальну небезпеку, яка збільшується з кожним роком. Зростання антропогенних факторів та техногенного забруднення призводить до поширення та накопичення токсикантів в екосистемі.

Хімічні елементи різними шляхами і в різних дозах потрапляють в організм людини, завдаючи йому і шкоду, і користь. Їх міграція в екосистемах відбувається за участю організмів, повітря, води, колоїдних розчинів і внаслідок техногенних процесів.

З екотоксикологічної точки зору іони важких металів не зникають з біологічного колообігу, їх токсичність не зменшується, а навпаки, зі збільшенням концентрації, зростає. Патофізіологічна дія ксенобіотиків залежить від: концентрації, шляху взаємодії та хімічного виду (комбінації), терміну експозиції в організмі та здатності до біоаккумуляції.

Важкі метали вважаються найбільш небезпечними з точки зору екології, токсикології та гігієни, завдяки їх здатності до акумулювання в організмі, спричинюючи тим самим порушення метаболічних і фізіологічних процесів на тканинному та клітинному рівнях.

Однією з важливих ендокринологічних проблем сьогодення, як в Україні, так і в інших країнах світу є захворювання, які пов'язані з морфологічними змінами у прищитоподібних залозах та порушенням кальцієвого гомеостазу.

Захворювання, які пов'язані з морфологічними розладами та дисфункцією цих залоз, за поширеністю посідають третє місце після цукрового діабету та тиреоїдної патології.

Вивчення та розуміння причин розвитку морфологічних розладів та дисфункції прищитоподібних залоз є складним процесом. Тому дисертаційна робота спрямована на встановлення особливості морфологічних перебудов та механізмів регулювання їх у прищитоподібних залозах за умов впливу несприятливих факторів, а саме комбінації солей важких металів. Окремо досліджено відновлювальні можливості залоз при відміні полютантів. Для детального вивчення та аналізу механізму дії важких металів було сформовано дизайн біологічного дослідження, який включав у себе використання 48 безпородних статевозрілих щурів – самців. Тварини були розподілені на 3 групи з метою вивчення комбінованого впливу полютантів та у період відновлення після їх відміни: 1 - контрольна група; 2 - щури, які отримували суміш солей важких металів з питною водою, що притаманна забрудненню деяких регіонів України, а насамперед Сумської області. Піддослідні тварини постійно отримували питний розчин, який містив: цинк ( $ZnSO_4 \times 7H_2O$ ) – 5 мг/л, мідь ( $CuSO_4 \times 5H_2O$ ) – 1 мг/л, залізо ( $FeSO_4$ ) – 10 мг/л, марганець ( $MnSO_4 \times 5H_2O$ ) – 0,1 мг/л, свинець ( $Pb(NO_3)_2$ ) – 0,1 мг/л, хром ( $K_2Cr_2O_7$ ) – 0,1 мг/л; 3 група – період відновлення, ці щури отримували звичайну питну воду після відміни важких металів.

З метою вивчення морфологічних особливостей будови прищитоподібних залоз та функціональної їх активності піддослідні тварини виводились з експерименту на 30-ту, 90-ту, 120-ту та 180-ту доби.

За допомогою сукупності методів дослідження: гістологічних, морфометричних, імуногістохімічних, біохімічних, імуноферментних та статистичного аналізу цифрових показників було досягнуто вирішення поставленої мети. Також взаємозв'язок між досліджуваними показниками оцінювали згідно з критерієм кореляції Пірсона ( $r$ ). Результати вважали

статистично достовірними, коли ступінь ймовірності був більше 95 % ( $p < 0,05$ ).

Морфометрія отриманих препаратів проводилася після фотографування з використанням мікроскопу «Carl Zeiss Primo Star» (Німеччина) (бінокляр  $\times 10$ , об'єктиви  $\times 10$ ,  $\times 40$ ) та цифровою камерою «Zeiss Axio Cam ERc 5s» (Німеччина), а також програмним пакетом виходу системи зображення та обчислення «ZEN 2 (blue edition)» (Німеччина).

У літературних джерелах існують наукові роботи, де описані патологічні стани прищитоподібних залоз, які пов'язані з впливом деяких мікроелементів та різних речовин, але відсутні відомості про комплексну дію комбінації солей важких металів (міді, цинку, заліза, хрому, марганцю та свинцю) на досліджувані залози.

Упродовж виконання дослідження нами було отримано дані стосовно зміни лінійних показників площі залоз, клітин та ядер паратироцитів, розміру стромального компонента та щільності розподілення клітин при надлишковому споживанні комбінації солей важких металів. У процесі підвищеного надходження комбінації солей важких металів до організму щурів упродовж 1 та 3 місяців експерименту прояв токсичної дії поллютантів відмічався на різних рівнях морфологічної організації прищитоподібних залоз. У паренхімі спостерігалась дисконкомплексація та дезорганізація епітеліальних трабекул. У паратироцитах відбувався розвиток гідропічної дистрофії у двох напрямках: набряк та утворення внутрішньоцитоплазматичних вакуолей. При застосуванні додаткових методів забарвлення гістологічних препаратів органа (за Ван-Гізеном та за Малорі) виявлялися реактивні перебудови у стромальному компоненті, що характеризувалися розростанням сполучної тканини. Також більш виразні морфологічні зміни відмічались у мікроциркуляторному руслі залоз, а саме розширення просвіту дрібних судин, явища застою.

Морфометрично виявлено термін залежного коливання показників:

розмір стромальних компонентів, площі залоз, паратироцитів та ядер клітин. Площа залоз збільшувалась за рахунок розростання стромальних компонентів упродовж усього експерименту. Пік зростання припадав на 90 добу інтоксикації. Площа паратироцитів зростала за рахунок дистрофічних змін та набряку у період інтоксикації. Найбільш виразні зміни відмічався на 30 добу дослідження. Ядерно-цитоплазматичний індекс у клітинах упродовж усього терміну спостереження демонстрував зростання та становив більше одиниці.

Уперше вивчено та описано характер компенсаторно-приспосувальних процесів та відновлення залоз при відміні полютантів, де спостерігалось незначне зменшення інтенсивності структурних модифікацій та відбувалась зміна клітинного складу паренхіми органа.

Токсична дія важких металів на організм щурів спричиняла дисфункцію прищитоподібних залоз, а саме пригнічення секреції паратгормону та його регуляторів. Коливання біохімічних та імуноферментних показників, у сироватці крові тварин упродовж всього терміну дослідження вказували на порушення гомеостазу кальцію в організмі, а саме, відмічалось зростання відсотку позаклітинного кальцію, лужної фосфатази та кальцитоніну. На 90 добу експерименту спостерігався максимальний показник рівня кальцитоніну у сироватці крові щурів, що може свідчити про важкість морфофункціональних змін у ендокринних залозах і не тільки.

Отримані результати підтверджено достовірною статистичною відмінністю показників та наявністю кореляційних закономірностей між ними. Отже, надлишкове надходження важких металів призводить до морфологічних змін у залозах, де спостерігалось прямопропорційне збільшення площі прищитоподібних залоз та площі клітин, при одночасному зменшенні щільності паратироцитів у залозах. Також відмічалось прямопропорційне збільшення площі залоз за рахунок розростання стромальних компонентів. Спостерігалась пряма кореляційна

залежність активності паратгормону з його модуляторами (кальцієм, магнієм та кальцитоніном). У зв'язку зі зменшенням щільності клітин у залозах відмічалась прямопропорційна залежність з активністю паратгормону.

При виконанні роботи застосовано комплекс імуногістохімічних досліджень, який дозволив уточнити та доповнити відомості про патогенний вплив комбінації солей важких металів та їх зв'язок із морфологічними особливостями прищитоподібних залоз. Виявлено, що упродовж всього терміну експерименту проліферативна активність була слабо-позитивною та спостерігалась переважно в головних клітинах. Експресія білків теплового шоку протягом надлишкового надходження солей важких металів та у період відновлення була на достатньому рівні, не відбувалось їх зниження, а подекуди навіть спостерігалась тенденція до посиленого синтезу в клітинах. Це вказувало на ознаки адаптації, часткової компенсації дії полютантів на організм піддослідних тварин та активації відновлювальних процесів.

Коливання кількості клітин з позитивною реакцією до білка Ki - 67 свідчило про ознаки розвитку компенсаторно-приспосувальних процесів та відновлення прищитоподібних залоз. А також застосування імуногістохімічного дослідження експресії до білка Chromogranin A дозволило вивчити секреторну активність паратироцитів та встановити, що паренхіма залоз представлена клітинами з різною функціональною активністю.

За результатами комплексного біологічного дослідження виявлено морфофункціональні особливості прищитоподібних залоз, як у нормі так і під час надходження полютантів до організму. Визначені результати лінійних морфометричних показників залоз та аналіз показників активності секреції паратгормону та його модуляторів, а також механізмів регулювання кальцієвого гомеостазу за умов комбінованого впливу солей важких металів та у період відновлення вказують на залежність цих

показників до тривалості експериментального дослідження. Встановлені морфометричні дані про будову прищитоподібних залоз можуть слугувати основою для моделювання досліджень стосовно впливу різних екзогенних та ендогенних чинників.

Результати дисертаційного дослідження уточнюють та поглиблюють теоретичне розуміння адаптаційних процесів у прищитоподібних залозах за умов впливу на організм несприятливих факторів (солі важких металів), а також виступають основою для використання цих даних у науково-практичній діяльності та навчальному процесі при підготовці фахівців з біології, медицини та ветеринарії.

*Ключові слова:* прищитоподібні залози, паратгормон, паратироцити, солі важких металів, забруднення біосфери, кров, відновлення, імуногістохімічне дослідження.

## **SUMMARY**

Olena Tymakova. Morphofunctional changes of the parathyroid glands under the influence of the unpropitious factors (heavy metal salts). – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis was written to get a degree of a Doctor of Philosophy by specialty 091 – Biology. – Sumy State University, Sumy, 2021.

Sumy State University, Sumy, 2021.

Pollutant pollution of the biosphere is a global threat that is growing every year. The growth of anthropogenic factors and man-made pollution leads to the spread and accumulation of toxicants in the ecosystem.

Chemical elements in different ways and in different doses enter the human body, causing him harm and benefit. Their migration in ecosystems is going on with the participation of organisms, air, water, colloidal solutions and due to man-made processes.

From the ecotoxicological point of view, heavy metal ions do not disappear from the biological cycle, their toxicity does not decrease, but vice

versa, with increasing concentration, increases. The pathophysiological effect of xenobiotics depends on: concentration, route of interaction and chemical type (combination), term of exposure in the body and ability to bioaccumulation.

Heavy metals are considered the most dangerous in terms of ecology, toxicology and hygiene, due to their ability to accumulate in the body, disrupting metabolic and physiological processes at the tissue and cellular levels.

One of the important endocrinological problems of today, both in Ukraine and in other countries of the world, is diseases that are associated with morphological changes in the thyroid gland and violation of calcium homeostasis.

Diseases associated with morphological disorders and glandular dysfunction are the third most common diseases after diabetes and thyroid disease.

Studying and understanding the causes of these morphological disorders and gland dysfunction is a complex process. Therefore, the dissertation is aimed at studying the features of morphological changes and mechanisms of their regulation in the thyroid glands under the influence of adverse factors, namely the combination of salts of heavy metals. The regenerative capabilities of the glands in the abolition of pollutants have been studied separately. For a detailed study and analysis of the mechanism of action of heavy metals, a biological research design was formed, which included the use of 48 outbred adult male rats.

Animals were divided into 3 groups in order to study the combined effects of pollutants and in the recovery period after their abolition: 1- control group; 2- rats, which received a mixture of heavy metal salts with drinking water, which is inherent in the pollution of some regions of Ukraine, especially Sumy region. Experimental animals constantly received a drinking solution containing zinc ( $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ) - 5 mg/l, copper ( $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ ) - 1 mg/l, iron ( $\text{FeSO}_4$ ) - 10 mg/l, manganese ( $\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ ) - 0.1 mg/l, lead ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ) - 0.1 mg/l,



chromium (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) - 0.1 mg/l. Group 3 - the recovery period, these rats received normal drinking water after canceling heavy metals.

In order to study the morphological features of the structure of the thyroid glands and their functional activity, the experimental animals were removed from the experiment on the 30th, 90th, 120th and 180th day.

With the help of a set of research methods: histological, morphometric, immunohistochemical, biochemical, enzyme-linked immunosorbent assay and statistical analysis of digital indicators, the solution of the aim was achieved. The relationship between the studied indicators was also evaluated according to the Pearson correlation criterion ( $r$ ). The results were considered statistically significant when the probability was greater than 95% ( $p < 0.05$ ).

Measurement of the given drugs was performed after photographing using a microscope "Carl Zeiss Primo Star" (Germany) (binoculars  $\times 10$ , lenses  $\times 10$ ,  $\times 40$ ) and a digital camera "Zeiss AxioCam ERc 5s" (Germany), as well as a software package of image and calculation systems "ZEN 2 (blue edition)" (Germany).

There are scientific papers in the literature where are described the pathological conditions of the thyroid gland, which are associated with the influence of certain trace elements and various substances, but there is no information about the complex effect of a combination of heavy metal salts (copper, zinc, iron, chromium, manganese and lead) bets.

During the study, we received data on changes in the linear parameters of the area of glands, cells and nuclei of parathyrocytes, the size of the stromal component and the density of cell distribution with excessive consumption of a combination of salts of heavy metals. In the process of increasing incoming combination of heavy metal salts in the body of rats during 1 and 3 months of the experiment, the display of toxic effects of pollutants was observed at different levels of morphological organization of the thyroid glands. Decomplexation and disorganization of epithelial trabeculae were observed in the parenchyma.

In parathyrocytes there was a development of hydropic dystrophy in two directions: edema and swelling. During using additional methods of staining of histological preparations of the organ (according to Van Gizon and according to Mallory), appeared reactivated rearrangements in the stromal component, which were characterized by the growth of connective tissue. Also, more pronounced morphological changes were observed in the microcirculatory tract of the glands, namely the expansion of the lumen of small vessels, the phenomenon of stagnation.

Morphometrically revealed the term of the dependent fluctuation of indicators: the size of the stromal components, the area of glands, parathyroid cells and cell nuclei. The area of the glands increased due to the growth of stromal components throughout the experiment. The peak of growth occurs on the 90th day of intoxication. The area of parathyrocytes increased due to dystrophic changes and edema during intoxication, the peak occurs on the 30th day of the study. The nuclear-cytoplasmic index in the cells showed an increase of more than one unit during the whole observation period.

For the first time the character of compensatory-adaptive processes and restoration of glands at cancellation of pollutants was studied and described, where a slight decrease in the intensity of structural modifications was observed and a change in cell composition in the parenchyma of the organ took place.

Toxic effects of heavy metals on the body of rats caused dysfunction of the thyroid gland, namely the suppression of the secretion of parathyroid hormone and its regulators. Fluctuations in biochemical and enzyme-linked immunosorbent data in the serum of animals throughout the study indicated a violation of calcium homeostasis in the body, namely, there was an increase in % of extracellular calcium, alkaline phosphatase and calcitonin. On the 90th day of the experiment, the maximum level of calcitonin in the serum of rats was observed, which may indicate the severity of morphofunctional changes in the endocrine glands and beyond.

Taken results are confirmed by a significant statistical difference of indicators and the presence of correlation patterns between them. Thus, excessive intake of heavy metals leads to morphological changes in the glands, where there was a direct proportional increase in the area of the thyroid gland and the area of cells, while reducing the density of parathyrocytes in the glands. There was also a directly proportional increase in the area of the glands due to the growth of stromal components.

There was a direct correlation between the activity of parathyroid hormone and its modulators (calcium, magnesium and calcium). Due to the decrease in cell density in the glands, there was a direct proportional relationship with the activity of parathyroid hormone.

A set of immunohistochemical studies was used to clarify and supplement the information on the pathogenic effect of the combination of heavy metal salts and their relationship with the morphological features of the thyroid gland. It was found that throughout the experiment, proliferative activity was weakly positive, observed mainly in stem cells.

The expression of heat shock proteins during the excess intake of heavy metal salts and during the recovery period was at a sufficient level, there was no decrease, and in some cases, there was even a tendency to increased synthesis in cells. This indicated signs of adaptation, partial compensation of pollutants on the body of experimental animals and activation of recovery processes.

Fluctuations in the number of cells with a positive reaction to the Ki-67 protein indicated signs of the development of compensatory-adaptive processes and the restoration of the thyroid gland. As well as the application of immunohistochemical study of expression to the protein Chromogranin A allowed to study the secretory activity of parathyrocytes and to establish that the parenchyma is represented by cells with different functional activity.

According to the results of a comprehensive biological study was revealed morphological features of the parathyroid glands, both normally and during the entry of pollutants into the body. The results of linear morphometric parameters

of glands and analysis of parameters of parathyroid hormone secretion and its modulators, as well as mechanisms of regulation of calcium homeostasis under combined exposure to heavy metal salts and in the recovery period indicate the dependence of these indicators on the duration of experimental studies. Established morphometric data on the structure of the thyroid gland can serve as a basis for modeling studies on the influence of various exogenous and endogenous factors.

The results of the dissertation research clarify and deepen the theoretical understanding of adaptation processes in the pancreas under the bad influence (heavy metal salts), and also serve as a basis for the use of these data in scientific and practical activities and educational process in training specialists of biology, medicine and veterinary medicine.

Key words: parathyroid glands, parathyroid hormone, parathyrocytes, heavy metal salts, biosphere pollution, blood, recovery, immunohistochemical study.

### **СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ АВТОРА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Тимакова ОО, Романюк АМ. Морфологічні особливості прищитоподібної залози щурів за умов модельованого підгострого впливу солей важких металів. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;6(8):38-40. DOI: 10.26693/jmbs02.06.038 (Дисертанткою проведено морфологічне дослідження прищитоподібних залоз, опрацьовані результати дослідження та сформовано висновки).

2. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the Hematopoietic System and Blood Under the Influence of Heavy Metal Salts Can Be Reduced with Vitamin E. Turk Patology Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412. (Здобувачем виконані біохімічні дослідження та інтерпретовані отримані результати).

3. Романюк АМ, Тимакова ОО, Линдіна ЮМ, Гринцова НБ, Кравцова

ІА, Куст ВВ. Морфофункціональні зміни у прищитоподібних залозах при тривалій дії солей важких металів. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019;1(23):80-83. DOI:10.31393/reports-vnmedical-2019-23(1)-12. (Автором проведено біологічне експериментальне дослідження, написані результати та сформовані висновки).

4. Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. Проблеми ендокринної патології. 2020;4(74):106-114. DOI:10.21856/j-PEP.2020.4.14. (Здобувач провела гістологічне, імуногістохімічне, біохімічне, імуноферментне дослідження, проаналізувала отримані результати).

5. Тимакова ОО. Морфо-функціональні особливості прищитоподібної залози у щурів в умовах впливу солей важких металів. В: М.В. Погорелов, редактор. Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини: збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених; 2017 20-21 квітня, Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 206-207. (Дисертанткою виконано морфологічне дослідження прищитоподібних залоз, опрацьовані результати експериментального дослідження, сформовані висновки, підготовлено тези до друку).

6. Тимакова ОО. Морфо-функціональні особливості прищитоподібної залози у щурів в умовах впливу солей важких металів (хронічний стан). В: М.В. Погорелов, редактор. Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, присвяченої 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету: Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 16-17 листопада, Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 37-38. (Здобувачем проведено морфологічне дослідження прищитоподібних залоз, опрацьовані результати дослідження, сформовані висновки, підготовлені тези до друку).

7. Romaniuk A, Hryntsova N, Tymakova O, Lyndina Y, Korobchanska A,

Honcharova A, Sikora V. Modeling effect of heavy metals salts and glucocorticoids on the secretion of parathormone in the experiment. 30 th European Congress of Pathology Pathology: Path to Precision medicine; Spain 2018 8 – 12 September; Bilbao, 2018, p. 68. (Дисертанткою проведено гістологічне та імуногістохімічне дослідження, опрацьовані результати дослідження, сформовані висновки).

8. Тимакова ОО, Романюк АМ, Гринцова НБ, Линдіна ЮМ, Гончарова ГМ. Реадаптаційні зміни танини прищитоподібних залоз у щурів після впливу солей важких металів. Збірник матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю: Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі, присвячена 100-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука; 2018 13-15 вересня; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет, 2018, с. 119-120. (Здобувачем проведено експериментальне дослідження, опрацьовані результати дослідження, сформовані висновки, підготовлені тези до друку).

9. Tymakova OO. Morphological features of the parathyroid glands in rats caused by simulated influence under prolonged heavy metal salts. Abstract book Intrenational Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists; 2018 17-19 October; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018, p. 26. (Дисертанткою проведено морфологічне дослідження прищитоподібних залоз, сформовані висновки, підготовлені тези до друку).

10. Tymakova O, Hryntsova N, Romaniuk O, KuzenkoY, Korobchanska A, Kravtsova I, Romaniu A. Morphological features of the parathyroid glands in rats under heavy metal salts influence. 31 th European Congress of Pathology; France 2019 7-11 September; Nice, 2019, p. 319. (Здобувачем проведено гістологічне та імуногістохімічне дослідження, опрацьовані результати дослідження, сформовані висновки).

11. Тимакова ОО. Морфометричні особливості прищитоподібних залоз у щурів за умов впливу комбінації солей важких металів. Наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України:

збірник тез доповідей VII конгрес наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України; 2019 2-4 жовтня; Одеса. Одеса: Одеський національний медичний університет; 2019, с. 316-317. (Дисертанткою проведено морфологічне та морфометричне дослідження прищитоподібних залоз, сформовані висновки).

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	26
1.1 Морфологічні особливості та функції прищитоподібних залоз.....	26
1.2 Солі важких металів та їх вплив на організм.....	36
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	47
2.1 Загальна характеристика біологічного дизайну.....	47
2.2 Гістологічне та гістоморфометричне дослідження прищитоподібних залоз.....	49
2.3 Імуногістохімічне дослідження прищитоподібних залоз.....	50
2.4 Біохімічні та імуноферментні дослідження.....	52
2.5 Статистична обробка даних.....	53
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	54
3.1 Будова прищитоподібних залоз у щурів контрольної групи.....	54
3.2 Особливості будови прищитоподібних залоз щурів за умов впливу солей важких металів.....	61
3.3 Особливості будови прищитоподібних залоз щурів у відновний період після дії солей важких металів.....	79
3.4 Аналіз взаємозв'язків між досліджуваними параметрами отриманими в ході експерименту.....	96
ВИСНОВКИ.....	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	136
ДОДАТКИ.....	169



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК	– активні форми кисню
ВМ	– важкі метали
ВЩА	– верхня щитоподібна артерія
НЩА	– нижня щитоподібна артерія
ПЗ	– прищитоподібні залози
СВМ	– солі важких металів
СТ	– сполучна тканина
Hsp	– heat shock protein

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Прищитоподібні залози (ПЗ) є важливим органом ендокринної системи. Їм відводять особливе місце в історії наукових відкриттів. ПЗ є останнім з відкритих важливих органів людини. Уявлення про особливості будови та функції залоз формувалися в процесі багаторічних наукових досліджень, періодом активного їх вивчення вважають початок ХХ століття. Сучасні технології та можливості лабораторних досліджень дозволяють отримати інформацію про морфофункціональні особливості органу, але на сьогоднішній день існує більше запитань ніж відповідей з цієї теми [1, 2, 3, 4].

ПЗ є життєво необхідним ендокринним органом, який регулює гомеостаз кальцію. Кальцій відіграє важливу роль у багатьох фізіологічних процесів. Залози продукують паратгормон, який є одним з модуляторів кальцієвого гомеостазу та відіграє головну роль у підтримці нормального функціонування кісткової тканини в організмі людини [5, 6, 7, 8, 9].

Захворювання, які пов'язані з патологією ПЗ відносять до важливих ендокринологічних проблем сьогодення, як в Україні так, і в інших країнах світу. Вони знаходяться поряд з такими захворюваннями, як цукровий діабет та морфофункціональні порушення щитоподібної залози. Патологічний стан при ураженні ПЗ має довгий скритий перебіг, патогномічні симптоми відсутні найчастіше аж до розвитку незворотних патологічних процесів у організмі людини. Багато різноманітних механізмів активують ці патологічні розлади у ПЗ, у більшості випадків закінчується закінчується інвалідністю, найчастіше вражає людей працездатного населення. Тому однією з проблем сучасної медицини є вивчення та розуміння причин розвитку цих морфологічних розладів та дисфункції залоз [4, 10, 11, 12].

Важливою екологічною проблемою сьогодення є забруднення навколишнього середовища. Зростання антропогенних факторів та техногенного забруднення призводить до поширення токсикантів у

біосфері, серед яких одне з головних місць займають важкі метали (ВМ). Вони застосовуються у різних галузях промисловості та сільському господарстві. Головною небезпечною особливістю ВМ є здатність до акумулювання в організмі, спричинюючи порушення метаболічних і фізіологічних процесів на тканинному та клітинному рівнях [13 - 15]. Відомо, що ВМ реалізують свою токсичну дію завдяки активації вільнорадикального окислення та генерування активних форм кисню (АФК), викликаючи окислювальне ушкодження біологічних макромолекул. У той же час надлишкове накопичення АФК призводить до виникнення патологічних станів, таких як окислювальний стрес [16, 17]. ВМ, потрапляючи до організму, діють не помітно завдяки активації захисних реакцій організму на полютанти, але в подальшому під час пролонгації впливу та виснаження протекторних механізмів виникає погіршення роботи антиоксидантних систем та порушення гомеостазу. У навколишньому середовищі присутні не окремі забруднювачі, а асоціації ВМ, які здатні здійснювати комбіновану дію на організм. Взаємодія між елементами може бути різною, що може викликати відхилення від їх оптимального діапазону і спричинити вторинний дефіцит або токсичність [18, 19, 20]. Антагоністичні відносини ВМ з іншими металами є проявом їх токсичної дії [21]. Фізіологічна дія полютантів залежить від: концентрації, шляху взаємодії, комбінації їх, здатності до біоаккумуляції. Також треба зазначити, головна загроза для організму полягає не в прояві гострого отруєння металом –токсикантом, а й у постійній кумуляції їх в органах та тканинах протягом усього життя [14, 19, 22]. У світі залишається актуальним питання щодо поширення цих полютантів в екосистемі, зростає кількість наукових робіт, що пов'язані з вивченням екологічно обумовлених захворювань.

У наш час існують наукові роботи, де описані патологічні стани ПЗ, які пов'язані з деякими мікроелементами та різними речовинами

[23, 24, 25]. Тому питання щодо дії комбінації солей важких металів (СВМ) на залози залишається актуальним для вивчення.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету Медичного інституту та є складовою частиною науково-дослідних тем кафедри патологічної анатомії № 0113U003315 «Морфогенез загальнопатологічних процесів» та № 0119U100887 «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів».

**Мета дослідження:** вивчити морфофункціональні особливості будови прищитоподібних залоз безпородних щурів – самців за умов впливу несприятливих факторів, а саме комбінації солей важких металів.

**Завдання дослідження:**

1. Виконати комплексний аналіз морфофункціональної організації прищитоподібних залоз лабораторних тварин упродовж всього терміну дослідження.
2. Оцінити спрямованість компенсаторно-приспосувальних процесів та особливості реакції тканини прищитоподібних залоз експериментальних щурів за умов 30-ти та 90-то денної дії на організм суміші солей важких металів.
3. Дослідити проліферативну активність паратироцитів прищитоподібних залоз піддослідних тварин у різні терміни дослідження.
4. Визначити активність паратгормону та концентрацію його модуляторів секреції у сироватці крові щурів у різні терміни дослідження.
5. Провести статистичний аналіз взаємозв'язків між морфологічними змінами та функціональною активністю прищитоподібних залоз у відповідні терміни експерименту.

*Об'єкт дослідження:* морфологічні перетворення у прищитоподібних залозах за умов модельованого впливу комбінації солей важких металів.

*Предмет дослідження:* морфологія прищитоподібних залоз безпородних щурів – самців.

*Методи дослідження:*

- гістологічний — для визначення характерних особливостей структурних компонентів прищитоподібних залоз щурів упродовж всього терміну дослідження з застосуванням різних гістологічних методик фарбування зрізів.
- морфометричний — для визначення лінійних параметрів перебудови у структурній організації прищитоподібних залоз щурів, що спостерігається за умов дії комбінації солей важких металів;
- імуногістохімічний — для визначення проліферативної та секреторної активності тканини прищитоподібних залоз із застосуванням маркера Ki - 67, Chromogranin A, також експресії захисних білків – Hsp 90α;
- імуноферментний — визначення активності паратгормону та кальцитоніну у сироватці крові піддослідних тварин;
- біохімічний — визначення рівнів загального кальцію, кальцію іонізованого, магнію, загального білку, лужної фосфатази у сироватці крові щурів;
- статистичний — для обробки цифрових даних, визначення ступеня достовірності та характеристики змін у структурних компонентах прищитоподібних залоз за умов модельованого впливу несприятливих факторів, а саме комбінації солей важких металів.

**Наукова новизна отриманих результатів.** У дисертаційній роботі представлено рішення та теоретичне обґрунтування проведення на біологічній експериментальній моделі сукупності досліджень, відносно морфологічних особливостей прищитоподібних залоз безпородних щурів-

самців після комбінованої дії на організм суміші солей важких металів (цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому). Встановлено, що токсична дія солей важких металів проявляється на різних рівнях морфологічної організації прищитоподібних залоз. Інтенсивність характеру цих змін залежить від тривалості впливу поллютантів на організм.

За допомогою комплексного застосування методів морфологічного дослідження: гістологічного, морфометричного, імуногістохімічного, біохімічного та імуноферментного вдалося перше отримати дані стосовно зміни лінійних показників площі залоз, клітин та ядер паратироцитів, розміру стромального компоненту та щільності розподілення клітин при надлишковому споживанні комбінації солей важких металів та у відновний термін експерименту. Окремо досліджено відновлювальні можливості залоз при відміні поллютантів і встановлено, що відбувалась зміна клітинного складу та паренхіма залози, яка була представлена головними, оксифільними та перехідною формою оксифільних клітин. Перехідна форма оксифільних паратироцитів становила основну масу клітин. Уперше встановлено, що за умови надходження солей важких металів до організму щурів відбувається пригнічення секреції паратгормону, його регуляторів та порушення гомеостазу кальцію, а саме, спостерігалось зростання % позаклітинного кальцію, лужної фосфатази та кальцитоніну. Застосування імуногістохімічного дослідження дозволило уточнити та доповнити відомості про патогенний вплив ваких металів та їх зв'язок із морфологічними особливостями прищитоподібних залоз. Застосування комплексу імуногістохімічних маркерів (Ki - 67, Hsp 90 $\alpha$ , Chromogranin A) дозволило ідентифікувати розвиток компенсаторно-приспосувальних процесів, відновлення прищитоподібних залоз та спрогнозувати ймовірні наслідки впливу комбінації солей важких металів на організм. А також за допомогою імуногістохімічного дослідження експресії до білка Chromogranin A встановили, що паренхіма складалась з паратироцитів з різною функціональною активністю.

**Практичне значення отриманих результатів.** У результаті отриманих даних під час експериментального дослідження виявлені морфологічні особливості прищитоподібних залоз щурів в порівнянні з людськими, як у нормі, так і впродовж споживання комбінації солей важких металів. Отримані під час проведення біологічного експериментального дослідження результати дозволили розширити та описати теоретичні уявлення про особливості морфологічних перебудов та механізмів регулювання їх у прищитоподібних залозах за умов дії комбінації солей важких металів (цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому) на організм. Аналіз лінійних морфометричних показників залоз та активності секреції паратгормону за умов дії комбінації солей важких металів та у період відновлення після припинення вживання їх дозволив поглибити розуміння патологічних морфологічних перетворень у залозах та продемонстрував взаємозв'язок цих показників з тривалістю терміну дослідження. Встановлені морфометричні дані про будову прищитоподібних залоз можуть слугувати основою для аналізу та порівняння з аналогічними показниками отриманими під час проведення досліджень стосовно впливу різних екзогенних та ендогенних чинників на організм. Рекомендовано застосування імуногістохімічних маркерів (Ki - 67, Hsp 90 $\alpha$ , Chromogranin A), які дозволили розширити розуміння питання діагностики та перебігу морфологічних розладів у залозах.

Отримані результати та висновки уточнюють та поглиблюють розуміння, а також виступають підґрунтям для використання у науково-практичній діяльності та навчальному процесі при підготовці фахівців за спеціальністю біологія, медицина та ветеринарія на базі теоретичних та практичних кафедр (гістології, анатомії, патологічної анатомії, патологічної фізіології, медичній біології, гігієни з екологією та інших).

Матеріали дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний процес та наукову роботу на кафедрах: кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова,

кафедри морфології Сумського державного університету; кафедри медичної біології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського; кафедри патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського (Додаток 2).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно проведено інформаційний пошук, аналіз та інтерпретацію даних з літературних джерел. Разом з науковим керівником було сформовано мету та основні завдання експериментального дослідження. Здобувач виконав експериментальну частину дисертаційної роботи: зробив забір матеріалу для подальшого здійснення його гістологічної та імуногістохімічної обробки; виготовлення та фарбування гістологічних зрізів; задокументував матеріал у вигляді цифрових фотографій гістологічних препаратів (зрізів) з подальшим вивченням та проведенням морфометричних вимірів; провів мікроскопічний аналіз морфологічної будови прищитоподібних залоз. Авторка виконала біохімічне та імуноферментне дослідження у сироватці крові піддослідних тварин. Самостійно провела статистичну обробку даних, аналіз отриманих результатів й оформила їх у вигляді таблиць та графіків. Здобувачем написано всі розділи дисертаційної роботи. З науковим керівником проведено узагальнення власних результатів експериментального дослідження, сформовано висновки та практичні рекомендації. У наукових працях дисертантки, опублікованих одноосібно та в співавторстві, представлені основні результати та матеріали, отримані під час проведення експериментального дослідження дисертаційної роботи.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та результати роботи оприлюднені на: Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених “Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини” Сумський державний університет (Суми, 2017); Всеукраїнської



науково-методичної конференції, присвяченої 25 - річчю Медичного інституту Сумського державного університету “Перспективи розвитку медичної науки і освіти” Сумський державний університет (Суми, 2017); у матеріалах “30 th European Congress of Pathology: Path to Precision medicin” (Spain, Bilbao, 2018); Науково-практичної конференції з міжнародною участю “Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі, присвячена 100-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука” Вищого навчального закладу України “Буковинський державний медичний університет” (Чернівці, 2018); у матеріалах “Intrenational Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists” Сумського державного університету (Суми, 2018); у матеріалах “31 th European Congress of Pathology” (France, Nice, 2019); “VII конгрес наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України” Одеський національний медичний університет (Одеса, 2019).

**Публікації.** За результатами дисертації опубліковано 11 наукових робіт , з них 4 статті (3 – в наукових виданнях України (в тому числі 1 стаття у виданні, що індексується наукометричною базою Scopus), 1 – в іноземному журналі, який індексується наукометричною базою Scopus), 7 тез у матеріалах науково-практичних конференцій та конгресів.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертація викладена державною мовою на 182 стор. комп'ютерного тексту та складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, та додатків. Робота ілюстрована 38 рисунками та 12 таблицями. Список використаних джерел включає 272 найменувань (101 кирилицею й 171 латиницею).

## РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Морфологічні особливості та функції прищитоподібних залоз

Прищитоподібні залози (ПЗ) є важливим ендокринним регулятором гомеостазу кальцію, який впливає на багато фізіологічних процесів у нашому організмі [5, 6, 7, 8, 9, 18, 26, 27, 29].

ПЗ займають особливе місце в анатомії та фізіології людини, тому що це останній відкритий орган [30]. Група вчених (R. Greep (1963), R. Pang та A. Erpelle (1980) вважає, що вперше утворення залоз та продукування гормону відбулося у тварин, які намагалися адаптуватися до наземного способу життя. Перехід від водного середовища до повітряного пов'язаний з розвитком складного механізму регуляції гомеостазу кальцію [30, 31, 32, 33, 34].

Англійський біолог R. Owen (1850) першим ідентифікував залози під час розтину носорогу. Наявність ПЗ в організмі людини відмітив у свої роботах Вірхов (1863) [2]. I. Sandstrom (1880) проводив дослідження на тваринах, а потім виявив залози у людини, де описав розмір, топографію та кровопостачання. Вперше цей орган отримав назву “прищитоподібні залози” [1, 3]. Детальний анатомічний опис було видано Welsh D.A. у 1898 році, пізніше Halstead та Evans у 1907 році описують особливості розміщення верхніх та нижніх залоз [35]. Початок ХХ століття вважають періодом активного вивчення анатомії та фізіології ПЗ у людини [12].

Розвиток ПЗ починається на 32 день ембріогенезу [36]. ПЗ мають ендодермальне походження та розвиваються з третього та четвертого глоткових мішків [37, 38].

Дорзальні частки третього глоткового мішка породжують нижні прищитоподібні залози, вентральна частка породжує тимус протягом п'ятого тижня вагітності [37]. Обидві примітивні залози втрачають зв'язок

зі стінкою глотки та приєднуються до тимуса, рухаються каудально до кінцевої позиції в середостінні [37, 39]. Міграція нижніх щитоподібних залоз із тимусом призводить до того, що їх можна знайти скрізь на великій ділянці спуску від кута верхньої щелепи до верхньої межі перикарду [39, 40]. Зародки залоз четвертого глоткового мішка представлені скупченням клітин, і положення їх залежить від зміни розмірів та розміщення бічних часток щитоподібної залози. Верхні та нижні ПЗ перетинаються під час міграції. Тому верхні залози, що утворилися з четвертого глоткового мішка, найчастіше локалізуються на рівні впадання нижньої артерії в щитоподібній залозі на межі середньої та нижньої третини її частки [32, 41, 42].

У 1937 році Е.Н. Norris, вивчаючи ембріогенез ПЗ на 130 ембріонах людини різного віку, запропонував виділити п'ять стадій їх розвитку:

- 1) препримордіальна стадія (з 26 дня розвитку), характеризується тим, що у третьому та четвертому глоткових мішках відбувається виникнення ініціальних зародків залоз;
- 2) рання примордіальна стадія (5 - 6 тиждень розвитку), де відбувається гістологічне диференціювання клітин ПЗ;
- 3) зяброва комплексна стадія (7 - 8 тиждень розвитку) – це початок міграції зародків ПЗ третього та четвертого глоткового мішків разом з тимусом;
- 4) стадія ізоляції, в період якої обидва зачатка залози остаточно розділяються;
- 5) стадія остаточного формування- це час від моменту завершення стадії ізоляції до прийняття ПЗ остаточної форми [1, 43, 44].

Міграція зачатків і швидка трансформація пояснює спостереження клініцистами феномену ектопічного та ненормального взаєморозташування органів ший [4]. Деякі дослідники вважають, що міграція зародків ПЗ в ембріогенезі зумовлюється не лише активним переміщенням, а й швидкістю росту сусідніх структур [45].

У тварин та людей зазвичай дві пари ПЗ і за локалізацією виділяють верхню та нижню. Верхні залози розміщені приблизно посередині довгої осі з часткою щитоподібної залози, а нижні — поблизу її нижніх полюсів [4, 46, 47, 48, 49, 50, 51].

Анатомічно ПЗ найчастіше розміщуються між зовнішньою фасцією та сполучною тканиною капсули щитоподібної залози. Також найчастіше залози оточені прошарком жирової тканини, тому іноді їх важко диференціювати з шматочками жиру [52, 53]. Деякі дослідники описують випадки, де залози мають інтратиреоїдну локалізацію [54]. Н.Р. Nagach (1993) при дослідженні залоз у трупів новонароджених з'ясував, що у 15,5 % спостерігається підкапсульне розміщення ПЗ та у 6,7 % – внутрішньотканинне [12]. Аналіз досліджень групи вчених упродовж від 1916 до 2016 року стосовно локалізації та морфології ПЗ показав, що 16 % ектопічних залоз розміщені в області шийі або середостіння. Більшість пацієнтів мали чотири ПЗ, але близько 20 % були з меншою чи більшою кількістю залоз [55]. Причиною збільшення кількості ПЗ (більше чотирьох) або повної відсутності (синдром Джорджії) можуть бути аномалії ембріогенезу [45]. Загальна кількість залоз у людини варіює від 2 до 12 згідно літературних даних [50, 55, 56].

За консистенцією ПЗ щільніші, ніж тканина щитоподібної залози. Колір, як правило, залози мають світло - коричневий, іноді може бути бурий – це залежить від вмісту жирової тканини [4, 45].

Ряд авторів досліджували морфометричні особливості ПЗ, а саме розмір, вагу, колір, форму, площу, об'єм. Так Wang С.А. (1976) повідомив, що середня вага залоз коливається від 35 до 40 мг [57]. Ногаїї F. (2011) зазначив, що середній розмір залоз становить 6,7 – 3,9 – 2,0 мм, а середня вага – 33,1 мг [58]. Alkestrom G. (1984) показав, що форма залози може бути овальною, сферичною, бобоподібною у 83 %, витягнутою — у 11 %, плоскою — у 1 % випадків [59]. Vansal S. та інші (2016) дослідили 203 ПЗ, де середній розмір становив 5,12 - 3,18 - 1,15 мм.; середня площа —

31,23 мм<sup>2</sup> та об'єм – 11,23 м<sup>3</sup>. Середня вага залоз – 38,67 мг, де найменша ПЗ важила 7,8 мг, а найбільша — 133,3 мг. За формою залози сильно варіюють: овальні, сферичні або витягнуті, також у будь-якій формі довжина, ширина, товщина їх неоднакові [60].

У тварин різних видів локалізація та кількість ПЗ не однакова [34, 56, 61]. У щурів, мишей, ящірок, тритонів та хом'яків є тільки одна пара ПЗ, які розміщуються на латеральній поверхні верхнього полюсу частки щитоподібної залози [62, 63]. Розвиваються залози з третьої пари глоткових мішків [48, 64, 65].

За даними дослідження Росткової Е. Е., концентрація кровоносних судин у ПЗ більше, ніж у щитоподібних залозах [66].

Halsted W. S. та ін. у 1907 р. визначили, що основним джерелом кровопостачання ПЗ є нижня щитоподібна артерія (НЩА) [67]. Але іноді зустрічається аномалія розвитку НЩА (8.7 % випадків), як зазначають вчені у своїх дослідженнях [68]. J. Delattre відмічає, що у 10 % випадків НЩА відсутня і найчастіше це зустрічається зліва [69].

Таким чином, як відмічено більшістю авторів, НЩА забезпечує кровопостачання ПЗ. У 80–90 % випадків від НЩА отримують кровопостачання нижні ПЗ, та у 68–86 % – верхні залози [70, 72, 71]. Верхні ПЗ у 10 – 45 % випадків отримують кровопостачання від верхньої щитоподібної артерії (ВЩА), або анастомозу ВЩА та НЩА [11, 74, 73]. У 45 % (9 з 20 розглянутих) випадків існує анастомоз між ВЩА та НЩА, 65 % (57) залоз мали одну артерію, 28 % (26) мали дві, а 10 % (9) мали три і більше артерій за даними Novogі M, які дослідили 92 залози [75]. Китайські дослідники виділили три артерії, які забезпечують кровопостачання верхньої ПЗ. Основним джерелом вважають ВЩА, рідко — це анастомоз між ВЩА та НЩА, гілки НЩА, судини трахеї, гортані, стравоходу та інших сусідніх органів [70]. Інші автори не вважають, що основним джерелом кровопостачання ПЗ є щитоподібні артерії. Вони зазначають, що залози отримують кровопостачання від різних сусідніх органів та тканин

(трахеї, стравоходу, непарної артерії, тимічних гілок внутрішньої грудної артерії) [70, 72, 73, 74, 76]. Малюга В. Ю., Куприн А. А. (2018) провели дослідження на 85 ПЗ (верхні та нижні) і встановили та виділили чотири типи кровопостачання ПЗ. Основною кровопостачальною судиною ПЗ є НЩА, цей зв'язок виявлено у 71,8 % випадків (I тип). Змішаний варіант кровопостачання (разом ВЩА та НЩА) спостерігався у 14,1 % випадків (II тип). 10,6 % залоз ізольовано отримували живлення від ВЩА (III тип). У 8,7 % випадків у препаратах відсутня НЩА та у 3,5 % – достовірного зв'язку нижніх ПЗ з щитоподібними артеріями не виявлено. Вважають, що живлення ПЗ відбувалось за рахунок дрібних колатералів навколишніх органів (IV тип) [68]. З субкапсулярного сплетення відбувається лімфатичний дренаж у верхні та нижні глибокі шийні, пре- та паратрахеальні, заглоточні лімфатичні вузли [77, 78].

ПЗ інервуються симпатичною, парасимпатичною системою та аферентними нервами. Шийні верхні, середні, нижні симпатичні вузли та ганглії є джерелом симпатичної інервації залоз, а парасимпатична інервація здійснюється за рахунок блукаючого нерву [78, 79].

ПЗ покриті сполучно-тканинною капсулою, від якої відходять тонкі прошарки сполучної тканини, що утворюють строму органа, але не забезпечують повного розділення органа на часточки [11, 80]. Паренхіма представлена тяжами дрібних клітин, які розміщені переважно вздовж капілярів (найбільш поширений тип будови залоз). Іноді зустрічається компактний тип, де строма представлена окремими тяжами, а паренхіма — масою епітеліальних клітин без розділення на трабекули. Також зустрічається часточковий тип, коли паренхіма розділена сполучною тканиною на трабекули. Втканині залоз спостерігаються переходи від одного типу будови до іншого, іноді в межах однієї залози [81, 82, 83, 84, 85]. У стромі зустрічаються жирові клітини, які розміщуються поодинокі або групами. Варіабельність кількості жирової тканини, розмір, розподілення, іноді серед чотирьох залоз однієї людини та

у одній залозі, усе це залежить від віку, рівня метаболічних процесів в організмі. Зменшення жирової тканини у залозах свідчить про збільшення функціональної активності органа. [11, 86, 87, 88]. У ПЗ інтактних щурів адипоцити розподілені рівномірно по всій площі залоз [56, 89]. По сполучнотканинних прошарках проходять нерви, кровоносні, лімфатичні судини. Синусоїдний тип капілярів розміщується у тканині залоз. Базальна мембрана капілярів дуже тоненька або зовсім відсутня. Вона створює умови для кращого обміну речовин між паратироцитами та кров'ю. У сполучнотканинній стромі відмічаються ретикулярні та еластичні волокна, гладкі міоцити, фібробласти та тканинні базофіли [8, 50, 90, 91, 92]. Структурно - функціональною одиницею паренхіми – є паратироцити. Клітини розміщуються в тяжках, тісно прилягають один до одного, тому мають багатотрикутну форм. Загальна кількість паратироцитів у дорослої людини становить  $90 - 100 \times 10^6$  [84, 87, 93].

Паренхіма ПЗ у деяких ссавців представлена двома типами клітин: головними та оксифільними, а у деяких тільки одним типом — головними. Левер у 1957 році уперше описав ультраструктуру головних клітин ПЗ щурів [63]. Trier (1958) першим описав ультраструктуру ПЗ приматів, *Macaca mulatta*. У паренхімі залоз були присутні головні клітини, що містили добре розвинену зернисту ендоплазматичну сітку та комплекс Гольджі. Другий тип – оксифільні клітини, мали чисельну кількість мітохондрій [94]. Ультраструктура ПЗ мавпи майже така ж, що і у людини (Shoumura and Isono, 1985) [62]. Оксифільні клітини зустрічаються у залозах дорослої людини, описані у мавп, биків, коней та монгольської піщанки, кажанів, черепах [63, 78, 95].

На сьогодні у нормальній тканині ПЗ виявлено п'ять типів клітин, а саме головні клітини, вакуолізовані головні клітини, темні головні клітини, оксифільні клітини та перехідні оксифільні клітини [96]. Основними клітинами залоз є головні паратироцити [63, 85, 97, 98].

Головні паратироцити мають полігональну форму, ядра округлої форми центрально розміщені [98]. Ультраструктурна будова головних клітин характеризує їх функціональну активність. Ці клітини є найбільш чутливі з усіх паратиреоцитів до змін концентрації кальцію у сироватці крові [78]. Ультраструктура головних клітин, які виробляють гормон пептидної структури, має помірно розвинуту гранулярну ендоплазматичну сітку, виразний комплекс Гольджі, полірибосоми, мітохондрії. Клітини мають включення глікогену та ліпідів. Виділяють два типи головних клітин світлі (неактивні) та темні (активні) [63, 85, 98].

Головні клітини у переважній більшості свого життя є неактивними через нормальний гомеостаз кальцію [99]. Такі клітини мають кубоїдну форму, рівну цитоплазматичну мембрану [78, 86]. У цитоплазмі виявляється велика кількість глікогену та каплі жиру, невелика кількість секреторних гранул. В активну секреторну фазу клітини зменшуються у розмірі, кількість глікогену та ліпідів знижується, секреторні гранули переміщуються на периферію, цитоплазматична мембрана стає звивистою [60, 86, 100, 101].

В одному паратироциті кількість гранул становить від 2 – 3 до 20 – 30 [63, 62]. Nakagami та ін. у 1971 році вивчали секреторний цикл у ПЗ щурів та застосували тирозин, як мітку. Через 2 хвилин побачили її у комплексі Гольджі, у секреторній гранулі через 25 – 30 хвилин, а поза головними клітинами через 35 – 60 хвилин [102]. Це пояснюється тим, що гормон не накопичується у цитоплазмі в значній кількості, а швидко виводиться з клітини (приблизно через 60 – 90 хвилин після синтезу) [62, 63, 103, 104]. На думку деяких вчених секреторний цикл ПЗ відбувається за типом неперервної мерокринової секреції [105].

Вакуолізовані головні клітини менші, у порівнянні з головними, мають велику вакуолізовану цитоплазму та ядро, яке розташовано на периферії. Оксифільні клітини великі та мають еозинофільну цитоплазму. При фарбуванні гематоксиліном та еозином клітини світліші ніж головні



паратироцити [23, 106]. Перехідні оксифільні клітини менші, ніж класичні оксифільні, та мають світлу цитоплазму, містять більше мітохондрій, ніж головні клітини [62, 107]. Shannon W. A. та інші дослідили секреторний цикл головних клітин та виявили, що великі клітини перебувають у фазі спокою, тоді як темні головні клітини мають більшу секрецію гормону [108]. Також деякі автори відмічають, що при тривалій стимуляції ПЗ оксифільні клітини здатна синтезувати паратгормон [100]. За даними дослідження, Павлов А. В. стверджує, що на один темний паратироцит приходить 3 – 5 світлі клітини [111]. Збільшення кількості оксифільних клітин за даними деяких авторів спостерігається з віком або при надмірному функціональному стресі, а також при порушенні обміну речовин [109].

У працях G. Meussu (1898) вперше згадується о гормоні ПЗ [30]. У 1906 році Erdheim J. припустив що залози беруть участь в обміні кальцію, а патологія кісткової системи пов'язана з паратироїдною гіперплазією [110]. H. Rasmussen та L. Graig (1959) отримали та виділили паратгормон, провели структурний аналіз та хімічний склад [31].

Кальцій є одним з необхідних елементів у життєдіяльності організму. Він приймає участь у виконанні важливих внутрішньоклітинних та позаклітинних функцій. Рівень внутрішньоклітинного та позаклітинного кальцію жорстко регулюється. Позаклітинний кальцій предстален трьома формами: неіонізований (зв'язаний з білком), іонізований та у складі кальцій-амінових комплексів. Фізіологічний ефект його реалізується за рахунок іонізованої форми. Основним регулятором швидкості секреції паратгормону є позаклітинний кальцій, то б то вона зростає при зниженні та пригнічується при зростанні його рівня [111, 112]. Кальцій через специфічні кальцієві рецептори діє на ПЗ, де рецептори виявляють незначні зміни рівня йонів у плазмі крові. Уперше Brown (1991) припустив про існування цих структур [113, 114]. Усі молекули паратгормону ссавців складаються з одноланцюгового поліпептиду з 84 амінокислотами [115].

Паратгормон відіграє центральну роль в регуляції кальцієвого гомеостазу. Його координована дія на кісткову тканину, нирки, кишковик призводить до збільшення транспорту кальцію до позаклітинної рідини та збільшення концентрації кальцію у сироватці крові [6, 11, 112, 115, 116, 117].

Другим з основних компонентів регуляції обміну кальцію вважають кальцитонін, який секретується парафолікулярними клітинами щитоподібної залози. Його синтез підвищується при підвищенні концентрації позаклітинного кальцію, реалізація відбувається за рахунок інгібування активності остеокластів (кісткова тканина) та збільшення екскреції кальцію у сечі (нирки). Але фізіологічна роль кальцитоніну до кінця не вивчена [4, 118, 119]. Треба відзначити, що секреція кальцитоніну стимулюється багатьма факторами: катехоламіни, глюкагон, гастрин та холіцистокинин, але їх роль у фізіологічній регуляції його секреції є дискутабельною. У літературних джерелах описуються деякі патологічні стани, які не пов'язані з щитоподібною залозою, також стимулюють його секрецію: гіперпаратиреоз, рак молочної залози, панкреатит, цироз печінки, анемія, хронічна ниркова недостатність, атрофічний гастрит, гастринома та інші. Вважається, що гіперкальціємія та гіпергастринемія виступають сильними стимуляторами секреції кальцитоніну. Підвищення рівня кальцитоніну у пацієнтів з хронічною нирковою недостатністю пояснюють зв'язком з більш низьким його кліренсом. Але на сьогоднішній день питання стосовно різних факторів, які сприяють підвищенню рівня активності кальцитоніну залишається до кінця недослідженим [120, 121].

Гомеостаз кальцію представляє собою складний та багатокомпонентний механізм. Основними гравцями виступають кальцієві рецептори на клітинних мембранах, які розпізнають мінімальні коливання рівня кальцію та запускають механізми контролю його в організмі. Зниження рівня кальцію призводить до активації секреції паратгормону та

пригнічення синтезу кальцитоніну за рахунок дії на ефекторні органи та тканини (кістки, нирки, кишковик) [4, 6, 12, 116, 119].

Основний вміст кальцію представлено у формі гідроксиапатиту у кістковій тканині й лише невеликий відсоток його знаходиться у внутріклітинних та позаклітинних рідинах. Цинк та магній є важливими кофакторами цього ферменту. Більша частина лужної фосфатази у сироватці крові надходить з печінки, кісток, та невеликий кількість з кишківника [122]. Лужна фосфатаза — є ферментом, який може виступати маркером коливання вмісту кальцію у кістковій тканині. Активність його прямо пропорційно ступеню декальцинації кісткового матриксу [118, 123, 124].

Метаболізм кальцію тісно пов'язано з метаболізмом фосфору, його концентрація в крові знаходиться у зворотній залежності [112]. В перше це встановив Greenwald (1911) при обстеженні у пацієнтів з паратиреоїдектомією концентрації фосфору у крові, який мав високі показники, що свідчить про вплив ПЗ на фосфорний обмін у організмі [125].

Також треба відзначити магній, який також є модулятором секреції паратгормону. Високий вміст магнію у крові призводить до пригнічення секреції гормону. А при зниженні логічно було б стимулювання секреції, але навпаки призводить до пригнічення синтезу паратгормону (можливо внутрішньоклітинно) [4, 24].

На секрецію паратгормону впливають й інші гормони. Так посилювати його секрецію можуть катехоламіни, глюкокортикоїди, естрагени, прогестерон, змінюючи чутливість рецепторів ПЗ до рівня кальцію [4, 29, 112].

ПЗ секретують також хромогранін (Chromogranin A), який складається з 450 амінокислотних залишків та косекретується разом з паратгормоном. Його секреція відмічається у різних типах паратироцитів з варіабільністю кількості гранул у цитоплазмі клітин. Використовується, як

маркер для нормальних та неопластичних; ендокринних та нейроендокринних клітин. Біологічне значення його є дискутабельним [126, 127].

Підсумовуючи вищезазначене, можна відмітити, що морфологічна будова залоз та функція різного типу клітин в середині органу є досі не зрозумілою до кінця. На сьогоднішній день теж не достатньо висвітлене питання морфофункціональної організації ПЗ за умов дії несприятливих екзогенних та ендогенних факторів. А також питання щодо впливу несприятливих факторів, а саме комбінації СВМ на залози залишається актуальним для вивчення.

## **1.2 Солі важких металів та їх вплив на організм**

Проблема забруднення навколишнього середовища — є однією з глобальних проблем сучасності. Хімічні елементи різними шляхами і в різних дозах потрапляють в організм людини, завдаючи йому і шкоду, і користь. Їх міграція в екосистемах відбувається за участю організмів, повітря, води, колоїдних розчинів і внаслідок техногенних процесів. Ксенобіотики, які порушують біологічно нормальний стан і функціонування організму, зумовлюють патології. Отруйні властивості можуть проявляти майже всі речовини. Однак отруйними вважають лише ті речовини, які проявляють шкідливу дію у звичайних умовах і потрапляють в організм у відносно малих кількостях [128].

Із 105 хімічних елементів 83 належать до металів. За ознаками металічні елементи поділяють на легкі та важкі. Відповідно до функцій в організмі метали поділяються на (класифікація Foulkes E. C.):

- есенціальні (незамінні фактори живлення);
- неесенціальні (необов'язкові для життєдіяльності людини);
- токсичні (отруйні).

За дією на організм людини мікроелементи поділяють на:

— важливі для життя людини (Co, Cr, Ce, F, Fe, I, Mn, N, Se, Si, V, Zn);  
— токсичної дії (As, Be, Cd, Co, F, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Se, Sn, Ti, V, Zn).

Із зазначених елементів 10 відносяться до обох груп, у невеликих дозах вони безпечні. Токсичні метали та есенціальні метали при надлишку спричиняють токсичну дію на організм [22, 129, 130].

До важких металів (ВМ) відносять більше 40 металів періодичної системи Д. І. Менделєєва з атомною масою більше 50 атомних одиниць V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Sn, Hg, Pb, Bi та інші [131]. За класифікацією Н. Рейсмера до «важких» відносять метали з щільністю більшою  $8 \text{ г/см}^3$ , а саме Pb, Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Sb, Sn, Bi, Hg. Ю. А. Израел у своїх роботах зазначив хімічні речовини: Pb, Hg, Cd, As, що підлягають визначенню у природних середовищах. Згідно Європейської Економічної Комісії ООН, яка займається збором та аналізом інформації про викиди забруднюючих речовин у європейських країнах, до переліку важких металів віднесли Zn, As, Se, Sb [132, 133, 134].

ВМ являють собою природні елементи, які зустрічаються по всій земній кулі. Більшість забруднень навколишнього середовища та дія на людину є результатом антропогенної діяльності, а саме: видобутку та промислового виробництва, викидів автотранспорту, машинобудування, сільськогосподарського застосування металів та металовмісних сполук. Забруднення навколишнього середовища може також відбуватись за рахунок металевої корозії, атмосферного осадження, вилуговування ВМ та випаровування металів з водних ресурсів у ґрунт та ґрунтові води, а також в наслідок вулканічних викидів [135, 136, 137, 138].

Збільшення концентрації металів – токсикантів у поверхневих водах може відбуватись за рахунок кислотних дощів, які призводять до розчинення мінералів та порід. Все це викликає у біосфері та її складових збільшення вмісту металів-забруднювачів. Але треба відзначити, що для більшості токсичних металів природний потік невеликий у порівнянні з

викидами від промислової діяльності, тому людство є основним джерелом глобального атмосферного циклу мікроелементів та металоїдів [136, 139, 140, 141].

Багато металів утворюють досить міцні комплекси з органікою. Металорганічні комплекси здатні мігрувати в природних водах на досить значні відстані. Особливо важливо це для мало мінералізованих і в першу чергу поверхневих вод, у яких утворення інших комплексів неможливе. Джерелом забруднення водойм є стічні води заводів, які містять розчини сполук ВМ. Вони у природних водоймах перебувають у розчиненому та адсорбованому стані. Потрапляючи у воду в іонній формі, метали нагромаджуються в осаді у вигляді гідроксидів, карбонатів, сульфідів або фосфатів та поглинаються гідробіонтами (планктони, молюски, водорості, риби та ін.). ВМ приймають участь у функціонуванні водного середовища та біоценозу, але надмірне насичення ними зумовлює розлади даної екосфери. Вони впливають на водяну флору і фауну за допомогою різних механізмів, можуть спричиняти гострі і хронічні токсичні ефекти [142, 143, 144, 145, 146].

Розвиток виробничої та промислової діяльності людини призводить до значного збільшення обсягу побутових та промислових відходів. ВМ розповсюджуються по горизонтах, коли потрапляють у ґрунт, акумулюються переважно в гумусі від 6 % до 85 %. ВМ можуть залучатись до окисно-відновних, комплексоутворювальних та інших хімічних реакцій та нагромадження їх призводить до змінення фізико-хімічних властивостей у ґрунті, а також значною мірою можуть пригнічувати біохімічну активність ґрунтових мікроорганізмів та змінювати їх загальну чисельність [137, 140, 147].

Американський еколог Ю. Одума (1953р.) припустив, якщо зникнуть всі джерела забруднення, то в найближчі 100 років забруднення ґрунтів ртуттю зменшиться лише на 20 %. Встановлено, що метали дуже швидко накопичуються у ґрунті, але вкрай повільно з нього видаляються. Час напів

видалення ВМ з ґрунтів дуже повільний, так наприклад: кадмію – 110 років, міді – від 310 до 1500, цинку – від 70 до 510, свинцю – від 740 до кількох тисяч років [137, 144, 148, 149, 150]. З екотоксикологічної точки зору, іони ВМ не зникають з біологічного колообігу, їх токсичність не зменшується, а навпаки, зі збільшенням концентрації, зростає. Вони мають високу кумулятивну здатність, тому існує небезпека, пов'язана з можливістю віддалених наслідків, які спровоковані певним впливом накопичених металів [13, 151].

Шкідливі умови праці та сучасна несприятлива екологічна ситуація обумовлюють достатньо високий рівень забруднення довкілля ВМ, тому їх відносять до основної групи забруднювачів біосфери [18]. Їх висока токсичність та здатність накопичуватись у навколишньому середовищі та організмі призводить до порушень його функціонування та появи ендемічних захворювань [19].

Присутність у навколишньому середовищі не окремих забруднювачів, асоціацій ВМ, які здатні здійснювати комбіновану дію на організм, при яких можливо спостерігати як підсумовування ефектів так і їх потенціювання. Взаємодія між елементами може бути або синергетичною, або антагоністичною, що може викликати відхилення від їх оптимального діапазону і спричинити вторинний дефіцит або токсичність [152]. Антагоністичні відносини ВМ з іншими металами є проявом їх токсичної дії, наприклад мідь і цинк можуть витіснятися з комплексних сполук Hg, Cd, Cr, Ni, Pb; надлишок Hg, As, Cd призводить до дефіциту селену, надлишок Pb – до дефіциту Ca і Zn, а Mn – до дефіциту Mg і Cu [21].

Упродовж останніх десятиріч активно розглядаються питання надходження ВМ у компоненти природного середовища та їх вплив на біотичні компоненти ґрунтових і водних екосистем, надходження цих металів в організм людини з питною водою та продуктами харчування [153, 154, 155].

Фізіологічна дія металів-токсикантів залежить від: концентрації, шляху взаємодії та хімічного виду (комбінації), терміну експозиції в організмі та здатності до біоаккумуляції. Багато ВМ проявляють виражені комплексоутворювальні властивості, здатність до біомінералізації [14, 22, 156]. Відповідно треба зазначити, що адаптаційні механізми намагаються одразу захищати організм від токсичної дії металів, але з часом ресурси виснажуються та відбувається розвиток незворотних станів з невідомими наслідками [156, 157, 158].

Основна загроза металів-токсикантів для організму полягає не в прояві гострого отруєння, а в постійній кумуляції їх в органах та тканинах протягом усього життя. Збільшення концентрацій ВМ та їх сполук у навколишньому середовищі крім токсичної дії викликає канцерогенну та мутагенну, стає причиною серйозних наслідків, які можуть передаватися у спадок [10, 159]. Генотоксичність металів та мутації, які вони викликають, пов'язують з руйнуванням та трансформацією генетичного матеріалу, пошкодження ядерного геному, перебудови нуклеїнових кислот [4, 156, 160]. Пошкодження структури ДНК та процесів трансляції, транскрипції та реплікації призводить до розвитку різноманітних злоякісних захворювань [151, 161]. Канцерогенний ефект може бути спричинений рядом клітинних білків, які приймають участь у проліферації, апоптозі, регуляції клітинного циклу або диференціюванні. Метали здатні активувати транскрипційні фактори за допомогою рециркуляції електронів через антиоксидантну мережу, посилюючи сигнали до редокс-чутливих транскрипційних факторів AP - 1 NF -  $\kappa$ B та p 53. Ці фактори контролюють експресію захисних генів, які відновлюють ушкоджену ДНК, активують імунну систему, гальмують проліферацію ушкоджених клітин та індукують апоптоз. Інактивація p 53 призводить до неконтрольного клітинного поділу [162].

Одним з основних механізмів, за допомогою яких більшість ВМ реалізують свою токсичну дію, є активація вільнорадикального окислення,



що супроводжується пошкодженням макромолекул та надмолекулярних комплексів, зокрема біологічних мембран [163]. У зв'язку з утворенням вільних радикалів, які мають високу реакційну здатність, відбувається розвиток недостатності антиоксидантної системи, зниження тіолового статусу, призводить до дисфункції білків. Вільні радикали ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH$ ,  $ROOH$ ,  $ONOO^-$ ,  $ROO$ ) поділяють на первинні та вторинні. Треба відзначити, що первинні радикали (супероксид, убісепіхінон и нітроксид) утворюються ферментативним шляхом та потрібні клітинами, але їх концентрація завжди дуже мала, натомість ушкодження клітин пов'язані із вторинними (гідроксил або радикали ліпідів) [16]. Надлишок металів-токсикантів в організмі призводить до деактивації багатьох ферментативних процесів [22, 156]. Велика кількість досліджень доводить, що токсичні та канцерогенні метали здатні генерувати активні форми кисню (АФК), зв'язуватись з сульфгідрильними групами білків, викликати окислювальне ушкодження біологічних макромолекул [162]. Так дія кисневих радикалів на ДНК слугує промотором соматичних мутацій, канцерогенезу. Натомість продукти ліпопероксидації, контролюють клітинний поділ на стадії реплікації ДНК [15, 164].

Генерації АФК може бути пов'язана: з порушенням функціонування електротранспортних ланцюгів мітохондрій або мікросом; зростання активних форм клітин – фагоцитів; активація ксантинооксидаз та ліпоксигеназ. При взаємодії з лінолевою та арахідоною кислотами АФК окислює до гідроперекисів, які мають високу біологічну агресивність [130,165,166]. Підтримка певного рівня АФК тканин є важливим для регуляції нормальних фізіологічних процесів в організмі: рівня імунного захисту; рівня специфічного судинного тонузу; рівня самовідновлення мембран клітин; збереження механізму апоптозу. АФК приймає участь у процесах рецепторної регуляції клітин та ряді інших фізіологічних процесів [17].

Всі АФК є окислювачами клітинних компонентів та у більших кількостях викликають незворотні ушкодження клітини. Надлишкове накопичення АФК та вторинних продуктів призводить до виникнення патологічних станів, таких як окислювальний стрес. Початкові стадії стресу є проявом захисної реакції організму на патогенні чинники, але в подальшому вони стають причиною порушень. [16, 161, 166, 167, 168]. Кожний окремих хімічний елемент, який надходить до організму різними шляхами, концентраціями та комбінаціями, має унікальні властивості, завдаючи йому, то користь, то шкоду.

Залізо відіграє одну з основних ролей у життєзабезпеченні клітин, а саме: зв'язує кисень та здійснює його транспортування гемоглобіном та накопичення міоглобіном, приймає участь у рості та проліферації клітин. Залізо є важливим кофактором мітохондріального дихального ланцюга, синтезу ДНК, РНК, колагену, тирозину, катехоламінів та приймає участь у імунобіологічних, ферментативних реакціях [169].

У біологічних системах залізо знаходиться у трьох ступенях окислення: Fe (II), Fe (III), Fe (IV). Зміни у клітинній структурі та функціях, які викликані надлишком заліза, пов'язані з ушкодженням клітинних компонентів вільними радикалами, що спостерігається майже при всіх основних захворюваннях, раку та старінні. Також надлишковий вміст заліза призводить до ряду інших патологічних процесів: порушення функції гемоглобіну, імунної системи, викликає токсичні зміни у серці, печінці, головному мозку, селезінці [170]. Зниження або дефіцит рівня заліза в організмі викликає зниження функціонування імунної системи [169, 171].

Мідь є есенціальним елементом для більшості живих організмів, приймає участь у тканинному диханні та кровотворенні. Завдяки його кругообігу між двома станами окислення Cu (I) та Cu (II), він функціонує як кофактор у ферментах, які каталізують найрізноманітніші окисно-відновлювальні реакції, відіграє важливу роль у еритропоезі, клітинному

диханні, обміні заліза, холестерину та глюкози, біосинтезі гормонів [18, 172, 173].

У надлишковій кількості мідь призводить до утворення вільних радикалів та прямого окислення ліпідів, білків, викликає порушення у системах органів та ДНК [162, 174]. Баланс між необхідністю та токсичністю міді підтримується на рівні клітин, тканин та органів. Подібно до заліза, мідь діє, як каталізатор в утворенні АФК та стимулює окиснення мембранних ліпідів [175]. Дефіцит міді призводить до зниження активності ферментів і негативно впливає на більшість фізіологічних процесів [173].

Наступним важливим есенціальним металом є хром. Сполуки хрому (Cr (VI)) набагато токсичніші, ніж хрому (Cr (III)). Міжнародне агентство з досліджень раку класифікує шестивалентний хром (Cr (VI)), як канцероген для людини [161, 176, 177, 178, 179]. Дослідження з тваринними моделями доводять шкідливі наслідки хрому (Cr (VI)) навіть при одноразовому введенні до організму. Спостерігались біохімічні, гістопатологічні та генотоксичні ефекти у нирках та печінці; ушкодження ДНК, хромосомні аномалії; розвивався окислювальний стрес [14, 161, 180, 181, 182].

Марганець (Mn) — є найпоширенішим металом земної кори, відіграє важливу роль у багатьох біологічних функціях. Він необхідний для нормального обміну амінокислот, білків, жирів та вуглеводів, є кофактором для багатьох ферментів. Mn бере участь у функціонуванні імунної системи, регуляції цукру в крові та клітинної енергії, розмноження, травлення, росту кісток, а також впливає на артеріальний тиск і допомагає в захисних механізмах проти вільних радикалів. Він разом з вітаміном К підтримує згортання крові та гемостаз. Крім того, як відомо, марганець має антиоксидантну функцію та впливає на процеси старіння [183, 184, 185, 186].

Надмірне споживання мангану Mn у високих дозах може призвести до стану, відомого як манганізм, що призводить до психологічних й

емоційних порушень та рухових симптомів, що нагадують хворобу Паркінсона, включаючи порушення ходи, тремор, ригідність та брадикінезію. Також треба відзначити манган Mn у стані окислення  $3+$  має виражену нейротоксичність, призводить до надмірної продукції АФК та викликає розвиток окислювального стресу. У біологічних середовищах манган Mn у будь-якому окислювальному стані може спонтанно спричинити появу малої кількості  $Mn^{3+}$ , але навіть у незначній кількості може призвести до утворення АФК, перекисного окислення ліпідів та до загибелі клітин [183, 184, 185].

Цинк є другим найпоширенішим мікроелементом (після заліза), необхідним для всіх живих організмів. Він бере участь у різноманітних біологічних процесах, як структурний каталітичний і внутрішньоклітинний та міжклітинний компонент сигналізації; необхідний для росту та має антиоксидантні властивості.

Гомеостаз цинку жорстко контролюється в усьому організмі на тканинному, на клітинному та субклітинному рівнях рядом білків. Крім того, деякі дослідження свідчать про те, що несправність гомеостазу цинку через дисфункцію білка-переносника цинку призводить до виникнення та прогресування різних захворювань, порушення процесів відновлення на рівні тканини [187, 188, 189, 190, 191].

Дефіцит цинку погіршує фізіологічні процеси, є причиною імунної дисфункції, інфекції та порушення загоєння ран, також знижується рівень тестостерону, олігоспермії. Легкий дефіцит, який не є клінічно вираженим, все ще може спричинити неспецифічні наслідки такі як сприйнятливості до інфекції та поганий ріст. Зазначається, що хронічні порушення гомеостазу цинку призводять до розвитку пухлин різної локалізації та нейродегенеративних захворювань, як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона. Вільний цинк ( $Zn^{2+}$ ) у високій концентрації є потужним вбивцею нейронів. Збільшення концентрації позаклітинного цинку призводить до активації механізмів апоптозу, тобто проявляються

цитотоксичні властивості. Дуже високі концентрації його призводять до загибелі клітин переважно шляхом некрозу [187, 192, 193, 194, 195, 196].

Свинець відносять до групи найбільш токсичних ВМ, до першого класу небезпечних речовин та накопичувальних забруднювачів навколишнього середовища, які впливають на всі біологічні системи через вплив повітря, води та джерел їжі. У чисельних дослідженнях автори відмітили, що свинець не має визнаної біологічної функції в організмі, і, таким чином, потрапляючи в організм, він спричиняє серйозні наслідки для здоров'я.

Дослідження, проведені в цій галузі, повідомили про наявність різних клітинних, внутрішньоклітинних та молекулярних механізмів, що стоять за токсичними проявами, викликаними свинцем в організмі, також його відносять до системного токсиканту, який пошкоджує декілька органів. Вплив свинцю викликає клінічні патологічні зміни в багатьох системах: нирковій, ендокринній, кровотворній, репродуктивній, імунній та центральній нервовій. Однак через його повільну швидкість виведення шкідливі рівні свинцю можуть накопичуватися в тканинах після тривалого впливу малих кількостей. Він розподілений у всіх частинах навколишнього середовища у трьох основних формах: металевий свинець, солі свинцю та органічний свинець, що містить вуглець [14, 197, 198, 199, 200].

Токсична дія металу пов'язана з розвитком окислювального стресу та впливом на ДНК, мембранні та антиоксидантні системи захисту клітин. Суміш ВМ до складу, яких входить свинець може спричинити адитивні / синергетичні ефекти внаслідок спільної спорідненості зв'язування з рецептором NMDA, біологічним  $\text{Ca}^{2+}$ , нейромедіатором Glu (глутамат), який може призвести до дисбалансу між про окислювальними елементами (ROS) та антиоксидантами [199, 201, 202, 203, 204]. Багато останніх досліджень виявили, що метали першого класу токсичності, до яких відносять РІ викликає когнітивну дисфункцію у гіпокампі та викликають

апоптоз, цитотоксичну та генотоксичну дію у клітинах головного мозку [200, 204].

Таким чином, можна стверджувати, що хімічні елементи відіграють важливу роль у різноманітних біологічних процесах. Їх міграція в екосистемах пов'язана з мікроорганізмами, повітрям, водою, ґрунтом, техногенним та антропогенним процесами. ВМ не зникають з біологічного колообігу, їх токсичність не зменшується, а навіть зростає при збільшенні концентрації. Зростання металів-забруднювачів у біосфері призводить до порушення гомеостазу всього організму та розвитку патологічних змін.

Важкість негативних наслідків для здоров'я пов'язана з типом ВМ, його хімічною формулою, валентністю, розчинністю, а також залежить від часу дії та дози. Розумінню механізму їх дії, особливості біотрансформації описані у дослідженнях стосовно декількох металів, мало що відомо о впливі на організм сумішей токсичних елементів. Але на сьогоднішній день залишається актуальним питання одночасного впливу декількох ВМ, що може викликати токсичний ефект у організмі.

## РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана на кафедрах патологічної анатомії та морфології Медичного інституту Сумського державного університету.

### 2.1 Загальна характеристика біологічного дизайну

Дослідження проводилось на 48 білих безпородних статевозрілих щурах–самцях. У зв'язку з морфологічною та функціональною подібністю ПЗ щурів з людиною, тварини були обрані як об'єкт морфофункціонального дослідження.

Піддослідні тварини отримували сухий гранульований корм, до складу якого входили всі необхідні для нормальної життєдіяльності речовини, доступ до води був вільний. Знаходились тварини у віварію Медичного інституту Сумського державного університету з вологістю повітря, яка не перевищувала 50 %, температурою у приміщенні 20 – 25 °С та світловому режимі день/ніч. Лабораторні тварини упродовж експерименту утримувались згідно правил, прийнятих Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, яких використовують для експерименту та наукових завдань (Страсбург, 1986 р.) [205], принципів Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964 – 2000 рр.), “Загальних етичних правил експериментів над тваринами”, затверджених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) [206], згідно документу «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [207] та закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477 - IV від 21.02.2006 р.[208].

Дизайн біологічного дослідження затвердила комісія з питань біомедичної етики під час проведення експериментальних досліджень

Медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 1/4 від 12. 04. 2021 р.).

З метою вивчення морфофункціональних особливостей прищитоподібних залоз за умов впливу комплексу СВМ до звичайної питної води додавали їх комбінацію, яка притаманна забрудненим регіонам України, а насамперед Сумській області. Піддослідні тварини постійно отримували питний розчин, який містив: цинк ( $ZnSO_4 \times 7H_2O$ ) – 5 мг/л, мідь ( $CuSO_4 \times 5H_2O$ ) – 1 мг/л, залізо ( $FeSO_4$ ) – 10 мг/л, марганець ( $MnSO_4 \times 5H_2O$ ) – 0,1 мг/л, свинець ( $Pb(NO_3)_2$ ) – 0,1 мг/л, хром ( $K_2Cr_2O_7$ ) – 0,1 мг/л [209, 210].

У таблиці 2.1 представлено розподіл тварин по групах.

Піддослідні щури, які були використані в експериментальному дослідженні, поділені на три групи .

Таблиця 2.1 Розподіл тварин у експериментальному дослідженні

Група	Період (тривалість спостереження)			
	30 діб	90 діб	120 діб	180 діб
I — контрольна	6	6	6	6
II — СВМ	6	6	-	-
III — відновлення	-	-	6	6
Всього:	48			

До I групи входили щури ( $n = 24$ ), які вживали звичайну питну воду, якість якої відповідала санітарним нормам і правилам, упродовж 30, 90, 120, 180 діб.

II група – тварини ( $n = 12$ ), які отримували водний розчин суміші СВМ упродовж 30 діб та 90 діб;



III група — лабораторні тварини ( $n = 12$ ), на 30 - ту та 90 - ту добу відновлювального періоду після відміни 90 - денного вживання суміші СВМ отримували звичайну питну воду.

З метою вивчення морфологічних особливостей будови прищитоподібних залоз та функціональної їх активності піддослідні тварини виводились з експерименту на 30 - ту, 90 - ту, 120 - ту та 180 - ту доби.

## **2.2 Гістологічне та гістоморфометричне дослідження прищитоподібних залоз**

Під час гістологічного дослідження ПЗ піддослідних тварин поміщали у ємність з розчином 10 % забуференого нейтрального формаліну для фіксування впродовж 24 годин. Потім проводили дегідратацію органу за допомогою спиртів зростаючої концентрації та поміщали його в парафіновий блок.

На ротаційному мікротомі отримували серійні парафінові зрізи тканини товщиною  $5 \times 10^{-6}$  м, які розміщували на предметному склі та фарбували гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за Ван - Гізоном та за Малорі [211].

Вимірювання отриманих препаратів проводилося після фотографування з використанням мікроскопу «Carl Zeiss Primo Star» (Німеччина) (бінокляр  $\times 10$ , об'єктиви  $\times 10$ ,  $\times 40$ ) та цифровою камерою «Zeiss Axio Cam ERc 5s» (Німеччина), а також програмним пакетом виходу системи зображення та обчислення «ZEN 2 (blue edition)» (Німеччина). Для визначення особливостей морфологічної будови ПЗ проводився аналіз зображення мікропрепаратів.

На фото зрізів при збільшенні  $\times 400$  за допомогою програми накладали сітку, зі встановленою площею комірки ( $2083,076 \text{ мкм}^2$ ) підраховували кількість ядер клітин (рис. 2.1).

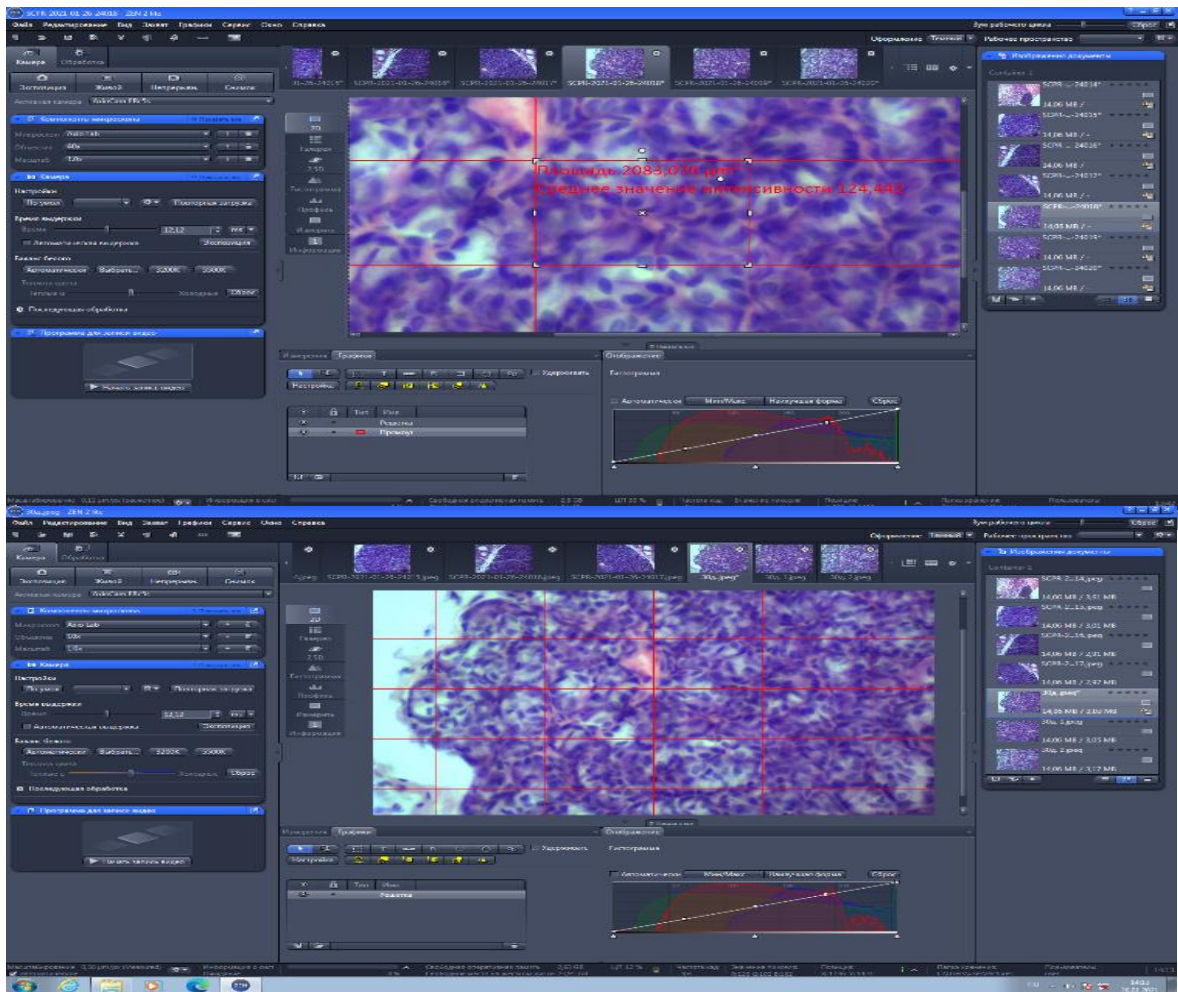


Рисунок 2.1 – Скриншот розмітки, комірка площею 2083,076 мкм<sup>2</sup>.  
Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення × 400.

Вимірювали лінійні параметри ПЗ (ширина, довжина), площі паренхіми та строми, також їх компонентів, ядро - цитоплазматичний індекс на зрізах.

Розрахування ядро-цитоплазматичного індексу за формулою:

$$ЯЦІ = S_{я} / S_{ц}$$

де:  $S_{я}$  — площа ядра клітини;

$S_{ц}$  — площа цитоплазми.

### 2.3 Імуногістохімічне дослідження прищитоподібних залоз

Імуногістохімічне дослідження проводилось на зрізах зі зрізами прищитоподібних залоз товщиною  $(4 - 5 \times 10^{-6} \text{ м})$ . Проводили

депарафінізацію зразків і зневоднення у ксилолі та спиртах у знижуючих концентраціях. Для демаскування рецепторів (антигенів) використовували термічну обробку у водяній бані «ВБ - 4» при температурі 97 – 98 °С у цитратному буфері (рН – 6,0). Візуалізація реакції антиген-антитіло була проведена з застосуванням системи детекції «Ultra Vision Quanto Detection System HRP Polymer» (Thermo scientific, США). Також здійснювали блокування ендогенної активності пероксидази розчином перекису водню «Hydrogen Peroxide Block» (Thermo Scientific, США) з блокування неспецифічного фонового фарбування – «Ultra Vision Protein Block» (Thermo Scientific, США), та посилення імуногістохімічної реакції за допомогою «Primary Antibody Amplifier Quanto» (Thermo Scientific, США), а для кінцевої візуалізації використовували діамінобензидин (Thermo Scientific, США) з дозобарвленням гематоксиліном Маєра, щоб покращити диференціацію структури на рівні клітини.

Для дослідження на основі реакції антиген-антитіло застосовували таку панель антитіл:

- моноклональні антитіла до білку Ki - 67 (клон SP 6) у розведенні 1 : 100 використовували для вивчення проліферативної активності клітин;
- поліклональні антитіла до білку Hsp 90α у розведенні 1 : 200 застосовували для вивчення конформаційного підтримання внутрішньоклітинних білків;
- поліклональні антитіла Chromogranin A у розведенні 1 : 200 використовували для вивчення функціональної активності клітин.

При дослідженні проводили контроль реакції (позитивний та негативний).

Оцінка результатів імуногістохімічної реакції проводилась шляхом розрахування імунопозитивних клітин до загальної їх кількості, яка виражалась у відсотках.

Позитивна реакція у ядрах клітин до білку Кі - 67 проводилася напівкількісно методом підрахунку кількості забарвлених клітин на 100 клітин у трьох полях зору при збільшенні мікроскопа x 400, результат виражався у відсотках і оцінювався за прийнятою шкалою:

- відсутня експресія Кі - 67 (-);
- 0 - 20 % - слабка експресія Кі - 67 (+);
- 21 - 50 % - помірна експресія Кі - 67 (++);
- 51 - 100 % - значна експресія Кі - 67 (+++).

Максимальна експресія до білка Кі - 67 спостерігається у мітозі та періодах інтерфази, окрім фази G<sub>0</sub> [212, 213].

## 2.4 Біохімічні та імуноферментні дослідження

Для дослідження функціонального стану прищитоподібних залоз проводили визначення рівня активності паратгормону (пг/мл) у сироватці крові лабораторних тварин за допомогою реагентів фірми Siemens на автоматичному імунохемілюмінесцентному аналізаторі-фотометрі Immulite 1000, Siemens Healthcare Global (США). Також застосовували цей метод для визначення рівня активності іншого гормону, який приймає участь у регулюванні гомеостазу кальцію, кальцитонину (пг/мл).

За допомогою біохімічного аналізатора OLYMPUS AU 400 (Японія) проводили визначення рівня модуляторів секреції паратгормону – загального кальцію Ca<sup>2+</sup> (ммоль/л) та магнію Mg<sup>2+</sup> (ммоль/л) у сироватці крові піддослідних щурів. А також використали цей метод для визначення рівня маркеру кальцієвого гомеостазу – лужну фосфатазу (ОМ/л) та вимірювали рівень загального білку (г/л) для розрахування показника кальцію Ca<sup>2+</sup> іонізованого (ммоль/л).

Розрахування Ca<sup>2+</sup> іонізованого (ммоль/л) проводили за формулою:

$$Ca_{ion}^{2+} = \frac{K_1 \times Ca_{загал}^{2+}}{K_2 + загал. білок}$$

де  $K_1$  та  $K_2$  – це константи та становлять:

$$K_1 = 97,2;$$

$$K_2 = 116,2.$$

## 2.5 Статистична обробка даних

Обробку отриманих даних проводили за допомогою програми Microsoft Excel 2010 із додатком AtteStat 12.0.5. Обчислювали середню арифметичну ( $M$ ) і стандартне відхилення ( $SD$ ), зазначаючи відсоток коливання параметрів між досліджуваними групами. Також перевіряли вибірку на нормальність та оцінювали ймовірності розбіжностей порівнюваних показників з використанням  $t$  – критерію Стюдента ( $t$ ). Взаємозв'язок між досліджуваними показниками оцінювали згідно з критерієм кореляції Пірсона ( $r$ ). Результати вважали статистично достовірними, коли ступінь ймовірності більше 95 % ( $p < 0,05$ ).

## РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1 Будова прищитоподібних залоз у щурів контрольної групи

При експериментальному дослідженні контрольної групи щурів на латеральній поверхні краніального полюсу під капсулою правої та лівої долі щитоподібної залози спостерігали ПЗ. Макроскопічно залози мали світле білувате утворення овальної форми. Тварини мають дві ПЗ, які анатомічно зв'язані з щитоподібною залозою, але вони відмежовуються тонкою сполучно-тканинною капсулою. Залози характеризувались компактним розміщенням клітин на відміну від фолікулярної структури щитоподібної залози.

При великому збільшенні від сполучно-тканинної капсули до середини залози відходять тонкі прошарки сполучної тканини, які не розділяють залози на часточки та утворюють строму органа. У ній зустрічаються жирові клітини, які розміщуються поодинокі, а також відмічаються кологенові, ретикулярні та еластичні волокна, фібробласти та фіброцити. Паренхіма компактна, представлена тяжами дрібних клітин, які тісно прилягали одна до одної, розміщувалися радіально вздовж чисельних капілярів (рис. 3.1).

Основну масу паренхіми ПЗ щурів складали головні паратироцити, які відіграють важливу роль у регуляції гомеостазу кальцію та фосфору. Популяція клітин морфологічно була неоднорідна. У залежності від функціональної активності головні паратироцити розрізняли на світлі та темні. Клітини мали полігональну форму, нерівні контури.

Ядра паратироцитів розміщені ексцентрично, ближче або далі від просвіту капілярів. Хроматинова сітка була просвітлена, з крайовою агрегацією хроматину.

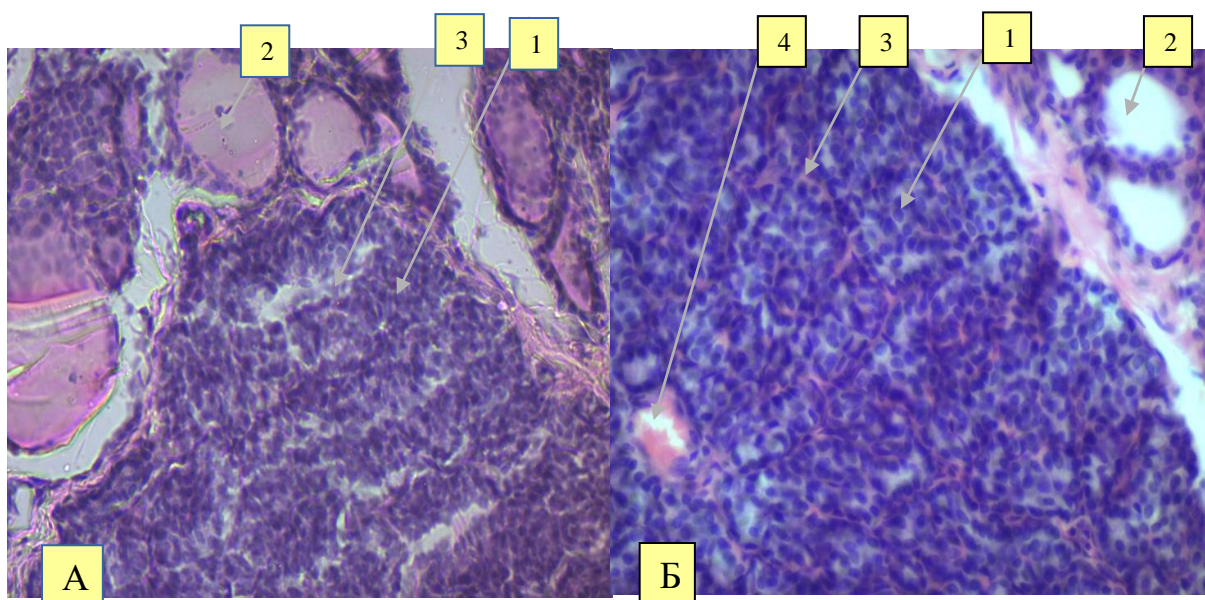


Рисунок 3.1 – Паренхіма прищитоподібної залози контрольної групи. Позначення: 1 – паратироцити; 2 – фолікули щитоподібної залози; 3 – прошарки сполучної тканини; 4 – судини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А – Збільшення x 200, Б – Збільшенні x 400.

А також зустрічались ядра, де хроматин конденсований у вигляді дрібних грудок, що дифузно розташовувались у каріоплазмі. Ядерця зустрічались дуже рідко та мали малий розмір

Завдяки застосуванню методу Ван - Гісона вдалося візуалізувати, що кожна трабекула представлена епітеліальними тяжами паратироцитів, які були розділені тонкими прошарками пухкої сполучної тканини з рясною сіткою кровоносних судин. Стінка синусоїдних капілярів розвинена слабо, їх діаметр відносно невеликих розмірів. Волокниста частина сполучної тканини була представлена колагеновими волокнами, які забарвлювались в яскравий червоний колір (рис. 3.2 А).

При застосуванні методу Малорі візуалізували стромальний компонент залоз. Волокниста частина сполучної тканини забарвлювалась у блакитно — рожевий колір, клітинний компонент був представлений переважно фіброцитами, ядра яких зафарбовувались у яскраво – червоний колір (рис. 3.2 Б).



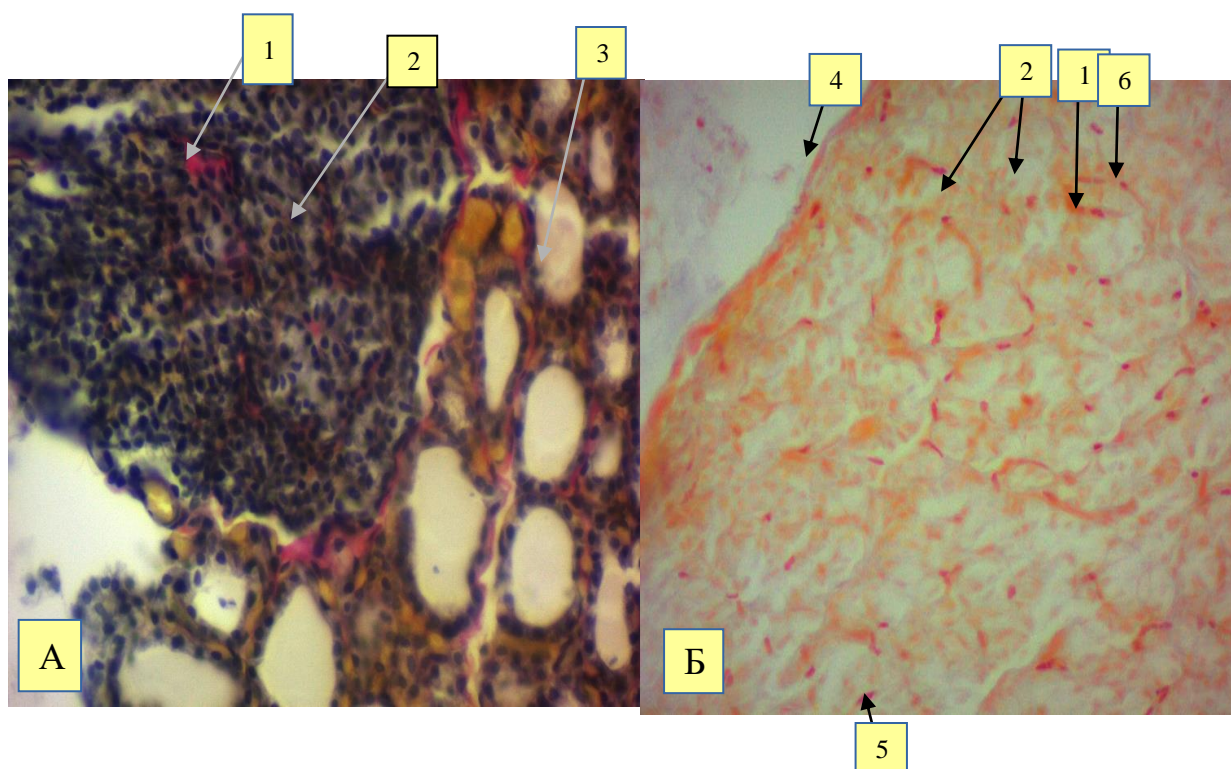


Рисунок 3.2 – Паренхіма прищитоподібної залози контрольної групи. Позначення: 1 – прошарки сполучної тканини, 2 – паратироцити, 3 – фолікули щитоподібної залози, 4 – сполучно-тканинна капсула, 5 – фіброцити, 6 – судини. А – забарвлення за Ван - Гізоном; Б – забарвлення за Малорі. Збільшення  $\times 400$ .

Морфометричні виміри органа проводили на плоских гістологічних зрізах, у зв'язку з малим розміром залоз.

При дослідженні ПЗ виявлено, що площа їх становила  $228415,97 \pm 34812,3$  мкм<sup>2</sup>.

Стромальні компоненти залоз складали: товщина сполучно-тканинної капсули —  $21,84 \pm 4,07$  мкм, а також прошарки сполучної тканини —  $4,85 \pm 0,37$  мкм. Основну масу паренхіми ПЗ становили головні клітини. Вони мали полігональну форму та розміщувались вздовж великої кількості капілярів. Також клітини тісно прилягали одна до одної та кількість їх становила  $53,2 \pm 1,33$  на заданій площі. Клітини мали наступні розміри: ширина була  $4,78 \pm 0,21$  мкм та довжина —  $6,73 \pm 0,25$  мкм. Площа їх складала  $26,88 \pm 1,42$  мкм<sup>2</sup>. Ядра паратироцитів були розміщені



ексцентрично, мали нерівні контури. Хроматинова сітка ядер була гіперхромна та гомогенна. Їх площа, яких становила  $10,75 \pm 0,33 \text{ мкм}^2$ . Розміри ядра були наступними: ширина —  $2,72 \pm 0,09 \text{ мкм}$  та довжина —  $5 \pm 0,1 \text{ мкм}$ . Площа цитоплазми паратироцита в середньому становила  $15,15 \pm 1,09 \text{ мкм}^2$ .

Відсоткове співвідношення площі ядра до цитоплазми становило від 40 % до майже 60 % (рис. 3.3).

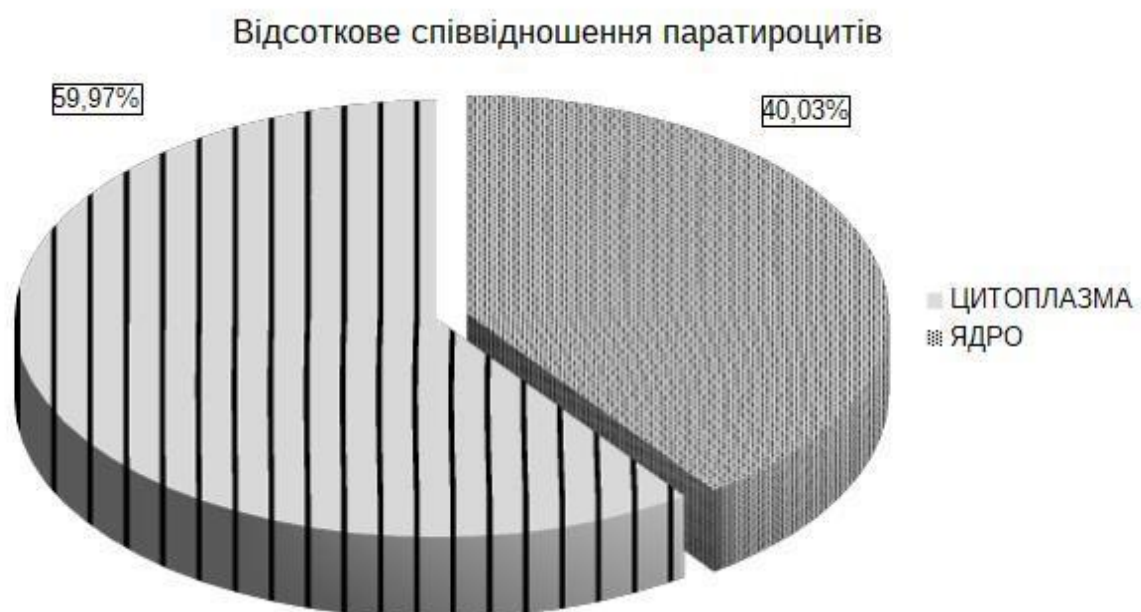


Рисунок 3.3 – Відсоткове співвідношення площі ядра та цитоплазми у паратироцитів контрольної групи тварин.

Ядерно-цитоплазматичний індекс в клітинах станов менше одиниці та дорівнював  $0,81 \pm 0,08$ . Це свідчить про те, що основну масу паренхіми ПЗ складають головні паратироцити, які є високодиференційовані та функціонально активні клітини.

Аналіз проліферативної активності паратироцитів проводили за допомогою імуногістохімічного дослідження. Виявляли позитивно — забарвленні ядра клітин до рецепторів білка Ki - 67, де середній індекс становив  $2,8 \pm 0,47 \%$ , що вважається слабо - позитивною реакцією. Інтенсивність забарвлення ядер клітин оцінювалася як помірна (++) та

висока (+++). Слабку проліферативну активність у ядрах паратироцитів спостерігали переважно у периферійних ділянках препаратів (рис. 3.4 Б).

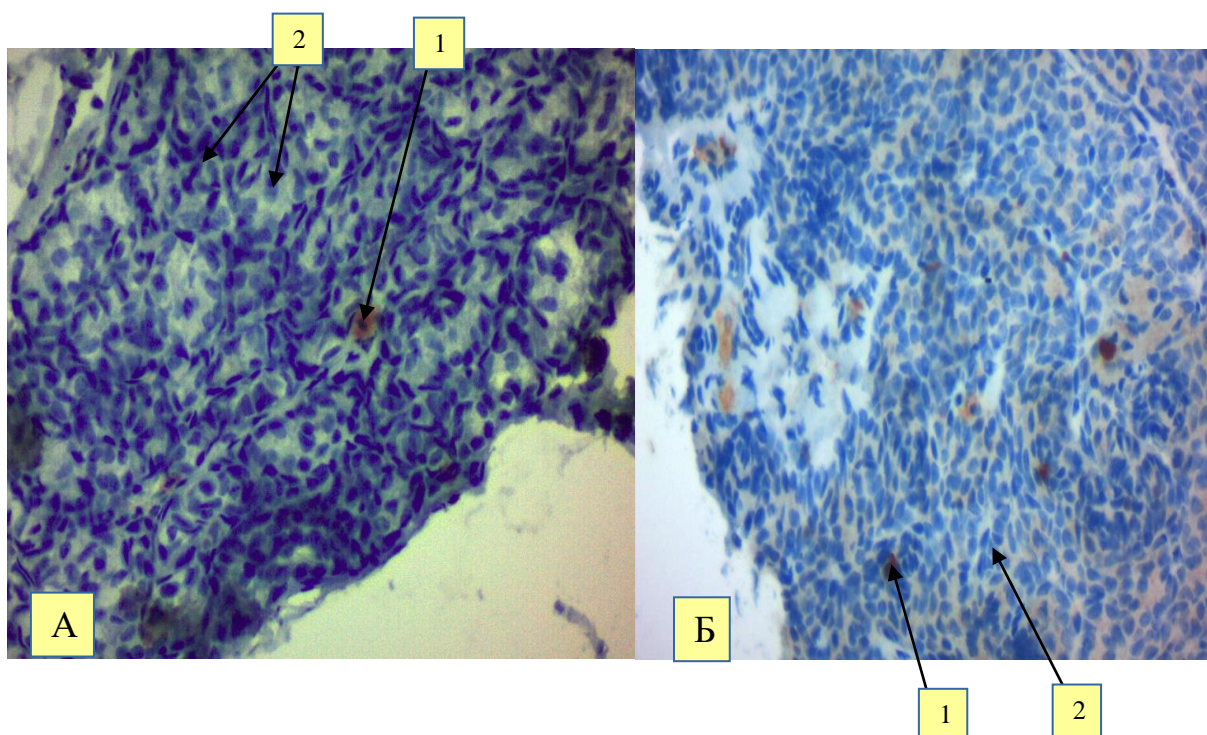


Рисунок 3.4 – Імуногістохімічне дослідження експресії Hsp 90α (А) та Кі - 67 (Б). Позначення: 1 – позитивна експресія до білка Hsp 90α; 2 – негативна експресія до білка Hsp 90α; 3 – позитивна експресія до білка Кі - 67; 4 – негативна експресія до білка Кі - 67. Збільшення × 400.

З метою аналізу стресової відповіді на процес запалення та надходження іонів VM застосовували поліклональні кролячі антитіла до рецепторів Hsp 90α. Оцінювали експресію білків теплового шоку, яка спостерігалася переважно у цитоплазмі паратироцитів.

Враховуючи кількість клітин та інтенсивність їх забарвлення у ПЗ відзначалась слабо- позитивна експресія до білка Hsp 90α. Інтенсивність забарвлення клітин оцінювалася як помірна (++). Але слід відзначити, що у гістологічних зрізах залоз позитивна реакція спостерігалась у поодиноких клітинах і переважно була негативна, та спостерігалась на периферії органу (рис. 3.4 А).

Також для визначення функціональної активності у паратироцитах застосовували поліклональні антитіла до рецепторів Chromogranin A за допомогою імуногістохімічного дослідження. Chromogranin A косекретується разом з паратгормоном, тому можна сказати, що інтенсивність імуногістохімічної реакції залежить від кількості секреторних гранул у цитоплазмі паратироцирів. Так, інтенсивність забарвлення цитоплазми клітин оцінювалася, як висока (+++) та спостерігалась майже у 95 % клітин. Це свідчить про те, що паренхіма залоз представлена паратироцитами, які є функціонально активними головними клітинами (рис. 3.5).

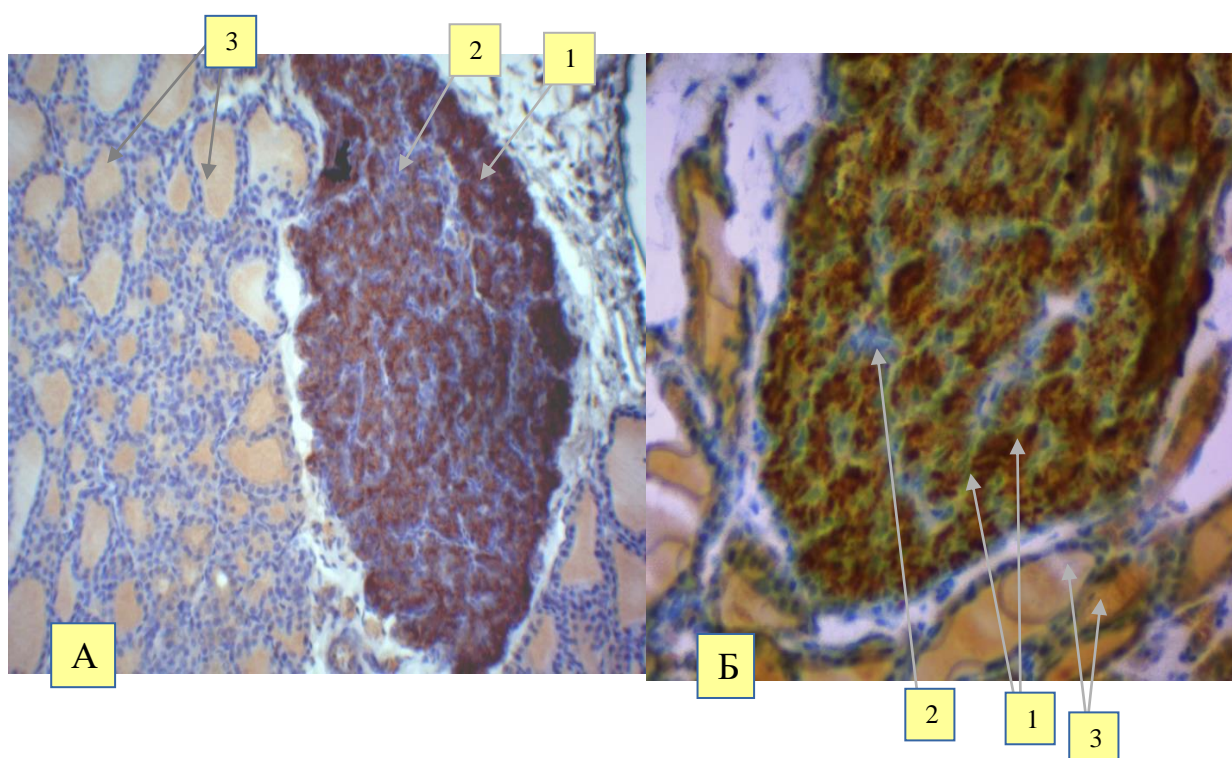


Рисунок 3.5 – Імуногістохімічне дослідження експресії Chromogranin A. Позначення: 1 – позитивна експресія білка; 2 – негативна експресія білка; 3 – фолікули щитоподібної залози. А – Збільшення  $\times 200$ ; Б – Збільшення  $\times 400$ .

Паратгормон відіграє центральну роль у підтримці кальцієвого гомеостазу в організмі. Координована дія його на кісткову тканину, нирки, кишківник призводить до збільшення транспорту кальцію та підвищення

рівня його у сироватці крові. Вміст загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  був  $3,0 \pm 0,03$  моль/л.

Фізіологічний ефект кальцію реалізується його іонізованою формою. Рівень іонізованого кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  становив  $1,56 \pm 0,02$  ммоль/л, та складав 52 % від рівня загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ . Активність паратгормону у сироватці крові лабораторних щурів - самців контрольної групи становила  $7,9 \pm 0,045$  пг/мл.

Фермент, який можна віднести до маркеру коливання вмісту кальцію у кістковій тканині, є лужна фосфатаза. Активність її становила  $295,2 \pm 31,46$  МО/л у щурів контрольної групи.

Другим модулятором секреції паратгормону є магній. Вміст  $\text{Mg}^{2+}$  у сироватці крові піддослідних тварин контрольної групи був  $1,18 \pm 0,01$  ммоль/л.

Кальцитонін, гормон щитоподібної залози, виступає другим гормональним медіатором кальцієвого гомеостазу. Його гіпокальціємічна дія реалізується за рахунок інгібування активності остеокластів кісткової тканини та збільшення екскреції кальцію нирками. Активність кальцитоніну у сироватці крові піддослідних щурів контрольної групи становила  $186,2 \pm 7,06$  пг/мл.

Таким чином, аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що ПЗ статевозрілих щурів- самців характеризуються чітким розподілом стромально-паренхіматозного компоненту. Структурною одиницею залоз є трабекули з компактно розподіленими дрібними головними клітинами. Застосування імуногістохімічного дослідження дозволяє стверджувати, що паренхіма ПЗ представлена функціонально активними паратироцитами, у яких експресія до білка Chromogranin A висока (+++) і відмічається майже у 95 % клітин та спостерігається слабо- позитивна проліферативна активність Ki - 67. Експресія білків теплового шоку Hsp 90 $\alpha$  у паратироцитах ПЗ – слабо - виражена позитивна реакція, яка спостерігається у поодиноких клітинах.

Проведене нами дослідження ПЗ контрольної групи щурів дали можливість констатувати загальні морфофункціональні закономірності. Отримані результати є основою для аналізу морфологічних особливостей та функціональної активності залоз при вживанні суміші СВМ та за умов відновлення.

### **3.2 Особливості будови прищитоподібних залоз щурів за умов впливу солей важких металів**

Морфологічні особливості ПЗ лабораторних тварин II групи досліджувались після вживання комбінації СВМ (цинку, міді, марганцю, свинцю, заліза та хрому) у надлишкових концентраціях протягом 30 діб — змодельований підгострий період та 90 діб — змодельований хронічний період.

Після надходження СВМ у надлишкових концентраціях ПЗ піддослідних щурів зберігають свої типові морфологічні особливості будови. Ззовні залози вкриті сполучнотканинною капсулою, від якої в середину органа відходять прошарки сполучної тканини. Строма містить чисельну кількість кровоносних судин. Паренхіма залоз представлена основними паратироцитами з дистрофічними змінами.

Гістологічне дослідження структури прищитоподібних залоз показало, що при моделюванні підгострого періоду (на 30 дібу експерименту) спостерігалось збільшення площі залоз, у паренхімі відмічались набряк, значне розростання сполучної тканини та порушення гемоциркуляції органа. У центральній частині органу спостерігалось прорушення організації епітеліальних ткабекул.

У стромальному компоненті залоз спостерігалось потовщення капсули та дистонічні перебудови в судинному руслі з ознаками порушення реологічних властивостей. Великі приносні судини залоз, що знаходилися субкапсулярно, мали ознаки повнокрів'я, їх судинна стінка була потовщена,



та на деяких ділянках відмічались початкові ознаки порушення її проникності. Навколо судин візуалізувався периваскулярний набряк. Гемокапіляри, що знаходилися у сполучно-тканинних прошарках, між тяжами паратироцитів, були повнокровні, з явищами еритростазу (рис. 3.6).

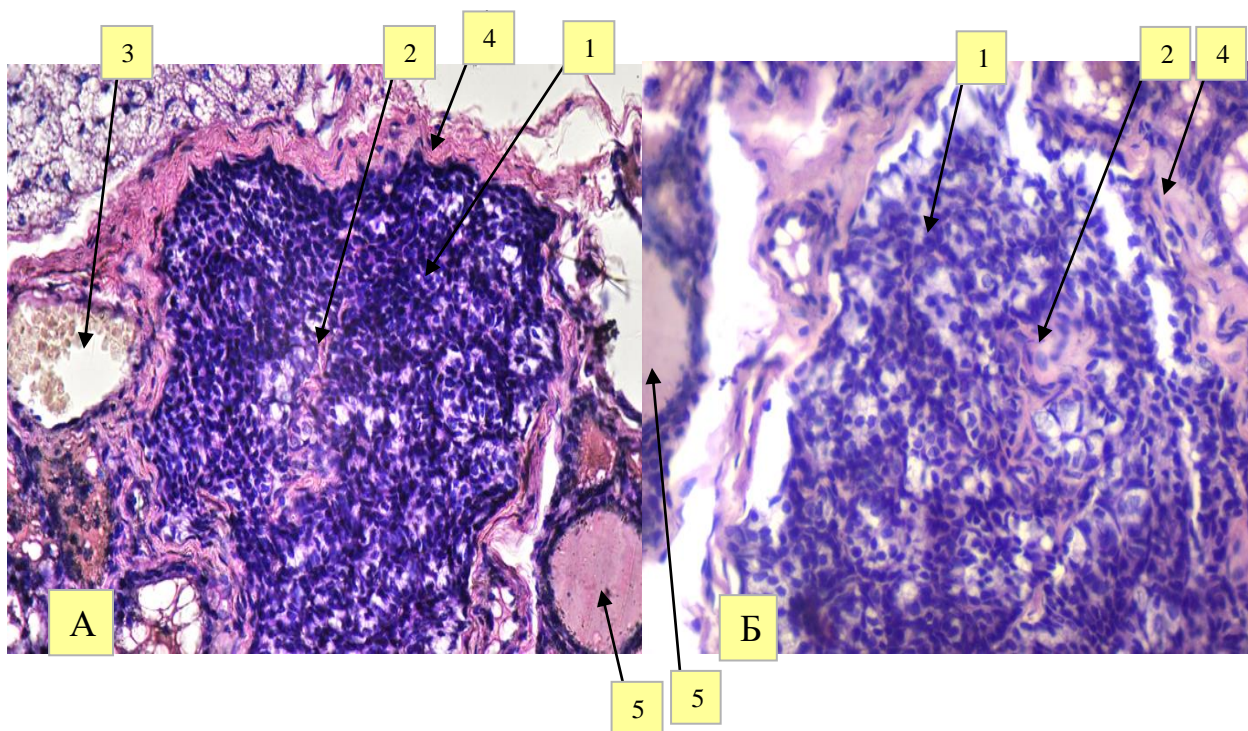


Рисунок 3.6 – Паренхіма прищитоподібної залози на 30 добу впливу комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – паратироцити; 2 – розростання сполучної тканини; 3 – повнокров'я і стаз судин; 4 – сполучно-тканинна капсула; 5 – фолікули щитоподібної залози. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А – Збільшення  $\times 200$ ; Б – Збільшення  $\times 400$ .

Паренхіма представлено паратироцитами, популяція яких була неоднорідна. Збільшилась кількість світлих паратироцитів у порівнянні з темними головними. У клітинах спостерігались реактивні зміни та змінювались тинкторіальні властивості. Мікроскопічно у паратироцитах візуалізувались ознаки гідропічної дистрофії, вакуолізація цитоплазми, як наслідок її набряку. Клітини мали полігональну форму, нерівні контури. Ядра паратироцитів розміщені ексцентрично, переважно у клітин, які були

розташовані на периферії органа. У центрі органа відмічались ядра паратирицитів з ознаками набухання та гіпертрофії. Також треба відзначити, що зустрічались ядра з ознаками пікнозу. Хроматинова сітка була просвітлена, з крайовою агрегацією хроматину. А також зустрічались ядра, з конденсованим у вигляді грудок хроматином, які дифузно розташовувалися у каріоплазмі. Ядерця зустрічались дуже рідко та були малого розміру.

На 30 добу експерименту при використанні додаткових методів забарвлення органа (за Ван - Гізоном та Малорі) виявлялися реактивні перебудови у стромальному компоненті та паренхімі залоз (рис. 3.7).

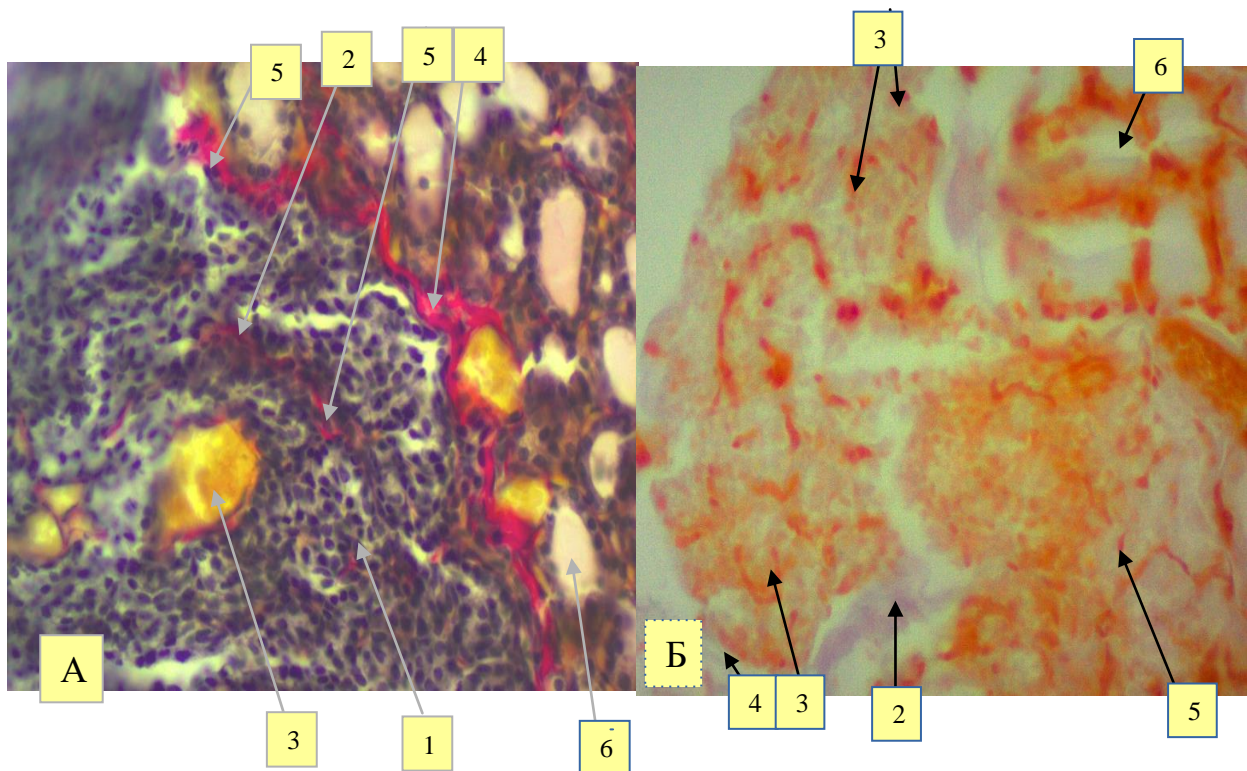


Рисунок 3.7 – Паренхіма прищитоподібної залози на 30 добу впливу комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – дезорганізація епітеліальних трабекул; 2 – розростання сполучної тканини; 3 – повнокров'я і стаз судин; 4 – сполучно-тканинна капсула; 5 – фібробласти; 6 – фолікули щитоподібної залози. А – забарвлення за Ван - Гізоном. Б – забарвлення за Малорі. Збільшення  $\times 400$ .

У паренхімі ПЗ спостерігалися також дистрофічні зміни та порушення будови епітеліальних трабекул, відмічались ділянки з ознаками дисконкомплексації та дезорганізації їх. У стромальному компоненті спостерігалось розростання сполучної тканини. Волокниста частина сполучної тканини була представлена колагеновими волокнами, які забарвлюються у яскравий червоний колір (за Ван - Гізоном) або блакитно - рожевий колір (за Малорі).

Клітинний компонент складався з фіброцитів та фібробластів, з ознаками гіпертрофії ядер на окремих ділянках препарату. Судини мікроциркуляторного русла, що знаходилися у сполучно-тканинних трабекулах між тяжами паратироцитів, були повнокровні, з явищами еритростазу.

При гістологічному вивченні мікропрепаратів ПЗ піддослідних щурів, після вживання комбінації СВМ упродовж 90 діб, відмічались глибокі морфологічні перебудови у всіх структурах органа, які були представлені переважно набряковими явищами.

Спостерігалось потовщення капсули, потовщення та посилення набрякових змін у стромальному сполучно-тканинному компоненті. При застосування додаткових методик фарбування (за Ван - Гізоном та за Малорі) відмічалась гіпертрофія фібробластів та зустрічалися суцільні ділянки розростання сполучної тканини, що характеризувалось активацією процесів колагеноутворення. Волокниста частина представлена колагеновими волокнами при застосуванні різних методик фарбування мали яскравий червоний та блакитно – рожевий колір. Гемокапіляри, які розміщувались у сполучно – тканинних трабекулах мали ознаки повнокров'я та еритростазу (рис. 3.8).

З боку кровоносних судин, відмічалось потовщення стінки середнього та великого калібру, виразне порушення реологічних властивостей крові (стаз крові, агрегація еритроцитів) (рис. 3.8 Б).



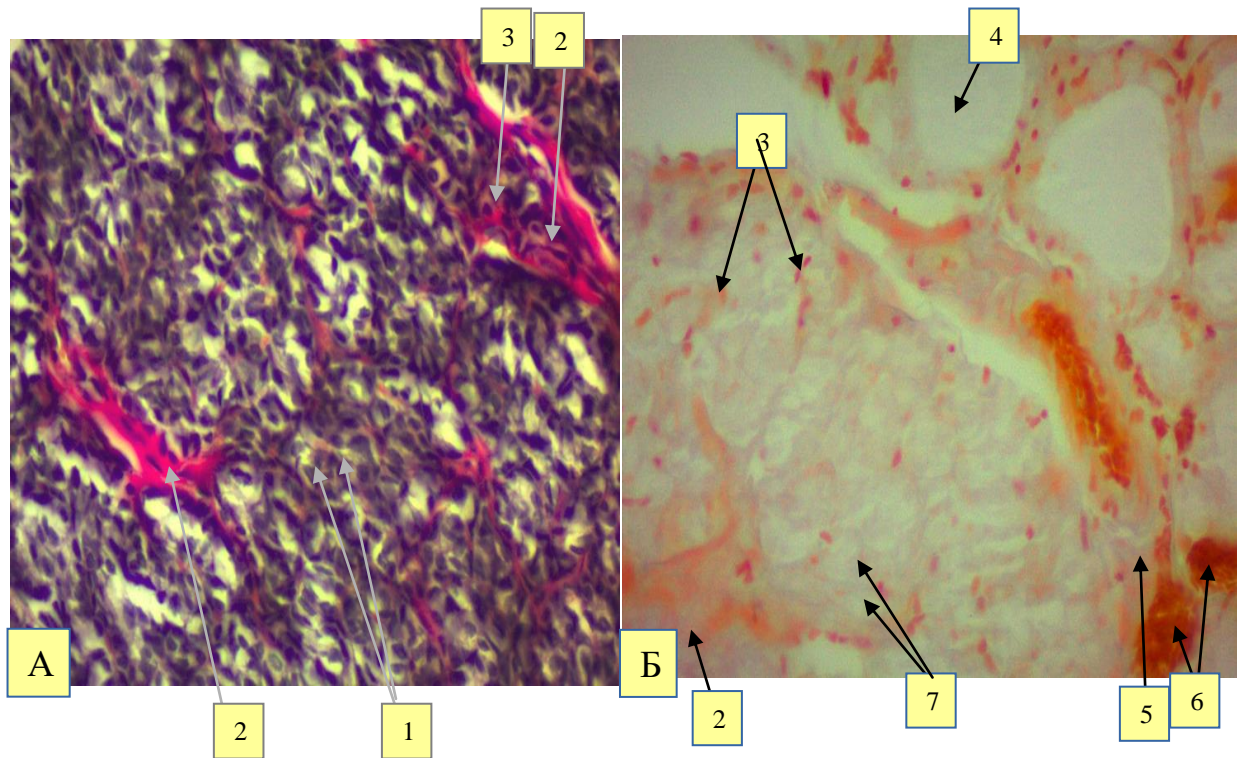


Рисунок 3.8 – Паренхіма прищитоподібної залози на 90 добу впливу комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – дезорганізація епітеліальних трабекул, 2 – розростання сполучної тканини, 3 – фібробласти, 4 – фолікули щитоподібної залози, 5 – сполучно-тканинна капсула, 6 – повнокров'я і стаза судин, 7 – паратироцити. А – забарвлення за Ван - Гізоном, Б – забарвлення за Малорі. Збільшення x 400.

Також більш виразні морфологічні зміни відмічались у мікроциркуляторному руслі залоз, а саме розширення просвіту дрібних судин, явища застою та стазу у гемокапілярах. На деяких ділянках визначалися початкові ознаки порушення проникності судинної стінки (рис. 3.9).

У паренхімі залоз спостерігалось порушення будови епітеліальних трабекул, їх помірна дисконплексація та дезорганізація. Клітинні трабекули склалися з дрібних, різних за розмірами паратироцитів полігональної та овальної форми. Цитоплазма клітин була зафарбована як гіпер-, так і гіпохромно.

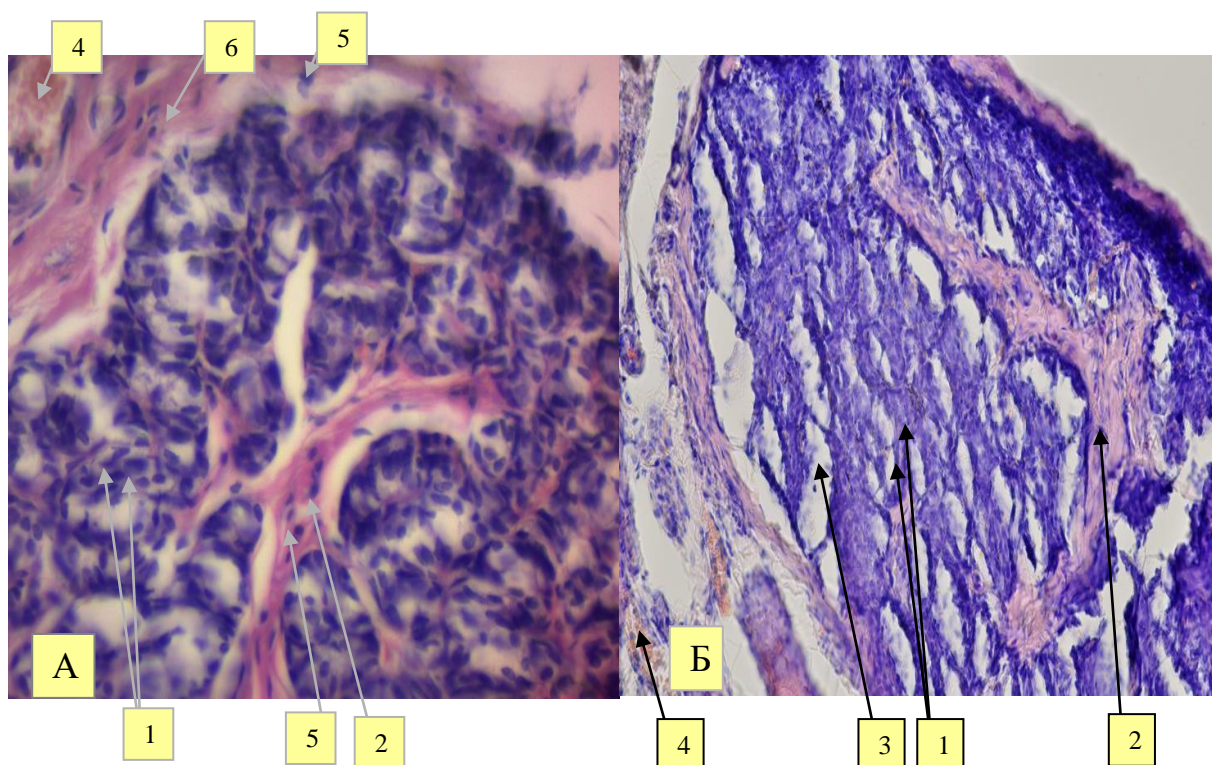


Рисунок 3.9 – Паренхіма прищитоподібної залози на 90 добу впливу комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – дезорганізація епітеліальних трабекул; 2 – розростання сполучної тканини; 3 – набрякові явища; 4 – повнокров'я і стаз судин; 5 – фібробласти; 6 – сполучно-тканинна капсула. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А – Збільшення  $\times 400$ , Б – Збільшення  $\times 200$ .

Майже до 60 % клітин великі ядра овальної форми, які розташовувалися центрально. Але приблизно 40 % клітин мали видовжені, деформовані ядра, які розміщувались ексцентрично у клітині. Хроматинова сітка таких ядер була гіперхромна та гомогенна. У паратироцитах спостерігались ознаки гідропічної дистрофії (рис. 3.9).

При проведенні морфометричного дослідження виявлено, що площа залози збільшилась на 30 добу експерименту в 1,7 рази ( $p < 0,05$ ), та становила  $396745,89 \pm 10900,5 \text{ мкм}^2$ .

Стромальні компоненти залози у цей період склали: товщина сполучно-тканинної капсули зросла у 1,5 рази ( $34,53 \pm 5,85 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ),

а прошарки СТ у паренхімі залози — у 2,2 рази ( $10,67 \pm 1,29$  мкм,  $p < 0,001$ ) (рис. 3.10).



Рисунок 3.10 – Показники зростання та зниження показників компонентів прищитоподібних залоз щурів на 30 добу експерименту .

Надходження до організму СВМ у надлишкових концентраціях упродовж 30 діб експерименту викликали зміну щільності розподілення паратироцитів у паренхімі органа. Кількість клітин зменшилась приблизно у 1,8 рази ( $28,05 \pm 0,74$ ,  $p < 0,001$ ) (Додаток 3, табл. 1).

У клітинах відмічалися явища гіпертрофії. Площа паратироцитів у піддослідних тварин на 30 добу зросла в 1,9 рази ( $52,93 \pm 5,2$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ).

Клітини ПЗ мали наступні розміри: ширина найбільше збільшилась у 1,5 рази ( $9,66 \pm 0,35$  мкм,  $p < 0,001$ ), а довжина — в 1,5 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з показниками контрольної групи. Ядра паратироцитів розміщувались ексцентрично, мали нерівні контури, хроматинова сітка була гіперхромна. Площа їх також мала тенденцію до збільшення — на 30 добу — в 1,8 рази ( $19,86 \pm 1,33$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ). Розміри ядра також збільшились наступним чином: ширина — майже в 1,6 рази



( $4,22 \pm 0,24$  мкм,  $p < 0,001$ ), а довжина — в 1,2 рази ( $6,15 \pm 0,27$  мкм,  $p < 0,001$ ) у відповідний період експерименту в порівнянні з контрольною групою. Площа цитоплазми паратироцита демонструвала зростання в 2,1 рази ( $p < 0,001$ ), в порівнянні з контрольною групою тварин (Додаток 3, таб. 2).

Відсоткове співвідношення площі ядра до цитоплазми становило від 37,4 % до майже 62,6 % (рис. 3.11).

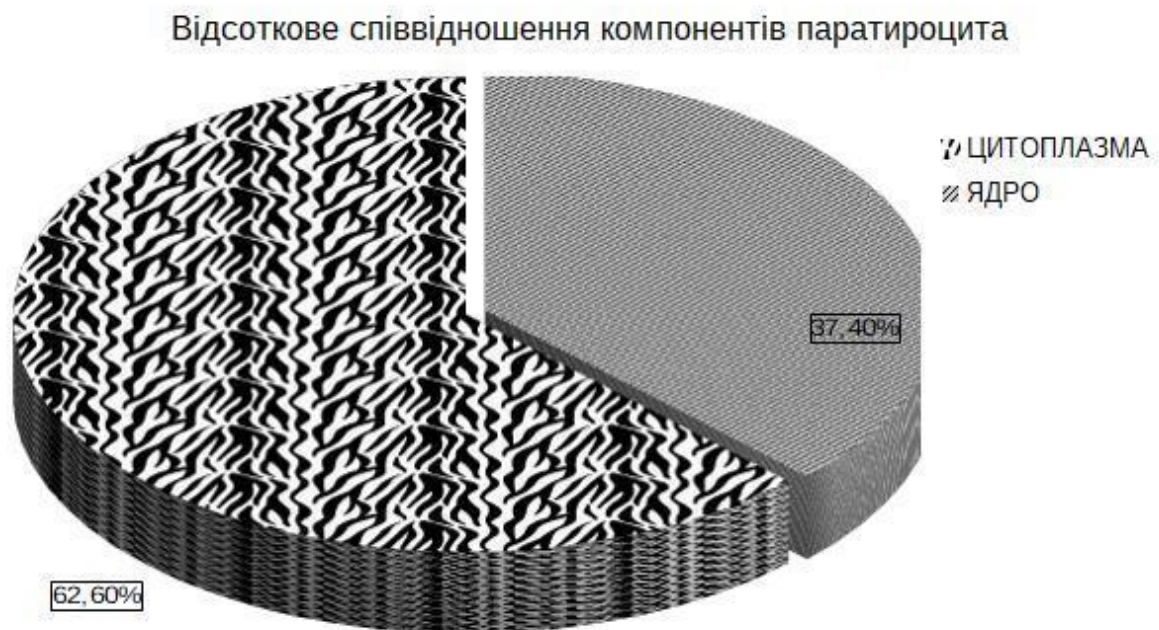


Рисунок 3.11 – Відсоткове співвідношення компонентів паратироцита у прищитоподібних залозах щурів на 30 добу дослідження.

Ядерно - цитоплазматичний індекс у паратироцитах при вживанні СВМ у надлишкових концентраціях упродовж 30 діб залишилось не змінним та становило менше одиниці ( $0,8 \pm 0,07$ ;  $p < 0,01$ ).

Але враховуючи відсоткове співвідношення компонентів паратироцитів відмічається незначне коливання їх у порівнянні з контрольною групою щурів, та починала відмічатись тенденція до зміщення ядерно-цитоплазматичного індексу в бік цитоплазми.

На 90 добу дослідження продовжувала тенденцію до зростання площа залоз майже в 1,8 рази ( $p < 0,05$ ) та становила

$410269,88 \pm 27819,23 \text{ мкм}^2$ , відносно відповідних показників контролю. Стромальні компоненти: товщина капсули збільшилася в 1,9 рази ( $42,62 \pm 10,26 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ); прошарки СТ у паренхімі органа розрослися у 3,8 рази ( $18,83 \pm 1,7 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ) більше, ніж у тварин контролю (Додаток 3, табл. 1).

Також при надходженні у надлишкових концентраціях солей важких металів спостерігалась зміна щільності розподілення паратироцитів у паренхімі залоз. Відмічалась тенденція до зниження кількості клітин на заданій площі органа приблизно у 1,8 рази ( $29,36 \pm 1,19$ ,  $p < 0,001$ ) (рис. 3.12).

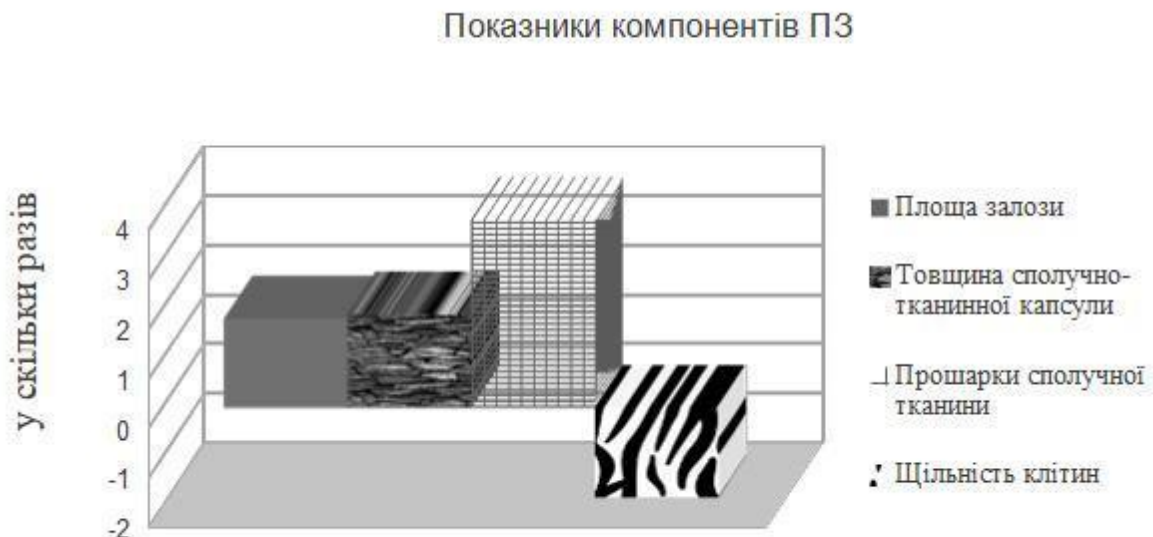


Рисунок 3.12 – Показники зростання та зниження компонентів прищитоподібних залоз щурів на 90 добу експерименту.

Паратироцити у паренхімі залоз мали ознаки набряку та дистрофії. Площа клітин щурів на 90 добу експерименту збільшилася в 1,8 рази ( $50,18 \pm 3,83 \text{ мкм}^2$ ,  $p < 0,001$ ). Клітини мали наступні розміри: ширина найбільше збільшилась у 1,5 рази ( $9,6 \pm 0,34 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ), а довжина — майже в 1,5 рази ( $6,79 \pm 0,34 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ) в порівнянні з показниками контрольної групи щурів.

Ядра у паратироцитів мали полігональну форму та розміри. Площа їх

також мала тенденцію до збільшення — у 2,2 рази ( $24,12 \pm 0,99 \text{ мкм}^2$ ,  $p < 0,001$ ). Розміри ядра також змінились, так його ширина збільшилась майже в 1,7 рази ( $4,56 \pm 0,19 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ).

При цьому довжина ядра паратироцитів збільшилась — майже в 1,4 рази ( $6,91 \pm 0,24 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ) у відповідний період дослідження у порівнянні з контрольною групою щурів. Площа цитоплазми паратироцитів становила у середньому зростає в 1,8 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з контрольною групою тварин, а також зменшується в 1,2 рази в порівнянні з показником модельованого підгострого періоду дослідження (Додаток 3, табл. 2).

Відсоткове співвідношення площі ядра до цитоплазми у клітинах становило 48,03 % до майже 51,97 %. Продовжувала відмічатись тенденція до зростання відсотку площі ядра у паратироцитах у порівнянні з контрольною групою тварин, про що свідчило явище гіпертрофії та набряку його (рис. 3.13).

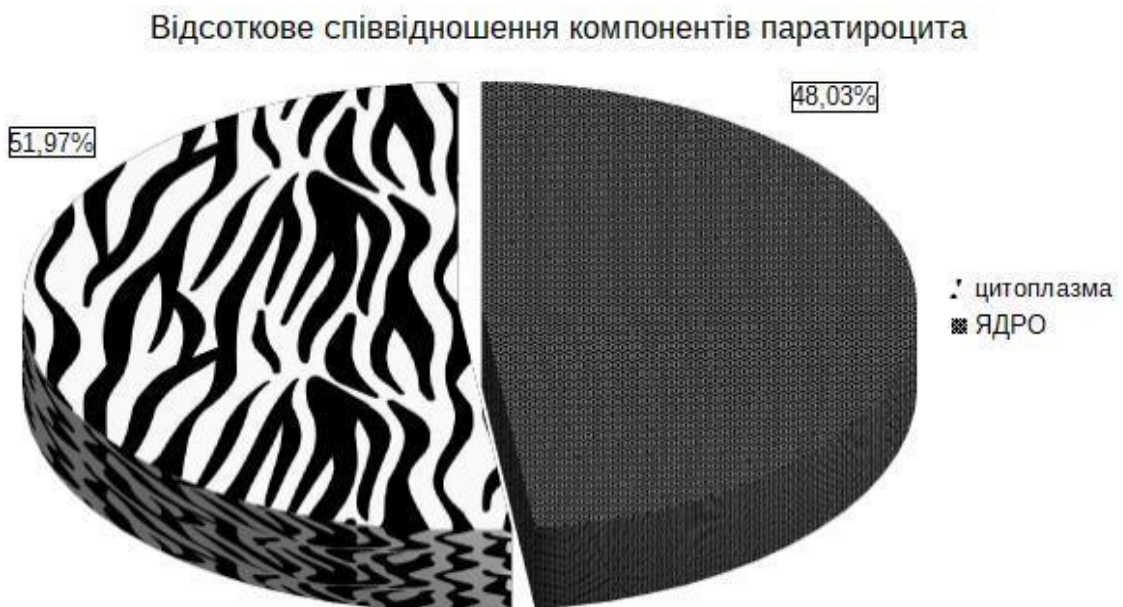


Рисунок 3.13 – Відсоткове співвідношення компонентів паратироцита у прищитоподібних залозах щурів на 90 добу дослідження.

За умов тривалого 90 - денного вживання суміші СВМ ядерно -

цитоплазматичний індекс змінився та становив більше одиниці ( $1,1 \pm 0,12$ ;  $p < 0,01$ ) і відмічалось збільшення 1,4 рази у порівнянні з контрольною групою щурів.

Узагальнюючи вищезазначене, можна стверджувати, що пропорційне збільшення лінійних розмірів і площі клітин, та зміна ядерно-цитоплазматичного індекса свідчило про значну гіпертрофію паратироцитів та ознаки набряку за умов тривалого вживання СВМ. Гідропічна дистрофія відбувалась у двох напрямках, як набряк клітини, так і набухання її. У ядрах паратироцитів спостерігались одночасно ознаки пікнозу та набухання. А також відмічалась структурна атипія їх.

При імуногістохімічному дослідженні проліферативної активності паратироцитів ПЗ безпородних щурів – самців на 30 добу досліду було отримано слабо - позитивну реакцію (рис. 3.14).

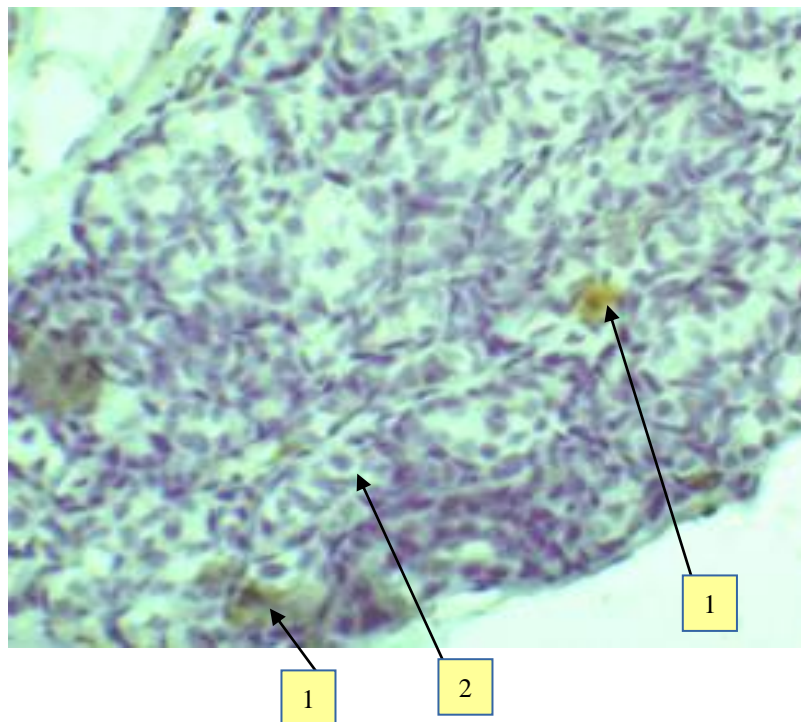


Рисунок 3.14 – Імуногістохімічне дослідження експресії рецепторів до білка Кі - 67 на 30 добу експерименту. Позначення: 1 – позитивна експресія до білка Кі - 67; 2 – негативна експресія до білка Кі - 67. Збільшення  $\times 400$ .



Індекс проліферації Кі - 67 позитивно – забарвлених клітин коливався на рівні  $1 \pm 0,26 \%$  ( $p < 0,001$ ), спостерігалось зменшення в 2,8 рази у порівнянні з контрольною групою тварин. Інтенсивність забарвлення ядер клітин оцінювалася, як помірна (++) та висока (+++). Ядерна експресія до білка Кі - 67 з низькими значеннями у порівнянні з контролем вказує на глибокі порушення у клітинах, які обумовлені токсичною дією суміші СВМ.

На 90 добу експерименту спостерігалось зростання індексу експресії рецепторів до Кі - 67 у 2,3 рази ( $2,3 \pm 0,49 \%$ ;  $p < 0,001$ ) у порівнянні з модульованим підгострим періодом. Але при порівнянні з контрольною групою тварин індекс експресії до білка Кі - 67 зменшився в 1,3 рази. Реакція була слабопо-зитивною та інтенсивність забарвлення ядер клітин оцінювалася, як помірна (++) та висока (+++) (рис. 3.15).

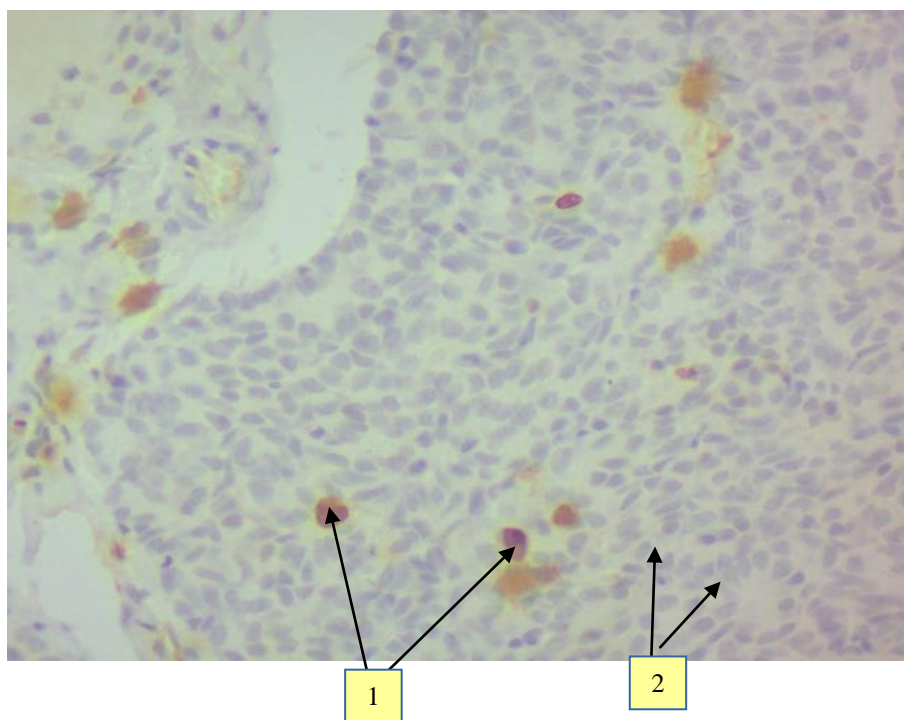


Рисунок 3.15 – Імуногістохімічне дослідження експресії рецепторів до білка Кі - 7 на 90 добу експерименту. Позначення: 1 – позитивна експресія до білка Кі - 67; 2 – негативна експресія до білка Кі - 67. Збільшення  $\times 400$ .



Варто зазначити, що реакція ядерної експресії Ki - 67 у паратироцитах залишилась слабо-позитивною у відповідні періоди дослідження. Коливання індексу проліферації вказувало на ознаки адаптації залоз до токсичного впливу суміші СВМ.

У ПЗ тварин на 30 добу дослідження за умов інтоксикації комплексом СВМ спостерігалася виражена експресія до білка Hsp 90 $\alpha$ , яка характеризувалася сильно-позитивною реакцією (+++). Спостерігалася варіабельна експресія білка теплового шоку, переважно реакція була цитоплазматична та в поодиноких клітинах ядерна (рис. 3.16 А). Виражена реакція обумовлена була посиленням синтезу білків теплового шоку на тлі стресового екзогенного фактору.

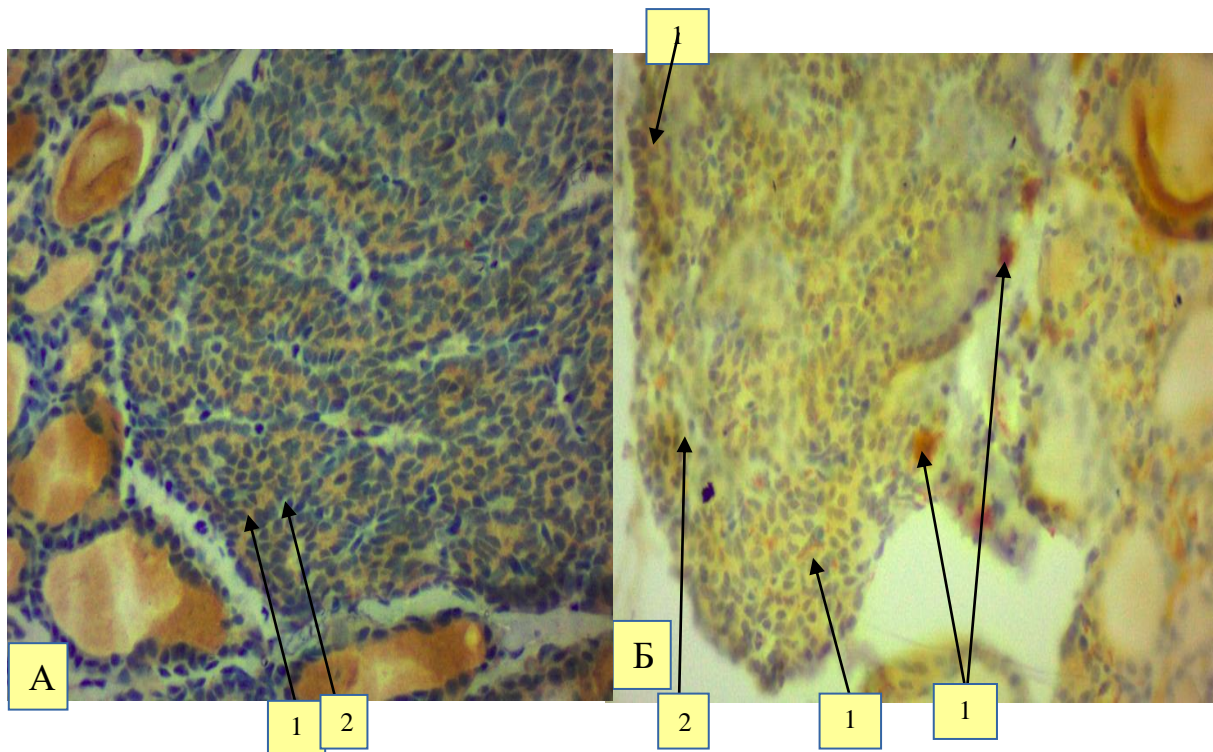


Рисунок 3.16 – Імуногістохімічне дослідження експресії Hsp 90 $\alpha$ .

Позначення: 1 – позитивна експресія до білка Hsp 90 $\alpha$ : 1а – реакція інтенсивна — цитоплазматична, 1б – реакція інтенсивна — ядерна, 1в – реакція змішана; 2 – негативна експресія до білка Hsp 90 $\alpha$ .

А – на 30 добу дослідження; Б – на 90 добу експерименту. Збільшення  $\times 400$ .

При оцінці результатів дослідження експресії білків теплового шоку (Hsp 90 $\alpha$ ) після хронічної інтоксикації суміші СВМ (90 діб) відмічалась помірно-позитивна реакція. Посилений синтез цих білків був варіабельним, реакція спостерігалась переважно цитоплазматична, на периферії відмічались клітини з вираженою ядерною та змішаною реакцією (рис. 3.16 Б).

Коливання експресії до білка Hsp 90 $\alpha$ , вказувало на високий ступінь розвитку патологічних процесів та активацію захисних компенсаторних властивостей у паратироцитах залоз у відповідні терміни експерименту.

Дослідження рівня експресії Chromogranin A за умов модельованого підгострого експерименту показало, що відмічалась нерівномірна інтенсивність забарвлення цитоплазми клітин: як помірна, так і слабо-помірна (++), яка спостерігалась майже у 95 % клітин (рис. 3.17).

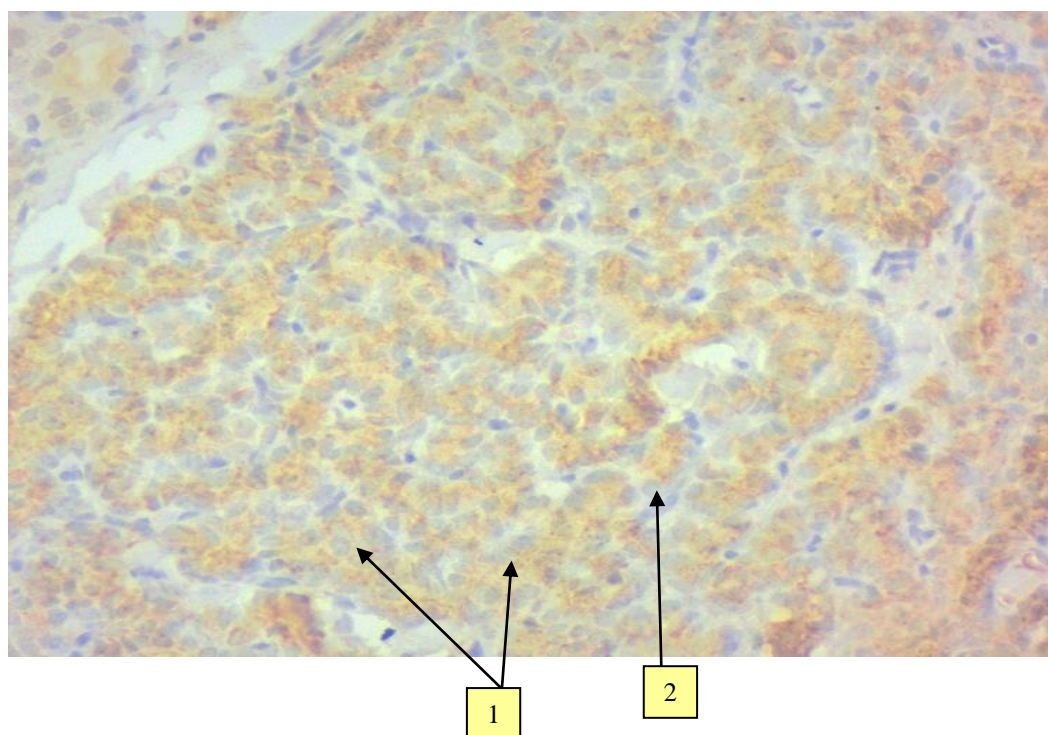


Рисунок 3.17 – Імуногістохімічне дослідження експресії Chromogranin A на 30 добу експерименту. Позначення: 1 – позитивна експресія білка; 2 – негативна експресія білка. Збільшення  $\times 400$ .

Це свідчить про те, що паренхіма залоз представлена паратироцитами з різною функціональною активністю.

Враховуючи те, що Chromogranin A косекретується разом з паратгормоном, тому можна сказати, що інтенсивність імуногістохімічної реакції демонструвало зниження кількості секреторних гранул у цитоплазмі паратироцирів. Це відповідно вказувало на зниження їх функціональної активності при модульованому підгострому періоді дослідження в порівнянні з контрольною групою тварин.

При хронічній інтоксикації спостерігалась помірна (++) та навіть висока (+++) експресія Chromogranin A. Імуногістохімічна реакція демонструвала незначне зростання секреторних кількості гранул у цитоплазмі клітин. Відповідно функціональна активність паратироцитів незначно починала відновлюватись (рис. 3.18).

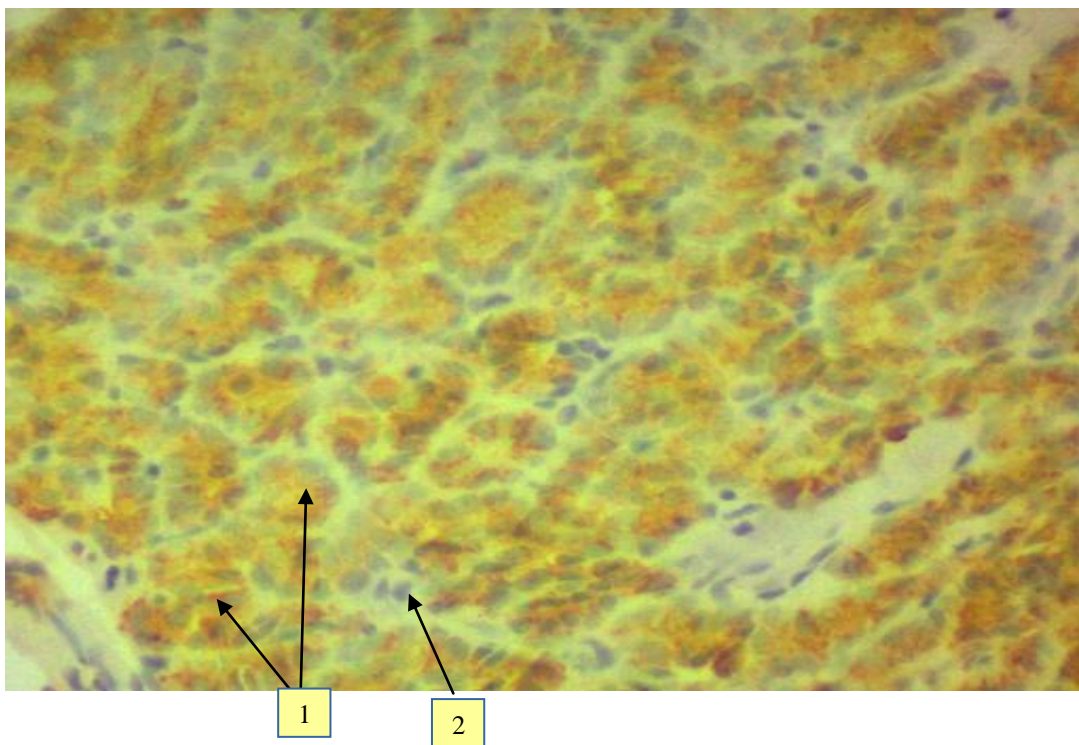


Рисунок 3.18 – Імуногістохімічне дослідження експресії Chromogranin A. на 90 добу експерименту. Позначення: 1 – позитивна експресія білка; 2 – негативна експресія білка. Збільшення  $\times 400$ .

При експериментальному дослідженні на 30 добу та на 90 добу активності паратгормону у сироватці крові щурів спостерігалися коливання показника від  $6,3 \pm 0,02$  пг/мл до  $6,4 \pm 0,03$  пг/мл. У процентному еквіваленті відмічалось зменшення активності гормону майже на 19 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контрольною групою тварин.

Дослідження вмісту модуляторів секреції паратгормону на 30 добу та 90 добу експерименту демонструвало їх зниження показників. Вміст загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  зменшився від 8 % ( $p < 0,001$ ) до 6 % ( $p < 0,001$ ). Другим модулятором синтезу паратгормону виступає магній. Вміст магнію  $\text{Mg}^{2+}$  зменшився від 11 % ( $p < 0,05$ ) до 8,5 % ( $p < 0,05$ ) у відповідні терміни дослідження в порівнянні з показниками контрольної групи щурів (табл. 3.1).

Отже, у процесі підвищеного надходження комбінації СВМ до організму щурів упродовж одного та трьох місяців поступово розвивалося пригнічення активності паратгормону. Також продовжувала спостерігатися тенденція до зниження показників рівня його модуляторів секреції.

Фізіологічний ефект кальцію реалізується його іонізованою формою. На 30 добу дослідження рівень іонізованого кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  становив  $1,52 \pm 0,01$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ), та складав 56,7 % від рівня загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ . Це свідчило про те, що збільшується відсоток незв'язаного кальцію — позаклітинного на 4,7 % у порівнянні з показником контрольної групи.

На 90 добу експерименту рівень іонізованого кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  становив  $1,56 \pm 0,02$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ), та складав 55,3 % від рівня загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ . Спостерігали тенденцію до зростання показника позаклітинного — незв'язаного кальцію на 3,3 % у порівнянні з контрольною групою щурів, але у порівнянні з 30 - денною інтоксикацією відмічалось зменшення показника на 1,4 %.

Лужна фосфатаза є ферментом, який можна віднести до маркера коливання вмісту кальцію у кістковій тканині. Активність цього ферменту

на 30 добу експерименту становила  $676,3 \pm 74,82$  МО/л ( $p < 0,01$ ), у порівнянні з показником контрольної групи тварин відмічалось зростання в 2,3 рази ( $p < 0,01$ ). На 90 добу дослідження спостерігалось зростання активності лужної фосфатази у 2,4 рази ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з відповідними показниками контрольної групи щурів (Додаток 3, табл. 3).

Узагальнюючи вище сказане, можна стверджувати, що у процесі тривалого надходження суміші ВМ відбувалося порушення кальцієвого гомеостазу в організмі щурів, про що свідчило зростання показників позаклітинного кальцію та лужної фосфатази.

Другим гормональним медіатором кальцієвого гомеостазу виступає кальцитонін – гормон щитоподібної залози. Його гіпокальціємічна дія реалізується за рахунок інгібування активності остеокластів кісткової тканини та збільшення екскреції кальцію нирками. Активність кальцитоніну у сироватці крові піддослідних щурів–самців на 30 добу дослідження становила  $110,5 \pm 7,04$  пг/мл ( $p < 0,01$ ). Спостерігалось зниження активності його в 1,7 рази ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з показниками контрольної групи тварин. За умов модельованого підгострого періоду інтоксикації суміші ВМ (30 діб) спостерігалось порушення функціональної активності щитоподібної залози (у парафолікулярних С - клітинах).

При хронічній інтоксикації суміші СВМ (90 діб дослідження) у тварин спостерігалось стрімке зростання активності кальцитоніну – в 6,6 рази ( $p < 0,01$ ). Але треба відзначити, що зростання загального кальцитоніну відбувалось не тільки за рахунок синтезу парафолікулярними С - клітинами щитоподібної залози, але й клітинами інших органів (легені, кишківник та інші), як прояв патологічного процесу в організмі (табл. 3.1).

Отже, при надлишковому надходженні комбінації СВМ до організму щурів упродовж 30 діб та 90 діб експерименту відмічався прояв токсичної дії ВМ на різних рівнях морфологічної організації ПЗ, що проявлялося набряком та збільшенням площі залоз. У паренхімі органу відмічали дисконфлексію та дезорганізацію епітеліальних трабекул. Щільність



розподілення клітин у залозах змінювалась та відмічалась тенденція до зниження їх кількості.

Таблиця 3.1 – Показники концентрації паратгормону та його модуляторів секреції контрольної, на 30 добу та 90 добу дослідження

Показник (одиниця виміру)	Тривалість спостереження		
	Контроль	30 доба	90 доба
Паратгормон (пг/мл)	7,9±0,04	6,3±0,02*	6,4±0,03*
заг.Са <sup>2+</sup> (ммоль/ л)	3±0,03	2,75±0,02*	2,82±0,04*
Mg <sup>2+</sup> (ммоль/л)	1,18±0,01	1,05±0,02*	1,08±0,03*
Кальцитонін (пг/мл)	186,2±7,05	110,5±7,04**	1238,7±318,46* *

Примітка: \* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$  – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента у відношенні до контрольних величин.

У стромальному компоненті ПЗ спостерігались реактивні перебудови, що характеризувалися розростанням СТ, гіпертрофією фібробластів, активацією процесів колагенутворення, а також явищами набряку та дистрофії. У клітинах ПЗ змінювалися тинкторіальні властивості та спостерігались ознаки гіпертрофії та гідропічної дистрофії. У ядрах паратирицитів відмічались ознаки структурної атипії.

Спостерігалось поступове пригнічення секреції паратгормону у паратирицитах. Відмічалось порушення гомеостазу кальцію в організмі щурів, спостерігалось зростання відсотку позаклітинного - нез'язаного кальцію та активності лужної фосфатази. При хронічній інтоксикації суміші СВМ (90 діб) відмічалось значне зростання показнику активності

кальцитоніну у сироватці крові тварин, який демонстрував важкість морфофункціональних змін у ендокриних залозах і не тільки.

Імуногістохімічне дослідження паратироцитів показало, що експресія захисних білків знаходилася на достатньому рівні у відповідні терміни експерименту, відмічалась варіабельність реакції у клітинах, що вказувало на активацію захисних механізмів та компенсаторних властивостей у паратироцитах залоз. Проліферативна активність у клітинах залишилась слабо - позитивною. Коливання індексу проліферативної активності Ki - 67 у відповідні терміни спостереження свідчили про ознаки розвитку процесів адаптації. Дослідження рівня експресії Chromogranin A демонструвало зниження секреторної активності клітин у ПЗ у відповідні терміни експерименту. Коливання експресії до білка Chromogranin A вказувало, що паренхіма представлена паратироцитами з різною функціональною активністю.

### **3.3 Особливості будови прищитоподібних залоз щурів у відновний період після дії солей важких металів**

З метою вивчення відновлювальних можливостей у ПЗ щурів – самців після відміни споживання суміші СВМ ми продовжили спостереження за тваринами, які знаходились на стандартному харчовому раціоні та вживали звичайну питну воду. Темпи відновлення залежали від тривалості спостереження.

Гістопатологічні зміни тканини ПЗ на 120 добу періоду відновлення після припинення впливу комбінації СВМ були представлені незначним зменшенням інтенсивності порушень. Так у залозах продовжували спостерігатись розростання СТ та ознаки набряку. Паренхіма залоз була представлена головними, оксифільними та перехідною формою оксифільних клітин. Основну масу складали клітини перехідної форми (рис. 3.19).

Клітинні трабекули формувалися з паратироцитів різних за розмірами, полігональної та овальної форми. Цитоплазма клітин була зафарбована, як гіперхромно, так і гіпохромно. У проміжній формі паратироцитів відмічалась цитоплазма з просвітленням та вакуолізацією. Клітини мали великі ядра овальної форми, які розташовувалися центрально та іноді займали майже всю цитоплазму. Майже до 30 % клітин мали видовжені, деформовані ядра. Хроматинова сітка їх була гіперхромна та гомогенна, а також зустрічалися ядра з дрібнодисперсною конденсацією хроматину.

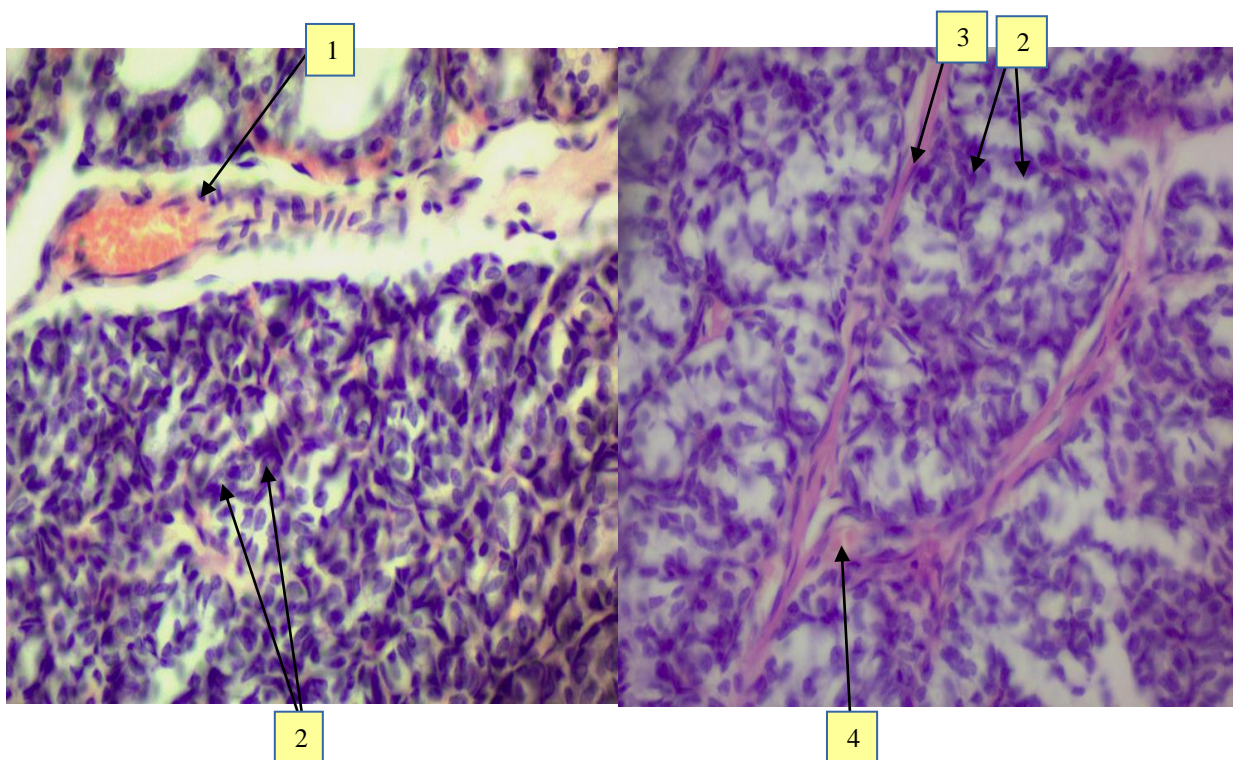


Рисунок 3.19 – Морфологічні перебудови у прищитоподібних залозах за умов 30 - ти денного відновлення (на 120 добу експерименту) після впливу комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – повнокрів'я та потовщення стінки судини субкапсулярної зони; 2 – дезорганізація та дисконкомплексція епітеліальних трабекул; 3 – прошарки сполучної тканини, 4 – судини. Забарвлення гематоксилін – еозином. Збільшення  $\times 400$ .

При застосуванні додаткових методів фарбування (за Ван - Гізоном та за Малорі) відмічалися ділянки з розростанням сполучної тканини та



гіпертрофія фіброblastів, що характеризувалось активним процесом колагеноутворення. Волокниста частина СТ представлена колагеновими волокнами, при застосуванні різних (додаткових) методик фарбування, вони мали яскравий червоний та блакитно - рожевий колір (рис. 3.20).

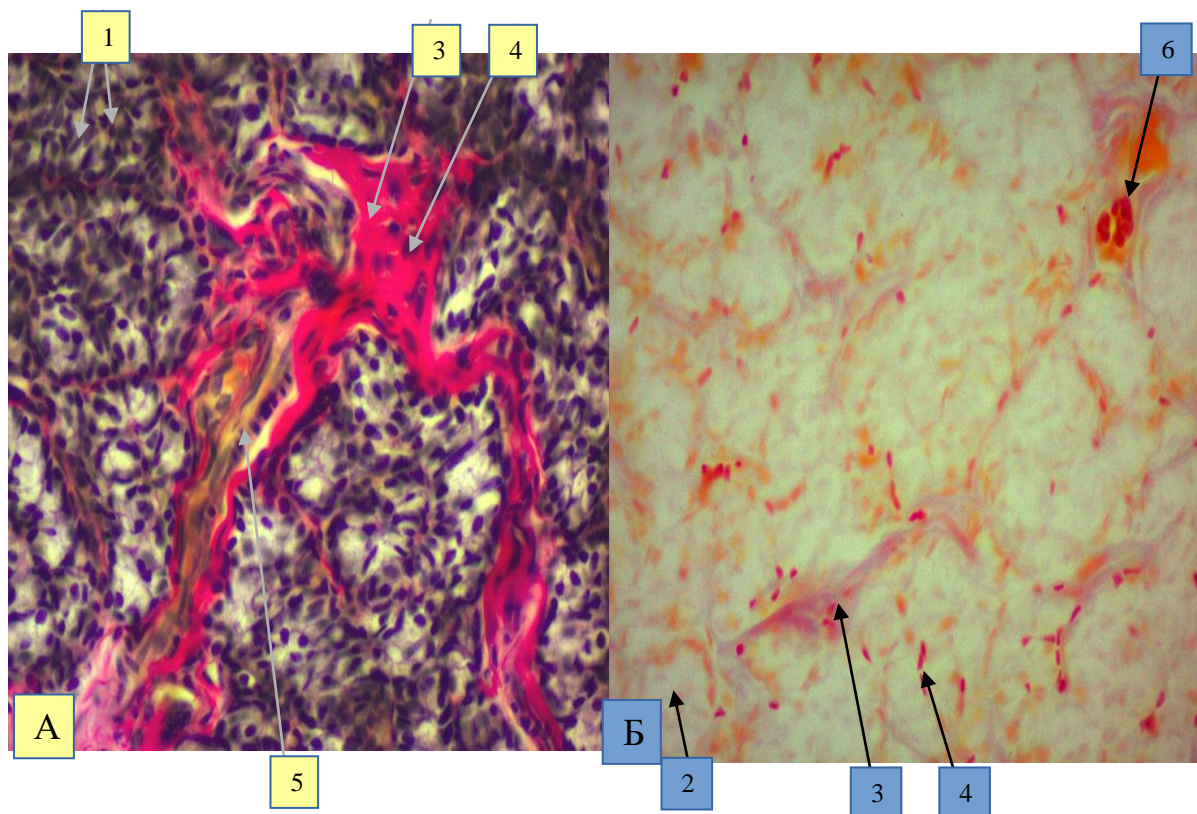


Рисунок 3.20 – Паренхіма прищитоподібної залози на 120 добу відновлення після припинення вживання комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – дезорганізація епітеліальних трабекул; 2 – паратироцити; 3 – розростання сполучної тканини; 4 – фіброblastи; 5 – потовщення стінки судини; 6 – прошарки сполучної тканини з явищем еритростазу у судинах. А – забарвлення за Ван - Гізоном, Б – забарвлення за Малорі. Збільшення  $\times 400$ .

Зі сторони судинного русла були ще помітні морфологічні перебудови: потовщення стінки судин середнього та великого калібру, спостерігались порушення реологічних властивостей крові, з початковими етапами сладжування. Гемокапіляри мікроциркуляторного русла, що

знаходилися у сполучно–тканинних трабекулах між тяжами паратироцитів, були повнокровні, з явищами еритростазу. Треба відзначити, що на деяких ділянках продовжували спостерігатись порушення проникності судинної стінки. У паренхімі залоз ще спостерігались ознаки дезорганізації та помірної дисконкомплексації епітеліальних трабекул.

На 180 добу періоду відновлення після припинення вживання комплексу СВМ виявляли менш виражені патологічні зміни та поступове відновлення структури залоз при зіставленні з гістологічною картиною контрольної групи тварин (рис. 3.21).

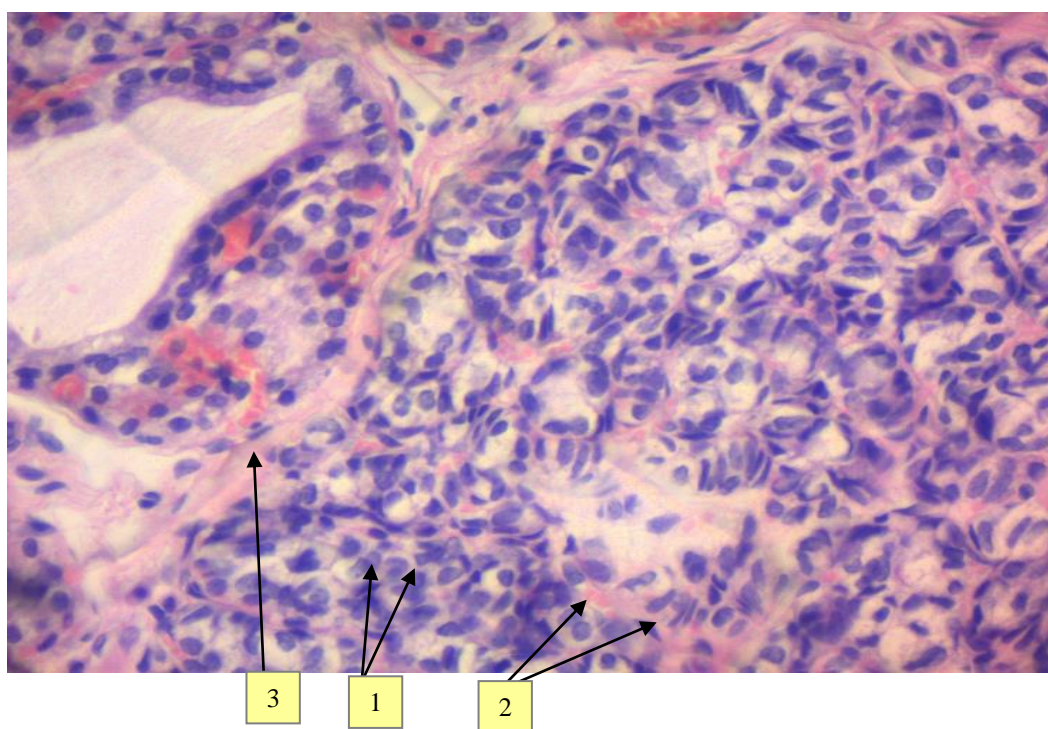


Рисунок 3.21 – Морфологічні перебудови у прищитоподібних залозах на 180 добу періоду відновлення після припинення вживання комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – слабо виражена дезорганізація епітеліальних трабекул; 2 – прошарки сполучної тканини з судинами; 3 – сполучно-тканинна капсула. Забарвлення гематоксилін –еозином. Збільшення  $\times 400$ .

Зменшувались ознаки набряку та дистрофії у структурних

компонентах ПЗ. У паренхімі відмічались поодинокі ділянки з ознаками дезорганізації та дисконфлексії епітеліальних трабекул.

Мікроскопічно на 180 добу періоду відновлення у ПЗ епітеліальні трабекули були представлені головними, оксифільними та перехідною формою оксифільних клітин. У центри розміщувались переважно проміжної форми клітини, а на периферії — головні. Паратироцити мали полігональну та овальну форми. А також ядра в клітинах були різні за формою та розміром. Але переважно спостерігались великі та овальної форми, а ядра розташовувалися у клітинах центрально або ексцентрично.

Основну масу складали паратироцити перехідної форми з вакуолізацією цитоплазми. У світлих клітинах ядро мало округлу форму, розміщено було дещо ексцентрично. Також зустрічалися клітини, де ядра були з дрібнодисперсною конденсацією хроматину.

У стромальному компоненті залоз при забарвленні спеціальними барвниками (за Ван - Гізоном та за Малорі) відмічалось помітне зменшення явища набряку разом з кількістю фібробластів та виразністю вогнищ колагенізації. В прошарках СТ спостерігали переважно фіброцити та поодинокі фібробласти. У судинах мікроциркуляторного русла на тлі зниження ознак набряку ще спостерігались розширення їх просвіту, поодинокі ознаки стазу та повнокров'я. Великі приносні судини залоз, що знаходилися субкапсулярно, мали ознаки повнокрів'я, їх судинна стінка зберігала ознаки потовщена та явища порушення реологічних властивостей крові (рис. 3.22).

У відповідні періоди відновлення (на 120 добу та на 180 добу експерименту) після відміни вживання суміші СВМ спостерігали повільну тенденцію до зменшення патологічних морфологічних перебудов у ПЗ, тобто спостерігались ознаки часткової компенсації дії пошкоджуючого агента на організм піддослідних тварин.

Під час підрахування рівня експресії рецепторів до ядерного білка Ki - 67 у відповідний період відновлення (120 доба) після припинення



впливу комбінації СВМ спостерігалось зростання проліферативної активності паратироцитів у 1,4 рази та становила  $4 \pm 0,36 \%$  ( $p < 0,001$ ).

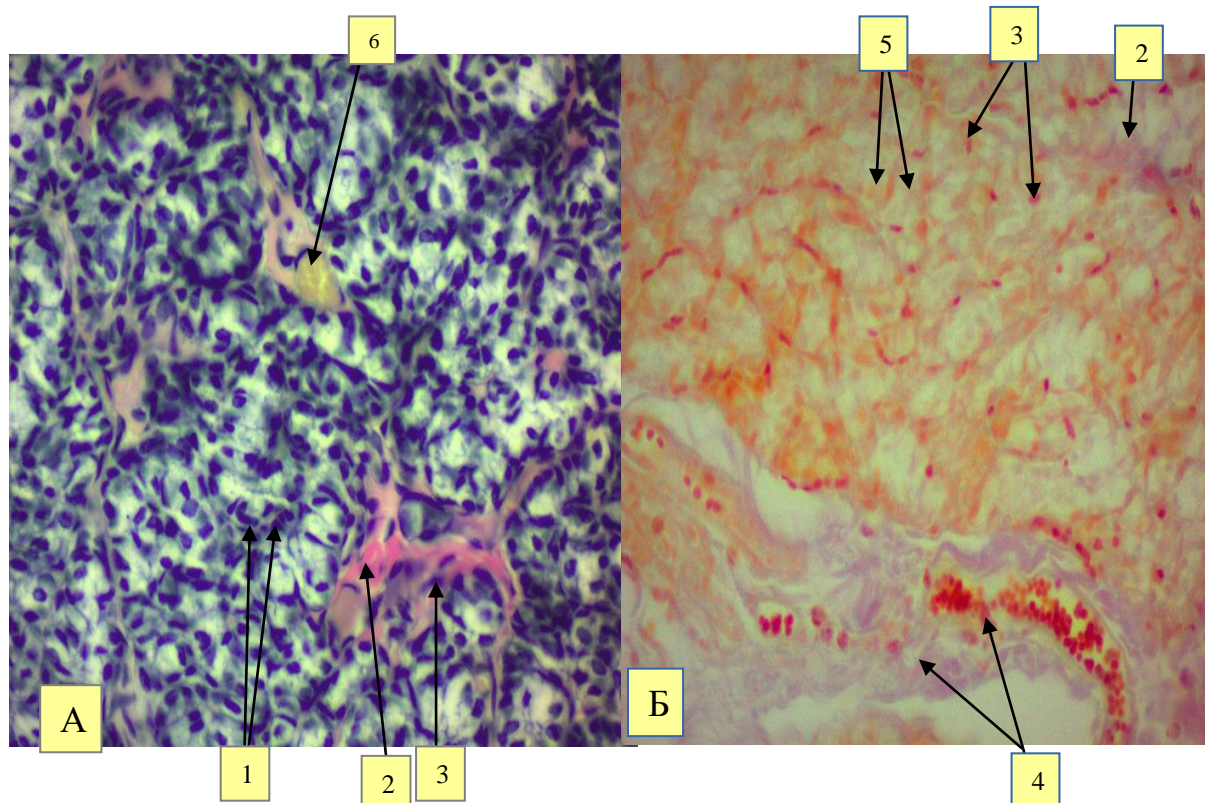


Рисунок 3.22 – Морфологічні перебудови у прищитоподібних залозах на 180 добу періоду відновлення після впливу комбінації солей важких металів. Позначення: 1 – слабо виражена дезорганізація епітеліальних трабекул; 2 – прошарки сполучної тканини, 3 – фіброцити, 4 – сполучно-тканинна капсула з судинами, 5 – паратироцити, 6 – судини. А – забарвлення за Ван - Гізоном, Б – забарвлення за Малорі. Збільшення  $\times 400$ .

Реакція спостерігалась переважно в головних клітинах. Відзначалась тенденція активації процесу відновлення паренхіми залоз до рівня відносної фізіологічної норми (рис. 3.23 А).

На 180 добу періоду відновлення після довготривалого впливу комплексу СВМ було виявлено тенденцію наближення проліферативної активності до показників контролю та становило  $2,5 \pm 0,43 \%$  ( $p < 0,001$ ), але менше в 1,1 рази (рис. 3.23 Б).

Не звертаючи на коливання проліферативної активності Кі - 67 у паратироцитах у відповідні періоди відновлення після припинення вживання суміші СВМ було отримано слабо-позитивну реакцію та інтенсивність забарвлення ядер клітин оцінювалася, як помірна (++) та висока (+++).

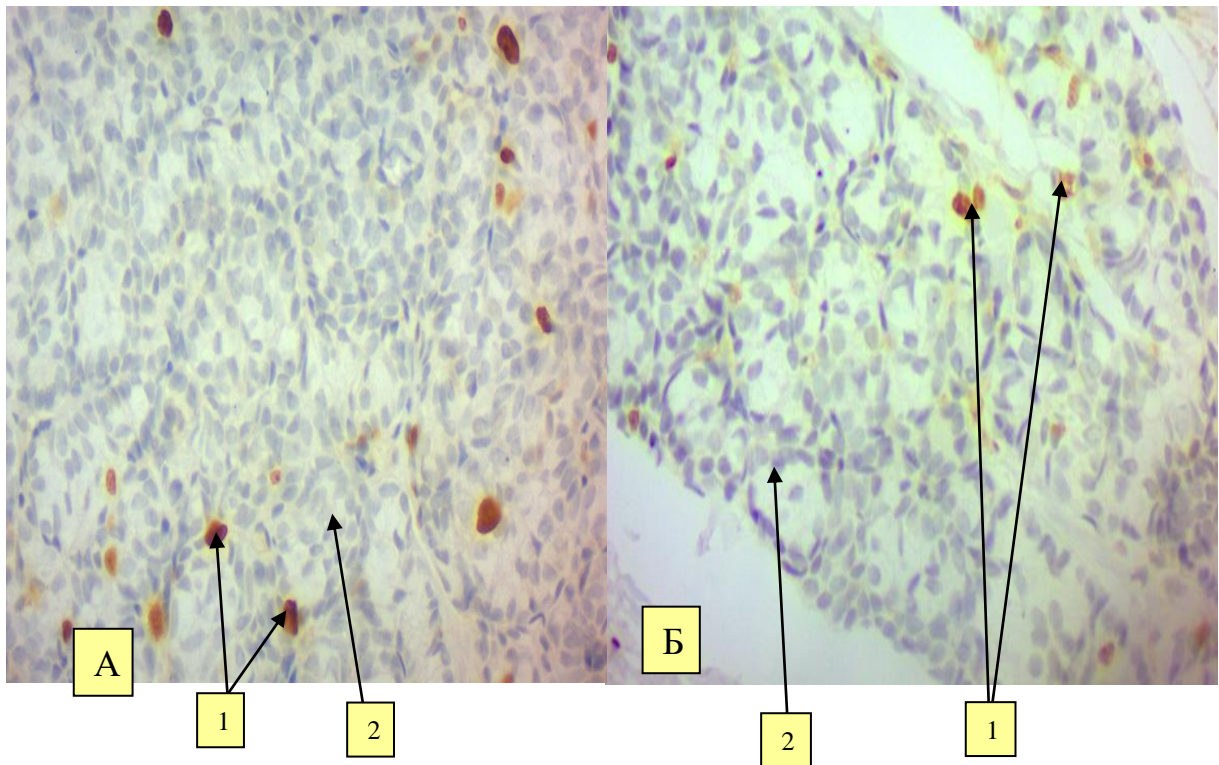


Рисунок 3.23 – Імуногістохімічне дослідження експресії Кі - 67.

Позначення: 1 – позитивна експресія до білка Кі - 67; 2 – негативна експресія до білка Кі - 67. А – на 120 добу дослідження; Б – на 180 добу відновлення після відміни вживання комбінації солей важких металів. Збільшення  $\times 400$ .

Імуногістохімічне дослідження експресії до білка Нсп 90 $\alpha$ , на 120 добу відновного періоду після припинення вживання суміші СВМ було ідентифіковано помірно-позитивну цитоплазматичну реакцію, яка була присутня переважно у всьому епітелії та представлена у вигляді посиленого синтезу Нсп 90 $\alpha$  в ендокриноцитах. На периферії відмічались



клітини з виражено-позитивною реакцією ядерного типу експресії. З негативною реакцією експресії до білка теплового шоку зустрічались тільки поодинокі клітини (рис. 3.24 А).

На 180 добу періоду відновлення після довготривалого впливу комплексу СВМ спостерігалась також виражена дифузна цитоплазматична та змішана помірно-позитивна реакція експресії до білка Hsp 90 $\alpha$ . Але треба відмітити, що на деяких ділянках паренхіми реакція була слабопозитивною й тільки в окремих клітинах зовсім негативною (рис. 3.24 Б).

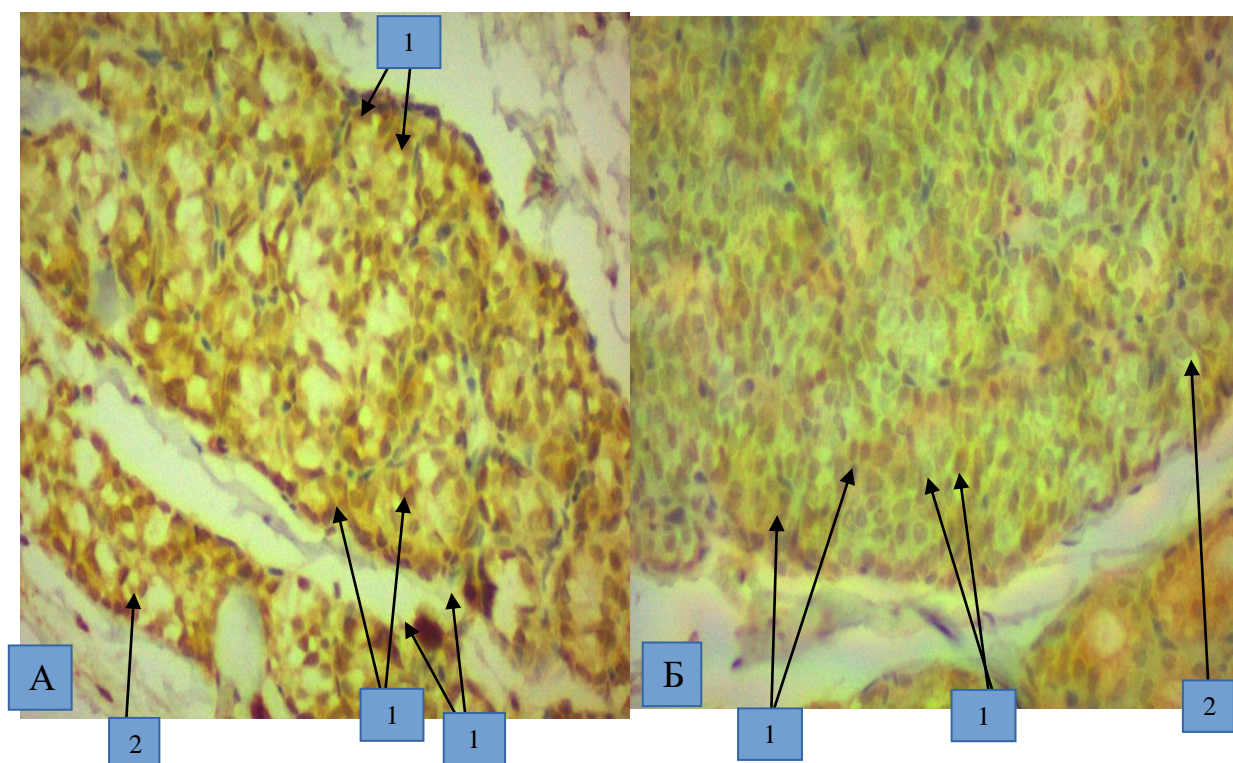


Рисунок 3.24 – Імуногістохімічне дослідження експресії Hsp 90 $\alpha$ .

Позначення: 1 – позитивна експресія до білка Hsp 90 $\alpha$ : 1а – реакція інтенсивна – ядерна, 1б – реакція інтенсивна – змішана; 2 – негативна експресія до білка Hsp 90 $\alpha$ . А – на 120 добу; Б – на 180 добу відновлення після відміни вживання комбінації солей важких металів. Збільшення  $\times 400$ .

Після відміни дії стресового чинника на 120 добу та 180 добу відновлювального періоду після припинення впливу суміші СВМ не

відбувалось зниження рівня експресія білків теплового шоку у паратироцитах, а навіть подекуди спостерігалась тенденція до посиленого синтезу Hsp 90α в клітинах ПЗ.

Дослідження рівня експресії Chromogranin A на 120 добу та 180 добу відновлювального періоду після відміни вживання комплексу СВМ показало, що відмічалась інтенсивність забарвлення цитоплазми клітин як помірна (++) (рис. 3.25).

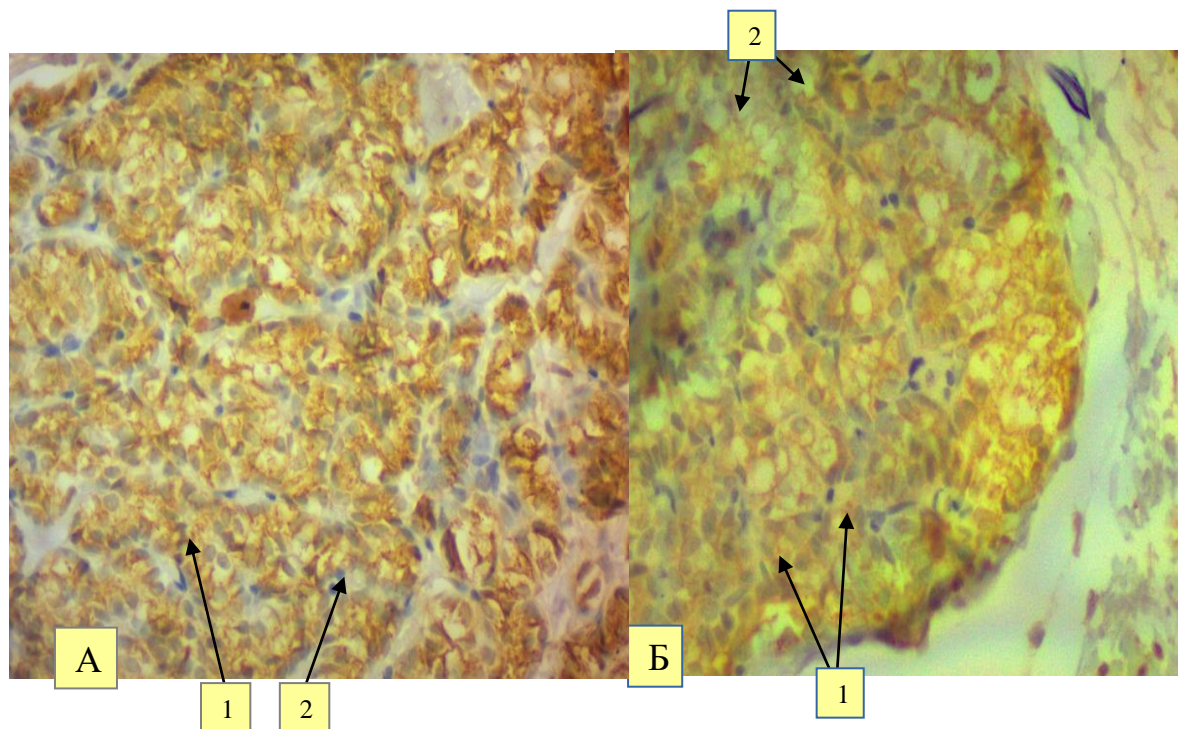


Рисунок 3.25 – Імуногістохімічне дослідження експресії Chromogranin A. Позначення: 1 – позитивна експресія до білка Chromogranin A; 2 – негативна експресія до білка Chromogranin A. А – на 120 добу та Б – на 180 добу періоду відновлення після відміни вживання солей важких металів. Збільшення  $\times 400$

Реакція спостерігалась майже у 95 % клітин, це свідчить про те, що паренхіма залоз була представлена паратироцитами, та опосередковано вказувало на зростання їх функціональної активності.

З боку лінійних параметрів ПЗ відмічалися зміни. Так під час проведення морфометричного дослідження у відповідні періоди

експерименту (на 120 добу) було виявлено, що площа залоз збільшилась у 1,4 рази ( $331681,31 \pm 22700,9 \text{ мкм}^2$ ;  $p < 0,05$ ) у порівнянні з контрольною групою лабораторних тварин.

Стромальні компоненти залоз у відповідний період відновлення складали: товщина сполучно-тканинної капсули зросла в 3,2 рази ( $74,63 \pm 10,98 \text{ мкм}$ ;  $p < 0,01$ ). Прошарки СТ в паренхімі органу — в 5,8 рази ( $69,8 \pm 7,19 \text{ мкм}$ ;  $p < 0,001$ ) більше, ніж у тварин контролю (Додаток 3, табл. 4).

Відмічалась зміна щільності розподілення паратироцитів у паренхімі органа, тобто кількість клітин зменшилась приблизно у 1,8 рази ( $29,75 \pm 0,8$ ;  $p < 0,001$ ) у відповідний період відновлення у порівнянні з контрольною групою щурів (рис. 3.26).

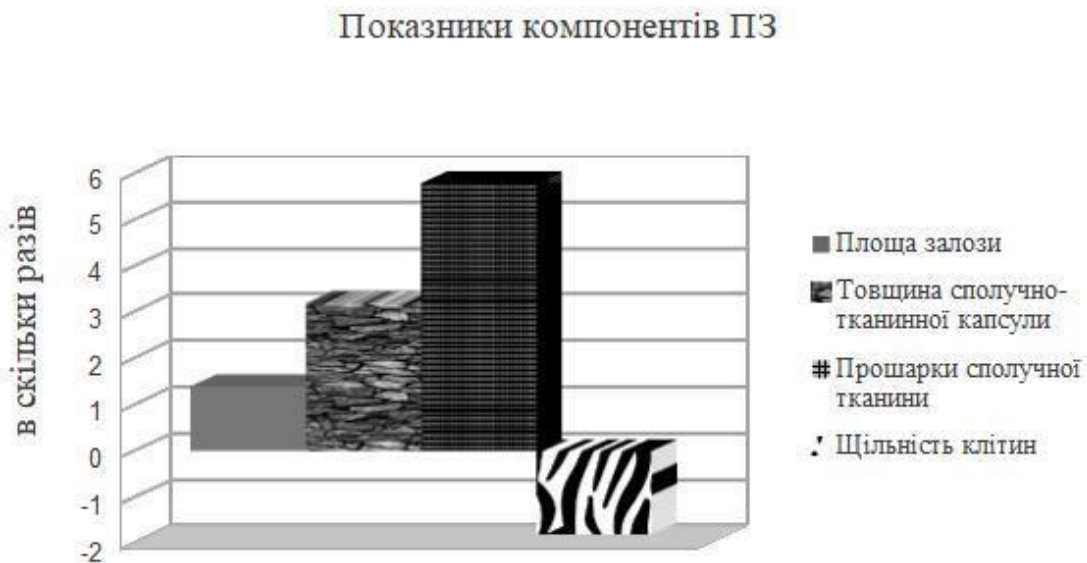


Рисунок 3.26 – Показники зростання та зниження компонентів прищитоподібних залоз щурів на 120 добу відновлювального періоду експерименту після припинення вживання солей важких металів.

У паратироцитах на 120 добу періоду відновлення після припинення вживання суміші СВМ відмічалось збільшення їх площі в 1,7 рази



( $46,57 \pm 1,31 \text{ мкм}^2$ ,  $p < 0,001$ ) порівнюючи з показником контрольної групи.

Клітини мали наступні розміри: ширина зросла в 1,6 рази ( $6,9 \pm 0,23 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ), а довжина — 1,3 рази ( $8,2 \pm 0,28 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ) більше, ніж у тварин контрольної групи.

Ядра паратироцитів розміщувались ексцентрично, мали нерівні контури. Площа ядер клітин також мала тенденцію до збільшення — у 2,3 рази ( $24,62 \pm 1,05 \text{ мкм}^2$ ,  $p < 0,001$ ). Розміри ядра збільшились наступним чином: ширина — в 1,7 рази ( $6,49 \pm 0,18 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ), а довжина зросла в 1,3 рази ( $8,94 \pm 0,21 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,001$ ) у порівнянні з показниками контрольної групи тварин. Площа цитоплазми становила в середньому  $19,44 \pm 1,71 \text{ мкм}^2$  ( $p < 0,05$ ), у порівнянні з показниками контрольної групи спостерігалось зростання в 1,3 рази (Додаток 3, табл. 5).

Відсоткове співвідношення площі ядра до цитоплазми у клітинах становило 58,3 % до майже 41,7 %. Продовжувала відмічатись тенденція до зростання відсотку (на 18 %) ядра у паратироцитах у порівнянні з контрольною групою тварин, це могло свідчити про те, що ще спостерігались явища гіпертрофії та набряку у клітинних компонентах у відповідний період відновлення після відміни комплексу СВМ (рис. 3.27).

Ядерно-цитоплазматичний індекс збільшився у 2 рази ( $1,62 \pm 0,25$ ;  $p < 0,01$ ) та показник був більше одиниці. При проведенні морфометричного дослідження на 180 добу відновлювального періоду після припинення дії полютантів було виявлено, що площа залоз збільшилась у 1,4 рази ( $323356,31 \pm 18607,4 \text{ мкм}^2$ ;  $p < 0,05$ ) в порівнянні з показником контрольної групи лабораторних тварин (Додаток 3, табл. 4).

Щільність розподілення клітин у паренхіми залоз змінилась. Через 90 днів відміни впливу суміші СВМ (на 180 добу експерименту) спостерігалось зменшення її в 2 рази ( $26,27 \pm 0,65$ ;  $p < 0,001$ ) у порівнянні з показниками контрольної групи щурів.



Рисунок 3.27 – Відсоткове співвідношення компонентів паратироцита на 120 добу відновлювального періоду після припинення вживання комплексу солей важких металів.

Відповідно у цей період експерименту (на 180 добу) стромальні компоненти залоз мали такі показники: товщина сполучно—тканинної капсули зросла майже в 3,1рази ( $69,8 \pm 7,19$  мкм,  $p < 0,001$ ), а прошарки СТ розрослись у паренхімі органа в 4,8 рази ( $23,67 \pm 4,37$  мкм,  $p < 0,001$ ) (рис. 3.28).

Так, 180 доба відновного періоду характеризувалась зменшенням набрякових явищ. Відповідно спостерігалось зростання площі клітин — у 1,6 рази ( $44,78 \pm 2,23$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ). Розміри клітини були такі: ширина зросла в 1,5 рази ( $6,49 \pm 0,17$  мкм,  $p < 0,001$ ), а довжина — в 1,4 рази ( $9,6 \pm 0,34$  мкм,  $p < 0,001$ ).

У цей період відновлення (на 180 добу експерименту) зберігалась тенденція до зростання параметрів ядра, де відповідно площа ядра паратироцитів зросла в 2,2 рази ( $23,42 \pm 0,88$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ) при порівнянні з показниками контрольної групи щурів.

Відповідно зросли й показники ядра: так ширина — в 2,2 рази ( $4,62 \pm 0,14$  мкм,  $p < 0,001$ ), а довжина збільшилась у 1,3 рази

( $6,48 \pm 0,21$  мкм,  $p < 0,001$ ) відносно показників контрольної групи лабораторних тварин (Додаток 3, табл. 5).

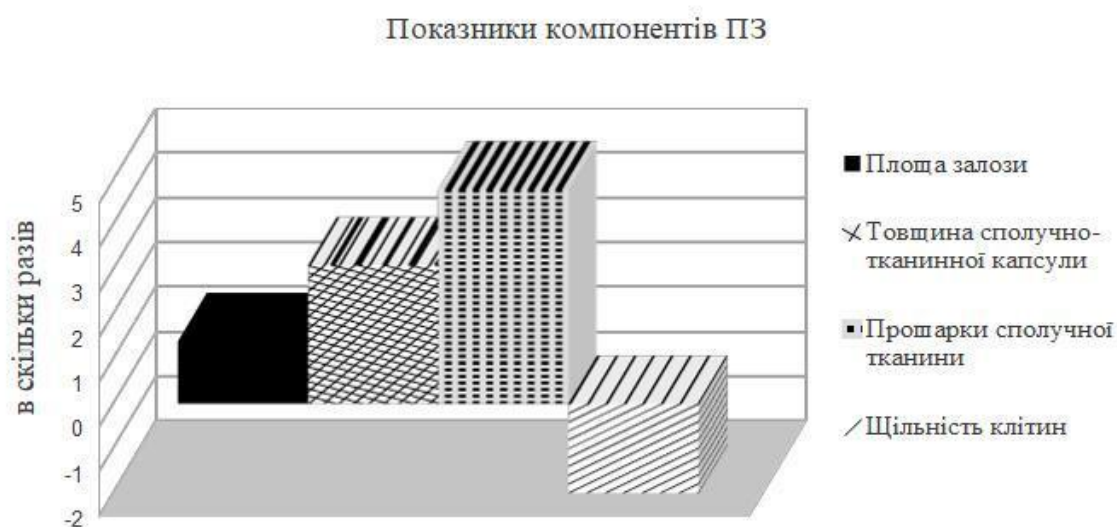


Рисунок 3.28 – Показники зростання та зниження компонентів прищитоподібних залоз щурів на 180 добу відновлювального періоду експерименту після припинення вживання комбінації солей важких металів.

Площа цитоплазми паратироцитів у середньому складала  $22,07 \pm 1,61$  мкм<sup>2</sup>, де в порівнянні з показними контрольної групи піддослідних щурів спостерігалось зростання в 1,4 рази ( $p < 0,001$ ). Відсоткове співвідношення площі ядра до цитоплазми у клітинах становило 52,3 % до майже 47,7 % (рис. 3.29).

Показник ядерно - цитоплазматичного індексу був більше одиниці, тобто становив  $1,33 \pm 0,15$  ( $p < 0,01$ ) та збільшився в 1,6 раз порівнюючи з показником контролю. Такий індекс мають старіючі та функціонально неактивні клітини. Але потрібно відзначити, що до функціонально неактивних клітин відносять перехідну форму оксифільних клітин, які склали основну масу паренхіми залоз.

Узагальнюючи вищезазначене, можна стверджувати, що коливання лінійних розмірів паратироцитів і площі клітин та зміна ядерно -

цитоплазматичного індексу у них свідчила про зниження набрякових та дистрофічних явищ у паратироцитах у відповідні періоди дослідження. А також може характеризувати позитивну динаміку клітинного складу паренхіми ПЗ піддослідних тварин.

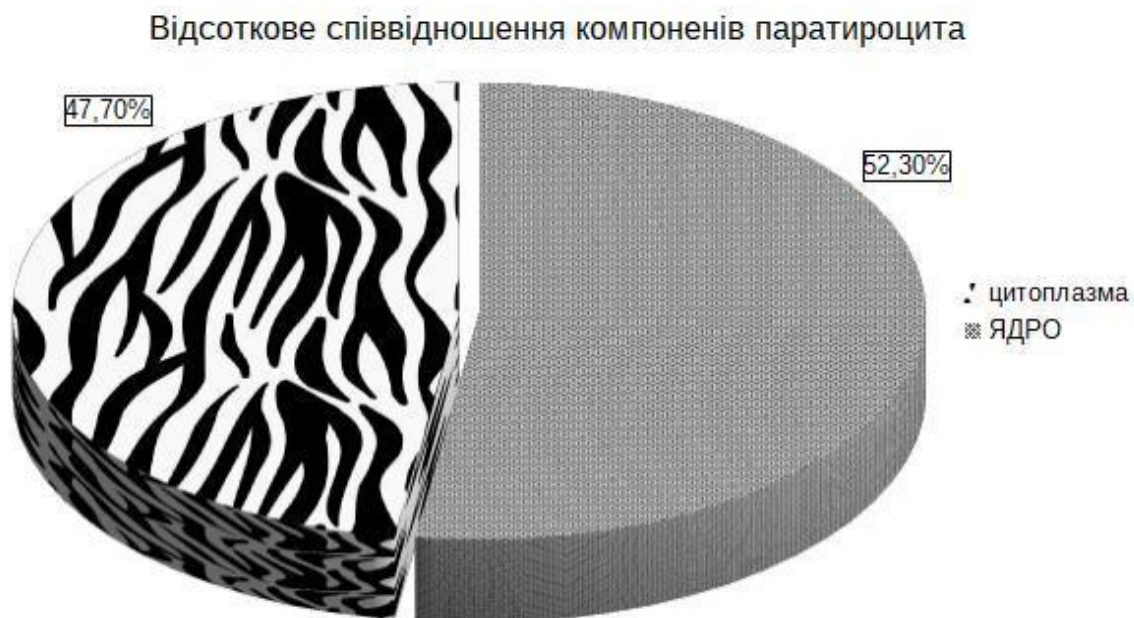


Рисунок 3.29 – Відсоткове співвідношення компонентів паратироцита на 180 добу відновлювального періоду після відміни суміші солей важких металів.

При імуноферментному дослідженні зразків крові щурів на 120 добу та 180 добу періоду відновлення після довготривалого впливу комбінації СВМ спостерігалось коливання показнику активності паратгормону від  $6,8 \pm 0,03$  пг/мл до  $6,9 \pm 0,03$  пг/мл. У процентному еквіваленті відмічалось зменшення його майже в 1,2 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контрольною групою тварин.

Дослідження вмісту модуляторів секреції паратгормону у відповідні періоди відновлення (120 доба та 180 доба експерименту) демонструвало їх зниження. Вміст загального кальцію  $Ca^{2+}$  у сироватці крові щурів мав тенденцію до зменшення від 4 % до 2 % ( $p < 0,001$ ). Вміст другого модулятора секреції гормону паратироцитів, магнію  $Mg^{2+}$  зменшився від

1,2 раз до 1,1раза ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з показником контрольної групи щурів у відповідні періоди дослідження (табл. 3.2).

Зниження іонів загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  повинно було призвести до збільшення секреції паратгормону, але зниження іонів магнію  $\text{Mg}^{2+}$  навпаки призвело до пригнічення секреції його. Відповідно спостерігали незначні коливання активності секреції паратгормону у відповідні періоди експерименту.

Іонізована форма кальцію реалізує фізіологічний ефект загального кальцію. Через 30 діб після відміни комбінації СВМ (на 120 добу дослідження) рівень іонізованого кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  становив  $1,54 \pm 0,02$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ), та складав 53,5 % від рівня загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ . Це свідчило про те, що збільшується відсоток незв'язаного кальцію — позаклітинного. Упорівнянні з показником контрольною групою відмінність його складала лише 1,5 %. На 180 добу експерименту рівень іонізованого кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  становив  $1,56 \pm 0,03$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ), та складав 55,3 % від рівня загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ . Спостерігали тенденцію до зростання позаклітинного - незв'язаного кальцію на 3,3 % в порівнянні з контрольною групою щурів.

Активність ферменту, лужна фосфатаза, який можна віднести до маркера коливання вмісту кальцію у кістковій тканині, на 120 добу експерименту становила  $573,1 \pm 25,83$  МО/л ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з показником контрольної групи тварин відмічалось зростання в 1,9 рази ( $p < 0,001$ ). На 180 добу дослідження спостерігалось зростання активності лужної фосфатази в 1,7 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з відповідним показником контрольної групи щурів (Додаток 3, табл. 6).

Узагальнюючи вищезазначене, можна стверджувати, що у процесі відновлення після відміни суміші СВМ подовжувало зберігатись порушення кальцієвого гомеостазу в організмі щурів, про що свідчать високі показники позаклітинного кальцію та активності лужної фосфатази.

До другого гормонального медіатора кальцієвого гомеостазу

відносять кальцитонін, гормон щитоподібної залози. Його мішенями виступають остеокласти кісткової тканини, де відбувається інгібування їх роботи, а також нирки, де відбувається збільшення екскреції кальцію. Активність кальцитоніну у сироватці крові піддослідних щурів на 120 добу дослідження після відміни суміші СВМ зростала в 4,3 рази ( $p < 0,001$ ). На 90 добу відновлення (180 доба експерименту) після відміни комбінації ВМ у тварин також спостерігалось зростання активності кальцитоніну в 2,8 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з показниками контрольної групи тварин (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Показники концентрації паратгормону та його модуляторів секреції контрольної, на 120 добу та 180 добу дослідження

Показник (одиниця виміру)	Тривалість спостереження		
	Контроль	120 доба	180 доба
Паратгормон (пг/мл)	7,9±0,04	6,8±0,03**	6,9±0,03**
загальний Ca <sup>2+</sup> (ммоль/л)	3±0,03	2,88±0,02*	2,94±0,06**
магній Mg <sup>2+</sup> (ммоль/л)	1,18±0,01	1,04±0,05**	1,06±0,04**
Кальцитонін (пг/мл)	186,2±7,05	793,2±45,64***	532,8±83,18***

Примітка: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стюдента у відношенні до контрольних величин.

У періоди відновлення після припинення вживання комбінації СВМ спостерігалось коливання активності кальцитоніну. Демонструвалась тенденція до поступового зниження його при збільшенні терміну

відновлювального періоду дослідження (180 діб), але показник все ж не наблизився до рівня контролю.

Таким чином, після припинення 90 - денного вживання комбінації СВМ відбувалися помірні поступові відновлювальні процеси у структурних компонентах ПЗ. На 120 добу періоду відновлення після припинення впливу комплексу ВМ представленні незначним зменшенням інтенсивності порушень, але подовження терміну дослідження (180 діб) дозволило спостерігати тенденцію до повільного, проте неповного відновлення структурних компонентів залоз.

Паренхіма залоз у відповідний період відновлення характеризувалась змінами клітинного складу, де вона була представлена головними, оксифільними та перехідною формою оксифільних клітин. Основну масу складали паратироцити перехідної форми. У клітинах спостерігалось зниження набрякових та дистрофічних явищ у відповідні періоди дослідження. Відмічались менш виражені ознаки набряку та розростання СТ, а також зменшувалась виразність дисциркуляторних порушень у паренхімі органа. Щільність розподілення клітин змінилась та спостерігалась тенденція до зниження кількості паратироцитів.

Функціональна активність паратироцитів поступово відновлювалась та спостерігалось певне наближення до контрольних даних. Відмічалось пригнічення модуляторів секреції паратгормону, а також продовжувало спостерігатись порушення кальцієвого гомеостазу в організмі щурів, а саме відмічалось зростання відсотку нез'язаного – позаклітинного кальцію та активності лужної фофатази.

Імуногістохімічне дослідження показало, що проліферативна активність у клітинах залишилась слабо-позитивною. Коливання індексу проліферації у відповідні терміни спостереження свідчило про ознаки розвитку компенсаторно-приспосувальних процесів та явища відновлення ПЗ. Дослідження експресії Chromogranin A демонструвало, що паренхіма залоз представлена паратироцитами з різною функціональною активністю.

А також треба відзначити, що експресія захисних білків Hsp 90α знаходилася на достатньому рівні, а подекуди відмічалось посилення синтезу їх та була варіабельність реакції у клітинах протягом усього терміну дослідження. Це свідчило про ознаки адаптації, часткової компенсації токсичної дії комбінації ВМ на організм тварин та активації процесів відновлення у залозах.

### **3.4 Аналіз взаємозв'язків між досліджуваними параметрами отриманими в ході експерименту**

З метою об'єктивного оцінювання взаємозв'язку між впливом комбінації СВМ та цифровими показниками морфометричних вимірювань, результатами імуногістохімічної оцінки та параметрами біохімічних, імуноферментних досліджень, отриманими упродовж експерименту застосували параметричний метод рангової кореляції Пірсона.

Під час порівняння показників було встановлено, що при зростанні дії суміші ВМ на ПЗ щурів та після відміни їх спостерігалось зменшення щільності розподілення клітин у залозах. Відмічався зворотній помірний зв'язок між площею залоз та щільністю розподілення клітин,  $r = -0,58$  ( $p < 0,05$ ). Спостерігались коливання лінійних показників площі залоз та площі паратироцитів, між якими відмічалась пряма помірна залежність  $r = 0,65$  ( $p < 0,05$ ).

Зростання площі ПЗ під час інтоксикації (на 30 добу та на 90 добу дослідження) спостерігалось відповідно за рахунок збільшення стромальних компонентів: розростання прошарків СТ, де відмічалась помірна пряма залежність  $r = 0,63$  ( $p < 0,05$ ) та розростання сполучно-тканинної капсули — висока пряма залежність  $r = 0,81$  ( $p < 0,01$ ) на 30 добу дослідження та низька пряма залежність  $r = 0,26$  ( $p > 0,05$ ) на 90 добу експерименту.

У періоди відновлення, після припинення вживання комбінації СВМ



(120 доба та 180 доба дослідження), спостерігалась пряма залежність  $r = 0,71$  ( $p < 0,05$ ) між площею залоз та сполучно-тканинною капсулою. Після 30 денного відновлення (на 120добу експерименту) після відміни суміші СВМ спостерігалась пряма залежність  $r = 0,79$  ( $p < 0,05$ ) та після тривалого періоду відновлення (на 180 добу дослідження) — пряма залежність  $r = 0,73$  ( $p < 0,05$ ), між зростанням площі ПЗ та показниками прошарків СТ у паренхімі органа (табл. 3.3).

Талиця 3.3 – Взаємозв'язок між морфометричними показниками компонентів прищитоподібних залоз

Показник/ термін спостереження	Сполучно- тканинна капсула	Прошарки сполучної тканини	Щільність розподілення клітин
Площа залоз у період інтоксикації (30 діб /90 діб)	0,81 <sup>**</sup> /0,26 <sup>***</sup>	0,63 <sup>*</sup>	- 0,58 <sup>*</sup>
Площа залоз у період відновлення (120 діб /180 діб)	0,71 <sup>*</sup>	0,79 <sup>*</sup> / 0,73 <sup>*</sup>	

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* – ( $p > 0,05$ ) – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контрольних величин.

Слід зазначити, що між показниками площі клітин та площі ядер спостерігалася помірна пряма залежність  $r = 0,67$  ( $p < 0,05$ ) при інтоксикації комплексом СВМ (30 доба та 90 доба дослідження), а також у періоди відновлення (120 доба та 180 доба експерименту) після припиненні впливу комплексу ВМ відмічалася пряма помірна залежність  $r = 0,69$  ( $p < 0,05$ ).

Важливою морфологічною характеристикою вважають ядерно-цитоплазматичний індекс, який дозволив оцінити метаболічні процеси в

клітинах. Між коливаннями показників площі ядер паратироцитів та ядерно-цитоплазматичним індексом спостерігалась, упродовж усього терміну дослідження, пряма помірна залежність  $r = 0,46$  ( $p < 0,05$ ).

Між морфометричними показниками площі клітин та ядерно-цитоплазматичним індексом упродовж періоду інтоксикації комплексом СВМ та у відновлювальний період відмічалась слабка пряма залежність  $r = 0,03$ , але була статистично недостовірною ( $p > 0,05$ ) (табл. 3.4).

Отримані результати імуногістохімічного дослідження проліферативної активності Ki-67 у паратироцитах та щільністю розподілення клітин у залозах демонстрували помірну пряму кореляційну залежність  $r = 0,65$  ( $p < 0,05$ ) у період інтоксикації комплексом ВМ (на 30 добу та 90 добу дослідження). У період відновлення після припинення довготривалого впливу комбінації СВМ між цими показниками спостерігали: на 120 добу дослідження — зворотню залежність  $r = -0,33$  ( $p > 0,05$ ) та на 180 добу експерименту — пряму залежність  $r = 0,25$ , але статистично недостовірну ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 3.4 – Взаємозв'язок між морфометричними показниками компонентів паратироцита

Показник/ термін спостереження	Площа ядер	ЯЦІ
Площа клітин у період інтоксикації (30 – 90 діб)	0,67*	0,03**
Площа клітин у період відновлення (120 – 180 діб)	0,69*	
Площа ядер (30 – 180 діб)	-	0,46*

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , \*\* – ( $p > 0,05$ ) – достовірною різницею між вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контрольних величин.

ПЗ секретують паратгормон, який є основним регулятором

кальцієвого гомеостазу. Між показником щільності розподілення клітин у залозах та відповідно активності гормону була висока пряма залежність  $r = 0,87$  ( $p < 0,05$ ) упродовж всього періоду експерименту. Модулятором секреції паратгормону виступає кальцій. Відмічалася помірна пряма кореляційна залежність  $r = 0,64$  ( $p < 0,05$ ) між активністю паратгормону та рівнем загального кальцію у сироватці крові піддослідних тварин у відповідні періоди дослідження.

Функціонально значущим виступає кальцій іонізований. Коливання показників загального кальцію та кальцію іонізованого у сироватці крові щурів мали пряму сильну залежність  $r = 0,76$  ( $p < 0,05$ ) у період інтоксикації ВМ та після припинення вживання їх комбінації у період відновлення.

Другим модулятором гормону ПЗ вважають магній. Відмічалася пряма залежність  $r = 0,46$  ( $p < 0,05$ ) між коливаннями показників активності паратгормону та рівнем магнію у сироватці крові тварин у відповідні періоди дослідження.

Лужна фосфатаза є ферментом, який може виступати маркером патологічного процесу (порушення гомеостазу кальцію). Між коливанням його активності та показником загального кальцію у сироватці крові лабораторних тварин спостерігалася зворотна залежність  $r = - 0,49$  ( $p < 0,05$ ) упродовж відповідних періодів експерименту.

Кальцитонін виступає другим медіатором секреції паратгормону ПЗ. У період інтоксикації суміші СВМ (на 30 добу та на 90 добу експерименту) відмічалась висока зворотна залежність  $r = - 0,81$  ( $p < 0,05$ ) між активністю паратгормону ПЗ та активністю кальцитоніну, гормону щитоподібної залози. У відновлювальний період (на 120 добу та 180 добу дослідження) також спостерігалася помірна зворотна залежність  $r = - 0,65$  ( $p < 0,05$ ) між показниками активності двох гормонів, які приймають участь у регулюванні гомеостазу кальцію в організмі (табл. 3.5).

Підсумовуючи вище зазначене, можна стверджувати, що між

отриманими показниками демонструється прямо або обернено пропорційна залежність у відповідні періоди експерименту. Надлишкове надходження комбінації СВМ до організму призводить до морфологічних змін у прищитоподібних залозах, де спостерігалось прямо пропорційне збільшення площі залоз та площі клітин. Але відмічалось зменшення щільності розподілення паратироцитів у залозах. Також спостерігалось прямо пропорційне збільшення площі залоз за рахунок разростання стромальних компонентів. У паратироцитах відмічалось порушення тинкторіальних властивостей, де спостерігалось прямо пропорційне зростання площі клітин та площі ядер. Ядерно - цитоплазматичний індекс змінювався упродовж відповідних періодів експерименту та становив більше одиниці. Між ядерно - цитоплазматичним індексом та показниками площі ядер паратироцитів спостерігалась пряма помірна кореляційна залежність протягом усього дослідження.

Таблиця 3.5 – Взаємозв'язок між показниками паратгормону та модуляторами його секреції

Показник/ термін спостереження	Паратгормон
Загальний кальцій (30- 180діб)	0,64
Магній (30- 180діб)	0,46
Кальцитонін у період інтоксикації (30 - 90діб)	- 0,81
Кальцитонін у період відновлення (120 - 180діб)	- 0,65

Примітка:  $p < 0,05$  – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контрольних величин.

Таким чином, наше дослідження яскраво продемонструвало прямо пропорційну залежність активності паратгормону з його модуляторами (кальцій та магній). В зв'язку зі зменшенням щільності розподілення

клітин у залозах спостерігалась прямо пропорційна залежність з активністю секреції паратгормону.

Окремо продемонстровано регулятори гомеостазу кальцію, тобто між показниками активності двох гормонів ендокринної системи вимічалась помірна зворотна залежність та між коливаннями активності ферменту лужної фосфатази та загального кальцію також спостерігалась помірна обернено пропорційна залежність.

Отже, надлишкове вживання суміші СВМ призвело до порушення нормальних (контрольних) морфометричних показників у паренхімі та стромальних компонентах ПЗ. Результати біохімічних та імуноферментних досліджень у сироватці крові щурів демонстрували пригнічення секреції паратгормону та його модуляторів, а також спостерігалось порушення кальцієвого гомеостазу в організмі тварин у відповідні періоди дослідження. Імуногістохімічне дослідження показало, що розвиток компенсаторно - пристосувальних процесів та явища відновлення ПЗ відбувались повільно.

Період відновлення після довготривалого впливу комбінації СВМ та пролонгація терміну експерименту до 180 діб не призводить до повного відновлення усіх досліджуваних показників, а спостерігалось лише певне наближення до параметрів контрольної групи тварин.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [214 - 224].

## РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Прищитоподібні залози ПЗ відіграють надзвичайно важливу роль у регулюванні кальцієвого гомеостазу, який впливає на велику кількість фізіологічних процесів у нашому організмі [5, 6, 7, 8, 9, 26, 27, 28, 29, 225]. Вони підтримують нормальне функціонування кісткової тканини. Процес морфологічних змін та розвитку дисфункції ПЗ є складним і різностороннім [4, 226, 227, 228]. Варто зазначити те, що залози здатні також реагувати на дію шкідливих чинників ендogenousного та екзогенного походження [23, 25, 229, 230, 231]. Тому на сьогоднішній день найчастіше постає питання, щодо причин порушення функціональної активності ПЗ та регулювання кальцієвого гомеостазу.

За останні десятиліття років відмічається зростання у всьому світі показників захворюваності ПЗ, пов'язаних з порушенням їх функції. За поширеністю захворювання, які пов'язані з морфологічними розладами та дисфункцією цих залоз займають третє місце після цукрового діабету та тиреоїдної патології. Дисфункція залоз змінює гомеостаз кальцію, в першу чергу це пов'язано з гіперпаратиреозом, найбільш поширеним ендокринним захворюванням. З первинним гіперпаратиреозом пов'язують великий спектр проліферативних уражень ПЗ, таких як гіперплазія, аденома, карцинома [4, 64, 213, 232].

Погіршення екологічних умов навколишнього середовища, вплив стресу на організм, зростання темпів урбанізації призводить до збільшення кількості морфофункціональних порушень з боку різних систем та органів. У світовій науковій літературі зростає кількість робіт, у яких дослідження пов'язані з вивченням екологічно обумовлених захворювань, у тому числі і зумовлених інтоксикацією солями важких металів [233, 234, 235, 236, 237, 238].

Важкі метали являють собою елементи (з атомною масою більше 50), які зустрічаються по всій земній кулі та приймають участь у різноманітні біологічних процесів у біосфері. За рахунок впливу на активність ферментів вони беруть участь у регулюванні майже усіх окисно-відновлювальних реакцій, обміні заліза, холестерину, глюкози, біосинтезі гормонів, стабілізації нуклеїнових кислот, формоутворенні кісток та хрящів, тощо [18, 131, 135, 136, 173, 183, 185, 186, 188, 191]. Надлишкове надходження ВМ до організму призводить до порушення їх гомеостазу тим самим вони проявляють свою токсичну дію викликаючи різні патологічні процеси. Але треба зазначити, що основна загроза полягає не в прояві гострого отруєння, а в постійній кумуляції металів – токсикантів в органах та тканинах упродовж усього життя. Вони проявляють виражену нейротоксичність, сприяють надмірній продукції АФК та розвитку окислювального стресу, викликають порушення у ДНК, проявляють цитотоксичні властивості, можуть зумовлювати токсичні зміни у різних органах та системах, тощо [14, 161, 162, 174, 175, 181, 183, 185, 193, 196].

Хімічні елементи різним шляхом потрапляють до організму завдаючи йому або шкоду, або користь. Антагоністичні відносини ВМ з іншими металами є проявом їх біохімічної дії [21]. Міграція металів в екосистемі відбувається завдяки мікроорганізмам, повітрю, воді, ґрунту, промисловим та антропогенним процесам. З екологічної точки зору небезпечні ВМ поширюються в екосистемі та перевищують гранично допустимі рівні. У деяких районах України важливою екологічною проблемою є накопичення в ґрунті та воді СВМ (цинку, хрому, свинцю, марганцю, міді та заліза), яке спостерігається в різних комбінаціях в залежності від регіону. Здатність ВМ накопичуватись в організмі та їхня стійкість до процесів детоксикації створюють ризик для здоров'я. Зростання концентрації цих металів в організмі сприяє розвитку патологічних станів, порушення його функції. Надлишкові концентрації металів – токсикантів призводить до деактивації багатьох ферментативних



процесів в організмі. Свою токсичну дію вони реалізують через активацію вільнорадикального окислення, що супроводжується пошкодженням макромолекул та надмолекулярних комплексів [22, 18, 14, 19, 156, 158, 162]. ВМ не зникають з біологічного колообігу та токсичність їх не зменшується, а зростає зі збільшенням концентрації. Але треба відзначити, що металеві суміші виявляли більшу токсичність у порівнянні з окремими металами [200]. Згідно з літературними відомостями багато робіт присвячено вивченню впливу ксенобіотиків на організм та поширенню їх в екосистемі. Проводились дослідження з вивченням впливу ВМ (одного або бінарного комплексу) на різні органи або системи [22, 13, 118, 238, 239].

Сьогодні існують роботи, в яких ПЗ демонструють виражену здатність до морфофункціональних змін під впливом різноманітних ендогенних та екзогенних факторів. Також описані патологічні стани ПЗ, які пов'язані з деякими мікроелементами та різними речовинами [23, 24, 25]. Тому питання щодо дії комбінації СВМ (цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому) на залози залишається актуальним для вивчення.

Враховуючи вище зазначене, метою даного дослідження стало виявлення морфофункціональних змін у ПЗ безпородних щурів - самців за умов впливу несприятливих факторів, а саме комбінації СВМ і розвиток компенсаторно – пристосувальних процесів у відповідь на дію пошкоджуючого агента. Будова та функціонування ендокринної системи людини та щурів мають багато подібних особливостей, тому ці тварини використовувались в експерименті, як піддослідні [62, 65].

Дослідження проводилось на 48 білих безпородних статевозрілих щурах – самцях. Біологічний дизайн побудовано з урахуванням варіантів впливу ВМ та періоду відновлення після припинення вживання комбінації СВМ. Лабораторні тварини першої групи слугували контролем, параметри яких відповідали за віком та масою піддослідних щурів на момент

виведення з експерименту. Піддослідні тварини другої групи отримували питну воду, до якої додавали комбінацію СВМ, що притаманна забрудненим регіонам України, а насамперед північним районам у Сумській області [209,210]. Щури третьої групи знаходились на відновлювальному періоді (30 діб та 90 діб дослідження) після довготривалого впливу комплексу СВМ. Функціональний стан ПЗ оцінювали за активністю паратгормону та його модуляторів. Визначення їх проводили за допомогою біохімічного та імуноферментного досліджень.

Застосування гістологічних та імуногістохімічних досліджень дозволило детально вивчити морфологічні особливості ПЗ. Мікроскопічно залози щурів співпадали з літературними даними будови інших тварин та людини. Розбіжності були у клітинному складі паренхіми залоз [62, 65, 96]. Використання додаткових методів фарбування, а саме за Ван - Гізоном та за Малорі, дозволило дослідити стромальний компонент залоз.

У зв'язку з малим розміром ПЗ морфометричні виміри органа проводили на плоских гістологічних зрізах. Дослідження лінійних параметрів ПЗ контрольної групи щурів – самців показало, що площа залоз у середньому становила  $228415,97 \pm 34812,3$  мкм<sup>2</sup>, а розмір сполучно - тканинної капсули —  $21,84 \pm 4,07$  мкм. Щільність розподілення паратиروцитів на заданій площі (комірка площею  $2083,076$  мкм<sup>2</sup>) у середньому становила  $53,2 \pm 1,33$  клітини. Площа паратироцита у середньому становила  $26,88 \pm 1,41$  мкм<sup>2</sup> та площа ядра клітин була  $10,75 \pm 0,32$  мкм<sup>2</sup>. Відсоткове співвідношення площі ядра до цитоплазми у паратироцитах становило від 40 % до майже 60 %. Ядерно - цитоплазматичний індекс у клітинах залоз – менше одиниці та становив  $0,81 \pm 0,08$ , і вказував на те, що паренхіма ПЗ представлена паратироцитами, які є функціонально активними та високодиференційованими клітинами.

На кожному попередньому терміні спостереження, що відповідав нормальному розвитку залоз, відмічались незначні варіації лінійних

показників ПЗ. Ці коливання не впливали на статистичну достовірність. Разом з тим у літературі є відомості, що зі зміною віку відбуваються коливання лінійних параметрів залоз [64, 240, 241, 242].

Під час мікроскопічного дослідження ПЗ виявлено, що ці залози відмежовуються від щитоподібної залози тонкою сполучно–тканинною капсулою, від якої до середини органа відходять тонкі прошарки сполучної тканини, що утворюють струму. Ми відмітили, що чисельна кількість кровоносних судин міститься у стромі органа. Паренхіма залоз контрольної групи безпородних щурів – самців була компактна, представлена трабекулами, тяжами епітеліальних дібних клітин — паратироцитів, які тісно прилягали одна до одної, розміщувалися радіально вздовж чисельних капілярів. Основну масу паренхіми ПЗ щурів складали головні паратироцити. В залежності від функціональної активності ці клітини можуть бути світлими та темними. Отримані результати в порівнянні з даними літератури, свідчать про те, що ПЗ щурів – самців контрольної групи мали типові морфологічні особливості [58, 91, 95, 243].

Проведено визначення імуногістохімічних маркерів у паренхімі ПЗ протягом дослідження контрольної групи лабораторних тварин, а саме антитіл до рецепторів Ki - 67 та Hsp 90α. Проліферативна активність паратироцитів знаходилась поза межами G<sub>0</sub> (клітинного циклу) та середній індекс становив  $2,8 \pm 0,47$  %, що співпадає з даними літератури [216]. Експресія білків теплового шоку Hsp 90α у паратироцитах була слабо-виражена, реакція спостерігалась у поодиноких клітинах, переважно у цитоплазмі з помірною інтенсивністю, що вважається нормою згідно досліджень багатьох учених [244, 245, 246].

Імуногістохімічне дослідження експресії до білка Chromogranin A дозволило продемонструвати секреторну активність паратироцитів у ПЗ та опосередковано охарактеризувати клітинний склад паренхіми залоз та функціональну активність клітин, враховуючи той факт, що Chromogranin A у залозах косекретується разом з паратгормоном [126, 127].

Наше дослідження показало, що експресія до білка Chromogranin A у паратироцитах контрольної групи тварин була висока (+++) та спостерігалась майже у 95 % клітин залоз.

Під час експериментального дослідження рівень активності паратгормону у сироватці крові щурів – самців у середньому становив  $7,9 \pm 0,04$  пг/мл. Аналізуючи рівень модуляторів паратгормону за допомогою біохімічних досліджень, ми виявили у сироватці крові тварин спостерігались відносно стабільні показники: загальний кальцій  $\text{Ca}^{2+}$  (у середньому становив  $3 \pm 0,03$  ммоль/л), кальцій іонізований  $\text{Ca}^{2+}$  (у середньому був  $1,56 \pm 0,02$  ммоль/л), магній  $\text{Mg}^{2+}$  (у середньому становив  $1,18 \pm 0,01$  ммоль/л), лужна фосфатаза (у середньому –  $295,2 \pm 31,46$  МО/л). А також було визначено рівень кальцитоніну, який у середньому становив  $186,2 \pm 7,06$  пг/мл. Подібні показники були отримані іншими авторами під час проведення дослідження кальцій – фосфорного обміну [118, 123, 247].

Отримані результати при проведенні нашого експериментального дослідження дозволили встановити нормальні морфофункціональні особливості ПЗ за умов перебування тварин у інтактному середовищі. Отримані дані в подальшому використовувались в якості контрольних параметрів для аналізу змін та порушень у залозах при надлишковому споживанні комбінації СВМ у відповідні періоди експерименту.

За умов нашого експериментального дослідження піддослідні щури – самці II групи отримували постійно питну воду з додаванням у надлишковій концентрації комплексу СВМ. ПЗ піддослідних тварин після надходження у надлишкових концентраціях ВМ зберігали свої типові морфологічні особливості. З поверхні залози були вкриті сполучно - тканинною капсулою, від якої до середини органа відходили прошарки СТ. Паренхіма залоз була представлена основними паратироцитами. Але прояв токсичної дії суміші СВМ відмічався на різних рівнях морфологічної організації ПЗ, що проявлялося набряком, збільшенням площі залоз від 1,7

рази до 1,8 рази ( $p < 0,05$ ) у відповідні періоди спостереження у порівнянні з контрольною групою тварин. Лінійні морфометричні показники залози досягли максимального значення на 90 добу експерименту (рис. 4.1).

У паренхімі спостерігалась дисконкомплексція та дезорганізація епітеліальних трабекул, а також відмічались реактивні перебудови, що характеризувалися розростанням сполучної тканини. Застосування додаткових методів забарвлення органа (за Ван - Гізоном та Малорі) дозволило краще візуалізувати перебудови у стромальному компоненті та паренхімі залоз. Відмічалось потовщення капсули та посилення набрякових змін у сполучно-тканинному стромальному компоненті. Спостерігалися суцільні ділянки розростання СТ, гіпертрофія фібробластів. А також відмічались морфологічні зміни у судинах мікроциркуляторного русла залоз, а саме розширення просвіту, явища застою. У судинах середнього та великого калібру спостерігалось потовщення стінки з порушенням реологічних властивостей крові.

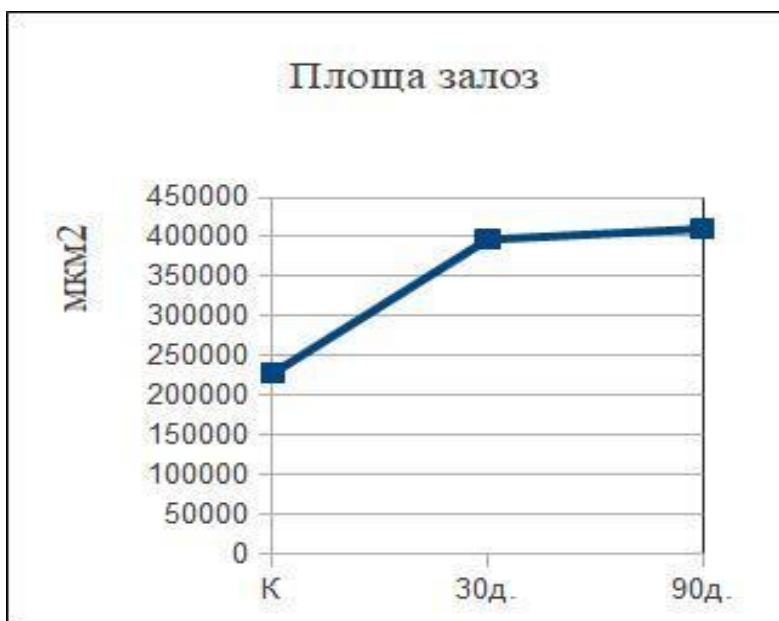


Рисунок 4.1 – Зміни морфометричних показників площі залоз у прищитоподібних залозах щурів II групи. К.- показники щурів контрольної групи.

Отримані результати збігаються з даними отриманими іншими

вченими, які: вивчали надходження ВМ до організму та відмічали морфологічні зміни у досліджуваних органах [214, 248, 249, 250, 251, 252].

У піддослідних щурів протягом експерименту (30 діб та 90 діб) спостерігалася тенденція до зростання лінійних показників стромального компоненту: сполучно-тканинної капсули (товщина від 1,5 рази до 1,9 рази) та прошарків СТ (від 2,2 рази до 3,8 рази) за рахунок розростання СТ та порушення гемоциркуляції органа. У порівнянні з показниками контрольної групи щурів максимального значення сполучно-тканинні стромальні компоненти залоз досягли на 90 добу надлишкового споживання комплексу СВМ (рис. 4.2).

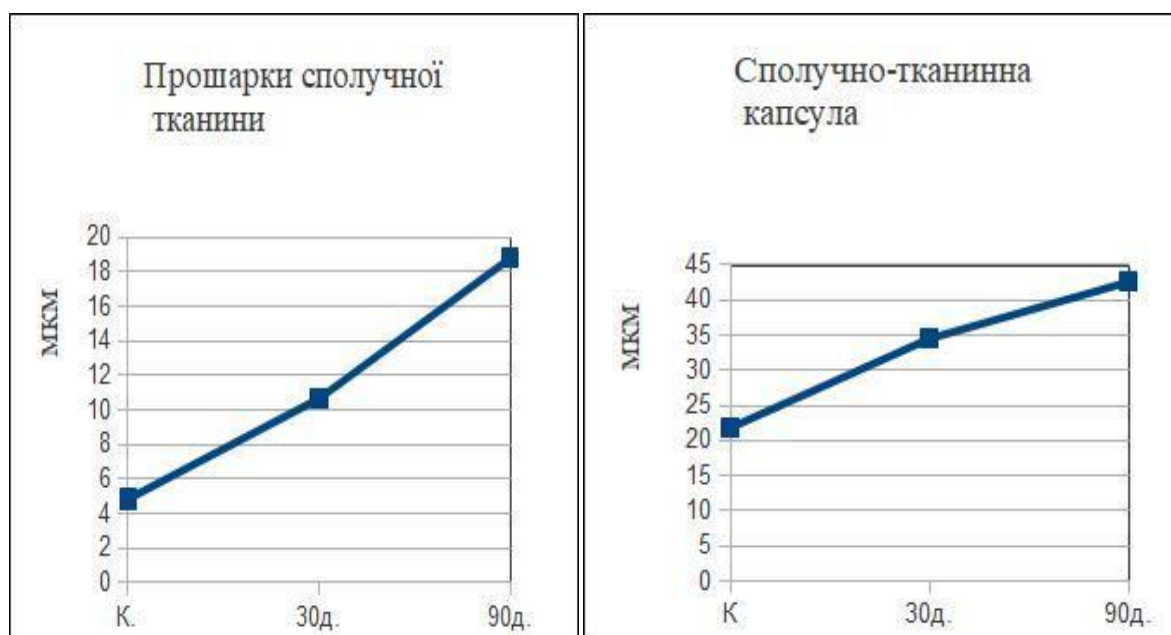


Рисунок 4.2 – Зміни морфометричних показників стромальних компонентів у прищитоподібних залозах щурів II групи. К.- показники щурів контрольної групи.

При морфометричному дослідженні ПЗ піддослідних тварин нами було отримано дані, які свідчать, що щільність розподілення паренхіматозних клітин залози поступово зменшується (на 30 добу та на 90 добу дослідження в 1,8 рази ( $p < 0,001$ )) порівнюючи з показниками контрольної групи тварин. У параратироцитах змінювалися тинкторіальні

властивості та спостерігались ознаки гіпертрофії та гідропічної дистрофії у цитоплазмі.

У період інтоксикації суміші СВМ спостерігалось зростання, порівнюючи з контрольною групою тварин, площі клітин (максимально в 1,9 рази ( $p < 0,001$ )) - пік припадає на 30 добу дослідження. Площа цитоплазми клітин зростала (максимально в 2,1 рази ( $p < 0,001$ )) пік спостерігався на 30 добу експерименту у порівнянні з контрольною групою щурів, а на 90 добу відмічалось зменшення в 1,2 рази в порівнянні з показником модельованого підгострого періоду інтоксикації. Площа ядер демонструвала тенденцію до зростання (1,8 – 2,2 рази ( $p < 0,001$ )) та досягала максимального значення на 90 добу дослідження.

Вивчення ядерно-цитоплазматичного індексу дозволяло оцінити метаболічні процеси в клітинах. Відсоткове співвідношення цього показника у паратироцитах у порівнянні з контролем демонструвало коливання та спостерігалась тенденція до зміщення ядерно-цитоплазматичного індексу в бік цитоплазми. Максимальне зростання ядерно цитоплазматичного індексу спостерігалось на 90 добу дослідження та відмічалось збільшення його в 1,4 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контрольною групою щурів - самців (рис. 4.3).

Пропорційне збільшення лінійних розмірів площі клітин та зміна ядерно - цитоплазматичного індексу свідчили про значну гіпертрофію паратироцитів та ознаки набряку за умов тривалого вживання суміші СВМ. Розвиток гідропічної дистрофії у клітинах відбувся у двох напрямках: набряк цитоплазматичних компонентів та ядерних структур. При цьому у ядрах паратироцитів одночасно спостерігались ознаки пікнозу, набухання та структурної атипії. Між показниками площі клітин та площі їх ядер спостерігалась помірна пряма кореляційна залежність  $r = 0,67$  ( $p < 0,05$ ), а між показниками площі клітин та ядерно-цитоплазматичним індексом відмічалась слабка пряма кореляційна залежність  $r = 0,03$ , але була статистично недостовірною ( $p > 0,05$ ).

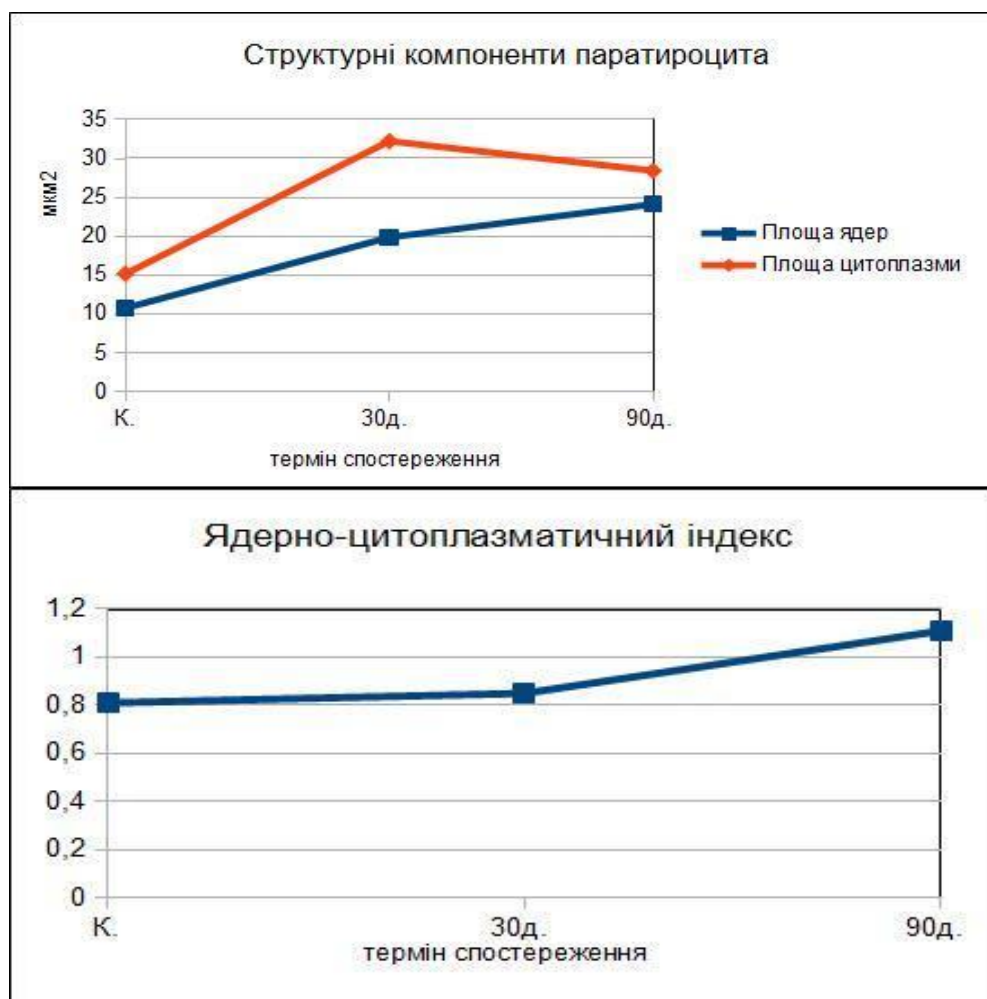


Рисунок 4.3 – Зміни морфометричних показників у паратироцитах прищитоподібних залоз щурів II групи: площі ядер, цитоплазми клітин та ядерно-цитоплазматичного індексу. К.- показники щурів контрольної групи.

Аналізуючи результати гістологічних та морфометричних досліджень ПЗ, ми спостерігали, що при надлишковому надходженні суміші СВМ до організму, вони спричиняють порушення структурного гомеостазу залоз [215,216,217].

Імуногістохімічне дослідження паратироцитів продемонструвало, що експресія захисних білків теплового шоку знаходилася на достатньому рівні протягом відповідного періоду (30 діб та 90 діб) дослідження.

Посилений синтез цих білків був варіабельним, реакція спостерігалась переважно у цитоплазмі паратироцитів, на периферії



відмічались клітини з вираженою ядерною та мішеною реакцією. Помірний рівень експресії до білка Hsp 90 $\alpha$  у паратироцитах може вказувати на те, що білки теплового шоку намагаються попередити руйнування клітин шляхом апоптозу. Активація захисних білків виникає у відповідь на клітинний стрес для відновлення нормального функціонування та підтримання гомеостазу тканин. Але потрібно зазначити, що компенсаторно-приспосувальний та захисний механізми повинні активуватись у клітинах, якщо цього не відбулось, то білки теплового шоку сприяють руйнації їх, як це представлено у відповідних літературних джерелах [244, 245, 246, 253].

Проліферативна активність у паратироцах II групи експериментальних щурів залишалася на низькому рівні. Це показали результати вивчення експресії до білка Ki - 67, яка була слабо-позитивною. Але коливання індексу проліферації (від 1 % до 2,3 % ( $p < 0,001$ )) у відповідні терміни спостереження (на 30 добу та на 90 добу експерименту) на нашу думку, свідчили про ознаки розвитку процесів адаптації. При модельованому періоду інтоксикації суміші СВМ спостерігалось зниження індексу проліферації у клітинах в 2,8 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контрольною групою щурів. На 90 добу інтоксикації ВМ відмічалось зростання у 2,3 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з 30 - денною інтоксикацією, але порівнюючи з контрольною групою тварин індекс експресії Ki - 67 зменшився у 1,3 рази. Проліферативна активність Ki - 67 у паратироцитах та щільність розподілення клітин у залозах демонстрували помірну пряму кореляційну залежність  $r = 0,65$  ( $p < 0,05$ ) у період інтоксикації комплексом ВМ (30 діб та 90 діб). За літературними даними проліферативна активність у паратироцитах може змінюватись за різних умов [242]. Але треба відзначити, що фізіологічно проліферативна активність клітин у ПЗ – низька, згідно даних літератури [227].

З метою оцінки секреторної активності ПЗ нами було проведено імуногістохімічне дослідження з визначенням експресії до білка

Chromogranin A. ПЗ косекретують його разом з паратгормоном, відповідно інтенсивність імуногістохімічної реакції залежить від кількості секреторних гранул у цитоплазмі паратироцирів [126, 127, 254, 255]. Інтенсивність реакції у піддослідних тварин була слабо-позитивною, в зв'язку зі зниженням кількості секреторних гранул у цитоплазмі паратироцирів, що вказувало на пригнічення їх функціональної активності при модельованому підгострому періоді дослідження (на 30 добу) в порівнянні з контрольною групою тварин. При хронічній інтоксикації (на 90 добу) спостерігалась помірна (++) та навіть подекуди висока (+++) експресія Chromogranin A, відмічалось незначне зростання кількості секреторних кількості гранул у цитоплазмі клітин. Згідно з цим можна припустити, що функціональна активність паратироцитів незначно починала відновлюватись.

Отримані нами дані в ході імуноферментного дослідження також демонстрували, що у піддослідних тварин II групи спостерігалось поступове пригнічення секреції паратгормону у паратироцитах при надлишковому споживанні суміші СВМ. У процентному еквіваленті відмічалось зменшення майже на 19 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контрольною групою тварин.

Дослідження вмісту модуляторів секреції паратгормону у відповідні період експерименту (на 30 добу та на 90 добу спостереження) відмічалось їх зниження; так рівень загального кальцію  $Ca^{2+}$  зменшився від 8 % ( $p < 0,001$ ) до 6 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з показниками контрольної групи щурів. До другого модулятора секреції паратгормону відносять магній  $Mg^{2+}$ . Рівень магнію  $Mg^{2+}$  у сироватці крові щурів II групи зменшився від 11 % ( $p < 0,05$ ) до 8,5 % ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контрольними показниками. Треба відзначити, що зниження рівня магнію призводить до пригнічення секреції гормону ПЗ [4, 24, 118]. Порівнюючи періоди інтоксикації (30 діб та 90 діб) відмічається незначне зростання (в 1

раз) на 90 добу дослідження показників модуляторів секреції паратгормону залоз.

У період інтоксикації комбінацією СВМ (30 діб та 90 діб) відмічалось порушення гомеостазу кальцію в організмі, спостерігалось зростання активності лужної фосфатази (в 2,3 – 2,4 рази ( $p < 0,001$ )) та незначне коливання показників кальцію іонізованого  $Ca^{2+}$ , порівнюючи з контрольними показниками. У відсотковому співвідношенні рівень позаклітинного – незв'язаного кальцію  $Ca^{2+}$  зростав, пік припадав на 30-денний період інтоксикації (4,7 % ( $p < 0,01$ )) у порівнянні з контрольною групою щурів.

Рівень активності кальцитоніну, гормону щитоподібної залози, який разом з паратгормоном приймає участь у регулюванні кальцієвого гомеостазу на 30 добу експерименту демонстрував зниження його активності в 1,7 рази ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з показниками контролю. При моделюванні хронічної інтоксикації комплексом СВМ (90 доба експерименту) спостерігався максимальний показник рівня кальцитоніну у сироватці крові щурів (у 6,6 рази ( $p < 0,01$ )), порівнюючи з показниками контрольної групи тварин. Зниження та стрімке зростання рівня цього гормону, може свідчити про важкість морфофункціональних змін у ендокринних залозах та в організмі в цілому. За даними літератури зростання рівня кальцитоніну спостерігалось при різних патологічних станах [119, 120]. Відмічався зворотній кореляційний зв'язок  $r = -0,81$  ( $p < 0,05$ ) між активністю паратгормону та кальцитоніну.

Після відміни споживання суміші СВМ ми продовжили спостереження за тваринами з метою вивчення відновлювальних можливостей ПЗ щурів–самців, які вживали звичайну питну воду. Гістопатологічні зміни тканини залоз у тварин III групи відповідного періоду відновлення були представлені незначним зменшенням інтенсивності порушень [215]. Так у залозах продовжувало спостерігатись розростання СТ та ознаки набряку, зменшувалась виразність

дисциркуляторних порушень у паренхімі органа. Розлади гемодинаміки у залозах мали неспецифічний, поліморфний характер. Великі приносні судини залоз мали ознаки повнокров'я та стінка їх була потовщена. Епітеліальні трабекули у паренхімі ПЗ формувались з різних за розміром та формою клітин. Спостерігалось майже у 30 % паратироцитів видовжене та деформоване ядро. На 120 добу дослідження продовжували відмічатися ділянки з надлишковим розростанням СТ, спостерігалася гіпертрофія фібробластів та порушення проникності судинної стінки. На 180 добу періоду відновлення після довготривалого впливу суміші ВМ спостерігали менш виражені патологічні зміни, зменшувались ознаки набряку та дистрофії у паренхіматозних структурах ПЗ. У судинах мікроциркуляторного русла ще спостерігались розширення їх просвіту та еритро стаз на окремих ділянках. Великі судини також мали ознаки повнокров'я та їх стінка була потовщена. У паренхімі залоз спостерігались поодинокі ділянки з дезорганізацією епітеліальних трабекул.

З боку лінійних параметрів у ПЗ щурів III групи дослідження відмічались залишкові морфометричні зміни. Так площа залоз зросла у 1,4 рази ( $p < 0,05$ ), щільність розподілення клітин продовжувала тенденцію до зменшення (у 1,8 рази — 2 рази ( $p < 0,001$ )) у відповідний термін дослідження (120 діб та 180 діб) порівнюючи з показниками контрольної групи тварин. У стромальному компоненті залоз також спостерігались зміни, так показник сполучно-тканинної капсули збільшився майже у 3,2 рази ( $p < 0,001$ ). Максимальне збільшення (у 5,8 рази ( $p < 0,001$ )) прошарків СТ спостерігалось на 120 добу експерименту в порівнянні з показниками контрольної групи щурів. На 180 добу дослідження відмічалось зменшення показнику прошарків СТ в 1,2 рази в порівнянні з попереднім терміном відновлення (120 діб), але порівнюючи з показником контролю спостерігали також зростання – в 4,8 рази ( $p < 0,001$ ). Пролонгація відновлювального періоду (180 діб) після відміни вживання

комплексу ВМ показала значне зниження явищ набряку та пригнічення розростання сполучної тканини (процесу колагеноутворення).

Паренхіма залоз щурів III групи у відповідні періоди відновлення (120 доба та 180 доба експерименту) характеризувалась змінами клітинного складу. Вона була представлена головними, оксифільними та перехідною формою оксифільних клітин. Перехідна форма паратироцитів становила основну масу клітин. У літературних джерелах відмічаються дані, що при дії певних екзогенних чинників на організм тварин, у ПЗ з'являється чисельна кількість оксифільних паратироцитів (стан пов'язаний з гіперкальціємією). Також зміна клітинного складу спостерігається з віком, після надмірного стресу, при захворюванні нирок та інших хворобах, коли переважають оксифільні паратироцити. [256, 257, 260]. Треба відзначити, що з цим типом клітин пов'язують розвиток патологічних процесів у ПЗ, зокрема вторинний гіперпаратиреоз. Вважається, що оксифільні клітини синтезують партгормон, навіть більше, ніж головні клітини, але не відомо як відбувається регуляція його синтезу [97, 106, 109, 258, 259].

У відновлювальний період (120 діб та 180 діб) експерименту після довготривалого впливу суміші ВМ у щурів III групи відмічались зміни параметрів клітин, а саме площа клітин зросла (від 1,7 до 1,6 рази ( $p < 0,001$ )), площа ядер паратироцитів відповідно (від 2,3 до 2,2 рази ( $p < 0,001$ )) порівнюючи з показниками контрольної групи щурів. Площа цитоплазми паратироцитів збільшилась (від 1,3 рази ( $p < 0,05$ ) до 1,4 рази ( $p < 0,001$ )) у порівнянні з показниками контролю. Відсоткове співвідношення площі ядра до цитоплазми у паратироцитах на 120 добу дослідження становило 58,3 % до 41,7 % та відмічалось зростання відсотку ядра (на 18 %). На 180 добу експерименту продовжувала спостерігатись тенденція до зростання – на 12,3 %, порівнюючи з показниками контрольної групи щурів, але відмічалось зниження майже на 5 % у порівнянні з показником попереднього періоду відновлення. Коливання

лінійних параметрів і відсоткового співвідношення ядра та цитоплазми у паратироцитах можуть свідчити про зниження в них ознак набряку. Треба відмітити, що між показниками площі клітин та площі ядер спостерігалась пряма кореляційна залежність  $r = 0,69$  ( $p < 0,05$ ).

Показник ядерно-цитоплазматичного індексу зростав у відповідні періоди відновлення: на 120 добу – в 2 рази ( $p < 0,01$ ) та на 180 добу – в 1,6 рази ( $p < 0,01$ ). Він був більше одиниці, що характерно для старіючих або функціонально неактивних клітини [261, 262, 263, 264]. Максимальне зростання індексу спостерігалось на 120 добу дослідження. Але треба відзначити, що у цей період основну масу паренхіми органу становили оксифільні паратироцити перехідної форми.

Функціональна активність паратироцитів поступово відновлювалась та спостерігалось певне наближення до контрольних даних у період реадaptaції (120 діб та 180 діб) після припинення вживання комбінації СВМ. У щурів III групи відмічалось зменшення майже в 1,2 рази ( $p < 0,001$ ) секреції паратгормону, а також рівень модуляторів секреції паратгормону залишався низькими у порівнянні з показниками контрольної групи тварин. Але порівнюючи з результатами II групи тварин (період надлишкового споживання суміші СВМ) спостерігалось зростання майже на 7,8 % рівня активності паратгормону. Біохімічний показник загального кальцію  $Ca^{2+}$  у сироватці крові щурів III групи збільшився в середньому на 4,2 %, у порівнянні з показниками II групи тварин (період надлишкового споживання комбінації СВМ), але порівнюючи з показником контрольної групи тварин спостерігалось зменшення від 4 % до 2 % ( $p < 0,001$ ) у відповідні періоди експерименту (120 діб та 180 діб). Відмічалось коливання показника магнію  $Mg^{2+}$  у сироватці крові піддослідних тварин III групи, спостерігалось зростання на 1,9 % при пролонгації відновлювального періоду до 180 діб. Але в порівнянні з показниками контролю рівень магнію  $Mg^{2+}$  зменшився від 1,2 рази до 1,1 рази ( $p < 0,05$ ) відновлювального періоду (на 120 добу та на 180 добу дослідження).

Фізіологічний ефект кальцію реалізується за рахунок іонізованої форми. У відновлювальний період (180 діб) у щурів III групи показник іонізованого кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  співпадає з показником контрольної групи, але при перерахуванні у відсоткове співвідношення (по відношенню до рівня загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ ) спостерігалось зростання позаклітинного — незв'язаного кальцію на 3,3 % ( $p < 0,01$ ). Порівнюючи з II групою щурів кальцій іонізований  $\text{Ca}^{2+}$  в середньому збільшився на 1,2 %, тоді як позаклітинний кальцій  $\text{Ca}^{2+}$  на 1,3 %.

Рівень активності лужної фосфатази демонстрував коливання та зберігалась тенденція до зростання (в 1,9 рази на 120 добу та в 1,7 рази на 180 добу дослідження ( $p < 0,01$ )) при порівнянні з показниками контрольної групи тварин. Але порівнюючи з показниками II групи тварин на 90 добу дослідження з відповідним рівнем ферменту III групи щурів на 180 добу експерименту навпаки спостерігалась тенденція до його зниження (в 1,4 рази). Показник рівня активності кальцитоніну III групи тварин теж демонстрував тенденцію до зростання у порівнянні з контрольною групою щурів, але порівнюючи з відповідним рівнем гормону II групи щурів відмічалось зниження його. Між активністю паратгормону та кальцитоніну спостерігався зворотній кореляційний зв'язок,  $r = - 0,65$  ( $p < 0,05$ ).

Отже можна стверджувати, що у процесі відновлення (120 діб та 180 діб) у щурів III групи після відміни споживання комплексу СВМ продовжувалось спостерігатися порушення кальцієвого гомеостазу.

Імуногістохімічне дослідження показало, що проліферативна активність у клітинах залишилась слабо–позитивною. Але на 120 добу реадаптації спостерігалось зростання експресії до білка Ki - 67 у 1,4 рази ( $p < 0,001$ ). Реакція відмічалась переважно в головних клітинах. Між проліферативною активністю та щільністю розподілення клітин у залозах у період відновлення після припинення довготривалого впливу ВМ характеризувався на 120 добу дослідження — зворотною залежністю  $r = - 0,33$  ( $p > 0,05$ ), а на 180 добу експерименту — прямою залежністю  $r = 0,25$ ,

але статистично недостовірною ( $p > 0,05$ ). Коливання індексу проліферації у відповідні терміни спостереження (120 діб та 180 діб) свідчили про ознаки розвитку компенсаторно – пристосувальних процесів та відновлення ПЗ. Проведене дослідження свідчить про наявності у паратироцитів вираженого відновлювального потенціалу після дії на них таких несприятливих екзогенних чинників, як СВМ [23, 111, 265, 266].

У відновлювальному періоді (на 120 добу та на 180 добу) дослідження не відбувалось зниження рівня експресії білків теплового шоку у паратироцитах, а подекуди навіть спостерігалась тенденція до посиленого синтезу Hsp 90 $\alpha$  в клітинах ПЗ. У паратироцитах спостерігалась виражена дифузна цитоплазматична та змішана помірно-позитивна реакція експресії до білка теплового шоку. Але треба відмітити, що на деяких ділянках паренхіми реакція була слабо-позитивною й тільки в окремих клітинах зовсім негативною. Посилений синтез цих білків характеризувався зростанням захисних та відновлювальних процесів, виникаючи у відповідь на клітинний стрес [267, 268].

Дослідження рівня експресії Chromogranin A у відновний період (на 120 добу та на 180 добу експерименту) після відміни вживання суміші СВМ показало, що у щурів III групи відмічалась помірна (++) реакція, яка спостерігалась майже у 95 % клітин. Це свідчить про те, що паренхіма залоз була представлена активними паратироцитами, що опосередковано вказувало на зростання їх функціональної активності. Наявність поліморфного складу клітин та зростання експресії Chromogranin A у паратироцитах вказувало на те, що функціональна активність відновлювалась та навіть посилювалась. Позитивна реакція (експресії Chromogranin A) відмічалася у проміжної форми оксифільних клітин та оксифільних паратироцитах. Н. Chen та співавтори (2013) у своєму дослідженні відмічали, що оксифільні клітини можуть синтезувати паратгормон та навіть більше, ніж головні паратироцити [78].

Отже, отримані нами результати та літературні дані вказують на те,



що постійне надходження суміші СВМ призводить до їх циркуляції в крові, частковому накопичені в організмі та виведення ВМ з сечею [214, 215, 238, 269].

Результати морфометричного дослідження показали, що у щурів-самців відмічались зміни у будові ПЗ. Спостерігалось збільшення площі залоз, зменшення щільності розподілення клітин упродовж усього дослідження, та між цими показниками відмічався зворотній помірний кореляційний зв'язок  $r = -0,58$  ( $p < 0,05$ ). Площа залоз збільшувалась за рахунок розростання стромальних компонентів упродовж усього експерименту та пік зростання показника припадає на 90 добу інтоксикації ВМ (рис. 4.4).

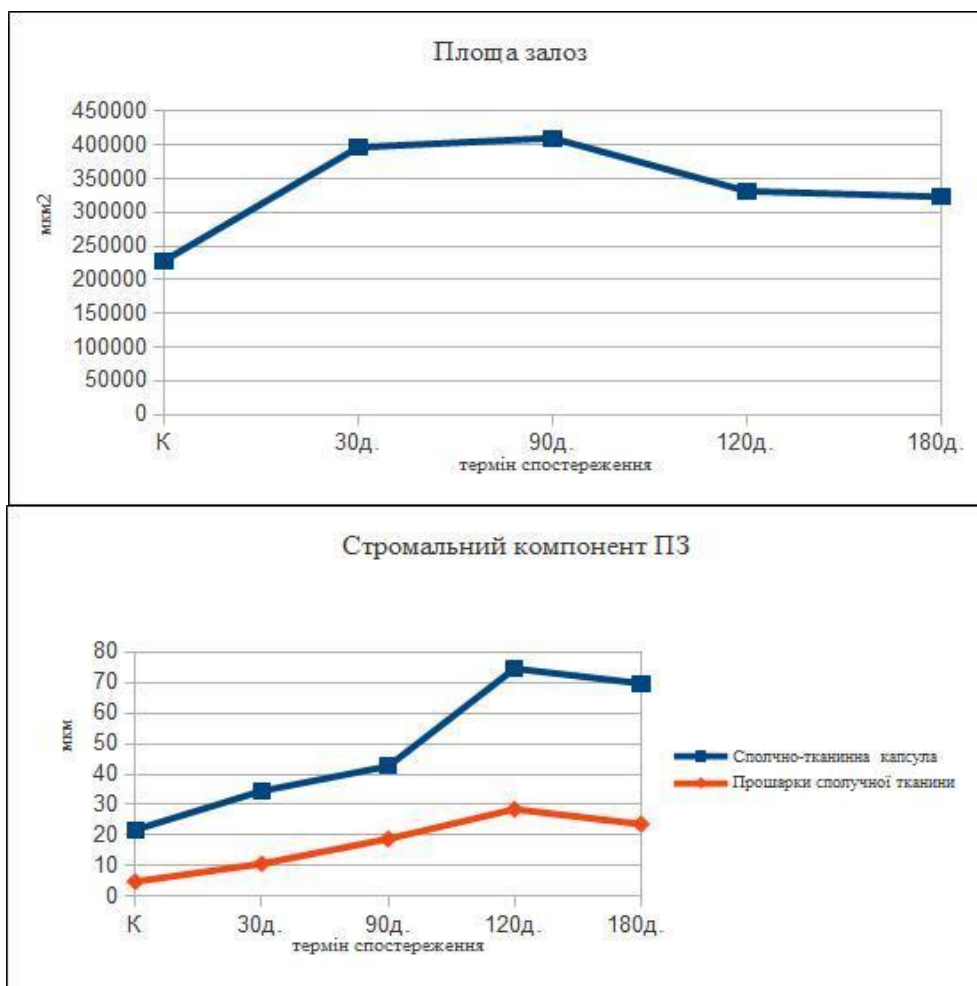


Рисунок 4.4 – Зміни морфометричних показників у ПЗ щурів: стромальний компонент, площа залоз. К. – показники щурів контрольної групи.

У паренхімі органа відмічалася зміна клітинного складу. За рахунок зменшення ознак набряку та зменшення активного розростання СТ в стромальному компоненті ПЗ, спостерігали поступове зниження площі залоз у відновлювальний період (на 180 добу експерименту) після припинення вживання комплексу СВМ.

У щурів II групи площа паратироцитів зростала за рахунок дистрофічних змін та набряку у період інтоксикації суміші ВМ, пік припадає на 30 – денну інтоксикацію. Період відновлення (на 120 добу та на 180 добу дослідження), у тварин III групи, характеризувався зменшенням ознак набряку та дистрофічних змін, відповідно спостерігали коливання показників площі клітин, площі ядер і площі цитоплазми у паратироцитах та відмічали тенденцію до зниження у порівнянні з відповідними показниками у щурів II групи (рис. 4.5).

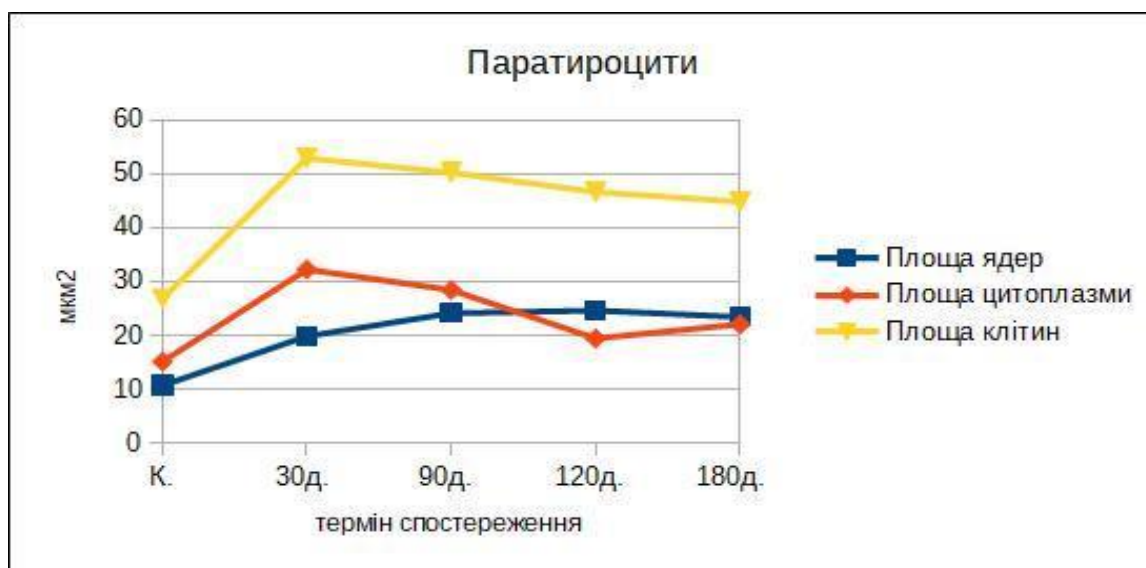


Рисунок 4.5 – Зміни морфометричних показників у прищитоподібних залозах щурів: площі паратироцитів, площі цитоплазми та ядер клітин. К. – показники щурів контрольної групи.

Ядерно - цитоплазматичний індекс у паратироцитах упродовж всього терміну спостереження демонстрував зростання, та становив більше одиниці, що характерно для старіючих або функціонально неактивні

клітин. Коливання показників площі ядер паратироцитів та показники ядерно-цитоплазматичного індексу упродовж усього терміну експерименту демонстрували пряму кореляційну залежність  $r = 0,46$  ( $p < 0,05$ ).

Зміна клітинного складу та переважання перехідних оксифільних форм клітин обумовлювало такий показник ядерно-цитоплазматичного індексу, враховуючи те, що цю форму паратироцитів відносять до функціонально неактивних клітин. Спостерігалась слабка пряма кореляційна залежність  $r = 0,03$  між показниками площі клітин та ядерно-цитоплазматичним індексом упродовж періоду інтоксикації суміші СВМ та періоду відновлення, але була статистично недостовірною.

Коливання проліферативної активності та достатній рівень експресії білків теплового шоку протягом усього терміну дослідження може вказувати на ознаки адаптації, часткової компенсації дії поллютантів на організм піддослідних тварин та активації відновлювальних процесів у залозах.

Процес компенсаторно-відновлювальних морфологічних перетворень можливо реалізовувався за рахунок активації та стимулювання власних захисних сил організму. В літературних джерелах відмічається той факт, що ПЗ відрізняються високою резистентністю в порівнянні з іншими ендокринними залозами [265].

Функціональна активність ПЗ зазнавала змін. Синтез паратгормону пригнічувався, упродовж всього терміну спостереження відмічалися коливання показника, пік максимального зниження припадає на 30-денний період інтоксикації суміші СВМ. Враховуючи зміну клітинного складу у паренхімі залоз та зменшення щільності розподілення клітин, спостерігалась пряма кореляційна залежність  $r = 0,87$  ( $p < 0,05$ ) між рівнем паратгормону та щільністю розподілення клітин у ПЗ.

Аналізуючи рівень вмісту модуляторів секреції паратгормону упродовж експерименту, ми відмітили коливання показників, найнижчий рівень загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  та магнію  $\text{Mg}^{2+}$  спостерігався на 30-

денний період інтоксикації суміші ВМ. Відповідно низький рівень показника загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  у сироватці крові піддослідних тварин повинен був призвести до збільшення секреції паратгормону, але зниження рівня показників магнію  $\text{Mg}^{2+}$  навпаки призводить до пригнічення його секреції [4, 24, 118]. Відмічалась помірна пряма кореляційна залежність  $r = 0,64$  ( $p < 0,05$ ) між активністю паратгормону та рівнем загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  у сироватці крові лабораторних тварин. Але фізіологічно значущим вважають кальцій іонізований  $\text{Ca}^{2+}$  та відсотковий рівень незв'язаного – позаклітинного кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ , який безпосередньо впливає на секрецію паратгормону [4, 6, 114, 116, 228]. Порівнюючи рівень іонізованого кальцію та відсоток незв'язаного – позаклітинного кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ , ми спостерігали зростання їх показників, пік припадає на 30 - денний період інтоксикації суміші СВМ (рис. 4.6).

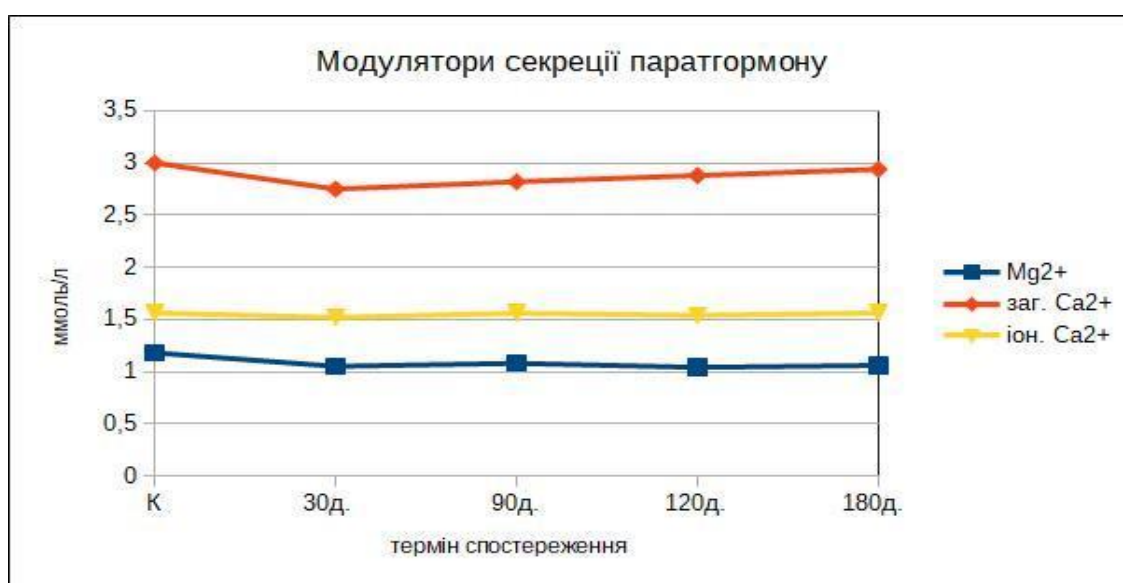


Рисунок 4.6 – Зміни біохімічних показників у сироватці крові лабораторних щурів. К.- показники контрольної групи щурів.

Відповідно, враховуючи ці показники, ми спостерігали незначні коливання активності секреції паратгормона упродовж усього періоду дослідження. Максимальне зниження активності гормону спостерігалось на 30 добу інтоксикації суміші ВМ. У період відновлення (120 діб та 180 діб) після відміни споживання СВМ відмічалось поступове

наближення до показників активності гормону контрольної групи тварин. Пролонгація відновлювального періоду до 180 діб не дозволила спостерігати повного відновлення секреції паратгормону у ПЗ.

Рівні активності лужної фосфатази та кальцитоніну демонстрували коливання їх показників упродовж всього терміну експерименту, та зберігалась тенденція до зростання. Пік максимального зростання активності лужної фосфатази спостерігали на 90 - денний період інтоксикації комбінацією ВМ (рис. 4.7).

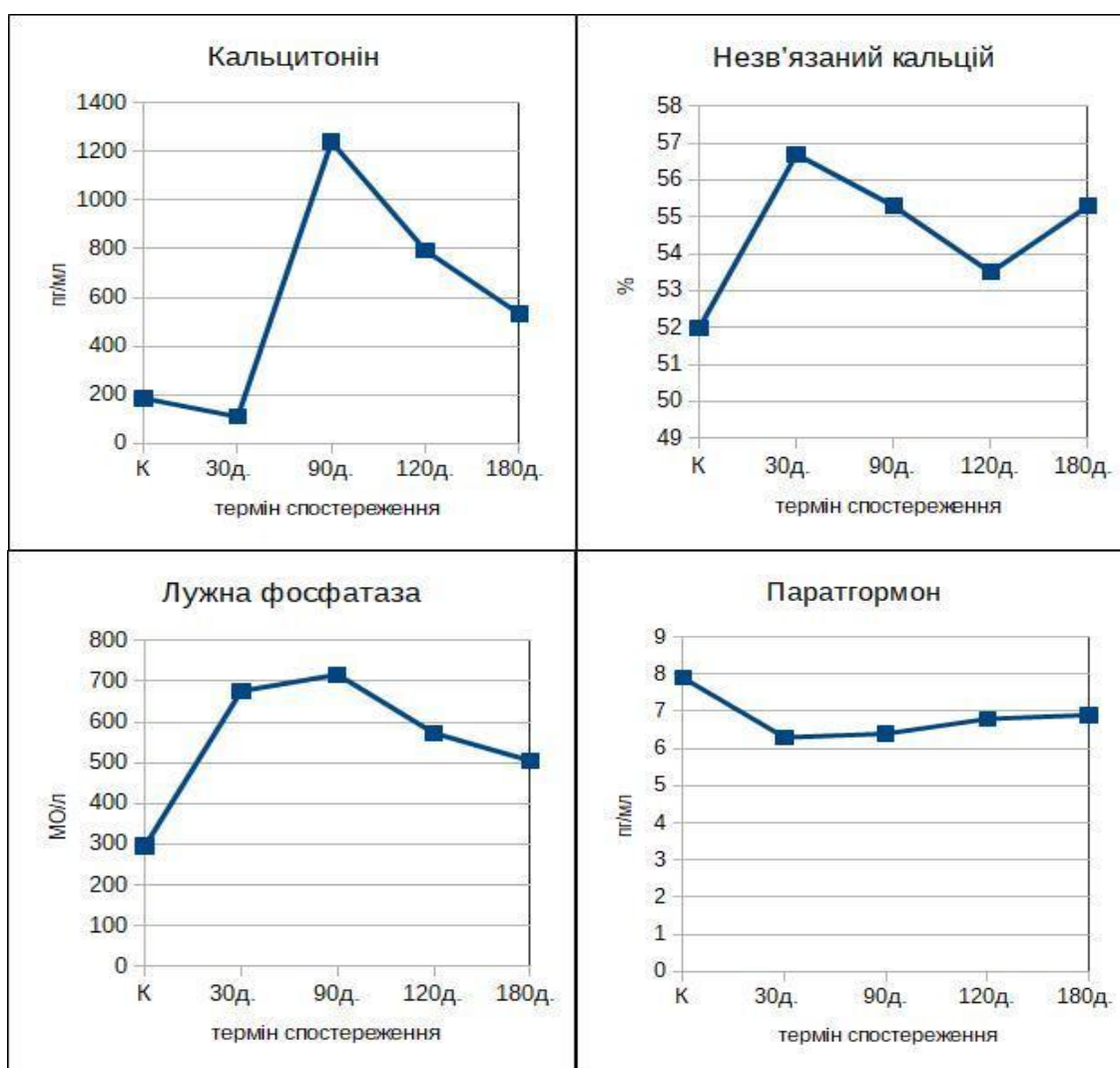


Рисунок 4.7 – Зміни біохімічних та імуноферментних показників у сироватці крові лабораторних щурів. К. – показники контрольної групи щурів.

Рівень активності кальцитоніну при надходженні у надлишкових

концентраціях до організму тварин суміші СВМ упродовж 30 діб експерименту зменшувався, але на 90 добу інтоксикації ВМ спостерігали стрімке зростання його показника. У літературних джерелах відмічається той факт, що зростання активності кальцитоніну може відбуватися не тільки за рахунок синтезу парафолікулярними С - клітинами щитоподібної залози, але й клітинами інших органів таких, як легені, кишківник та інші. А також зазначається, що секреція кальцитоніну може стимулюватись різними факторами, зокрема катехоламіни, глюкагон, гастрин холецистокінін. Але їх біологічна регуляція секреції кальцитоніну є дискутабельною [119, 120, 121].

Отже, коливання активності кальцитоніну протягом усього терміну дослідження, на нашу думку, можуть вказувати на важкість перебігу морфофункціональних перетворень у ендокринних залозах та й організмі в цілому.

При пролонгації періоду відновлення (на 180 добу експерименту) спостерігалось зменшення рівня активності лужної фосфатази на 30 % та кальцитоніну на 57 % у порівнянні з показниками II групи щурів. Лужна фосфатаза виступає маркером патологічного процесу (порушення гомеостазу кальцію), коливанням її активності та коливання рівня загального кальцію  $Ca^{2+}$  у сироватці крові лабораторних тварин демонстрували зворотню кореляційну залежність  $r = -0,49$  ( $p < 0,05$ ).

Згідно отриманих біохімічних та імуноферментних результатів на нашу думку токсична дія суміші СВМ призвела до порушення кальцієвого й магнієвого гомеостазу, та відповідно пригнічувався синтез паратгормону у ПЗ. Отримані результати не суперечать даними інших авторів щодо пригнічення функціональної активності паратироцитів та порушення гомеостазу кальцію за умов дії різних екзогенних чинників [25, 112, 118, 123].

Дослідження експресії до білка Chromogranin A упродовж всього терміну експерименту демонструвало коливання інтенсивності реакції від

слабо - помірної (+) до помірної (++)). Це обумовлювалось наявністю різної кількості секреторних гранул у цитоплазмі паратироцитів. Реакція спостерігалась майже у 95 % клітин, це може свідчити про те, що паренхіма залоз була представлена паратироцитами, які мали секреторну активність різного ступеня. Враховуючи той факт, що Chromogranin A косекретується з паратгормоном ми спостерігали коливання інтенсивності реакції у паратироцитах протягом експерименту, яка вказувала на функціональну активність клітин (секрецію гормону).

Підсумовуючи вищезазначене, ПЗ демонстрували деяку неповторність морфофункціональних особливостей серед залоз ендокринної системи, та інших органів та систем, які вивчались за умов дії на них ВМ [13, 118, 238, 248, 269, 270, 271].

Проаналізувавши та узагальнюючи вищезазначене, пропонуємо наступну схему патогенного впливу комбінації СВМ на ПЗ (рис. 4.8).

Отже на досліджуваний орган (ПЗ) діяли комбінацією СВМ. Згідно літературних даних інших досліджень [146, 214, 248, 251, 272], ВМ потрапляли в організм з питною водою, в подальшому відбувалось їх всмоктування в травній системі та через серцево-судинну систему іони металів транспортувались до органа. Негативний вплив суміші ВМ детермінує розвиток розладів гомеостазу ПЗ, морфологічні трансформації в різних тканинах. Споживання у надвисоких концентраціях комбінації СВМ та потрапляння їх до організму призводить до порушення функції залоз та кальцієвого гомеостазу.

Також треба зазначити, що компенсаторно—відновлювальний процес можливо реалізовувався за рахунок активації та стимулювання власних захисних сил організму. Але токсична дія комплексу СВМ та здатність їх до акумулювання спричиняє швидке виснаження та порушення захисних механізмів у організмі [10, 156, 157, 158, 159].

Ми можемо стверджувати, що ВМ реалізують свою токсичну дію завдяки активації вільнорадикального окислення та генерувати АФК,

викликати окислювальне ушкодження біологічних макромолекул та надмолекулярних комплексів.

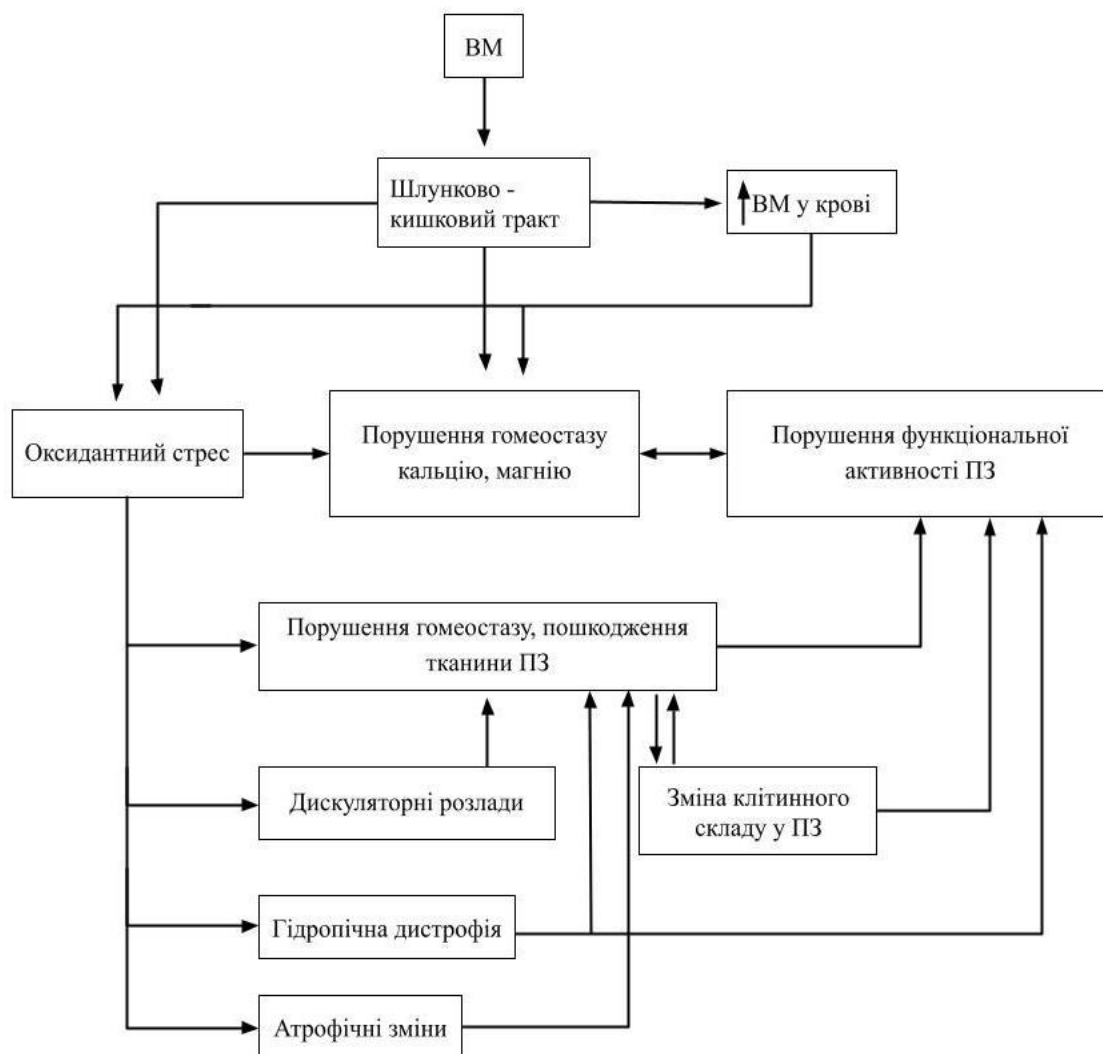


Рисунок 4.8 – Схема впливу суміші СВМ на ПЗ щурів.

Надлишкове накопичення АФК та вторинних продуктів призводить до виникнення патологічних станів, таких як окислювальний стрес. На початковій стадії стресу активуються захисні реакції організму на патогенні чинники, але в подальшому під час тривалої дії та виснаження протекторних механізмів виникає погіршення роботи антиоксидантних систем, та стає причиною порушень [16, 161, 162, 163, 166, 167, 168].

Під час дослідження ми відмічали активацію білків теплового шоку вже після 30 - денної інтоксикації сумішшю цинку, міді, заліза, марганцю,



свинцю, хрому. Експресія білка Hsp 90 $\alpha$  була пов'язана одночасно зі зростанням кількості захисних ферментів, запаленням, пригніченням більшості клітин. Зрозуміло, що білки теплового шоку частково спровокували прискорену руйнацію окремих клітин, але в основному вони активували в них захисні механізми. Зменшення кількості білків теплового шоку свідчило б про виснаження компенсаторних внутрішньоклітинних механізмів гомеостазу. Але треба зазначити, що впродовж всього терміну дослідження експресія білків теплового шоку була на достатньому рівні, що вказувало на ознаки адаптації та компенсації дії поллютантів на ПЗ. Коливання кількості клітин з позитивною реакцією до білка Ki - 67 упродовж дослідження також вказувало про ознаки розвитку компенсаторно - пристосувальних процесів у залозах щурів.

У літературних даних зазначається той факт, що адаптаційні механізми намагаються одразу захищати організм від токсичної дії металів, але з часом відбувається виснаження та розвиток незворотних патологічних станів [157, 158].

Надходження комбінації ВМ та транспорт їх по кровоносному руслу призводить до порушень у будові судинної стінки, зростає її проникність та спостерігаються дисциркуляторні розлади.

Аналізуючи вище зазначене, ми можемо зробити висновок, що завдяки обраному біологічному дизайну експерименту із споживанням комбінації СВМ упродовж 30 днів і 90 днів та обраним комплексом досліджень, нами встановлено закономірності морфологічних порушень у ПЗ та пригнічення їх функціональної активності. Токсична дія ВМ відмічалась на різних рівнях морфологічної організації залоз, що проявлявся набряком, дистрофією, дисконкомплексацією та дезорганізацією епітеліальних трабекул, реактивними перебудовами у стромальному сполучно-тканинному компоненті.

У паратирицитах змінювалися тинкториальні властивості й відмічались ознаки гіпертрофії та гідро пічної дистрофії. У ядрах клітин

спостерігались ознаки структурної атипії. У період інтоксикації суміші СВМ спостерігалось прямо пропорційне збільшення площі залоз та площі клітин, відмічалось зменшення щільності розподілення паратироцитів у залозах.

У ПЗ за умов дії суміші СВМ спостерігалось поступове пригнічення секреції партгормону та його модуляторів, відбувалось порушення гомеостазу кальцію в організмі. Максимальне зростання показників позаклітинного – нез'язаного кальцію  $Ca^{2+}$ , лужної фосфатази та кальцитаніну припадає саме на період інтоксикації ВМ. Все це демонструвало важкість морфофункціональних змін у ендокринних залозах і не тільки.

Період відновлення після припинення споживання комплексу СВМ характеризувався незначним зменшенням інтенсивності порушень, але пролонгація періоду відновлення (180 діб) дозволила спостерігати тенденцію до повільного та неповного відновлення структурних компонентів ПЗ. Коливання морфометричних показників вказувало на зменшення ознак набряку та дистрофічних змін. Але треба відзначити, у цей період дослідження щільність розподілення клітин не наблизилась до контрольних показників, спостерігалось зменшення кількості паратироцитів. У клітинах спостерігалися зменшення їх площі та площі ядер. Паренхіма залоз у період відновлення (120 діб та 180 діб) демонструвала поліморфність клітинного складу. Основну масу складали паратироцити перехідної форми.

Функціональна активність паратироцитів поступово відновлювалась та спостерігалось певне наближення до контрольних показників. Але треба зазначити, що продовжувало зберігатись порушення кальцієвого гомеостазу в організмі лабораторних тварин, тобто відмічались високі показники активності лужної фосфатази та відсотку незв'язаного – позаклітинного кальцію.

Отже, вивчення прищитоподібних залоз під час проведення біологічного експериментального дослідження з використанням комплексу методів: морфологічного (гістологічного та морфометричного), імуногістохімічного, біохімічного та імуноферментного дозволило встановити виражені морфологічні пербудови в структурі органа, зміну функціональної активності залоз та механізмів регулювання їх за умов дії несприятливих факторів, а саме комбінації СВМ.

Отримані результати дають змогу судити не лише про важливу роль ПЗ у багатогранних процесах регуляції гомеостазу організму, а також демонструють ступень реактивності органів у відповідь на довготривалий вплив комплексу ВМ (цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю та хрому) та у період відновлення після припинення вживання їх.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [214 - 224].

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлені теоретичні узагальнення та нове вирішення наукового завдання, яке стосується морфологічних, морфометричних та функціональних особливостей прищитоподібних залоз безпородних щурів-самців за умов дії на організм комбінації солей важких металів. Основні результати даної роботи представлені у наступних висновках:

1. Прищитоподібні залози контрольної групи щурів-самців мають паренхіматозний тип будови з чітким розподіленням його структурних компонентів. Паренхіма характеризувалась своєю компактністю розміщення клітин (кількість ядер клітин становила  $53,2 \pm 1,33$  на заданій площі комірки ( $2083,076 \text{ мкм}^2$ )), які розміщувались вздовж капілярів та формували тяжі. Площа залоз у середньому становила  $228415,97 \pm 34812,3 \text{ мкм}^2$ . Стромальний компонент був представлений: сполучно-тканинною капсулою (товщина в середньому складала  $21,84 \pm 4,07 \text{ мкм}$ ); прошарками сполучної тканини, які не розділяють залози на часточки ( $4,85 \pm 0,37 \text{ мкм}$ ). Основну масу паренхіми прищитоподібних залоз щурів складали головні паратироцити: площа клітин ( $26,88 \pm 1,42 \text{ мкм}^2$ ); ширина ( $4,78 \pm 0,21 \text{ мкм}$ ) та довжина ( $6,73 \pm 0,25 \text{ мкм}$ ). Паратироцити мали одне ексцентрично розміщене ядро площею  $10,75 \pm 0,33 \text{ мкм}^2$ , шириною  $2,72 \pm 0,09 \text{ мкм}$ , довжиною  $5 \pm 0,1 \text{ мкм}$  та цитоплазму площею —  $15,15 \pm 1,09 \text{ мкм}^2$ . Ядерно-цитоплазматичний індекс у клітинах становив менше одиниці ( $0,81 \pm 0,08$ ).

2. За умов надходження комбінації солей важких металів спостерігалось збільшення площі залоз в 1,7 рази – 1,8 рази ( $p < 0,05$ ), ознаки набряку, значне збільшення стромального компоненту: сполучно-тканинна капсула (товщина зросла в 1,5 рази – 1,9 рази ( $p < 0,001$ )); прошарки сполучної тканини в 2,2 – 3,8 рази ( $p < 0,001$ ), за рахунок розростання сполучної тканини та порушення гемоциркуляції органа. Щільність розподілення

клітин зменшилась приблизно в 1,8 рази ( $p < 0,001$ ). У паренхімі прищитоподібних залоз спостерігалися також дистрофічні зміни та порушення будови епітеліальних трабекул. У паратироцитах змінювалися тинкторіальні властивості та спостерігались ознаки гіпертрофії та гідропічної дистрофії: площа клітин зростала в 1,9 рази ( $p < 0,001$ ) на 30 добу дослідження та на 90 добу експерименту – 1,8 рази ( $p < 0,001$ ); ширина та довжина їх збільшилась у 1,5 рази ( $p < 0,001$ ); площа цитоплазми зроста в 2,1 рази ( $p < 0,001$ ) на 30 добу дослідження та 1,8 рази ( $p < 0,001$ ) на 90 добу експерименту. У ядра паратироцитів відмічалось зростання: площі в 1,8 – 2,2 рази ( $p < 0,001$ ); ширини в 1,6 – 1,7 рази ( $p < 0,001$ ); довжини в 1,2 – 1,4 рази ( $p < 0,001$ ). Ядерно - цитоплазматичний індекс у паратироцитах при вживанні солей важких металів у надлишкових концентраціях упродовж 30 діб залишився не змінним, але на 90 добу дослідження становив більше одиниці та відмічалось збільшення 1,4 рази ( $p < 0,01$ ).

3. У відновлювальний період експерименту після припинення вживання комбінації солей важких металів розвивалися помірні поступові відновлювальні процеси у структурних компонентах прищитоподібних залоз, проте неповні. Стали менш вираженими ознаки набряку та розростання сполучної тканини. Площа залоз збільшилась у 1,4 рази ( $p < 0,05$ ). Стромальний компонент демонстрував тенденцію до зростання: сполучно-тканинна капсула в 3,2 — 3,1 рази ( $p < 0,001$ ); прошарки сполучної тканини, де пік збільшення припадав на 120 - денний період відновлення після припинення вживання солей важких металів в 5,8 рази ( $p < 0,001$ ), на 180 добу дослідження також відмічалось зростання в 4,8 рази ( $p < 0,001$ ), але в порівнянні з попереднім періодом (120 діб) — зменшення в 1,2 рази. Щільність розподілення клітин зменшилась в 1,8 — 2 рази ( $p < 0,001$ ). Паренхіма залоз у період відновлення характеризувалась змінами клітинного складу та була представлена головними, оксифільними та перехідною формою оксифільних клітин. Основну масу складали

оксифільні паратироцити перехідної форми. Спостерігали морфометричні зміни в паратироцитах: площа зростала в 1,7 рази ( $p < 0,001$ ) на 120 добу дослідження та в 1,6 рази ( $p < 0,001$ ) на 180 добу експерименту, ширина зросла в 1,6 рази ( $p < 0,001$ ) на 120 добу дослідження та в 1,5 рази ( $p < 0,001$ ) на 180 добу експерименту, довжина збільшувалась у 1,3 — 1,4 рази ( $p < 0,001$ ); площа цитоплазми зростала в 1,3 рази ( $p < 0,05$ ) — 1,4 рази ( $p < 0,001$ ); площа ядер клітин також мала тенденцію до збільшення в 2,3 — 2,2 рази ( $p < 0,001$ ), ширина зросла в 1,7 — 2,2 рази ( $p < 0,001$ ), довжина ядер зросла в 1,3 рази ( $p < 0,001$ ). Ядерно - цитоплазматичний індекс збільшився в 2 рази ( $p < 0,01$ ) на 120 добу експерименту та в 1,6 рази ( $p < 0,01$ ) на 180 добу дослідження, та показник був більше одиниці. Коливання лінійних показників вказувало на зменшення ознак набряку та дистрофічних змін, відповідно спостерігалися зменшення площі клітин та площі ядер паратироцитів.

4. Функціональна активність прищитоподібних залоз зазнавала змін упродовж всього терміну дослідження. Активність паратгормону у сироватці крові білих лабораторних щурів контрольної групи становила  $7,9 \pm 0,045$  пг/мл. Загальний кальцій  $\text{Ca}^{2+}$  становив  $3,0 \pm 0,03$  ммоль/л та магній  $\text{Mg}^{2+}$  —  $1,18 \pm 0,01$  ммоль/л. У період інтоксикації (на 30 добу та на 90 добу дослідження) комбінацією солей важких металів спостерігали пригнічення секреції паратгормону, зменшення майже на 19 % ( $p < 0,001$ ), та відмічали зменшення рівня модуляторів його секреції: загальний кальцій  $\text{Ca}^{2+}$  від 8 % до 6 % ( $p < 0,001$ ), магній  $\text{Mg}^{2+}$  від 11 % до 8,5 % ( $p < 0,05$ ). У період відновлення (на 120 добу та 180 добу експерименту) після припинення вживання солей важких металів спостерігали пригнічення секреції паратгормону, так його рівень зменшився в 1,2 рази ( $p < 0,001$ ). Рівень показників модуляторів секреції гормону прищитоподібних залоз також знижувався: загальний кальцій  $\text{Ca}^{2+}$  від 4 % до 2 % ( $p < 0,001$ ), магній  $\text{Mg}^{2+}$  у 1,2 — 1,1 рази ( $p < 0,05$ ). Chromogranin A косекретується разом з паратгормоном. У тварин контрольної групи інтенсивність

забарвлення цитоплазми клітин була висока (+++) та реакція спостерігалась майже у 95 % клітин. У період інтоксикації солями важких металів та у період відновлення імуноферментне дослідження експресії до білка Chromogranin A демонструвало коливання інтенсивності забарвлення від слабо-помірного (+) до помірного (++) , а подекуди вираженого (+++); реакція спостерігалась майже у 95 % клітин. Це вказувало на те, що паренхіма прищитоподібних залоз була представлена паратироцитами, які мали різну секреторну активність.

5. Упродовж всього терміну дослідження, спостерігали коливання маркерів кальцієвого гомеостазу та модуляторів секреції паратгормону. Фізіологічний ефект кальцію реалізувався за рахунок іонізованої форми і становив  $1,56 \pm 0,02$  ммоль/л, та складав 52 % від рівня загального кальцію  $\text{Ca}^{2+}$ . Активність лужної фосфатази становила  $295,2 \pm 31,46$  МО/л та рівень активності кальцитоніну був  $186,2 \pm 7,06$  пг/мл. У період інтоксикації солями важких металів (на 30 добу та 90 добу дослідження) кальцій іонізований  $\text{Ca}^{2+}$  демонстрував незначне коливання показників, але у відсотковому співвідношенні рівень позаклітинного кальцію  $\text{Ca}^{2+}$  зростав від 4,7 % (на 30 добу) ( $p < 0,01$ ) до 3,3 % (на 90 добу) ( $p < 0,01$ ). Показники рівня активності лужної фосфатази у цей період демонстрували зростання в 2,3 — 2,4 рази ( $p < 0,01$ ). Рівень показника активності кальцитоніну на 30 добу експерименту знижувався в 1,7 рази ( $p < 0,01$ ), але на 90 добу дослідження спостерігали стрімке зростання в 6,6 рази ( $p < 0,01$ ), який демонстрував важкість морфофункціональних змін у ендокринних залозах і не тільки. У період відновлення (на 120 добу та 180 добу дослідження) після припинення вживання солей важких металів спостерігали зміни: відсоткове співвідношення рівня позаклітинного кальцію зростало від 1,5 % ( $p < 0,001$ ) до 3,3 % ( $p < 0,01$ ); показники лужної фосфатази зростали в 1,9 рази ( $p < 0,001$ ) (на 120 добу) та в 1,7 рази ( $p < 0,001$ ) (на 180 добу); показники кальцитоніну зростали в 4,3 рази ( $p < 0,001$ ) (на 120 добу) та в 2,8 рази ( $p < 0,001$ ) (на 180 добу). Коливання біохімічних та

імуноферментних показників, у сироватці крові щурів у період інтоксикації важкими металами та у період відновлення після припинення їх вживання, вказували на порушення гомеостазу кальцію в організмі, а саме, спостерігалось зростання позаклітинного кальцію, лужної фосфатази та кальцитоніну.

6. Проліферативна активність у клітинах прищитоподібних залоз контрольної групи лабораторних тварин була низькою, середній індекс становив  $2,8 \pm 0,47$  %. У період інтоксикації солями важких металів на 30 добу експерименту індекс експресії рецепторів до Кі - 67 зменшувався в 2,8 рази ( $p < 0,001$ ); а на 90 добу дослідження — зростав у 2,3 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з модульованим підгострим періодом, а у порівнянні з контрольною групою тварин навпаки зменшився в 1,3 рази. У період відновлення на 120 добу дослідження спостерігали зростання проліферативної активності паратироцитів у 1,4 рази ( $p < 0,001$ ). Реакція спостерігалась переважно в головних клітинах. На 180 добу періоду відновлення після припинення довготривалого впливу суміші важких металів було виявлено тенденцію наближення до показників контролю, але експресія до білка Кі - 67 була менше в 1,1 рази ( $p < 0,001$ ). Експресія білків теплового шоку Hsp 90 $\alpha$  у паратироцитах прищитоподібних залоз щурів контрольної групи була слабо - виражена. У період інтенсивного надходження солей важких металів та у період відновлення, експресія захисних білків знаходилася на достатньому рівні, не відбувалось їх зниження, а подекуди навіть спостерігалася тенденція до посиленого синтезу Hsp 90 $\alpha$  в клітинах, що вказувало на зростання захисних та відновлювальних процесів у прищитоподібних залозах.

7. Між отриманими результатами морфометричних, імуногістохімічних, біохімічних та імуноферментних досліджень відмічали різноспрямовану направленість (пряму або зворотню) кореляційної пропорційної залежності, враховуючи різні терміни спостереження, згідно до біологічного дизайну експерименту.



**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Eknoyan G. A history of the parathyroid glands. *American Journal of Kidney Diseases*.1995;5(26):801–7.  
DOI: 10.1016/0272-6386(95)90447-6
2. Kafezis ID, Diamantopoulos A, Christakis I, et al. The history of the parathyroid glands. *Hormones*.2011;1(10):80–4.  
DOI: 10.14310/horm.2002.1297
3. Carney JA. The glandulae parathyroideae of ivar sandström: contributions from two continents. *The American journal of surgical pathology*. 1996;20(9):1123–44.  
DOI: 10.1097/00000478-199609000-00010
4. Черенько СМ. Первичный гиперпаратиреоз: основы патогенеза, диагностики и хирургического лечения: монография. Киев: ТОВ «ВПК»Експресс-Полиграф; 2011.148с.
5. Irvin G. Parathormone and the disease.*The American Journal of Surgery*.2007;193(1):301–4. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2006.12.002
6. Волков ММ, Каюков ИГ, Смирнов АВ. Фосфорно–кальциевый обмен и его регуляция. *Нефрология*.2010;1(14):91–103.  
DOI: 10.24884/1561-6274-2010-14-1-91-103
7. Naveh–Many T, Silver J. Regulation of parathyroid hormone gene expression by hypocalcemia, hypercalcemia, and vitamin d in the rat. *Journal of clinical investigation*.1991;86(4):1313–9.  
DOI: 10.1172/jci114840
8. Silver J,Yalcindag C, Sela–Brown A, Kilav R. Naveh–Many T. Regulation of the parathyroid hormone gene by vitamin D, calcium and phosphate. *Kidney International*.1999;56(73):2–7.  
DOI : 10.1046/j.1523-1755.1999.07310.x
9. Parathyroid gland introduction. [Internet]  
url: <https://www.parathyroid.com/parathyroid.htm> (дата звернення: 15.05.2017).

10. Шешунов ИВ, Гильмиярова ФН, Гергель НИ. Зависимость заболеваемости населения от специфических промышленных выбросов. Гигиена и санитария.1999;3:5–9.
11. Arrangoiz R, Cordera F, Caba D. Parathyroid embryology, anatomy, and pathophysiology of primary hyperparathyroidism. *Int J Otorhinolaryngol Head Neck Surg.*2017;6(04):39–58.  
DOI:10.4236/ijohns.2017.6400.
12. Калинин АП. Щитовидная железа и первичный гиперпаратиреоз. *Вестник хирургии.*2003;5:67–9.
13. Нефьодова ОО, Задесенец ИП, Гальперин АИ. Влияние соединений кадмия и свинца на морфогенез внутренних органов в онтогенезе. *Вісник проблем біології і медицини.*2017;4(141):61–6.  
DOI: 10.29254/2077–4214–2017–4–3–141–61–66
14. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy Metals Toxicity and the Environment.*EXS.*2012;101:133–64.  
DOI: 10.1007/978–3–7643–8340–4\_6.
15. Чеснокова НП, Понукалина ЕВ, Бизенкова МН. Механизмы структурной и функциональной дезорганизации биосистем под влиянием свободных радикалов. *Фундаментальные исследования.*2007;4:11–22.
16. Владимиров ЮА. Свободные радикалы в биологических системах. *Соросовский общеобразовательный журнал.*2000;12(6):13–19.
17. Донцов ВИ, Крутько ВН, Мрикаев БМ, Уханов С. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении. *Труды ИСА РАН.*2006;19:50–69.
18. Мудрый ИВ, Короленко ТК. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм. *Врачебное дело.*2002;5(6):6–9.
19. Трахтенберг ІМ, Дмитруха НМ, Козлов КП, Апіхтіна ОЛ, Короленко ТК, Краснокутська ЛМ. Сучасні підходи щодо профілактики інтоксикацій важкими металами. *Таврический Медико–Биологический Вестник.*2012;1(57):253–7.

20. Berglund M, Åkesson A, Bjellerup P, Vahter M. Metal–bone.Toxicology Letters.2000;112–113:219–25.  
DOI: 10.1016/s0378-4274(99)00272-6
21. Авцын АП, Жаворонков АА, Риш МА, Строчкова ЛС. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. Москва. Медицина;1991.496 с.
22. Романюк АМ, Сікора ВВ, Линдіна ЮМ, Линдін МС. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму. Буковинський медичний вісник.2017;21(82),ч.1:145–50.  
DOI:10.24061/2413–0737/XXI.2.82.1.2017.32.
23. Avilova O, Erokhina V. Ultramicroscopic changes in the parathyroid glands and thymus after immunostimulation in rats .Balkan Medical Union.2019;54(2):227–234.  
DOI: 10.31688/ABMU.2019.54.2.02
24. Utsum M, Emura S, Isono H, et al. The effect of magnesium on the fine structure of the golden hamster parathyroid gland in vivo and in vitro. Okajimas Folia Anatomica Japonica.1999;2/3(74):81–91.  
DOI: 10.2535/ofaj1936.74.2-3\_81
25. Хижняк СВ, Прохорова АО, Грищенко ВА, Степанова ЛІ, Сорокіна ЛВ, Томчук ВА.Функціонування антиоксидантної системи шурів за дії кадмію. Укр. біохім. Журн.2010;4(82):105–11.
26. Выродов КС, Архипов ОИ, Бондаренко АГ. Трудности в диагностике и хирургическом лечении первичного гиперпаратиреоза. Кубанский научный медицинский вестник.2009;9(114):20–2.
27. Marks KH, Naveh–Manyt H, Kilav R, Silver J. Calcium, phosphate, vitamin d, and the parathyroid. Pediatr nephrol.1996;10:364–7.  
DOI: 10.1007/BF00866787
28. Ellegaard M, Jorgensen NR, Schwarz P. Parathyroid hormone and bone healing. Calcif Tissue.2010;87:1–13.

- DOI: 10.1007/s00223-010-9360-5
29. Noordin S, Glowacki J. Parathyroid hormone and its receptor gene polymorphisms: implications in osteoporosis and in fracture healing. *Rheumatology international*.2016;36(1):1–6.  
DOI: 10.1007/s00296-015-3319-9
30. Modarai B, Sawyer A, Ellis H. The glands of Owen. *J. R. Soc med* 2004;97(10):494–5. DOI: 10.1258/jrsm.97.10.494
31. Okabe M, Graham A. The origin of the parathyroid gland. *Proceedings of the national academy of sciences*.2004;51(101):17716–9.  
DOI: 10.1073/pnas.0406116101
32. Пикалюк ВС, Османов АЮ. Онто-, філогенез органів і систем.Сімферополь;2011.312 с.
33. Кащенко СА, Ерохина ВВ. Эволюция строения паращитовидных. *Український морфологічний альманах*.2012;3(10):173–6. [Internet]  
URL: [http://umorpha.inf.ua/UMorpha\\_2012/UMorpha\\_2012\\_3/O\\_Kash.pdf](http://umorpha.inf.ua/UMorpha_2012/UMorpha_2012_3/O_Kash.pdf) (дата звернення: 15.03.2018)
34. Zajac JD, Danks A. The development of the parathyroid gland: from fish to human Current opinion in nephrology and hypertension. 2008;4(17):353–6.  
DOI: 10.1097/MNH.0b013e328304651c
35. Mohebbati A, Shaha AR. Imaging techniques in parathyroid surgery for primary hyperparathyroidism. *Am J otolaryngol*.2012;33(4):457–68.  
DOI: 10.1016/j.amjoto.2011.10.010
36. O'rahilly R., Miller F. Development stages in human embryos: revised and new measurements. *Ccell tissues organs*.2010;192(2):73–84.  
DOI: 10.1159/000289817.
37. Sadler TW, Langman J.Langman's medical embryology. 10.XIII. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2006.371p.
38. Larsen WJ, et al. Human embryology. 3. XIX. New York: Churchill Livingstone;2001.548p.

39. Mansberger A. R., Jr, Wei J. P. Surgical embryology and anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Surg Clin North Am.*1993;73(4):727–46.  
DOI: 10.1016/s0039-6109(16)46082-2
40. Gray S. W., Skandalakis J. E., Akin J. T. Embryological considerations of thyroid surgery: developmental anatomy of the thyroid, parathyroids and the recurrent laryngeal nerve. *Am Surg.*1976;42(9):621–8.
41. Олійник ІЮ, Ахтемійчук ІЮТ, Філіпова ІЮ. Комплексне дослідження пренатального морфогенезу бронхіогенних залоз. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія.*2008;4(7):67–72.
42. Олійник ІЮ, Ахтемійчук ІЮТ, Яковець КІ. Передумови патології морфогенезу прищитоподібних залоз. *Буковинський медичний вісник.* 2009;1(13):100–2.
43. Graham A, Richardson J. Developmental and evolutionary origins of the pharyngeal apparatus. *EvoDevoJournal.*2012;1(3):24–32.  
DOI:10.1186/2041-9139-3-24
44. Анри ЖФ, Себаг Ф. Прикладная эмбриология парашитовидных желез. *Вестник хирургии им. И. И. Грекова.*2006;5(165):41–4.
45. Калинина АП. Методы визуализации околощитовидных желез и паратиреоидная хирургия: руководство для врачей; под редакцией. М.: Издательский дом Видар.2010:311с.
46. Черных АВ, Вечеркин ВА, Малеев ЮВ. Особенности топографической анатомии околощитовидных желез. *Детская хирургия.* 2014;3(18):41–4.
47. Золотко Ю. Л. Атлас топографической анатомии человека. Ч.І. Голова и шея. М. : Медицина.1964:214с.
48. Аюшеев АВ, Гольдберг ОА, Ильичева ЕА. Результаты исследования топографической анатомии щитовидной и околощитовидной желез. *Бюллетень Восточно–Сибирского научного центра СО РАМН.*2014;1(95):64–70. [Internet]

URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rezultaty-issledovaniya-topograficheskoy-anatomii-schitovidnoy-i-okoloschitovidnoy-zhelez-krysy/viewer> (дата звернення: 10.03.2018).

49. Черных АВ, Малеев ЮВ, Шевцов АН. Проблемы и перспективы изучения топографической анатомии околощитовидных желез. Журнал анатомии и гистопатологию.2013;1(2):15–24.
50. Ellis G. Anatomy of the thyroid and parathyroid glands.Surgery. 2007;25:467–8.  
DOI: 10.1016/j.mpsur.2007.09.011
51. Lorens Z, Aleksandrowicz R. Variations of topography of parathyroid glands. Clinical aspects. Folia Morphol.199;1-2(50):71–6.
52. Фатеев ИИ. Макромикроскопические взаимоотношения щитовидной и околощитовидных желез. Морфология. 2008;5(134):99.
53. Capezzone M, Morabito M, Bellitti P. Ectopic intrathyroidal nonfunctioning parathyroid cyst. Endocrine Practice.2007;1(13):56–8.  
DOI: 10.4158/EP.13.1.56
54. San Mauro M, Patronelli F, Covello D. Intraparenchymatous inferior parathyroid gland. International journal of anatomical variations.2009;2:134–5.
55. Tattera D, Wong LM, Vikse J, Sanna B, Pełkala P, Walocha J, Ciocchi R, Tomaszewski K, Henry BM. The prevalence and anatomy of parathyroid glands: a meta-analysis with implications for parathyroid surgery. Langenbek's Archives of Surgery.2019;404(1):63–70.  
DOI: 10.1007/s00423–019–01751–8.
56. Волков В. П. Функциональная морфология паращитовидных желез человека в возрастном аспекте. XXXII международная научно–практическая конференция Современная медицина: актуальные вопросы. Новосибирск, 2014,с.6–16. [internet]

URL:

[https://sibac.info/sites/default/files/archive/2014/2014.06.11\\_medicina\\_pravka.pdf](https://sibac.info/sites/default/files/archive/2014/2014.06.11_medicina_pravka.pdf) (дата звернення 10.04.2018).

57. Wang C. The anatomic basis of parathyroid surgery. *Ann Surg.* 1976;183:271–5. DOI: 10.1097/00000658-197603000-00010
58. Hojaij F, Vanderlei F, Plopper C. Parathyroid gland anatomical distribution and relation to anthropometric and demographic parameters: a cadaveric study. *Anatomical Science International.* 2011;86:204–12. DOI: 10.1007/s12565-011-0111-0
59. Akerström G, Malmaeus J, Bergström R. Surgical anatomy of human parathyroid glands. *Surgery.* 1984;95:14–21.
60. Bansal S, Kayalvizhi I, Priyanka, Jain R, Vipin Jain, Sarvottama Antil. An update on morphometry of human parathyroid gland. *IJPSR.* 2016;7(8):3453–7. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(8).3453-7
61. Слепцов ИВ, Черников РА, Бубнов АН. Фотодинамическая визуализация околощитовидных желез при операциях на щитовидной железе. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.* 2012;1(19):124–5. [Internet] URL: [https://www.1spbgmu.ru/images/home/universitet/izdatelstvo/uchenie\\_zapiski/1\\_12.pdf](https://www.1spbgmu.ru/images/home/universitet/izdatelstvo/uchenie_zapiski/1_12.pdf) (дата звернення: 10.04.2018).
62. Isono H, Shoumura S, Emura S. Ultrastructure of the parathyroid gland. *Histology Histopathology.* 1990;5:95–111.
63. Shoumura S, Emura S, Isono H. The parathyroid gland under normal and experimental conditions. *Kaibogaku Zasshi.* 1993;68(1):5–29.
64. Wernerson A, Svensson O, Reinholt FP. Quantitative and three-dimensional aspects of the rat parathyroid gland in normo-, hypo-, and hypercalcemia. *Microscopy Research and Technique.* 1995;32:129–47. DOI: 10.1002/jemt.1070320208

65. Ноздрачев АД, Поляков ЕЛ. Анатомия крысы (Лабораторные животные). Санкт–Петербург. Лань; 2001.464 с.
66. Росткова Е. Е. Особенности васкуляризации паращитовидных желез человека в пренатальном онтогенезе и раннем периоде детства. Фундаментальные исследования. 2004;4:40–4.
67. Halsted WS, Evans HMI. The Parathyroid Glandules. Their Blood Supply and their Preservation in Operation upon the Thyroid Gland . Ann Surg. 1907;46:489–506. [Internet]  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1414417/?page=1>  
(дата звернения: 10.05.2017).
68. Малюга ВЮ, Куприн АА. Клинико–анатомические особенности кровоснабжения околощитовидных желез: серия наблюдений на аутопсийном материале. Эндокринная хирургия. 2018;1(12):40–54. DOI: 10.14341/serg9637 (дата звернения: 08.10.2020)
69. Kochhar A, Patel AA, Gest TR. Parathyroid Gland Anatomy [updated 2013 Sep 17; cited 2018 Jun 25. [Internet]  
URL: <https://emedicine.medscape.com/article/1949105-overview#showall> (дата звернения: 10.05.2017).
70. Kolly A, Sarathi V, Bothra S. Hypocalcemia: What a surgeon should know. World Journal of Endocrine Surgery. 2017;9(2):72–7. DOI: 10.5005/jp-journals-10002-1215.
71. Kapre M. Preservation of the parathyroids in thyroid surgery. World Articles in Ear, Nose and Throat. 2009;2(1):1-5. [Internet]  
URL: <https://www.entworld.org/index.php/combined-index-all-issue/450-preservation-of-the-parathyroids-in-thyroid-surgery> (дата звернения: 10.05.2017).
72. Dogru O, Kama NA, Sakrak O. The effect of plasma calcium and phosphorus levels on the ligation of inferior thyroid artery. Turk J Surg. 1992;8(4):271–6.
73. Delattre JF, Flament JB, Palot JP, Pluot M. Variations in the parathyroid



- glands. Number, situation and arterial vascularization. Anatomical study and surgical application. *J Chir (Paris)*.1982;119(11):633–41.
74. Bonjer HJ, Bruining HA, Clark O, Duh Q, Kebebew E. The technique of parathyroidectomy. *Textbook of Endocrine Surgery*. Philadelphia: Saunders. 1997: 277–83.
  75. Nobori M, Saiki S, Tanaka N. Blood supply of the parathyroid gland from the superior thyroid artery. *Surgery*. 1994;115(4):417–23.
  76. Testini M, Gurrado A, Lissidini G, Nacchiero M. Hypoparathyroidism after total thyroidectomy. *Minerva Chir*. 2007;62(5):409–15.
  77. Liu Z, Farley A, Chen L, et al. Thymus-associated parathyroid hormone has two cellular origins with distinct endocrine and immunological functions. *PLoS Genet*.2010;6(12). DOI:10.1371/journal.pgen.1001251.
  78. Chen H, Senda T, Emura S, et al. An update on the structure of the parathyroid gland. *The Open Anatomy Journal*.2013;5:1–9.  
DOI: 10.2174/1877609401305010001
  79. Setoguti T, Inoue Y, Wild P. The biological significance of storage granules in rat parathyroid cells. *Microscopy Research and Technique*.1995;32:148–63. DOI: 10.1002/jemt.1070320209
  80. Nehal IA, Shafika El sayed, R. Beheiry Rasha, Suzan A.A. Morphological and histological studies on parathyroid gland of adult male goat (*Capra hircus*). *Ismail. Iov Vet Res*.2018;55(Suppl 20):40–231.  
DOI: 10.26873/SVR-650-2018
  81. Adler JT, Sippel RS, Chen H. New trends in parathyroid surgery. *Current Problems in Surgery*.2010;47:958–1017.  
DOI: 10.1067/j.cpsurg.2010.08.002
  82. Emura S, Shoumura S, Utsumi M. Ultrastructure of a water-clear cell in the golden hamster parathyroid gland. *Journal of Electron Microscopy*. 1990;39:172–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jmicro.a050799
  83. Brändli-Baiocco A, Balme E, Bruder M, Chandra S, Hellmann J, Hoenerhoff M J, Kambara T, et.al. Nonproliferative and Proliferative

- Lesions of the Rat and Mouse Endocrine System. *J Toxicol Pathol.* 2018;31(3 Suppl):1–95. DOI: 10.1293/tox.31.1S
84. Skandalakis JE. Neck–Parathyroid Glands. Paschalidis Medical Publications, Athens. Greece. 2004;1:3-116.
  85. Bilezikian J. The Para thyroids Basic and Clinical Concepts. Academic Press, San Diego; 2015.921p.
  86. Roth SI, Sadow PM, Johnson N B, Abu–Jawdeh GM, Mills S E. Parathyroid. *Histology for Pathologists.* 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2012.1328 p.(1209–1211).
  87. Павлов АВ, Запрягаев ВВ. Клеточное обновление в паренхиме и строме околотитовидных желез. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии.* 1989;1:78–82.
  88. Wild P, Setoguti T. Mammalian parathyroids: morphological and functional implications. *Microscopy Research and Technique.* 1995;32:120–8. DOI: 10.1002/jemt.1070320207
  89. Papanicolau–Sengos A, Brumund K, Lin G, et al. Cytologic findings of a clear cell parathyroid lesion. *Diagnostic Cytopathology.* 2011;8(41):725–8. DOI: 10.1002/dc.22806
  90. Sturniolo G, D’Alia C, Tonante A. The recurrent laryngeal nerve related to thyroid surgery. *Am J Surg.*1999;177(6):485–8.  
DOI: 10.1016/s0002-9610(99)00101-4
  91. Monebati A, Shaha AR. Anatomy of thyroid and parathyroid glands and neurovascular relations. *Clinical Anatomy.*2012;25:19–31.  
DOI: 10.1002/ca.21220
  92. Flament JB, Delattre JF, Pluot M. Arterial blood supply to the parathyroid glands: Implications for thyroid surgery. *Anatomia Clinica.*1982;3:279-87.  
DOI: 10.1007/BF01799024
  93. Mallya S.M, Gallagher JJ, Wild YK, et al. Abnormal parathyroid cell proliferation precedes biochemical abnormalities in a mouse model of

- primary hyperparathyroidism. *Molecular Endocrinology*. 2005;10(19):2603–9. DOI: 10.1210/me.2005-0116
94. Trier J. S. The fine structure of the parathyroid gland. *J.Biophys. Biochem*. 1958; *Cytol*. 4:13–22.
95. Wild P. Morphology of parathyroids in man and animals. Introduction. *Microscopy Research and Technique*. 1995;2(32):77–8.
96. Demiralay E, Altaca G, Demiran B. Morphological Evaluation of Parathyroid Adenomas and Immunohistochemical Analysis of PCNA and Ki-67 Proliferation Markers. *Turkish journal of pathology*. 2011;3(27):215–20.  
DOI: 10.5146/tjpath.2011.01078
97. Rottembourg J, Menegaux F. Are oxyphil cells responsible for the ineffectiveness of cinacalcet hydrochloride in haemodialysis patients? *Clin Kidney journal*. 2019;12(3):433–6.  
DOI: 10.1093/ckj/sfy062
98. Mescher A. L. Junqueira's Basic Histology. McGraw–Hill Education; 2016.572p.
99. Rosai J. Parathyroid Glands. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th ed. New York, NY: Mosby;2004.3080 p.(595–619).
100. Jamali M, Hayakawa D, Chen Y, et al. Acute effects of caffeine administration on the ultrastructure of the golden hamster parathyroid gland. *Okajimas Folia Anatomica Japonica*. 2000; 2/3(77):53–7.  
DOI: 10.2535/ofaj1936.77.2-3\_53
101. Banek T, Banek L, Pezerovic–Panijan R. Morphology of healthy human parathyroid glands in cytologic smears. *Nongynecologic cytopathology*. 2005;6(49):627–33.  
DOI: 10.1159/000326250
102. Nakagami K, Warshawsky H, Leblond CP. The elaboration of protein and carbohydrate by rat parathyroid cells as revealed by electron microscope radioautography. *J. Cell Biol*. 1971;51(3):596–610.

- DOI: 10.1083/jcb.51.3.596
103. Kanter M. The occurrence of the oxyphil cells in parathyroid glands: an ultrastructural study in cattle and horses. *Eastern Journal of Medicine*. 1996;1:51–4.
104. Дмитриева НП, Калинин АП, Одинокова ВА, и др. Ультраструктура клеток околощитовидных желез человека в норме и при гиперпаратиреозе. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. 1978;12:93–9.
105. Kendall CH, Potter L, Brown R, et al. In situ correlation of synthesis and storage of parathormone in parathyroid gland disease. *The Journal of Pathology*. 1993;169:61–9.  
DOI: 10.1002/path.1711690110
106. Ritter CS, Haughey BH, Miller B, et al. Differential Gene Expression by Oxyphil and Chief Cells of Human Parathyroid Glands . *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2012;97:1499–1505.  
DOI.10.1210/jc.2011–3366.
107. Yamaguchi S, Yachiku S, Morikawa M: Analysis of proliferative activity of the parathyroid glands using proliferating cell nuclear antigen in patients with hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol and Metab*. 1997;82:2681–8. DOI: 10.1210/jcem.82.8.4117
108. Shannon WA, Roth SI. An ultrastructural study of acid phosphatase activity in normal, adenomatous and hyperplastic (chief cell type) human parathyroid glands. *Am J Pathol*. 1974;77:493–506.
109. Basile C, Lomonte C. The function of the parathyroid oxyphil cells in uremia: still a mystery? *Kidney international*. 2017;92(5):1046–8.  
DOI:10.1016/j.kint.2017.06.024.
110. Erdheim J. Hyperparathyroidism: an early historical survey. *Ann. Roy. Coll. Surg. Engi*. 1972;51. [Internet] URL: <https://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC2388184&blobtype=pdf> (дата звернення: 15.05.2017).

111. Павлов А. В. Количественные подходы к морфологической оценке функциональной активности околощитовидных желез. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии.1989;3:92–5.
112. Mihai R, Fardon JR. Parathyroid disease and calcium metabolism. *Br J Anaesth.* 2000;85:37–43. DOI: 10.1093/bja/85.1.29
113. Brown E. M. The pathophysiology of primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res.* 2002;17(Suppl. 2):24–9. DOI: 10.1002/jbmr.5650061407
114. Nemeth EF, Steffey ME, Hammerland LG, Hung BCP, Bradford C. Van Wagenen, Eric G. DelMar, et al. Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor. *Pharmacology.* 1998; 95(7):4040–5. DOI: 10.1073/pnas.95.7.4040
115. Potts JT. Parathyroid hormone: past and present. *Journal of Endocrinology.* 2005;187:311–25. DOI: 10.1677/joe.1.06057
116. Джура ОР, Заграй БД, Заграй АБ. Оцінка результатів досліджень з визначення паратгормону проведених упродовж 2005–2009 рр. Львівський медичний часопис.2011;1(17):13–6.
117. Potts JT, Bringham FR, Gardella T. Parathyroid hormone: physiology, chemistry, biosynthesis, secretion, metabolism and mode of action. *De Groot Textbook of Endocrinology.* 1995:920–66.
118. Хопта НС, Ерстенюк АМ. Метаболічні зміни в кістковій тканині тварин за умов експериментального кадміозу. *Scientific Journal «ScienceRise: Biological Science».* 2018;5(14):31–5. [Internet] DOI: 10.15587/2519-8025.2018.147090 (дата звернення: 03.09.2019)
119. Jingbo Xie, Guo J, Kanwal Z, Wu M, Xiangyang Lv, Nihal Abdalla, Ibrahim, Ping Li, Manal Ali Buabeid, El-Shaimaa A. Arafa, Qingshan Sun. Calcitonin and Bone Physiology: In Vitro, In Vivo, and Clinical Investigations. *International Journal of Endocrinology.* 2020; 2020:3236828. DOI: 10.1155/2020/3236828.

120. Giannetta E, Guarnotta V, Altieri B, Sciammarella C, Guadagno E, Malandrio P, G. Puliani, Feola T, Isidori AM, Colao AA L, Faggiano A. Endocrine tumors: calcitonin in thyroid and extra-thyroid neuroendocrine neoplasms: the two-faced. *European Society of Endocrinology*. 2020;183(6):R197-R215.  
DOI: 10.1530/EJE-20-0506.
121. Лукашов СН, Безбородько СА, Кувик ИП. Кальцитонин–гормон и лекарственное средство. *Український терапевтичний журнал*. 2009;2:22-5.
122. Lowe D, Sanvictores T, John S. Alkaline Phosphatase. National Center for Biotechnology Information. 2020. [Internet]  
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459201/> (дата звернення 20.12.2020).
123. Островська С.С. Вплив важких металів на вміст кальцію та лужної фосфатази в крові щурів. *Вісник проблеми біології і медицини*. 2014;4(114):169–71.
124. Castells L, Cassanello P, Muñiz F, de Castro MJ, Couce ML. Neonatal lethal hypophosphatasia: A case report and review of literature. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(48):e13269.  
DOI: 10.1097/MD.00000000000013269.
125. Nishida H, Ishibashi M, Hiromatsu Y, Kaida H, et al. Comparison of histological findings and parathyroid scintigraphy in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroid glands. *Endocr J*. 2005;52:223–8.  
DOI: 10.1507/endocrj.52.223
126. Futar-Preradovi L, Sarcevic B. Morphometry in Differential Diagnosis of Pathologically Altered Parathyroid Glands: Adenoma and Hyperplasia. *Davorin Danic*. 2012;36(2):47–51. [Internet]  
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23397754/> (дата звернення: 15.05.2017).

127. Erickson LA, Mete O. Immunohistochemistry in Diagnostic Parathyroid Pathology. *Endocr Patol.* 2018;29(2):113–29.  
DOI: 10.1007/s12022–018–9527–6.
128. Зельський П, Клименко МО. Екологія людини. Підручник. Рівне: НУВГП; 2013.385с.
129. Foulkes E. C. Transport of Toxic Heavy Metals Across Cell Membranes. *P.S.E.V.M.* 2000;223:234–40.
130. Погорелов МВ, Бумейстер ВІ, Ткач ГФ, Бончев СД, Сікора ВЗ, Суходуб ЛФ, ін. Макро– та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія. Суми : Вид–во СумДУ. 2010:147 с.
131. Филов В. А. Вредные химические вещества. Неорганические соединения I– VI групп: Справ. Изд. Под ред. А. В. Филова и др.Л.: “Химия”.1988:512с.
132. Єгорова ТМ. Фоновий вміст важких металів та його екологічна інформативність у ґрунтах ландшафтів зони українського Полісся. *Агрохімія і ґрунтознавство.* 2014;81:65–72.
133. Майстренко ВН, Хамитов РЗ, Будников ГК. Экологический мониторинг суперэкоотоксикантов.М.: Химия.1996:320с.
134. Важкі метали. [Internet]  
URL: <http://www.npblog.com.ua/index.php/ekologiya/vazhki-metali.html>. (дата звернення: 03.10.2019).
135. Марченко АМ, Пшинко ГН, Демченко ВЯ, Гончарук ВВ. Выщелачивание тяжелых металлов из осадков сточных вод бактериями, окисляющими двухвалентное желез. *Химия и технология воды.* 2016;1(38):88–96. [Internet]  
URL: <http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/160763> (дата звернення: 03.09.2019).
136. Bradl H. Heavy Metals in the Enviroment:Origin, Interaction and Remediation. London: Academic Press. 2002;6:282p.

137. Пузік ВК, Бузіна ІМ. Вплив техногенезу та сучасного виробництва на агроекологічний стан територій. Вісник ХНАУ. 2012;3:199–203.
138. He ZL, Yang X, Stoffella PJ. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J Trace Elem Med Biol.* 2005;19(2–3):125–40. DOI: 10.1016/j.jtemb.2005.02.010
139. Nriagu JO. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature.* 1989;338:47–9. DOI: 10.1038/338047a0
140. Seraj F. Heavy Metals, Metalloids, Their Toxic effect and living systems. *American Journal of Plant Sciences.* 2018;9: 2626–2643. DOI: 10.4236/ajps.2018.913191. DOI: 10.4236/ajps.2018.913191
141. Tingting Wu, Xiangyang Bi, Zhonggen Li, Guangyi Sun, Xinbin Feng, Lihai, Zhang Shang, et al. Contaminations, Sources, and Health Risks of Trace Metal(loid)s in Street Dust of a Small City Impacted by Artisanal Zn Smelting Activities. *J Environ Res Public Health.* 2017;14(9):916. DOI: 10.3390/ijerph14090961.
142. Квасніков ЄІ, Ключникова ТМ, Касаткіна ТП. Біологія бактерій , яких використовують при очистці промислових стічних вод від важких металів. *Мікробіологічний журнал.* 1993;6(55):23–30.
143. Khellaf N, Zerdaoui M. Growth response of the duckweed *Lemna gibba* L. to copper and nickel phytoaccumulation. *Ecotoxicology.* 2010;8(19):1363– 8. DOI: 10.1007/s10646-010-0522-z
144. Гуменюк ГБ, Страшнюк ДВ, Дробик НМ. Вміст важких металів і характеристика гідрохімічних показників у воді річки Серет поблизу Малашівського сміттєзвалища (Тернопільська область). *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун–ту. Сер. Біол.* 2015;1(62):84–8.
145. Sytnik Yu, Pilipenko Yu, Shevchenko P, Plugatarev V, Kolesnyk N, Simon M, et al. Heavy metals in organs and tissues of sterlet (*Acipenser Ruthenus* L.) in the Dnieper–Bug Estuary. *Рибогосподарська наука України.* 2016;3:5–21.



DOI: 10.15407/fsu2016.03.005

146. Mataba GR, Verhaert V, Blust R, Bervoets L. Distribution of trace elements in the aquatic ecosystem of the Thigithe river and the fish *Labeo victorinus* in Tanzania and possible risks for human consumption. *Sci Total Environ.* 2016;547:48–59.  
DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.12.123.
147. Яковишина ТФ. Порівняльний аналіз підходів до екологічної оцінки поліелементного забруднення ґрунтів урбоєкосистеми важкими металами. *Вісник Придніпровської державної академії будівництва та архітектури.* 2016;6:25–31.
148. Білявський ГО, Бутченко ЛІ, Навроцький ВМ. *Основи екології: теорія та практикум. Навчальний посібник.* К.: Лібра. 2002:352 с.
149. Бакач Т. *Охрана окружающей среды: Пер. с венг.* М.: медицина.1990:216с.
150. Сучасна екологія та В. І. Вернадський : публікація. [Internet]  
URL: <https://osvita.ua/vnz/reports/ecology/21352/>. (дата звернення: 10.05.2017).
151. Куценко СА. *Основы токсикологии.* Санкт–Петербург; 2002. 396с.(119)
152. Berglund M, Akesson A, Bjellerup P, Vahter M. Metal-bone interactions. *Toxicol Lett.* 2000;112-113:219-25.  
DOI: 10.1016/s0378-4274(99)00272-6
153. Митрохин ОВ. Оценка транслокального загрязнения как составная часть социальногигиенического мониторинга. *Здоровье населения и среда обитания.*2001;9:11–4.
154. Ревич Б. А. Проблемы прогнозирования, «горячие точки» химического загрязнения окружающей среды и здоровье населения России. Под ред. В. М. Захарова. Москва: Акрополь, Общественная палата РФ; 2007.192с.
155. Zhitkovich A. Chromium in drinking water: sources, metabolism, and cancer risks. *Chem. res. toxicol.* 2011;10(24):1617–29.

DOI: 10.1021/tx200251t

156. Трахтенберг ІМ, Левицький ЄЛ. Генотоксична дія потенційно небезпечних хімічних сполук. Вісник Національної академії наук України. 2016;7:27–42.
157. Ziola–Frankowska A, Kubaszewski L, Dabrowski M, Kowalski A, Rogala P, Strzyzewski W, et al. The Content of the 14 Metals in Cancellous and Cortical Bone of the Hip Joint Affected by Osteoarthritis. *Biomed Res Int.*2015;815648.  
DOI:10.1155/2015/ 815648.
158. Tang M, Xu C, Lin N, Yin S, Zhang Y, Yu X, et al. Toxic effects of trace elements on newborns and their birth outcomes. *Sci Total Environ.*2016;550:73–9.  
DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.071.
159. Колосова ІІІ. Влияние ацетата свинца, солей тяжелых металлов на репродуктивную функцию. Вісник проблем біології і медицини.2013;2(103):13–8.
160. Roy–Engel A. M. Heavy metal and junk DNA. *Mob Genet Elements.* 2016;6(5):E1234428.  
DOI 10.1080/2159256X.2016.1234428.
161. Kim HS, Kim YJ, Seo YR. An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular Toxicity Mechanism and Prevention. *J Cancer Prev.* 2015;20(4):232–40.  
DOI: 10.15430/JCP.2015.20.4.232.
162. Valko M, Morris H, Cronin TD. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry.* 2005;12:1161–1208.
163. Трахтенберг ІМ, Шафран ЛМ. Тиоловые яды. Общая токсикология. Под ред. Курдьянского БА, Филова ВА. М.: Медицина; 200.с.111–75.
164. Коляда МН, Осипова ВП, Пипия НТ, Лагутина ЕМ, Берберова НТ, Пименов ЮТ, Милаев ЕР. Влияние соединений ртути и олова на

- активность каталазы гомолитаза эритроцитов крови человека *in vitro*. ВЕСТНИК АГТУ. 2005;6(29):60–5. [Internet]  
 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-soedineniy-rtuti-i-olova-na-aktivnost-katalazy-gemolizata-eritrotsitov-krovi-cheloveka-in-vitro>  
 (дата звернення: 05.09.2019).
165. Levine RL, Stadtman ER. Oxidative modification of proteins during aging. *Exp. Gerontol.* 2001;9(36):1495–1502.  
 DOI: 10.1016/s0531-5565(01)00135-8
166. Резніков ОГ, Полумбрик ОМ, Бальон ЯГ, Полумбрик МО. Про– та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини. *Вісн. НАН України.* 2014;10:17–29.
167. Khodr B, Khalil Z. Modulation of inflammation by reactive oxygen species: implications for aging and tissue repair. *Free Radical Biology and Medicine.* 2001;30(1):1–8.  
 DOI: 10.1016/s0891-5849(00)00378-6
168. Ghosh C, Sarkar A, Anuja K, Das MC, Chakraborty A, Jawed JJ, et al. Free radical stress induces DNA damage response in RAW264.7 macrophages during *Mycobacterium smegmatis* infection. *Arch Microbiology.* 2019;201(4):487–98.  
 DOI: 10.1007/s00203–018–1587–y. Epub 2018 Nov 1.
169. Цветаева НВ, Левина АА, Мамукова ЮИ. Основы регуляции обмена железа. *Клиническая онкогематология.* 2010;3(3):278–83. [Internet]  
 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osnovy-regulyatsii-obmena-zheleza> (дата обращения: 05.07.2020).
170. Kontoghiorghes CN, Kontoghiorghes GJ. New developments and controversies in iron metabolism and iron chelation therapy. *World J Methodol.* 2016;26;6(1):1–19. DOI: 10.5662/wjm.v6.i1.1
171. Guo S I, Frazer DM, Anderson GJ. Iron homeostasis: transport, metabolism, and regulation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2016;19(4):276–81.

- DOI: 10.1097/MCO.000000000000285.
172. Ladomersky E, Petris M. Copper tolerance and virulence in bacteria. *Metallomics*. 2015;7(6):957–64. DOI: 10.1039/c4mt00327f.
173. Styczen K, Sowa-Kucma M, Siwek M, Dudek D, et al. The serum zinc concentration as a potential biological marker in patients with major depressive disorder. *Metab Brain Dis*. 2017;32(1):97–103. DOI: 10.1007/s11011-016-9888-9
174. МИКИТИН ЛЄ, ЯЦЕНКО ІВ, БІНКЕВИЧ ВЯ. Купрум – важливий компонент фізіологічних процесів в організмі овець. Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина. 2015;7(37):40-3.
175. Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal. *Free Radical Biology and Medicine*. 1995;2(18):321–36. DOI: 10.1016/0891-5849(94)00159-h
176. Oze C, Bird DK, Fendorf S. Genesis of hexavalent chromium from natural sources in soil and groundwater. *Proc. natl. acad. sci. U.S.A.* 2007;104:6544–9. DOI: 10.1073/pnas.0701085104
177. Zhitkovich A. Chromium in drinking water: sources, metabolism, and cancer risks. *Chem Res Toxicol*. 2011;24(10):1617-29. DOI: 10.1021/tx200251t.
178. Сологуб ЛІ, Антоняк ГЛ, Бабич НО. Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти. Львів: Євросвіт; 200. 127с.
179. Xu J, Zhao M, Pei L, Zhang R, Liu X, Wei L, et al. Oxidative stress and DNA damage in a long-term hexavalent chromium-exposed population in North China: a cross-sectional study. *BMJ*. 2018;8(6):e021470. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-021470.
180. Patlolla AK, Armstrong N, Tchounwou PB. Cytogenetic evaluation of potassium dichromate toxicity in bone marrow cells of Sprague–Dawley

- rats. *Metal Ions Biol Med.* 2008;10:353–8.
181. Velma V, Tchounwou PB. Chromium–induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *carassius auratus*. *Mutat Res.* 2010;698(1–2):43–51.  
DOI: 10.1016/j.mrgentox.2010.03.014
182. Patlolla A, Barnes C, Field J, Hackett D, Tchounwou PB. Potassium dichromate–induced cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in human liver carcinoma (HepG2) cells. *Int J Environ Res Public Health.* 2009;6:643–53.  
DOI: 10.3390/ijerph6020643
183. Parmalee NL, Aschner M. Manganese and aging. *Neurotoxicology.* 2016;56:262–8. DOI: 10.1016/j.neuro.2016.06.006.
184. Aschner JL, Aschner M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Mol Aspects Med.* 2005;26:353–62
185. Lee Y, Lyu ES, Oh SY., Park HR, Ro HK, Heo YR, et al. Daily Copper and Manganese Intakes and Their Relation to Blood Pressure in Normotensive Adults. *Clin Nutr Res.* 2015;4(4):259–66.  
DOI: 10.7762/cnr.2015.4.4.259.
186. Wang M, Wang B, Jiang K, Liu M, Shi X, Wang L. A mitochondrial manganese superoxide dismutase involved in innate immunity is essential for the survival of *Chlamys farreri*. *Fish Shellfish Immunol.* 2018;72:282–90. DOI: 10.1016/j.mam.2005.07.003
187. Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N. The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. *Physiol Rev.* 2015;95(3):749–84.  
DOI: 10.1152/physrev.00035.2014.
188. Adjepong D, Jahangir S, Malik BH. The Effect of Zinc on Post–neurosurgical Wound Healing: A Review *Cureus* –2020;12(1):e6770.  
DOI: 10.7759/cureus.6770.

189. Kogan S, Sood A, Garnick MS. Zinc and wound healing: a review of zinc physiology and clinical applications. *Wounds*. 2017;29(4):102–6.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28448263/>
190. Cruz K Y, Oliveira AR, Marreiro DN. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2015;6(2):333-7  
DOI: 10.4239/wjd.v6.i2.333.
191. Jarosz M, Olbert M, Wyszogrodzka G. Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- $\kappa$ B signaling. *Inflammopharmacology*. 2017;25(1):11–24.  
DOI:10.1007/s10787-017-0309-4.
192. Besecker BY, Exline MC, Hollyfied J, Phillips G, Disilvestro RA, Wewers Md, Knoell D L, et.al. A comparison of zinc metabolism, inflammation, and disease severity in critically ill infected and noninfected adults early after intensive care unit admission. *Am.J.Clin. Nutr.* 2011;93(6):1356-6.  
DOI: 10.3945/ajcn.110.008417.
193. Livingstone C. Zinc: physiology, deficiency, and parenteral nutrition. *Nutr Clin Pract*. 2015;30(3):371-82.  
DOI: 10.1177/0884533615570376.
194. Ananda S. P. Zinc in human helth : effect of Zinc on immune cell. *MOL MED*. – 2008;14(5–6):353–7.  
DOI: 10.2119/2008-00033
195. Franklin RB, Leslie CC. The Important Role of the Apoptotic Effects of Zinc Development of Cancers. *J. Cell Biochem*. 2009;106(5):750–7.  
DOI: 10.1002/jcb.22049
196. Bafaro E, Liu Y, Xu Y, Dempski RE. The emerging role of zinc transporters in cellular homeostasis and cancer. *Signal Transduct Target Ther*. 2017. Published: 28 July 2017. [Internet]  
URL: <https://www.nature.com/articles/sigtrans201729>. (дата звернення 15.10.2018)

197. Assi MA, Hezmee MN, Haron AW, Sabri MY, Rajion MA. The detrimental effects of lead on human and animal health. *Vet World*. 2016;9(6):660-71.  
DOI:10.14202/vetworld.2016.660–671.
198. Abd El–Hack ME, Abdelnour SA, Abd El–Moneim AE, Arif M, Khafaga A, Shaheen H, et al. Putative impacts of phyto-genic additives to ameliorate lead toxicity in animal feed. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019;26(23):23209–18. Epub 2019 Jun 26.  
DOI: 10.1007/s11356-019-05805-8
199. Sanders T, Liu YM, Tchounwou PB. Cytotoxic, genotoxic, and neurotoxic effects of Mg, Pb, and Fe on pheochromocytoma (PC–12) cells. *Environ Toxicol*. 2015;30(12):1445–58.  
DOI: 10.1002/tox.22014
200. Karri V, Kumar V, Ramos D, Oliveira E, Schuhmacher M. Comparative in vitro toxicity evaluation of heavy metals (lead, cadmium, arsenic, and methylmercury) on ht–22 hippocampal cell line. *Biol Trace Elem Res*. 2018;184(1):226–39.  
DOI: 10.1007/s12011–017–1177–x. Epub 2017 Oct 9.
201. Flora G, Gupta D, Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip. Toxicol*. 2012;5(2):47–58.  
DOI: 10.2478/v10102–012–0009–2.
202. Hsu PC, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology*. 2002;180(1):33–44.  
DOI: 10.1016/s0300-483x(02)00380-3
203. Ayinde OC, Ogunnowo S, Ogedegbe RA. Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2012;13:17.  
DOI: 10.1186/2050-6511-13-17
204. Karri V, Schuhmacher M, Kumar V. Heavy metals (Pb, Cd, As and MeHg)

- as risk factors for cognitive dysfunction: A general review of metal mixture mechanism in brain. *Toxicol Pharmacol.* 2016;48:203–13.  
DOI: 10.1016/j.etap.2016.09.016
205. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg;1986№123.52 р. [Internet] URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>
206. Резніков ОГ. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. *Ендокринологія.* 2003;1(8):142–5.
207. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах. Офіційний вісник України. Офіц. вид. 2012;24:82с. Нормативний документ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України. Наказ від 01.03.2012 № 249. [Internet] URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text> (дата звернення: 30.03.2021).
208. Закон України № 3447–IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». *Відомості Верховної Ради України.* Офіц. вид. 2006;27:990с. ст. 230. Бібліотека офіційних видань. [Internet] URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (дата звернення: 05.09.2019).
209. Програма моніторингу довкілля Сумської області на 2011 – 2015 роки. [Internet] URL: [https://env.teset.sumdu.edu.ua/doc/Progr\\_Sumy2011.pdf](https://env.teset.sumdu.edu.ua/doc/Progr_Sumy2011.pdf) (дата звернення: 15.05.2017).
210. Доповідь про стан навколишнього середовища у Сумській області у 2009 році. Суми: ПКП “Еллада S”; 2010.84 с. [Internet] URL : <http://www.pek.sm.gov.ua/images/docs/DOP/sumy2019.pdf> (дата звернення: 20.03.2020).



211. Багрій ММ, Діброва ВА, Попадинець ОГ, Грищук МІ. Методики морфологічних досліджень: монографія. Вінниця: Нова книга; 2016. 328 с.
212. Xie Y, Chen L, Ma X, Li H, Gu L, Gao Y. Prognostic and clinicopathological role of high Ki-67 expression in patients with renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2017;7:44281.  
DOI: 10.1038/srep44281.
213. Lutsik SO, Yashchenko AM. Immunohistochemical study of the adrenal glands of the offspring of rats that developed under the conditions of experimental hypo- and hyperthyroidism of the maternal organism. *World of Medicine and Biology*. 2018;4(66):175–80.  
DOI: 10.26724/2079-8334-2018-4-66-175-180
214. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the Hematopoietic System and Blood Under the Influence of Heavy Metal Salts Can Be Reduced with Vitamin E. *Turk Patology Derg*. 2018;34(1):73–81.  
DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
215. Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. *Проблеми ендокринної патології*. 2020;4 (74):106–14.  
DOI: 10.21856/j-PEP.2020.4.14
216. Романюк АМ, Тимакова ОО, Линдіна ЮМ, Гринцова НБ, Кравцова ІА, Куст ВВ. Морфофункціональні зміни у прищитоподібних залозах при тривалій дії солей важких металів. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2019;1(23):80–3.
217. Тимакова ОО, Романюк АМ. Морфологічні особливості прищитоподібної залози щурів за умов модельованого підгострого

впливу солей важких металів. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;6(8):38–40.

DOI: 10.26693/jmbs02.06.038

218. Тимакова ОО. Морфо-функціональні особливості прищитоподібної залози у щурів в умовах впливу солей важких металів. В: М.В. Погорелов, редактор. Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини: збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених; 2017 20-21 квітня, Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 206-7
219. Тимакова ОО. Морфо-функціональні особливості прищитоподібної залози у щурів в умовах впливу солей важких металів (хронічний стан). В: М.В. Погорелов, редактор. Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, присвяченої 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету: Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 16-17 листопада, Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 37-8.
220. Romaniuk A, Hryntsova N, Timakova O, Lyndina Y, Korobchanska A, Honcharova A, Sikora V. Modeling effect of heavy metals salts and glucocorticoids on the secretion of parathormone in the experiment. 30 th European Congress of Pathology Pathology: Path to Precision medicine; Spain 2018 8 – 12 September; Bilbao, 2018, p. 68
221. Тимакова ОО, Романюк АМ, Гринцова НБ, Линдіна ЮМ, Гончарова ГМ. Реадаптаційні зміни танини прищитоподібних залоз у щурів після впливу солей важких металів. Збірник матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю: Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі, присвячена 100-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука; 2018 13-15 вересня; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет, 2018, с. 119-20

222. Tymakova OO. Morphological features of the parathyroid glands in rats caused by simulated influence under prolonged heavy metal salts. Abstract book Intrenational Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists; 2018 17-19 October; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018, p. 26
223. Tymakova O, Hryntsova N, Romaniuk O, KuzenkoY, Korobchanska A, Kravtsova I, Romaniu A. Morphological features of the parathyroid glands in rats under heavy metal salts influence. 31 th European Congress of Pathology; France 2019 7-11 September; Nice, 2019, p. 319
224. Тимакова ОО. Морфометричні особливості прищитоподібних залоз у щурів за умов впливу комбінації солей важких металів. Наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України: збірник тез доповідей VII конгрес наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України; 2019 2-4 жовтня; Одеса. Одеса: Одеський національний медичний університет; 2019, с. 316-7
225. Воробьев АА. Клиническая анатомия и оперативная хирургия головы и шеи. Спб.: Элби–Спб; 2008.256с .
226. Wang Q., Palnitkar S., A M Parfitt. Parathyroid cell proliferation in the rat: effect of age and of phosphate administration and recovery.1996;137(11):4558–62.  
DOI:10.1210/endo.137.11.8895317.
227. Кащенко СА, Ерохина ВВ. Ультрамикроскопические изменения паращитовидных желез крыс после коррекции циклофосфаниндуцированной иммуносупрессии имунофаном. Український морфологічний альманах.2014;1(12):61-4. [Internet]  
URL:  
[http://umorpha1.inf.ua/UMorphA\\_2014/UMorphA\\_2014\\_1/ru/17.pdf](http://umorpha1.inf.ua/UMorphA_2014/UMorphA_2014_1/ru/17.pdf)  
(дата обращения: 18.04.20).

228. Arrangoiz R, Cordera F, Muñoz M, Caba D. Parathyroid Embryology, Anatomy, and Pathophysiology of Primary Hyperparathyroidism. *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery* 06(04):39-58.  
DOI: 10.4236/ijohns.2017.64007
229. Cann CE, Prussin SG, Gordan GS. Aluminum Uptake by the Parathyroid Glands. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1979; 49(4):543-5.  
DOI: 10.1210/jcem-49-4-543
230. Khadiga S. Ibrahim, Beshir S, Eman M. Shahy, Weam Shaheen. Effect of Occupational Cadmium Exposure on Parathyroid Gland. *Open Access Maced JMed Sci*.2016;4(2):302–6.  
DOI: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.042>
231. Bourdeau AM, Plachot J-J, Cournot-Witmer G, Pointillart A, Balsan S, Sachs C. Parathyroid response to aluminum in vitro: Ultrastructural changes and PTH release . *Kidney International*.1987;31:15–24.
232. Guilmette J, Sadow PM. Parathyroid Pathology. *Surg Pathol Clin*. 2019;12(4):1007–19.
233. Li X, Lin T, Dixon J, Zhang G, Ye H. Urbanization and health in China, thinking at the national, local and individual levels. *Environmental health: a global access science source*. *Environ Health*. 2016;15(Suppl 1):32.  
DOI: 10.1186/s12940-016-0104-5.
234. Hongsheng C, Liu Ye, Zhu Zhenjun, Zhigang L, et al. Does where you live matter to your health? Investigating factors that influence the self-rated health of urban and rural Chinese residents: evidence drawn from Chinese General Social Survey data. *Health and Quality of Life Outcomes*.2017;11(1):78.  
DOI 10.1186/s12955-017-0658-0.
235. Прокопьев МН. Региональные экология и структура заболеваемости как основа для разработки профилактических оздоровительных

- программ. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2012;2:91–2.
236. Фоміна К. О. Екологічна загроза населенню Донбасу. *Перспективи медицини та біології*. 2012;1(2):76-9.
237. Pinchoff J, Mills CW, Balk D. Urbanization and health: The effects of the built environment on chronic disease risk factors among women in Tanzania. *Plos one*. – 2020.[Internet]  
URL:  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0241810>  
(дата звернення: 10.05.2017).
238. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гусак ЄВ, Сумцова НГ. Визначення важких металів у кістковому мозку щурів в умовах модельованого мікроелементозу. *Вісник проблем і медицини*. 2018;1(142):171-7. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-1-1-142-171-177
239. Здольник ТД. Токсическое действие соединений металлов на функцию пищеварения при разных путях поступления. *Российский медико–биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2012;3:58–63. [Internet] URL:  
<https://cyberleninka.ru/article/n/toksicheskoe-deystvie-soedineniy-metallov-na-funktsiyu-pischevareniya-pri-raznyh-putyah-postupleniya/viewer> (дата обращения: 18.04.2020).
240. Wemerson A S, Widholm M, Svensson O, et al. Parathyroid cell number and size in hypocalcemic young rats. *Acta Pathologica, Microbiologica at Immunologica Scandinavica*. 1991;7/12(99):1096–1102.  
DOI: 10.1111/j.1699-0463.1991.tb01306.x
241. Shiizaki K, Negi S, Hatamura I, et al. Biochemical and cellular effect of direct maxacalcitol injection into parathyroid gland in uremic rat. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:97–108. DOI: 10.1681/ASN.2004030236
242. Almaden Y, Felsenheld AJ, Rodrigues M, et al. Proliferation in hyperplastic human and normal rat parathyroid glands: role of phosphate,

- calcitriol, and gender. *Kidney International*. 2003;6(64):2311–17.  
DOI: 10.1046/j.1523-1755.2003.00331.x
243. Fancy T. Surgical anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2010;43:221–7.  
DOI: 10.1016/j.otc.2010.01.001
244. Hummel B, Hansen E C, Yoveva A, Aprile–Garcia F, Hussong R, Sawarkar R. The evolutionary capacitor HSP90 buffers the regulatory effects of mammalian endogenous retroviruses. *Nat Struct Mol Biol*. 2017;24(3):234–42.  
DOI: 10.1038/nsmb.3368.
245. Zabinskya RA, Masonb GA, Queitschb C, Jarosz DF. It’s not magic – Hsp90 and its effects on genetic and epigenetic variation. *Semin Cell Dev Biol*. 2019;88:21-35. DOI: 10.1016/j.semcdb.2018.05.015.
246. Masona GA, Carlsonb KD, Pressc MO, Bubba KL, Queitscha C. HSP90 buffers newly induced mutations in massively mutated plant lines. 2018. June 27, 2018.  
DOI: 10.1101/355735.
247. Побігун Н Г. Дослідження змін показників кальцієвого метаболізму в щурів зі зниженою функцією щитоподібної залози під впливом фізичного навантаження. *Буковинський медичний вісник*. 2014;3(71):119–23.
248. Hryntsova NB, Romaniyk AM, Bumeister VI. Морфологічні перебудови кіркової речовини наднирників щурів за умов довготривалого впливу солей важких металів та негормональної корекції. *Morphologia*. 2019;3(3):26–31. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.26-31>
249. Москаленко РА. Хімічний гомеостаз щитоподібної залози під впливом молельованого мікроелементозу. *Морфологія*. 2009;3(3):79–83.
250. Бойко ВО. Кількісні аспекти структурних змін піднижньощелепної слинної залози за умов експериментального мікроелементозу

- організму у віковому аспекті. Актуальні питання медичної науки та практики. 2015;22(3):44–51.
251. Сікора ВВ. Оцінка морфометричного стану слизової оболонки сечового міхура та рівня екскреції мікроелементів з сечею за умов вживання суміші важких металів. Вісник морфології. 2017;23(2):2560–9.
252. Васько ЛВ, Кіптенко ЛІ, Гортинська ОМ, Болотна ІВ. Ультроструктура кісткових клітин в умовах опромінення та вживання солей важких металів. Світ медицини та біології. 2011;4:23–6. [Internet]  
 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ultrastruktura-kistkovih-klitin-v-umovah-oprominennya-ta-vzhivannya-soley-vazhkih-metaliv> (дата звернення: 05.09.2019).
253. Романюк АМ, Линдін МС, Карпенко ЛІ, Будко АЮ, Линдіна ЮМ, Логвінова ОВ. Вплив запальної інфільтрації на експресію рецепторів HSP90 $\alpha$  в тканині раку молочної залози. J. Clin. Exp. Med. Res. 2015;3(1):38–43.
254. Reika Tanaka, Shinobu Umemura, Takatoshi Kakuta, Tomotaka Fujisaki, Hideto Sakai, Akira Saitoh, R Yoshiyuki Osamura. Co-expression of parathyroid hormone and chromogranin A in secondary hyperparathyroidism: a functional marker for secretory activity of hyperplastic nodules. Pathol. Res Pract. 2003;199(2):93–9.  
 DOI: 10.1078/0344-0338-00360.
255. Huttner WB, Gerdes HH, Rosa P. The granin (chromogranin /secretogranin) family. Trends Biochem Sci. 1991;16:27–30.  
 DOI: 10.1016/0968-0004(91)90012-k
256. Boquist L. Occurrence of oxyphil cells in suppressed parathyroid glands. Cell Tissue Res. 1975;163:465–70. DOI: 10.1007/BF00218492
257. Barai SR, Suryawanshi SA, Pandey AK. Responses of parathyroid gland, c cells, and plasma calcium and inorganic phosphate levels in rat to sub-

- lethal heroin administration. *Journal of environmental biology. Academy of Environmental Biology, India.* 2009;30:917–22.
258. Proteomics J, Li S, Mao J, Wang M, Zhang, Ni L, et al. Comparative proteomic analysis of chief and oxyphil cell nodules in refractory uremic hyperparathyroidism by iTRAQ coupled LC–MS/MS. 2018;179:42–52. DOI: 10.1016/j.jprot.2018.02.029.
259. Allen TB, Thorburn KM. The oxyphil cell in abnormal parathyroid glands. A study of 114 cases. *Arch Pathol Lab Med.* 1981;105(8):421–7.
260. Rangoonwala SP, Suryawanshi SA, Pandey AK. Responses of serum calcium and inorganic phosphate levels as well as parathyroid gland and calcitonin producing c cells of *rattus norvegicus* to mipcin administration. *Journal of environmental biology. Academy of Environmental Biology, India.* 2007;28:475–81.
261. Гнатюк МС, Татарчук ЛВ, Слабий ОБ. Особливості ядерно–цитоплазматичних відношень у епітеліоцитах слизової оболонки дванадцятипалої кишки. *Науковий вісник Ужгородського університету.* 2014;1(49):3–5.
262. Юрковский АМ, Ачинович СЛ. Гистологические изменения подвздошно–поясничной связки:диагностическая значимость показателя ядерно–цитоплазматического отношения. *Проблемы здоровья и экологии.* 2013;3(37):39–43.
263. Гнатюк МС, Татарчук ЛВ, Пришляк АМ, Лавренюк ВС. Вікові особливості змін ядерно–цитоплазматичних відношень в кардіоміоцитах частин серця дослідних тварин. *Таврический медико–биологический вестник.* 2010;4 (52):29–32.
264. Автандилов Г Г. *Медицинская морфометрия.* М.: Медицина; 1990.380 с.
265. Горальський ЛП, Хомич ВТ, Кононський ОІ. *Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології.* Житомир : Полісся; 2011.288 с.



266. Королев ЮН, Панова ЛН, Гениатулина МС. Коррекция субклеточных пострадиационных изменений в гипоталамусе и паращитовидной железе при использовании низкоинтенсивного лазерного. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2000;3:3–4.
267. Ikwegbue PC, Masamba P, Oyinloye BE, Kappo AP. Roles of Heat Shock Proteins in Apoptosis, Oxidative Stress, Human Inflammatory Diseases, and Cancer. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2017;11(1). DOI: 10.3390/ph11010002.
268. Dimauro I, Mercatelli N, Caporossi D. Exercise-induced ROS in heat shock proteins response. *Free Radic Biol Med*. 2016;98:46–55. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.
269. Romaniuk A, Sikora V, Lyndin M, Smiyanov V, Sikora V, Lyndina Yu, Piddubnyi A, Gyryavenko N, Korobchanska A. The features of morphological changes in the urinary bladder under combined effect of heavy metal salts. *Interv Med Appl Sci*. 2017;9(2):105–11. DOI: 10.1556/1646.9.2017.2.09.
270. Kravets OV. Dynamics of morphological changes of the islet apparatus of the pancreas under the conditions of heavy metals influence. *Ukrainian morphological almanac*. 2009;1(7):36–7.
271. Moskalenko RA, Romanyuk AM, Budko GYu, et al. Differentiation of thyroid parenchyma under the influence of simulated microelementosis. *Ukrainian morphological almanac*. 2010;1(8):60–5.
272. Lin X, Gu Y, Zhou Q, Mao G, Zou B, Zhao J. Combined toxicity of heavy metal mixtures in liver cells. *J Appl Toxicol*. 2016;36(9):1163–72. DOI: 10.1002/jat.3283.

## ДОДАТКИ

### ДОДАТОК 1

#### НАУКОВІ ПРАЦІ, ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Тимакова ОО, Романюк АМ. Морфологічні особливості прищитоподібної залози щурів за умов модельованого підгострого впливу солей важких металів. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;6(8):38-40. DOI: 10.26693/jmbs02.06.038 (Дисертанткою проведено морфологічне дослідження прищитоподібних залоз, опрацьовані результати дослідження та сформовано висновки).

2. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the Hematopoietic System and Blood Under the Influence of Heavy Metal Salts Can Be Reduced with Vitamin E. *Turk Patology Derg.* 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412. (Здобувачем виконані біохімічні дослідження та інтерпретовані отримані результати).

3. Романюк АМ, Тимакова ОО, Линдіна ЮМ, Гринцова НБ, Кравцова ІА, Куст ВВ. Морфофункціональні зміни у прищитоподібних залозах при тривалій дії солей важких металів. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019;1(23):80-83. DOI:10.31393/reports-vnmedical-2019-23(1)-12. (Автором проведено біологічне експериментальне дослідження, написані результати та сформовані висновки).

4. Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. *Проблеми ендокринної патології.* 2020;4(74):106-114. DOI:10.21856/j-PEP.2020.4.14. (Здобувач провела гістологічне, імуногістохімічне, біохімічне, імуноферментне дослідження, проаналізувала отримані результати).

5. Тимакова ОО. Морфо-функціональні особливості прищитоподібної

залози у щурів в умовах впливу солей важких металів. В: М.В. Погорелов, редактор. Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини: збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених; 2017 20-21 квітня, Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 206-207.

6. Тимакова ОО. Морфо-функціональні особливості прищитоподібної залози у щурів в умовах впливу солей важких металів (хронічний стан). В: М.В. Погорелов, редактор. Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, присвяченої 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету: Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 16-17 листопада, Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 37-38.

7. Romaniuk A, Hryntsova N, Timakova O, Lyndina Y, Korobchanska A, Honcharova A, Sikora V. Modeling effect of heavy metals salts and glucocorticoids on the secretion of parathormone in the experiment. 30 th European Congress of Pathology Pathology: Path to Precision medicine; Spain 2018 8 – 12 September; Bilbao, 2018, p. 68.

8. Тимакова ОО, Романюк АМ, Гринцова НБ, Линдіна ЮМ, Гончарова ГМ. Реадаптаційні зміни танини прищитоподібних залоз у щурів після впливу солей важких металів. Збірник матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю: Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі, присвячена 100-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука; 2018 13-15 вересня; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет, 2018, с. 119-120.

9. Tymakova OO. Morphological features of the parathyroid glands in rats caused by simulated influence under prolonged heavy metal salts. Abstract book Intrenational Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists; 2018 17-19 October; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018, p. 26.

10. Tymakova O, Hryntsova N, Romaniuk O, KuzenkoY, Korobchanska

A, Kravtsova I, Romaniu A. Morphological features of the parathyroid glands in rats under heavy metal salts influence. 31 th European Congress of Pathology; France 2019 7-11 September; Nice, 2019, p. 319.

11. Тимакова ОО. Морфометричні особливості прищитоподібних залоз у щурів за умов впливу комбінації солей важких металів. Наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України: збірник тез доповідей VII конгрес наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України; 2019 2-4 жовтня; Одеса. Одеса: Одеський національний медичний університет; 2019, с. 316-317.

## ДОДАТОК 2

Додаток 2.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного  
медичного університету

ім. М. І. Пирогова

доктор медичних наук, професор

Власенко О. В.

04 2021 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи в навчальний процес


1. **Пропозиція для впровадження:** “Morphofunctional reconstructions of epiphyseal-parathyroid axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals”.
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри патологічної анатомії Тимакова Олена Олександрівна та співавтори.
4. **Джерело інформації:** наукова робота у фаховому виданні:  
Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphyseal-parathyroid axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. Проблеми ендокринної патології. 2020; 4 (74):106-114. DOI: 10.21856/j-PEP.2020.4.14
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова.
6. **Форми впровадження:** введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з патологічної анатомії.
7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри від 08.04. 2021 р. (протокол № 13).
9. **Термін впровадження:** квітень-червень 2021 року.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри патологічної анатомії  
Вінницького національного  
медичного університету  
ім. М. І. Пирогова  
доктор медичних наук, професор

С.В. Вернигородський

## Додаток 2.2

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
 Проректор з наукової роботи  
 Тернопільського національного медичного  
 університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України  
 проф. Кліш І. М.  
 09 04 2021 р.


**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Пропозиція для впровадження:** "Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals".
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри патологічної анатомії Тимакова Олена Олександрівна та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. Проблеми ендокринної патології. 2020; 4 (74):106-114. DOI: 10.21856/j-PEP.2020.4.14.
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:**
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра медичної біології.
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри  
 (протокол № 12 від 04 04 2021 року).

**Відповідальний за впровадження:**  
 завідувачка кафедри медичної біології  
 Тернопільського національного медичного  
 університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,  
 доктор медичних наук, професор

  
 Федонюк Л. Я.



ЗАТВЕРДЖУЮ  
 проректор з наукової роботи  
 Івано-Франківського національного  
 медичного університету  
 проф. І. Вакучок  
 " 03 " 03 2021 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** "Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals".
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри патологічної анатомії Тимакова Олена Олександрівна та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. Проблеми ендокринної патології. 2020; 4 (74):106-114. DOI: 10.21856/j-PER.2020.4.14.
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:** березень-травень 2021 року
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри (протокол № 10 від 12.03.2021 року).

**Відповідальний за впровадження:**  
 завідувач кафедри патологічної анатомії  
 Івано-Франківського національного  
 медичного університету  
 доктор медичних наук, професор



Кіндратів Е.О.

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету імені  
І.Я. Горбачевського МОЗ України



Проф. І.М. Кліш

04 2021 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Пропозиція для впровадження:** “Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals”.
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри патологічної анатомії Тимакова Олена Олександрівна та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. Проблеми ендокринної патології. 2020; 4 (74):106-114. DOI: 10.21856/j-PEP.2020.4.14.
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:**
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № від 06.04.2021 року.).

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри  
анатомії людини Тернопільського  
національного медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.  
д. мед. н., проф.

І.Є. Герасимюк



ЗАТВЕРДЖУЮ  
Директор ІМГ СумДУ  
А.М. Лубода

« 22 » березня 2021 р.

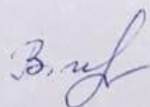


### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** “Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals”.
- 2. Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
- 3. Автор:** аспірант кафедри патологічної анатомії Тимакова Олена Олександрівна та співавтори.
- 4. Джерело інформації:** Hryntsova NB, Tymakova OO, Romaniuk AM. Morphofunctional reconstructions of epiphysal-parathyroide axis structural components of rats in the period of readaptation after prolonged exposure to heavy metals. Проблеми ендокринної патології. 2020; 4 (74):106-114. DOI: 10.21856/j-PEP.2020.4.14.
- 5. Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
- 6. Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
- 7. Термін впровадження:** березень-квітень 2021 р.
- 8. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра морфології Медичного інституту СумДУ
- 9. Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри морфології (протокол № 8 від 17.03.21 року).

Завідувач кафедри морфології  
Медичного інституту  
Сумського державного університету,  
доктор біологічних наук, професор



В.І. Бумейстер

## ДОДАТОК 3

Таблиця 1

Морфометрична характеристика співвідношення структурних компонентів ПЗ контрольної, на 30 добу та на 90 добу дослідження.

Досліджувальний параметр	Тривалість спостереження		
	контроль	30 доба	90 доба
Площа залоз(мкм <sup>2</sup> )	228415,97 ±34812,3	396745,89 ±10900,5*	410269,88 ±27819,23*
Сполучнотканинна капсула (мкм)	21,84 ±4,07	34,53 ±5,85 **	42,62±10,26**
Прошарки сполучної тканини (мкм)	4,85±0,37	10,67±1,29**	18,83±1,7**
Щільність розподілення клітин	52,22±1,33	28,05±0,74**	29,36±1,19**

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,001$  – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контрольних величин.

Таблиця 2

Морфометрична характеристика співвідношення розмірів паратиروцитів та їх структурних компонентів контрольної, на 30 добу та на 90 добу дослідження.

Досліджувальний параметр	Тривалість спостереження		
	контроль	30 доба	90 доба
Площа клітин(мкм <sup>2</sup> )	26,88±1,41	52,9±5,21*	50,17±3,83*
Ширина клітин(мкм)	4,33±0,21	6,91 ±0,34	6,79±0,27
Довжина клітин(мкм)	6,31 ±0,22	9,66±0,35*	9,6±0,34*
Площа ядер (мкм <sup>2</sup> )	10,75±0,32	19,86±1,33*	24,12±0,99*
Ширина ядер(мкм)	2,72±0,09	4,22±0,24*	4, 56±0,19*
Довжина ядер(мкм)	5±0,1	6,15±0,27*	6,91±0,24*
Площа цитоплазми (мкм <sup>2</sup> )	15,15±1,09	32,23±4,6*	28,43±3,4*
Ядерно-цитоплазматичний індекс	0,81±0,08	0,85±0,07**	1,11±0,12**

Примітка: \*– $p < 0,001$ ; \*\* – $p < 0,01$ – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контрольних величин.

Таблиця 3

Біохімічні та імуноферментні показники контрольної та на 30 добу та на 90 добу експерименту

Досліджувальний параметр (одиниця виміру)	Тривалість спостереження		
	контроль	30 доба	90 доба
Паратгормон (пг/мл)	7,9±0,04	6,3±0,02*	6,4±0,03*
Кальцитонін (пг/мл)	186,2±7,05	110,5±7,04**	1238,7±318,46**
заг.Са <sup>2+</sup> (ммоль/л)	3±0,03	2,75±0,02*	2,82±0,04*
іон.Са <sup>2+</sup> (ммоль/л)	1,56±0,02	1,52±0,01*	1,56±0,02*
загальний білок (г/л)	70,3±0,67	59,7±0,67**	59±0,58**
% незв'язаного Са <sup>2+</sup>	52	56,7	55,3
Mg <sup>2+</sup> (ммоль/л)	1,18±0,01	1,05±0,02*	1,08±0,03*
Лужна фосфатаза (МО/л)	295,2±31,46	676,3±74,82**	716,6±61,53**

Примітка: \*– $p < 0,001$  ; \*\* – $p < 0,01$ – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стюдента відносно контрольних величин.

Таблиця.4

Морфометрична характеристика співвідношення структурних компонентів ПЗ контрольної, на 120 добу та на 180 добу відновлення після припинення вживання комбінації СВМ

Досліджувальний параметр (одиниця виміру)	Тривалість спостереження		
	контроль	120 доба	180 доба
Площа залоз (мкм <sup>2</sup> )	228415,97 ±34812,3	331681,31 ±22700,9*	323256,29 ±18607,36*
Сполучнотканинна капсула (мкм)	21,84 ±4,07	74,63 ±10,98 ***	69,8±7,19**
Прошарки сполучної тканини (мкм)	4,85±0,37	28,53±2,86**	23,67±4,37**
Щільність розподілення клітин	52,22±1,33	29,75±0,8**	26,27±0,65**

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,001$ , \*\*\* –  $p < 0,01$  – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контрольних величин.

Таблиця 5

Морфометрична характеристика співвідношення розмірів паратирицитів та їх структурних компонентів контрольної, на 120 добу та на 180 добу періоду відновлення після припинення вживання комбінації СВМ

Досліджувальний параметр (одиниця виміру)	Тривалість спостереження		
	контроль	120 доба	180 доба
Площа клітин (мкм <sup>2</sup> )	26,88±1,41	46,57±1,73*	44,78±2,23*
Ширина клітин (мкм)	4,33±0,21	6,91 ±0,23*	6,49±0,17*
Довжина клітин (мкм)	6,31 ±0,22	8,19±0,28*	8,93±0,21*
Площа ядер (мкм <sup>2</sup> )	10,75±0,32	24,62±1,05*	23,42±0,88*
Ширина ядер (мкм)	2,72±0,09	4,73±0,13*	4, 62±0,14*
Довжина ядер (мкм)	5±0,1	6,31±0,18*	6,48±0,21*
Площа цитоплазми (мкм <sup>2</sup> )	15,15±1,09	19,44±1,71***	22,07±1,61*
Ядерно-цитоплазматичний індекс	0,81±0,08	1,62±0,26 **	1,33±0,15 **

Примітка: \* – p <0,001; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,05 – достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контрольних величин.

Таблиця 6

Біохімічні та імуноферментні показники контрольної та на 120 добу та на 180 добу експерименту

Досліджувальний параметр	Тривалість спостереження		
	контроль	120 доба	180 доба
Паратгормон (пг/мл)	7,9±0,04	6,8±0,03**	6,9±0,03**
Кальцитонін (пг/мл)	186,2±7,05	793,2±45,64***	532,8±83,18** *
заг.Са <sup>2+</sup> (ммоль/л)	3±0,03	2,88±0,02*	2,94±0,06**
іон.Са <sup>2+</sup> (ммоль/л)	1,56±0,02	1,54±0,02***	1,56±0,03***
загальний білок (г/л)	70,3±0,67	65,8±0,31***	67,2±0,71***
% незв'язаного Са <sup>2+</sup>	52	53,5	55,3
Mg <sup>2+</sup> (ммоль/л)	1,18±0,01	1,04±0,05**	1,06±0,04**
Лужна фосфатаза (МО/л)	295,2±31,46	573,1±25,83***	505,4±34,49** *

Примітка: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001– достовірна різниця між вибірками за t-критерієм Стьюдента у відношенні до контрольних величин.