

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

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет
(СумДУ)

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

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з наукової роботи
д-р. фіз-мат. наук, професор
_____ А.М. Черноус
29.12.2017

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ МОНІТОРИНГ СТАНУ ОРГАНІВ І СИСТЕМ
ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ПОРУШЕННЯ ГОМЕОСТАЗУ
(остаточний)

Начальник НДЧ, канд. фіз-мат. наук, с.н.с.	28.12.2017	Д.І. Курбатов
Керівник НДР, д-р мед. наук, проф.	28.12.2017	В.З. Сікора

2017

Рукопис закінчено 26 грудня 2017 р.

Результати роботи розглянуто науковою радою Сумського державного університету, протокол від 28 грудня 2017 р. № 4

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР, г.н.с., д.мед.н., професор, професор кафедри морфології	26.12.2017	В.З. Сікора (передмова, вступ)
Відповідальний виконавець, виконавець договору, професор кафедри морфології, д.мед.н., професор	26.12.2017	Г.Ф. Ткач (огляд літератури, розділ 2, 3, висновки)
Виконавці: к.мед.н., асистент кафедри стоматології, м.н.с.	26.12.2017	О.О. Тимошенко (розділ 3.4)
Асистент кафедри стоматології	26.12.2017	Д.М. Давидова (розділ 3.5)
Асистент кафедри морфології, м.н.с.	26.12.2017	В.Ю. Ілляшенко (розділ 3.4, 3.5)
Студентка медичного інституту, м.н.с.	26.12.2017	О.С. Максимова (розділ 3.1-3.5)
Студент медичного інституту	26.12.2017	Д.В. Муравський (перелік посилання)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 111 с., 44 рис., 16 табл., 168 джерел.

ВАЖКІ МЕТАЛИ, ДЕГІДРАТАЦІЯ, ІМУНОГІСТОХІМІЯ, КОРЕКЦІЯ, ПОСМУГОВАНІ СКЕЛЕТНІ М'ЯЗИ, РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ, ЩИТОПОДІБНА ЗАЛОЗА, ЯЗИК.

Об'єкт дослідження – процеси взаємодії зовнішнього середовища з організмом людини.

Мета роботи – встановити загальні закономірності змін морфофункціонального стану органів та систем організму і виявлення патоморфологічних закономірностей хвороб біомінералізації за умов порушень гомеостазу, викликаних комплексним впливом несприятливих факторів зовнішнього середовища.

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

Уперше на клінічному матеріалі проведено комплексне дослідження морфологічних особливостей патологічних тканин ПРЦЗ з біомінералізацією. Доповнено наукові дані щодо діагностичного та прогностичного значення біомінералізації ЩЗ. Завдяки використанню сучасних морфологічних методів дослідження показано, що біомінеральні депозити і реактивні зміни мікрооточення пухлинного процесу є важливими прогностичними ознаками у канцерогенезі. Вперше встановлено взаємозв'язок між проживанням жінок в «екологічно-забруднених» регіонах і накопиченням важких металів у пухлинній тканині молочної залози. Крім того, виявлено, що паренхіматозна частина неоплазії накопичує важкі метали в більшій кількості, ніж її стромальна складова.

Виявлений високий рівень протективності препарату Мексикор® та доведена можливість його застосування для профілактики і часткової корекції міопатичних процесів за умов впливу конкретних факторів зовнішнього середовища.

ЗМІСТ

	С.
Перелік скорочень, умовних познач, одиниць і термінів	5
Передмова	7
Вступ	9
1 Огляд літератури.....	12
1.1 Важкі метали і рак молочної залози	12
1.2 Біомінералізація щитоподібної залози: поширення, патологія, механізми виникнення та діагностичне значення	15
1.3 Морфологічні зміни скелетних м'язів за умов впливу зовнішніх факторів	21
1.4 Морфофункціональний стан язика за умов впливу екзо- та ендогенних факторів.....	29
2 Характеристика об'єктів дослідження.....	36
3 Результати досліджень.....	38
3.1 Гістологічне дослідження інфільтративного протокового раку молочної залози	38
3.2 Дослідження елементного складу тканини інфільтративного протокового раку молочної залози	52
3.3 Імуногістохімічне дослідження папілярного раку щитоподібної залози за умов наявності та відсутності біомінералізації	59
3.4 Морфологічна характеристика посмугованих м'язів щурів різних вікових груп за умов надмірного вживання солей цинку, хрому, свинцю та препарату Мексикор®.....	77
3.5 Морфологічна характеристика язика щурів за умов дії позаклітинного зневоднення і корекції вітамінами А та Е.....	88
Висновки.....	94
Перелік джерел посилання	96

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАК, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ

АІТ	– аутоімунний тиреоїдит
АЙТ	– апікальний йодний транспортер
АРЩЗ	– анапластичний рак щитоподібної залози
ВвПРЩЗ	– висококлітинний варіант папілярного раку щитоподібної залози
ВЗ	– вузловий зоб
ЗЗ	– змішаний зоб
ДсПРЩЗ	– дифузно-склеротичний варіант папілярного раку щитоподібної залози
ДТЗ	– дифузний токсичний зоб
КвПРЩЗ	– класичний варіант папілярного раку щитоподібної залози
МАПК	- мітоген-активована протеїнкіназа
ОПН	– остеопонтин
ПМЩЗ	– папілярна мікрокарцинома щитоподібної залози
ПРЩЗ	– папілярний рак щитоподібної залози
ПТ	– псамомні тільця
РЩЗ	– рак щитоподібної залози
СЕМ	– скануюча електронна мікроскопія
ТТГ	– тиреотропний гормон
ЩЗ	– щитоподібна залоза
АММ	– абсолютна маса м'яза
АОМ	– абсолютний об'єм м'яза
ВММ	– відносна маса м'яза
ДМВ	– діаметр м'язового волокна
ДМФ	– діаметр міофібрили
ДМЧ	– довжина м'язового черевця
КЯМ	– кількість ядер міосимпласта
ОМ	– об'єм мітохондрії
ОЯМ	– об'єм ядра міосимпласта
ПМ	– площа мітохондрії
ПЯМ	– площа ядра міосимпласта
Співвідн. І	– співвідношення І
ШЕ	– ширина ендомізію
ШП	– ширина перимізію
ЩМ	– щільність м'яза
АВК	– артеріоло-венулярний коефіцієнт.
АМЯ	– абсолютна маса язика.
ВМЯ	– відносна маса язика.
ДА	– діаметр артеріоли.

ДВ	– діаметр венули.
ДВС	– діаметр верхівки сосочка.
ДК	– діаметр капіляра.
ДМВ	– діаметр м'язового волокна.
ДМФ	– діаметр міофібрили.
ІК	– індекс кератинізації.
МЦР	– мікроциркуляторне русло.
ТЕШ	– товщина епітеліального шару.
ТРШ	– товщина рогового шару.
ТВП	– товщина власної пластинки.

ПЕРЕДМОВА

Значні темпи індустріального розвитку, видобутку мінеральної сировини та енергетичних ресурсів призвели до збільшення антропологічних навантажень на довкілля. Це зумовило забруднення ґрунтів, поверхневих водних ресурсів і, як наслідок, продуктів харчування людини солями важких металів (СВМ). У зв'язку з цим постійно зростає інтерес до вивчення впливу СВМ на організм людини.

Іноді дисбаланс мікроелементів (МЕ) у тканинах має природне біогеохімічне походження – за умов проживання людини на території з підвищеним вмістом важких металів (ВМ), тощо. При вивченні стану навколишнього середовища в Сумській області встановлено, що в Середино-Будському, Шосткинському, Ямпільському районах відмічається підвищення в ґрунті солей заліза, марганцю, хрому, міді, кобальту, нікелю, свинцю та цинку.

Хоча досить добре з'ясований вплив зазначених факторів на нирки, печінку, гіпофіз, наднирники, кісткову систему, кров, органи травлення, на жаль, відносно мало досліджень присвячено вивченню впливу даних хімічних речовин на загальний стан здоров'я людини і ще менше – на участь у канцерогенезі.

Захворювання щитоподібної та молочної залози займають одне з важливих місць у структурі загальної захворюваності населення. Численні дослідження показали залежність патології молочної та щитоподібної залози від різноманітних екзогенних чинників. В останні десятиліття ріст рівня патології МЗ та ЩЗ пов'язують з техногенним забрудненням, яке раніше майже не враховувалось. Особливого значення набуває вплив несприятливих факторів навколишнього середовища у зв'язку з їх негативною дією на біологічні процеси в органах та тканинах організму та здатності викликати різноманітні патологічні процеси.

В даній роботі проведено вивчення дії солей важких металів на щитоподібну залозу, опорно-руховий апарат та аналіз впливу підвищеної концентрації ВМ на перебіг та прогноз злоякісних утворень молочної залози. Також, окремим розділом висвітлено питання щодо можливості корекції виявлених змін морфо-

функціонального стану скелетних м'язів та язика за умов впливу на організм ВМ та порушення водно-електролітного балансу.

ВСТУП

Сучасні масштаби забруднення навколишнього середовища набувають загрозливого характеру [1, 2]. Новітній стан виробництва і зростаючий технічний пресинг біосфери сприяють тотальній контамінації ґрунтів, водоймищ та атмосфери, що негативно впливає на всі види живих організмів [3, 291, 362, 369, 409, 415, 421, 451, 482]. Особливо небезпечними є комбінації токсичних речовин, дія яких на живий організм може бути дуже небезпечною і частіше за все непередбачуваною [4, 442]. Адаптаційні та компенсаторні можливості біологічних систем на початкових етапах контакту із забруднювачами мають здатність до нівелювання їх впливу та підтримання сталості гомеостазу у тих рамках, що сприяють повноцінному функціонуванню цілісного організму [5]. Проте останнє стає неможливим зі збільшенням терміну експозиції полутантів або підвищенням їх концентрації [6]. Настає стан виснаження протекторних систем із поступовим переходом від стадії субкомпенсації до повної декомпенсації, що проявляється спочатку порушенням функції тканин та органів, а згодом і їх незворотною морфологічною перебудовою [7]. Таким чином, пряме чи непряме надходження до організму забруднювачів різної природи стає причиною розвитку захворювань або фоном для розвитку супутніх порушень функцій організму [8, 9].

Важкі метали є особливо небезпечними, зважаючи на їх токсичність і поширеність на території України та інших країн світу [10, 11]. Підвищення вмісту хрому, свинцю, цинку, заліза, міді та марганцю у воді певних районів Сумської області сягає критичних рівнів та перевищує гранично допустимі концентрації у десятки разів.

Рак молочної залози (РМЗ) займає перше місце серед усіх локалізацій злоякісних пухлин у жінок (30% захворюваності і 16-18% смертності). Щороку цю патологію виявляють у 16 тис. українок (Україна за показниками захворюваності на РМЗ посідає 5 місце у світі; рівень становить 64,5 на 100 тис. жіночого населення) [12] – кожні 35-37 хвилин виявляється новий випадок захворювання та щогодини вмирає жінка від РМЗ. Це найбільш часта локалізація злоякісного процесу у

мешканок США (реєструється у кожній восьмій жінці) та у мешканок європейських держав (у кожній десятій) [13, 14]. Рівень захворюваності за останні 40 років збільшився більш ніж утричі. Згідно даних американських авторів при локалізованих стадіях РМЗ 5-річне виживання досягає 90%, при залученні підпахвинних лімфатичних вузлів – 68%, а при виникненні віддалених метастазів – 18% [15].

Захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) характеризуються надзвичайним поширенням серед населення і залежать від стану навколишнього середовища – забруднення поллютантами, радіонуклідами, йододефіциту, тощо [16, 17, 18]. Це обумовлює великі медичні та медико-соціальні проблеми у державі [19].

У ЩЗ кальцифікати зустрічаються як при доброякісній, так і за умов злоякісної патології, яка діагностується при ультразвуковому дослідженні органа. Отримана діагностична інформація про кальцифіковані об'єкти у ЩЗ часто пропускається клініцистами або їй надається мінімальне клінічне значення [20]. Проте існує багато повідомлень про високий ризик поєднання процесів біомінералізації (кальцифікації) з злоякісними пухлинами [21, 22]. Папілярний рак щитоподібної залози (ПРЩЗ) є найбільш поширеною формою раків цього органа, займаючи близько 70% у структурі захворюваності [23, 24]. Загальне виживання для більшості хворих залежить від гістологічних особливостей пухлини та багатьох інших предикторів. Одним з таких прогностичних факторів ПРЩЗ є патологічна біомінералізація, яка особливо часто є першим «тривожним дзвоником» при ультразвуковому дослідженні (УЗД) ЩЗ. Саме для ПРЩЗ характерний такий прояв мінералізації, як псамомні тільця (ПТ), що практично використовується для діагностики [25].

Дослідниками всього світу впродовж останніх десятиліть проводиться ретельне вивчення різних механізмів патогенного впливу токсичних металів та їх солей на живі організми в цілому й на функціонування і структуру окремих тканин, органів та систем [26, 27].

Проте у світовій науковій літературі відверто бракує праць, які були б присвячені розгляду питань тривалого впливу важких металів на молочну та

щитоподібну залозу та скелетні м'язи. Джерела часто суперечливі й потребують подальшого уточнення.

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

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Важкі метали і рак молочної залози

ВМ – це група хімічних елементів з властивостями металів (у тому числі і напівметали) із значною атомною вагою та щільністю. Відомо близько 40 різних визначень терміну «важкі метали», і неможливо вказати на одне з них, як найбільш прийнятне. Відповідно, список ВМ згідно з різними визначеннями включатиме різні елементи. Вживаним критерієм може бути атомна вага понад 50, і тоді в список потрапляють всі метали, починаючи з ванадія, незалежно від щільності. Іншим часто використовуваним критерієм є щільність, приблизно рівна або більша щільності Fe (8 г/см^3), тоді в список потрапляють такі елементи як свинець, ртуть, мідь, кадмій, кобальт, а, наприклад, більш легке олово випадає зі списку. Деякі класифікації роблять винятки для благородних і рідкісних металів, не відносячи їх до важких, інші виключають не кольорові метали (залізо, марганець) [28].

Із всіх хімічних елементів періодичної системи Менделєєва, 81 – беруть участь у будові людського організму і різноманітних метаболічних процесах. Виділяють 2 групи мікроелементів (МЕ): есенціальні і токсичні. При нестачі есенціальних МЕ виникають хвороби дефіциту; при різних формах контакту організму людини з токсичними МЕ виникає стан інтоксикації – токсикопатія. Есенціальні МЕ при умові надлишкового надходження також викликають токсичні ефекти – зниження неспецифічної резистентності, мутагенну та канцерогенну дію. Тому вирішальне значення має рівень концентрації МЕ, форма його сполук, співвідношення з іншими МЕ [29, 30].

Зміни МЕ обміну та гомеостазу можуть бути викликані такими факторами, як забруднення навколишнього середовища різними сполуками, вживанням ліків, харчових добавок, спадковими порушеннями обміну МЕ, дієтою [31]. Вплив екологічного забруднення на організм пояснюється тим, що з дитинства до старості людина знаходиться під постійною дією екзогенних органічних і фізичних факторів, в тому числі СВМ [32]. До того ж навіть «здорова» дієта може мати неправильний

склад, в залежності від ґрунту, на якому вирости ті чи інші продукти, способу їх приготування, посуду, використання недоброякісної питної води [33].

ВМ залучені в усі життєво-важливі процеси макроорганізму: підтриманні електролітного гомеостазу та кислотно-лужної рівноваги [34, 35], перенесенні електронів і активних груп (-CH₃, -O, -S), окислювально-відновлювальних реакціях, процесах біомінералізації тканин [36-39], поділі клітин [40].

Суттєва зміна концентрації будь-якого іона може бути пов'язана з розвитком серйозної патології. Іони металів відіграють важливу роль у стабілізації ДНК, активації ферментативних реакцій за участю нуклеїнових кислот. При цьому оптимальна швидкість таких реакцій відповідає певним для кожного іона середнім значенням концентрації і зменшується як при зниженні, так і при підвищенні їх вмісту [41, 42]. МЕ можуть змінювати структуру нуклеїнових кислот і порушувати процеси передачі генетичної інформації (реплікацію, транскрипцію, трансляцію), викликати одно- та двониткові розриви в ДНК, призводити до генетичних аномалій і пухлинного росту [43, 44]. Якщо іони лужних (Na, K) і лужноземельних (Mg, Ca) металів взаємодіють переважно з фосфатними групами ДНК, то іони перехідних металів (Mn, Zn, Co, Ni, Cd, Cu, Hg, Ag) активно зв'язуються з азотистими основами. Приєднання іонів до фосфатних груп підвищує стабільність ДНК, в той час як зв'язування з азотистими основами знижує температуру переходу спіраль-клубок. У деяких випадках вже при кімнатній температурі подвійна спіраль ДНК розпадається з переходом у клубкоподібний стан [45]. Деякі МЕ, такі як Cu, Hg, Cd навіть при малих концентраціях призводять до локальних ушкоджень ДНК: руйнації подвійної спіралі, зміни її форми, хросомних аберацій (інверсія в результаті хугстіновського спарювання, поворот основ на 180°). Інколи вони активують неензимопатичний розрив хімічних зв'язків в ланцюгу нуклеїнових кислот [46].

Зв'язок онкологічних захворювань з дією на організм підвищеної кількості активних радикалів, які виникають під дією ВМ, не викликає сумнівів [47, 48]. Активні радикали (продукти перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активні форми кисню (АФК)) пошкоджують нуклеотиди, викликаючи мутацію генів, які відповідають за синтез антионкогенних та антиметастатичних протеїнів. Крім того,

продукти ПОЛ і АФК викликають активацію онкогенів через пероксидзалежні фактори транскрипції (NF- κ B) [49]. СВМ виступають у ролі токсичних МЕ (сюди відносять есенціальні МЕ в токсичних дозах). Їх дія полягає в ослабленні антиоксидантного захисту клітини. Це відбувається в результаті зв'язування іонами металів сульфгідрильних груп глутатіону та ліпоєвої кислоти, тобто сполук, завдяки яким відбувається регенерація і відновлення інших антиоксидантів в організмі (цикл вітамінів Е і С) [50, 51]. Токсичні ефекти деяких МЕ обумовлені також антагоністичними відносинами з іншими МЕ, наприклад Cu та Zn 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 [52]. Неконтрольоване ПОЛ має ефект "схриньки Пандори": активні радикали пошкоджують біологічні мембрани, структуру нуклеїнових кислот, білкові молекули (ферменти, структурні і транспортні білки) – порушується енергетичний обмін, у багато разів зростає ризик виникнення злоякісних пухлин, аутоімунних процесів. Пряма дія надлишкової кількості МЕ проявляється в ушкодженні білкових молекул, мембран, нуклеїнових кислот і зміни їх конформації і геометричної структури, маючи наслідком значну або повну втрату фізіологічної активності. Іони ВМ, потрапляючи в цитоплазму, зв'язуються з білками, змінюючи структуру і конформацію молекул, що викликає імунну реакцію (змінені білки розпізнаються як "чужі" – непряма імуногенна дія) [53, 54].

Виходячи з вищезазначеного стає зрозумілим, що канцерогенний вплив СВМ реалізується як через механізми порушення структури ДНК своїм безпосереднім впливом на процеси транскрипції, трансляції та реплікації, так і через пригнічення системи антиоксидантного захисту.

Кожен хімічний елемент в окремо-визначений спосіб може впливати на перебіг РМЗ.

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

У ЩЗ кальцифікати зустрічаються як при доброякісній, так і за умов злоякісної її патології. Отримана діагностична інформація про кальцифіковані об'єкти у ЩЗ часто пропускається клініцистами або їй надається мінімальне клінічне значення [56]. Проте існує багато повідомлень про високий ризик поєднання процесів біомінералізації (кальцифікації) із злоякісними пухлинами [57, 58].

Розрізняють різний ступінь ризику асоціації біомінеральних утворень ЩЗ з розвитком злоякісних пухлин у залежності від розмірів кальцифікатів. За даними тиреоїдної ультрасонографії процеси біомінералізації розділяють на макро- і мікрокальцифікацію [59]. В окремих роботах, окрім двох зазначених видів кальцифікації, що виявляються при УЗД, виділяють ободову або кільцеву кальцифікацію [60]. Межа між мікро- і макрокальцифікацією на УЗ-дослідженні дорівнює 2 мм: об'єкт розміром ≤ 2 мм вважається мікрокальцифікатом, > 2 мм – макрокальцифікатом [61]. У багатьох дослідженнях отримані результати про достовірну кореляцію мікрокальцифікатів з високим ризиком малігнізації, проте зв'язок макрокальцифікатів з раком ЩЗ залишається невідомим. Біомінералізовані вузли ЩЗ з макрокальцифікацією у роботі Li J. та співавт. [62] поділені на 4 групи: гладенька повна кальцифікація (за типом яйцевої шкаралупки), гладенька часткова кальцифікація, нерівномірна кальцифікація та вузлова кальцифікація [63]. Часто кальцифікація вузлів зустрічається при багатовузловому зобі з кістозним переродженням, особливо якщо захворювання має тривалий перебіг. Діагностичну цінність тиреоїдних вузлів з макрокальцифікацією рекомендується визначати за допомогою цитологічного дослідження [64].

У дослідженні Wu et al. [65], серед 383 пацієнтів з вузловою патологією ЩЗ на передопераційній комп'ютерній томографії у 135 хворих (35,2%) виявили ознаки кальцифікації залози. Після оперативних втручань шляхом гістологічної верифікації було встановлено, що частота виявлення злоякісних пухлин серед кальцифікованих

вузлів була достовірно вищою, ніж некальцифікованих (48% проти 20%). Рак ЩЗ асоціювався з різними типами кальцифікації вузла з різною частотою: 22% вузлів з периферичною біомінералізацією, 21% випадків – з грубою мінералізацією, 58% вузлів з простою вогнищевою кальцифікацією, 79% випадків – з множинною вогнищевою кальцифікацією. У пацієнтів з солітарним кальцифікованим вузлом в 83% виявляли РЩЗ [66].

У роботі Gungor B et al. [67] досліджувалися зв'язки між кальцифікацією та злоякісними пухлинами ЩЗ шляхом порівняння результатів доопераційного УЗ-дослідження та гістопатологічного дослідження після тиреоїдектомії серед 169 пацієнтів. Ознаки патологічної біомінералізації були виявлені у 32,54% (55 випадків). Відсоток злоякісної патології серед пацієнтів з кальцифікацією становив 30,91% (29 пацієнтів). Таким чином, показник пацієнтів з злоякісними пухлинами і кальцифікацією становив 58,62% (17/29), а показник пацієнтів із злоякісними пухлинами, але без ознак кальцифікації відповідно становив 10,52% (12/114), що статистично достовірно ($p < 0,001$) показувало зв'язок між кальцифікацією та ризиком виникнення злоякісних пухлин ЩЗ [68].

В іншому нещодавньому дослідженні також вивчався зв'язок між ознаками ультрасонографічними ознаками кальцифікації вузлів ЩЗ і результатами гістологічних досліджень [69]. Всього було досліджено 1431 вузол ЩЗ від 1078 пацієнтів, яким спочатку було виконано УЗ-дослідження, після чого була виконана тиреоїдектомія. За результатами УЗД у 38,6% вузлів (552 вузли) було виявлено ознаки біомінералізації, які були поділені на наступні типи: мікрокальцифікати, кільцеподібна периферична кальцифікація, півмісяцеподібна кальцифікація, груба внутрішньовузлова кальцифікація та вогнищева кальцифікація. За результатами гістологічного дослідження в 91,1% вузлів виявлено злоякісні пухлини і в 8,9% (126 вузлів) виявлена доброякісна патологія. Серед злоякісних пухлин частота кальцифікації сягала 40,2% (524 випадки), найпоширенішим типом кальцифікації були мікрокальцинати (42,9%), найменш поширеним типом – кільцева периферична кальцифікація (5,9%). У ході дослідження виявилось, що з усіх типів кальцифікації статистично достовірний зв'язок з злоякісними пухлинами мали мікрокальцифікація

та груба внутрішньовузлова кальцифікація [70]. Сильний достовірний зв'язок мікрокальцифікатів та злоякісних пухлин ЩЗ (особливо мікропапілярної карциноми) підтверджується також у роботі Shi C et al (2012), специфічність мікрокальцифікатів досягає 96,5%. Частота мікрокальцифікатів значно зростає у групі пацієнтів після 45 років. У цьому дослідженні також було виявлено 12 випадків кальцифікації лімфатичних вузлів ший, у всіх зразках гістологічно було встановлено метастази ПРЩЗ. Подібні результати зустрічаються також у низці інших робіт [71].

Злоякісні епітеліальні пухлини ЩЗ складають 1% від усіх злоякісних новоутворень, але є найбільш розповсюдженими пухлинами органів ендокринної системи [72]. Відомо, що папілярний рак ЩЗ є однією з найпоширеніших форм диференційованого раку ЩЗ [73]. У структурі злоякісних пухлин ЩЗ папілярний рак (ПРЩЗ) складає 70% і його частка у структурі захворюваності останніми десятиріччями зростає у всьому світі [74]. Незважаючи на доволі сприятливий прогноз ПРЩЗ, близько 10% пацієнтів помирають від цього захворювання, а у 5-20% випадків виникають рецидиви [75]. Загальне виживання для більшості хворих зі злоякісними пухлинами ЩЗ залежить багато в чому від швидкості і точності встановлення правильного діагнозу та гістологічного типу пухлини. Вік пацієнта, стать, розмір та гістологічна належність пухлини, наявність метастатичного ураження поза ЩЗ, стан лімфатичних вузлів є значимими маркерами для прогнозу у пацієнтів з ПРЩЗ [76]. У ряді досліджень вивчався вплив патологічної біомінералізації на прогноз та перебіг злоякісних пухлин ЩЗ [77].

Серед усіх захворювань ЩЗ найбільш часто біомінералізація виявляється при ПРЩЗ. Грунтуючись на клінічних особливостях патологічної біомінералізації, кальцифікати ЩЗ були поділені на псаммомні тільця, стромальну кальцифікацію та формування кісткової тканини (осифікацію) [78].

Псаммомні тільця (ПТ) характеризується як сферичні кальцифіковані осередки, побудовані з концентричних пластинок [79]. Присутність ПТ більшість авторів вважає діагностичним критерієм ПРЩЗ, але повідомляється про випадки їх виявлення при інших типах РЩЗ [80]. У роботі J. Hunt and E.L.Barns [81] вивчалися

29 випадків не асоційованих з пухлинами ПТ, виявлених у ЩЗ та перитиреоїдальних лімфовузлах. За детального клінічного та гістологічного дослідження тканини обох часток ЩЗ було встановлено наявність карцином в 27 випадках з 29: в 25 хворих виявлено різні типи ПРЩЗ та у 2 пацієнтів пухлину з клітин Гюртле. Важливо наголосити, що в 15 випадках ПТ виявлялися у протилежній частці ЩЗ, що затруднювало виявлення основної пухлини [82].

ПТ зазвичай знаходяться всередині строми ракових сосочків ПРЩЗ. У випадках, коли ПТ виявляються у ЩЗ поза пухлиною, їх можна знайти в міжфолікулярній та міжчасточковій стромі, так як там знаходяться кровоносні та лімфатичні судини [83]. Окрім ЩЗ, ПТ спостерігаються в менінгіомах, папілярних серозних цистаденокарциномах яєчника, і рідше – в інших пухлинних і не пухлинних захворюваннях [84].

Про походження ПТ існують різні погляди. Наприклад, Johannessen J.V et al. [85] ПТ вважають результатом дистрофічного звапнення пухлинних тромбів у просвіті лімфатичних та кровоносних судин. Ультраструктурні дослідження ПРЩЗ показують потовщення базальної мембрани судин пухлинних сосочків з тромбозом, кальцифікацією і некрозом пухлинних клітин, що призводить до формування ПТ [86]. За поглядами інших авторів ПТ формуються як внутрішньоклітинні кальцифікати в життєздатних клітинах, які розташовані вогнищево [87]. Дослідження серозних цистаденокарцином яєчника та менінгіом показало, що продукція колагену пухлинними клітинами і наступна кальцифікація є відповіддю на формування ПТ [88]. Про можливе існування попередників ПТ повідомлялося для менінгіом та ПРЩЗ, вони описувалися у вигляді позаклітинних великих і малих гіалінових глобул, коротких гіалінових циліндрів, які оточені диференційованими пухлинними клітинами або у вигляді невеликої кількості внутрішньоцитоплазматичних тілець (включень), виділених з інтактних пухлинних клітин [89]. Також було виявлено численні позаклітинні еозинофільні відкладення, які відповідали некальцифікованим псаммомним тільцям, при низькодиференційованій аденокарциномі підшлункової залози [90]. Клітинна дегенерація і некроз, які призводять до зникнення пухлинних клітин, виявляється тільки навколо ПТ, але не

навколо попередників. Базуючись на зазначених фактах, автори представляють ПТ як активний біологічний процес, який призводить до загибелі пухлинних клітин і попереджає їх ріст та поширення [91].

Найбільш поширена загальноприйнята думка, що ПТ у ПРЩЗ пов'язані з пухлинними клітинами всередині лімфатичних судин або пухлинної стромы [92]. Також існує оригінальна гіпотеза походження ПТ у пухлинах ЩЗ та яєчниках, в якій доводиться участь у процесах біомінералізації грам-негативних нанобактерій (*Chlamidia*), які здатні преципітувати (осаджувати) солі кальцію [93]. У поодиноких дослідженнях повідомляється про асоціацію ПТ з доброякісними гранулематозними реакціями на сторонні тіла (силікат алюмінію) [94].

Цікавим є дослідження Olivera-Merlin P.S., et al [95] з приводу хімічного складу псаммомних тілець папілярних пухлин ЩЗ та яєчника, яке було виконане за допомогою плазмо-емісійної спектрофотометрії виділених з парафінових блоків кальцифікатів. Було встановлено, що ПТ містять у підвищених концентраціях такі неорганічні елементи, як мідь, кадмій, кальцій, залізо, магній та цинк, при чому, статистично достовірної різниці між показниками тканини ЩЗ та яєчників не виявлено [96].

Осифікація або формування кістки, фіксувалася у випадках, коли ідентифікувався кістковий матрикс та остецити [97]. Всі кальцифікати, які не підходили під визначення ПТ та осифікації, вважалися стромальною кальцифікацією, включаючи також псаммомоподібні кальцифікати – округлі без пошарової структури та пошаровані, але з нерівними краями. Про механізми реагування на формування ПТ, стромальної кальцифікації та осифікації відомо мало.

Стромальна кальцифікація виникає внаслідок відкладення депозитів фосфату кальцію у фіброзну строму. У дослідженні Bai Y. et al [98] 27 з 28 випадків осифікації супроводжувалися стромальною кальцифікацією. Це легко пояснюється тим, що формування кістки відбувається з попередньо існуючого вогнища мінералізації, що призводить до кісткової метаплазії. Вважається, що для початку процесів ектопічного формування кістки та стромальної кальцифікації на молекулярному рівні необхідне залучення сигнального шляху кісткоутворювальних

білків (bone morphogenetic protein - BMP). Сімейство кісткоутворювальних білків (BMP) складається, щонайменше, з 30 членів, вперше виділені з демінералізованого кісткового матриксу. Білків BMP 1-7 здатні індукувати ектопічну осифікацію [99].

Про молекулярні основи утворення псаммомних тілець, стромальної кальцифікації та осифікації у ЩЗ відомо відносно небагато. Наприклад, лінія пухлинних клітин карциноми ЩЗ 8505С може продукувати BMP-1 та BMP-2 [100]. BMP-1 або про колаген-С-пепсидаза є ферментом-металопротеїназою, інші кісткоутворювальні білки, такі як BMP 2-7 є білками, подібними до β -трансформуючого фактора росту (TGF- β) [101]. BMP1 може конвертувати попередники білків, таких як ламінін-5, проколаген, фактори росту і диференціації 8 та 11 і TGF- β 1, в їхні активні форми, що відіграють різнобічні ролі в адгезії клітини та регуляції мінералізації екстрацелюлярного матриксу твердих тканин [102]. BMP-1 також може активувати два інших білки сімейства BMP: BMP-2 та BMP-4, руйнуючи їх антагоніст, хордін [103]. Серед інших кісткоутворювальних білків за умов патології ЩЗ був досліджений BMP-9 [104]. BMP-9 є один з найбільш остеогенних субтипів кісткоутворювальних білків. У ході дослідження було встановлено, що в умовах осифікації при ПРЩЗ значно посилювалася експресія BMP-9, чого не спостерігалось при відсутності ознак мінералізації тканини [105]. Також повідомляється про зв'язок утворення ПТ з експресією BMP-11 та остеопонтина, зазначені білки продукуються макрофагами [106].

Остеопонтин (OPN) - кислий фосфопротеїн, що експресується у мінералізованих тканинах і інгібує утворення гідроксиапатиту, активує функцію остеокластів [107]. OPN пригнічує кальцифікацію, зв'язуючись з поверхнею кристалів [108]. Він являється прозапальним цитокіном, що підсилює ремоделювання судин і ангиогенез. Таким чином, проангіогенна дія розщепленого OPN полегшує мінералізацію матриксу, а повного фосфорильованого OPN - інгібує його. Також було показано, що OPN входить до складу ниркових каменів і, вірогідно, впливає на їх формування [109].

Окрім білків сімейства BMP, TGF- β , остеопонтину, наявні повідомлення про участь у процесах біомінералізації диференційованих злоякісних пухлин ЩЗ таких молекул як Runx2, CD44v6, остеокальцин [110].

Таким чином, ознаки патологічної біомінералізації (кальцифікації) можуть бути важливим диференційно-діагностичним критерієм пухлин ЩЗ як при УЗД, так і при патогістологічному дослідженні. Це особливо стосується пацієнтів з солітарним кальцифікованим вузлом, кальцифікацією лімфатичних вузлів ший, мікрокальцинатами у пацієнтів старшого віку (більше 45 років) та грубою кальцифікацією вузлів. Особливу увагу патологам необхідно звернути на псаммомні тільця, прямо не пов'язані з пухлинною патологією, так як це може бути ознакою прихованого ПРЩЗ (мікрокарцинома) або метастазу РЩЗ з протилежної частки залози.

1.3 Морфологічні зміни скелетних м'язів за умов впливу зовнішніх факторів

Швидкість кровотоку в скелетних м'язах у спокої становить близько 0,03 мл/г за хвилину [111]. Оскільки загальна маса скелетних м'язів дорівнює приблизно 30 кг, м'язовий кровообіг становить 900 – 1200 мл за хвилину, тобто 15 – 20 % від загального серцевого викиду [112]. Останній факт значно збільшує імовірність надходження у м'язи всіх речовин, що потрапляють до організму із зовнішнього середовища. Тому особлива увага дослідників сьогодні прикута до структурних змін, що відбуваються у скелетній мускулатурі у відповідь на надмірну дію солей важких металів, медичних препаратів, алкоголю, нікотину, кокаїну, тваринних отрут та деяких хімічних речовин.

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

Особливу увагу привертає проблема важких металів, дія яких визначається здатністю впливати на динамічну хімічну рівновагу в системі живих організмів [113]. Наявність свинцю, кадмію, міді та цинку в біосфері (воді, ґрунті, рослинах) має подвійне значення: як мікроелементи вони необхідні для нормального перебігу фізіологічних процесів, але разом із тим вони токсичні при підвищених концентраціях [114]. Токсичні хімічні елементи, що потрапляють до організму людини, акумулюються окремими органами і тканинами і повільно з нього виводяться [115]. Накопичення мікроелементів підвищеної концентрації може призвести до порушення фізіолого-біохімічних процесів із подальшими морфофункціональними змінами патологічного характеру в органах і тканинах, зокрема у посмугованих м'язах [116]. Важливим є не лише виявлення безпосередньо структурних змін посмугованої мускулатури, а й ступеня накопичення мікроелементів у різних м'язах [117].

Досліджуючи структурні зміни в міокарді, грудних і стегнових м'язах та вміст свинцю, цинку і міді в них в умовах хронічної інтоксикації солями важких металів, Н. В. Садовніков та співавт. [118] з'ясували, що ступінь кумуляції свинцю в серцевому м'язі курчат був більш значним порівнянно із його накопиченням у грудному та стегновому м'язах. Що стосується міді, то достовірно значущої різниці в концентрації даного елемента у м'язовій тканині серед досліджуваних груп виявлено не було. Стосовно цинку дослідники відзначили, що вміст його у посмугованій мускулатурі був більшим, ніж у тканині міокарда. Морфологічні зміни у стегновому та грудному м'язах курчат у дослідній групі показали проліферативні зміни інтими судин і місцями точкові крововиливи. При більш детальному вивченні структури посмугованої мускулатури курчат через 7 днів від початку введення сольової суміші був виявлений незначно виражений інтерстиційний набряк. Часто траплялися скупчення гіпертрофованих волокон, що перемежовувалися зі стоншеними дистрофічними і навіть некротичними волокнами. У деяких із них ядра мали вигляд змазаних або були відсутніми зовсім, що свідчить про тяжку форму некробіозау і некрозу.

Вивчений вплив хронічної (упродовж 9 років) інтоксикації низькими дозами цинку ацетату на стан посмугованих м'язів макак-резусів [119]. Морфологічні зміни досліджували у чотириголовому м'язі стегна. Методами світлової мікроскопії вченими були виявлені ознаки міопатії. Збільшилась кількість внутрішніх ядер та відокремлених волокон. Діаметр самих волокон також зріс. Волокна були відокремлені одне від одного вираженими прошарками сполучної тканини. Під час аналізу ультраструктури було виявлено велику кількість гідропічних мітохондрій, значне розширення саркотубулярної системи та зростання позаклітинного відкладання колагену. У багатьох біоптатах виявлявся тяжкий фіброз. На думку дослідників зазначені зміни є проявом міопатичної реакції у відповідь на хронічну інтоксикацію свинцем, оскільки не було виявлено жодних уражень нервової тканини. Автори припускають, що первинний фіброз може бути пояснений здатністю свинцю пригнічувати діяльність сателітних клітин, які синтезують металопротеази, необхідні для катаболізму колагену.

На сьогодні також існують дослідження, в яких показано негативний вплив іонів алюмінію та цинку на реакцію суперпреципітації актоміозину скелетного та серцевого м'язів і відповідно на м'язову скоротливість [120]. Авторами лише зроблені припущення про можливий вплив інтоксикації зазначених металів на розвиток патофізіологічних та патоморфологічних змін у м'язовій тканині. Для підтвердження останнього повинні бути проведені відповідні дослідження.

Значна кількість медичних препаратів, що сьогодні використовуються в терапевтичних цілях, може призвести до несподіваного токсичного впливу на м'язову тканину, що часто є причиною значної захворюваності та інвалідності [121]. Механізми міотоксичної дії фармацевтичних засобів різноманітні й обумовлені безпосереднім впливом на клітинні органели, такі як мітохондрії, лізосоми і міофіламентні структури; зміною м'язових антигенів і генерацією імунологічної або запальної реакції; порушенням електролітного та енергетичного балансу [122]. Скелетна мускулатура є особливо сприйнятливою до уражень, пов'язаних з лікарськими засобами завдяки своїй масі, інтенсивному кровообігу та вираженому мітохондріальному енергетичному обміну [123].

Сьогодні увага багатьох дослідників прикута до проблеми побічних дій препаратів групи інгібіторів 3-гідрокси-3метилглутарил коензим А редуктази (статинів) [124]. Останні, поряд зі своєю здатністю позитивно впливати на тривалість життя пацієнтів із серцево-судинною патологією мають токсичний ефект на скелетну мускулатуру [125]. Механізм наведеного впливу пояснюється здатністю статинів інгібувати синтез фарнезилу пірофосфат, з проміжного метаболіту у синтезі убіхінону (CoQ10) [126].

У праці M. R. Vonfim et al. гістологічний аналіз литкового м'яза щурів, які одержували симвастатин у дозі 20 мг на добу протягом 8 тижнів, виявив значні набряки м'язових волокон, їхню атрофію та розщеплення, запальні інфільтрати, наявність круглих, кутових та поліморфних волокон; ознаки процесу фагоцитозу і втрату сарколеми [127]. Проведений гістохімічний аналіз виявив значну кількість синьо-зелених гранул формазану, що розміщувались у периферичних відділах клітин (субсарколемно). Останній факт свідчив про підвищену активність НАДН реакції у мітохондріях. Поряд із цим дослідники відзначали наявність численних волокон із повною втратою активності зазначеного ферменту.

У дослідженні F. R. Westwood et al. [128] проведене вивчення впливу симвастатиту та церивастатину на посмуговані м'язи. Вже на 16 – ту добу автори відзначили ознаки некрозу окремих м'язових волокон. Так, у двоголовому м'язі плеча знаходили некротизовані волокна, що характеризувалися цитоплазматичною еозинофілією, вакуолізацією та втратою цитоплазматичної структури. Привертала увагу відсутність ознак запалення. Натомість у напівперетинчастому м'язі некроз був значно поширенішим. Відзначалася виражена інфільтрація мононуклеарами та поліморфноядерними клітинами, набряк волокон, вакуолізація із фрагментацією та втратою цитоплазми.

Ультраструктурне дослідження змін м'язових волокон у щурів, які одержували симвастатин та церивастатин у великих дозах, показав субсарколемне скупчення розширених перероджених мітохондрій. Вони характеризувалися наявністю аномальних мієлоїдних включень сферичної форми. Імуногістохімічний аналіз виявив, що некротичні зміни та дегенерація мітохондрій відбувалися переважно у

м'язових волокнах II типу. Останній факт автори пояснюють меншою кількістю мітохондрій у волокнах II типу порівняно з волокнами I типу. Зазначений висновок збігається з даними, одержаними у праці Taked et al. [129].

Існують повідомлення про токсичний вплив інших медичних агентів на посмуговану м'язову тканину. Так, під час дослідження серед населення Індії виявлено негативний вплив зидовудину, препарату, що застосовується у складі активної антиретровірусної терапії, на мітохондріальний апарат скелетних м'язів [130]. Під час дослідження біоптатів м'язів, взятих від людей, які тривалий час отримували зидовудин, знаходили так звані червоні й сині «рвані» волокна, масивне накопичення ліпідних включень, збільшення сполучнотканинних прошарків та волокна, в яких була відсутня цитохром – С – оксидаза.

Широко, з метою лікування вірусних гепатитів, використовують препарати інтерферонів. Відомо, що останні під час тривалого застосування можуть призвести до розвитку запальної міопатії. При морфометричному та гістологічному вивченні м'язів з таким ураженням відзначають набряк м'язових волокон, збільшення їхнього діаметра, повнокров'я судин, відсутність ділянок некрозу, значну кількість Т-лімфоцитів та макрофагів навколо м'язових клітин [131].

Перше повідомлення про міотоксичну дію протималярійних препаратів з'явилося у праці E. Casado et al. [132]. Морфологічні зміни, що виникають у м'язах під час тривалої терапії хлорохіном були висвітлені у праці A. N. Kalajian et al. У м'язах дослідники виявили значне збільшення лізосом усередині клітин. Самі ж лізосоми мали форму аутофагічних вакуолей і були заповнені мієлоїдними структурами. У деяких клітинах комплекс Гольджі був фрагментований або зруйнований повністю.

Вивчення міопатичної дії еметину проводиться з 1976 р., коли вперше англійські дослідники W. G. Bradley et al., досліджуючи вплив еметину на щурів, виявили ділянки некрозу м'язових волокон, розшарування м'язових веретен та значну кількість гіалінових включень у них [133]. Подальші дослідження виявили дегенерацію мітохондрій, поширену проліферацію мембран, що були втягнені у продукцію аутофагічних вакуолей. Відзначались також роз'єднання філаментів,

накопичення міофібрилярних протеїнів та розрив Z-дисків. Морфометрія показала зменшення діаметра м'язових волокон поряд зі зміною їхньої форми [134].

Сьогодні значного поширення набули глюкокортикоїди. Під час їхнього тривалого використання випадки м'язової патології трапляються більш ніж у 50 % пацієнтів [135]. Одним з основних механізмів розвитку глюкокортикоїдної міопатії вважають здатність індукувати апоптоз, зокрема мітохондріально- і Fas-опосередкований. Перевагу також віддають здатності зазначених гормонів пригнічувати сигнали інсулінового фактора росту-1 та потенціювати протеолітичні процеси [136]. Морфологічні зміни, що відбуваються у м'язах за умов тривалого впливу глюкокортикоїдів, характеризуються порушенням структурної організації компонентів цього органу [137]. R. M. Pereira та J. F. Carvalho відзначають розвиток сполучної тканини ендомізія між м'язовими клітинами, появу численних відкладень ліпідів, зростання активності фібробластів на фоні прогресуючої атрофії міофібрил та поодиноких ділянок некрозу. Автори повідомляють про наявність зруйнованих цитоплазматичних мембран м'язових клітин, внутрішньоклітинне розміщення зруйнованих ядер та апоптичних тілець [138].

Для лікування серцевих аритмій одним із часто застосовуваних препаратів є аміодарон. Відомо, що тривале його вживання може призвести до патологічних процесів у м'язовій тканині, що клінічно проявляється міальгіями, а лабораторно – підвищенням рівня креатинфосфокінази у сироватці крові [139]. Структурні зміни, що відбуваються у м'язах під час аміодаронового пошкодження, описані у праці L. Wei та співавт. [140]. Китайські вчені вказують на значне зростання кількості лізосом та аутофагічних вакуолей поблизу цитоплазматичної мембрани м'язових клітин; на наявність інтра- та екстрацелюлярних ліпідних включень, численних ділянок некрозу м'язових волокон. Методом гістохімічного аналізу показано, що некротизації підлягали переважно волокна другого типу.

Колхіцин – сильний антимиотик, що зв'язується з білком тубуліном, що утворює мікротрубочки і внаслідок цього блокує поділ клітин на стадії метафази. Препарати колхіцину використовують для лікування подагри, профілактики амілоїдозу при сімейній середземноморській лихоманці. Одним із негативних

ефектів стосовно організму людини є розвиток колхіцинової міопатії в осіб, які тривалий час для терапії використовують препарати колхіцину [141]. Морфологічні прояви при цій патології характеризуються накопиченням лізосом та аутофагічних вакуолей, руйнацією цитоплазматичного ретикулума, дегенерацією комплексу Гольджі. Привертає увагу відсутність ділянок некрозу міофібрил. Прошарки ендомізія також не зазнають змін [142].

Однією з груп препаратів, що чинять токсичний вплив на м'язову тканину, є місцеві анестетики. В основі їхньої міотоксичності лежать універсальні процеси порушення мітохондріального метаболізму [143]. У дослідженні Л. М. Непомнящих та співавт., проведеному на 38 щурах лінії Вістар та охус, описані морфофункціональні та гістохімічні зміни, що відбувалися у м'язах в умовах гострої інтоксикації бупівакаїном. Автори описують пошкоджені на значній довжині м'язові волокна, в яких ділянки ущільнення чергувалися з ділянками повної дезорганізації скорочувального матеріалу. На ультраструктурному рівні відзначалися дезагрегація саркомерів, повна руйнація Z-дисків. На місці I-дисків знаходились окремі частинки тонких філаментів. Фрагменти товстих філаментів, втративши впорядкованість, залишалися на місцях колишніх A-дисків або перебували в повному безладі. У ділянках пошкодження м'язових волокон науковці спостерігали скупчення значної кількості макрофагів. У їхній цитоплазмі виявлялися фрагменти м'язових клітин, зокрема розрізнялися міофібрилярні структури, що мали поперечну смугастість. У праці німецьких дослідників W. Zink та B. M. Graf [144] поряд із зазначеними змінами при внутрішньом'язовому введенні прокаїну відзначалися також виражені контрактири міофібрил, їхній набряк та поодинокі вогнища некрозу.

У світовій літературі існують нечисленні дослідження з приводу розвитку м'язових ушкоджень такими агентами, як нікотин та кокаїн. Більшість цих праць присвячені проблемам патогенезу цього ураження та фізико-біохімічним змінам, що при цьому відбуваються [145]. Щодо морфологічних змін у посмугованій мускулатурі, то в нещодавній праці K. Krüger та співавт. повідомляється про зменшення кількості волокон I типу у чотириголовому м'язі стегна щурів, які підлягали хронічній інтоксикації сигаретним димом, якщо порівнювати з

контрольною групою [146]. Також автори зазначають, що у тварин дослідної групи зменшувалися діаметр та довжина м'язових волокон, виявлявся посилений розвиток сполучної тканини, а у клітинах відзначалися набряк та часткова деструкція мітохондрій, ядер, елементів ендоплазматичного ретикулума, знижувалася активність цитохромоксидази. Щодо кокаїнової хронічної інтоксикації, то в праці R. Valiyil та L. C. Stine повідомляється про атрофічні зміни міофібрил, дегенерацію базальної пластинки м'язових волокон, наявність підвищеної кількості лізосом усереднені клітин. Вчені також вказують на слабо виражені прошарки ендомізія, зменшення діаметра просвіту кровоносних та лімфатичних судин у них [147].

Диметилпарафенілендіамін – речовина, що широко використовується як барвник під час біохімічних та мікробіологічних досліджень. Іноді при порушенні правил техніки безпеки відбувається отруєння цією сполукою. Цьому також сприяє відсутність у неї запаху. На сьогодні описано картину морфологічних змін м'язів у відповідь на інтоксикацію диметилпарафенілендіаміном [148]. Автори зазначають, що основу патологічної картини складають типові вогнищеві реакції смугастої мускулатури на пошкоджувальні впливи: контрактури міофібрил і внутрішньоклітинний міоцитоліз. Наведений патологічний процес дозволяв представити динаміку контрактурних ушкоджень як зміну послідовних фаз розвитку надмірного скорочення фазою некробіозу з подальшим розпадом на грудочки і макрофагальною резорбцією. Дослідники зазначають, що за розмірами, формою та особливостями структурно-метаболических характеристик волокон-мішеней чітко диференціюються два крайні види вогнищ контрактур: «стрічки» і «медальйони». Відзначаються зникнення Z-смужок, дезагрегація, дезорієнтація і фрагментація міофібрил.

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

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

1.4 Морфофункціональний стан язика за умов впливу екзо- та ендогенних факторів

До найпоширеніших захворювань язика належить глосит. Це запальний процес унаслідок впливу різних причин екзогенного та ендогенного характеру [149]. Клінічні прояви глоситів дуже різноманітні, при цьому характер патологічних змін слизової оболонки язика залежить від виду подразника, його специфічності, часу впливу й відображає стадію розвитку патологічного стану [150]. Механізм виникнення симптомів ураження язика до кінця не вивчений й інтерпретується авторами з урахуванням результатів проведених досліджень [151].

Відомо, що існує тісний морфофункціональний зв'язок захворювань слизової оболонки порожнини рота, губ і язика з патологією внутрішніх органів та систем організму людини [152]. Дослідженнями різних авторів встановлено, що до проявів морфологічних ознак передчасного старіння слизової оболонки порожнини рота, губ і язика призводить тяжка соматична патологія в анамнезі [153].

Клінічно досліджено та встановлено, що в осіб, які страждають на хронічну ниркову недостатність [154], хронічні неспецифічні запальні захворювання тонкої та товстої кишок і на цукровий діабет 1-го та 2-го типів підвищується поріг больової чутливості слизової оболонки порожнини рота, а також смакової чутливості язика [155].

Морфологічні зміни язика мають прогресуючий запальнодеструктивний характер, що супроводжується сегментарною демієлінізацією нервових волокон з ознаками затримки аксонального транспорту і реактивної перебудови нервово-м'язових закінчень. О. В. Марусин було визначено, що провідним чинником перебудови нервово-м'язових закінчень язика при експериментальному цукровому діабеті є порушення їх кровопостачання [156]. Морфологічна перебудова структурних компонентів стінки капілярів призводить до розладів транспортних

процесів, що є причиною зниження проникливості судинної стінки, розвитку ішемії та гіпоксії, розростання неоформленої сполучної тканини, порушення структури мієлінових і безмієлінових нервових волокон та міофібрил [157].

Зміни в порожнині рота залежать від стану секреторно- та кислотоутворювальної функцій шлунка, тонкої і товстої кишок [158]. Вони мають зазвичай неспецифічний характер і проявляються нальотом, набряком, різним ступенем десквамації, атрофією або гіпертрофією сосочків [159]. У появі нальоту важлива роль належить порушенню нормального процесу зроговіння і злущування епітелію внаслідок нейротрофічних розладів [160].

С. В. Гажва та Н. С. Касумов виявили, що при вірусному гепатиті слизова оболонка ротової порожнини вже змінюється в продромальному періоді захворювання. На ній відзначається інтенсивне фарбування різних ділянок, найбільш інтенсивно – в ділянці м'якого піднебіння, з'являються вогнища гіперемії та виникають судинні розлади у вигляді геморагій і телеангіоектазій. Важлива ознака уражень печінки – жовтяниця слизової оболонки порожнини рота та вивідних протоків парних слинних залоз: привушної, підщелепної і під'язикової. Нерідко відзначаються гіперплазія та мацерація епітелію навколо його вивідних проток. Малі слинні залози СОПР також залучаються до патологічного процесу [161].

Слизова оболонка ротової порожнини особливо чутлива до дисфункції ендокринних залоз. При інтенсивному виділенні статевих гормонів у певні періоди життя людини може розвинути гормональний стоматит чи гінгівіт. У період статевої зрілості у підлітків часто виявляють гіпертрофічний гінгівіт, який має назву юнацького. Аналогічна картина спостерігається у дівчат у препубертатному періоді. Також відбувається фізіологічна зміна в епітелії слизової оболонки порожнини рота впродовж усього менструального циклу під впливом естрогенів та прогестерону. У жінок із хронічним рецидивним афтозним стоматитом висип афтозних елементів посилюється перед менструацією, подібна картина спостерігається в клімактеричному періоді. Доволі часто у 56,12 % відсотків вагітних дисгормональні

зміни проявляються на слизовій оболонці у вигляді різних виразково-некротичних процесів [162].

А. В. Вікторова та співавт. визначали основні типи змін судинного рисунка вентральної поверхні язика у пацієнтів із серцево-судинною патологією. Так, було виявлено появу вогнищевої ішемії язика у вигляді своєрідної плямистої картини: чергування ділянок нормального кровонаповнення – рожевого кольору і блідих ішемізованих ділянок (феномен Рейно). При аутопсії виявлялося атеросклеротичне ураження коронарних артерій у поєднанні з розвитком вогнищевої ішемії дорсальної поверхні язика [163].

Глосалгія, або синдром печіння язика, може бути проявом не лише різних соматичних, а й стоматологічних нозологічних форм [164]. Частими симптомами глосалгії є порушення сну, підвищена нервова збудливість, плаксивість, швидка стомлюваність. У хворих виявляються порушення з боку вегетативної нервової системи: сухість у роті за наявності в'язкої, густої слини, підвищена пітливість, що свідчить про домінування симпатичної або пригнічення парасимпатичної іннервації слинних залоз [165].

Є. Н. Дичко та співавт. шляхом електрофізіологічних досліджень (капіляроскопії, термометрії та реовазографії) встановили, що у хворих на глосалгію та глосодинію наявні три варіанти змін гемодинаміки в басейні зовнішньої сонної артерії. У переважній більшості випадків відзначається спастичний тип капілярного русла і значно менше – атонічний та нормотонічний. А також температура була зниженою у ділянках больових та парестетичних відчуттів, одночасно з цим хворі мали всі ознаки активації симпатoadреналової, а в деяких випадках і холінергічної системи. Майже 90 % хворих на глосалгію та глосодинію мають розбалансованість співвідношення електролітів калію та натрію [166].

Ксеростомія є поширеним патологічним станом СОПР. Ряд авторів вважають, що сухість у порожнині рота може бути наслідком обмеження споживання рідини або впливу таких факторів, як: підвищене споживання натрію, виснаження калію, зростання ангіотензину II і вазопресину, підвищення рівня сечовини в плазмі, дії психологічних і неврологічних факторів, ротове дихання, а також хімічне запалення

або пошкодження слинних залоз. Визначено, що сухість у порожнині рота супроводжується зниженням кількості відокремлюваної слини і залежить від об'єму циркулюючої крові та концентрації в ній кінцевих продуктів катаболізму азотистого обміну. Можливо, сприяє ксеростомії використання рідини для полоскання рота, що містить спирт [167].

Установлено, що високогірні екстремальні фактори призводять до іншого рівня функціонування смакової системи, безпосередньо впливаючи на центральні механізми нейрогуморальної системи, окремі органи, а також на периферичні смакові рецептори язика, що, у свою чергу, визначає кількість та якість споживаної їжі [168].

Р. С. Матвеев та співавт. виявили зворотний зв'язок. Було визначено, що при експериментальному збільшенні язика щурів відбуваються морфофункціональні зміни з боку органів зовнішньої (слинні залози) та внутрішньої (щитоподібна та надниркові залози) секреції. Автори дійшли висновку про те, що будь-яке хірургічне втручання на язиці може мати наслідки, які виявляються порушенням діяльності ендо- та екзокринних залоз, а також органів імунної системи [169].

Слизова оболонка ротової порожнини, особливо поверхні язика, може зазнавати механічного травмування, впливу широкого спектра температур та хімічних речовин.

Постійна травматизація бічної поверхні язика за неякісної реставрації зубів призводить до розвитку запальної гіперплазії і так званої «гіперплазії листоподібних сосочків» [170]. А в пацієнтів із повною відсутністю зубів відбуваються інволютивні процеси органів і тканин щелепно-лицевої ділянки: знижується смакова чутливість язика, страждає функція ковтання, знижується швидкість слиновиділення, збільшується в'язкість слини [171]. Язик втрачає бар'єр у вигляді зубних рядів і внаслідок цього достовірно збільшується у своїх розмірах, що може негативно позначатися на функції ковтання в результаті зменшення вільного простору для рухів язика та їжі [172].

С. В. Залавіна та співавт. в результаті експериментального дослідження виявили, що за дії вібрації на язик змінюється рельєф базальної мембрани,

зменшуються кількість і розміри ядер базального шару, а також товщина базального та шипуватого шарів, збільшується товщина рогового шару епітелію слизової оболонки язика [173].

О. А. Федорович та співавт. вивчали особливості структурної перебудови слизової оболонки щурів при опіках різного генезу. В результаті експерименту було виявлено, що термічні та хімічні опіки язика супроводжуються вираженими морфофункціональними змінами з боку його тканин, що мають однотипний характер, але різну динаміку, тривалість та глибину ураження. Найшвидше виникають зміни внаслідок дії термічного чинника, які водночас є найкоротшими за тривалістю й зворотним розвитком. Найпізніше виникають зміни при опіку лугом, які є найглибшими і найтривалішими. Опіки кислотою займають проміжне положення. При хімічних опіках лугом, внаслідок тривалих судинних розладів і пов'язаної з ними дії гіпоксії та інтенсивної ексудації з плазматичним просяканням тканин, у віддалені терміни відбувається посилення проліферації сполучної тканини, що може впливати на функціональний стан язика [174].

Відомо, що білкове недоїдання у немовлят та дітей дошкільного віку призводить до різних гістологічних змін язика: зменшення кількості клітин та збільшення їх розмірів, змін кількісного складу бактерій. А результати інших дослідників, які вивчали язик щурів за умов білкового недоїдання, не спостерігали жодних очевидних гістологічних та ультраструктурних змін, таких як глосит чи втрати ниткоподібних сосочків. [175]. Посилене приймання вуглеводів призводить до патологічного стану язика у вигляді потовщення (пара-, гіперкератоз) або стоншування епітелію (атрофія), зміни кольору.

Підвищений вміст внутрішньом'язового жиру в осіб з ожирінням може змінити форму язика, вплинути на його розмір та функцію м'язів, зокрема зменшити його скорочувальну силу. А. М. Kim та співавт. виявили значний ризик розвитку апное уві сні в осіб із великою часткою внутрішньом'язового жиру в язиці на фоні загального ожиріння [176].

R. H. Martins та співавт. дослідили за допомогою сканувальної електронної мікроскопії морфологічні зміни слизової оболонки язика під впливом цигаркового

диму. Було виявлено, що останній призводить до проліферації епітеліальних клітин, потовщення рогового шару. Поверхня язика на вигляд ставала гладкою. Сосочки на його поверхні не завжди виявлялися, мали сплющену форму та прилягали один до одного [177]. Тютюнопаління посилює деструктивні процеси в слизовій оболонці, що сприяє активації місцевого імунітету. Субкомпенсований рівень імунної резистентності в осіб, які палять, дозволяє відокремити їх у групу підвищеного ризику розвитку хронічних патологічних процесів ротової порожнини.

Останніми роками на ринку з'явилася тютюнова суміш «насвай» – це нікотиновмісний продукт, основними компонентами якого є махорка або тютюн, гашене вапно, курячий послід чи інші екскременти тварин, компоненти різних рослин та масел. За даними узбецьких онкологів, 80 % випадків раку язика, губ та інших органів порожнини рота, а також гортані були пов'язані з тим, що особи вживали саме «насвай» [178].

I. O. Онисько та співавт. вивчали особливості морфологічних змін у структурах язика щурів при вживанні малих доз опіоїдного анальгетика. Було виявлено структурні та деструктивні зміни в складі покривного епітелію, базальної мембрани, у сполучнотканинній пластинці слизової оболонки, в структурі стінок гемомікроциркуляторного русла. Спостерігались явища адгезії тромбоцитів і моноцитів. У периваскулярних просторах були наявні активовані макрофаги та виражений набряк сполучної тканини [179].

R. H. Al-Serwi та співавт. вивчали скелетні м'язи язика у щурів, які зазнавали дії акриламідів. Були виявлені аномальний хвилеподібний хід і розщеплення м'язових волокон із жировою інфільтрацією між ними. Крім того, були виявлені каріопікноз. Електронна мікроскопія свідчила про виражену агрегацію мітохондрій різного розміру та форм з утворенням гігантських клітин і частковим виходом міофіламентів, що засвідчувала на окиснювальний стрес. Спільне введення вітаміну E з акриламідом покращує більшість вищезазначених гістологічних змін та є ефективним у тварин при тривалому його введенні [180].

Дослідження язика у щурів при різних дегідратаційних моделях порушень водно-електролітного обміну, створених в експерименті на тваринах, дозволить

одержати об'єктивні дані і провести порівняльний аналіз основних органо-, морфо-, ультраметричних і хімічних показників, а також установити основні закономірності розвитку патоморфологічних порушень у тканинах даного органа.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА ОБ'ЄКТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

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

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

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

Для корекції змін хімічного складу та морфологічної перебудови язика тварин в умовах клітинної дегідратації тяжкого ступеня тварини отримували вітаміни А та Е по 1 краплі олійного розчину α -токоферолу ацетату та ретинолу ацетату.

Основою проведеної роботи по вивченню раку молочної залози стало ретроспективне морфологічне дослідження 94 випадків інфільтративного протокового раку молочної залози. Тканина, отримана після операційного втручання в період з 2012 по 2015 роки (54 – радикальна резекція за Маденом, 8 – радикальна резекція за Пейті, 6 – радикальна резекція за Холстедом та 26 – секторальна резекція МЗ), 10 випадків МЗ без ураження онкологічним процесом та тканина метастазів РМЗ у лімфатичні вузли.

Матеріалом для дослідження щитоподібної залози послужили гістологічні препарати пацієнтів, прооперованих в Сумському обласному клінічному онкологічному диспансері та Сумській обласній клінічній лікарні з приводу пухлинної патології ЩЗ в період 2004-2014 років. Загалом було виявлено 1131 випадків РЩЗ. Основу клініко-морфологічних, імуногістохімічних та фізико-

хімічних досліджень дисертаційної роботи склали 60 випадків ПРЦЗ. Вивчалися дані з історій хвороб, результати УЗД-дослідження та патогістологічні заключення.

Таблиця 2.1 – Розподіл тварин на групи та підгрупи

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

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

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

3.1 Гістологічне дослідження інфільтративного протокового раку молочної залози

Мікроскопічне дослідження проводилося на пухлинах МЗ, в яких після забарвлення гематоксиліном та еозином було встановлено діагноз «Інфільтративний протоковий рак молочної залози». ІПРМЗ характеризується формуванням гнізд, кластерів та трабекул, хоча деякі пухлини відрізняються солідним ростом з незначною кількістю строми. В частині пухлин виявляються чіткі тубулярні структури з просвітом у центрі. Клітини доволі варіабельні за будовою. Цитоплазма частіше буває широкою та еозинофільною. Ядра округлі, мономорфні або з вираженим поліморфізмом і добре помітними ядерцями. Мітотична активність сильно варіює – від повної відсутності до 10-20 та більше в одному полі зору. Обов'язковою умовою є вихід пухлинного росту за межі базальної мембрани протоків. Поблизу фокусів інфільтративної карциноми часто зустрічаються вогнища протокової карциноми *in situ*. Виявляються ділянки некрозу та гіалінозу. В міру зниження диференціювання раку об'ємна частина строми зменшується, пухлинні клітини формують солідні поля. У деяких випадках переважає фіброзна строма, а пухлинні клітини представлені окремими клітинами чи ланцюгами клітин. В інших випадках можуть переважати відносно відокремлені залозисті комплекси. Тільки коли всі ці ознаки пухлинного поширення займають більше 50% пухлинних полів зору, тканина підлягала подальшому дослідженню, бо була віднесена до ІПРМЗ. При наявності менше 50% – виставлявся діагноз «Рак змішаного типу» чи якийсь специфічний варіант інвазивного РМЗ, і тканина автоматично виключалась із групи дослідження.

В залежності від наявності тубулярних структур, рівня проліферативної активності клітин (кількості мітозів) та рівня клітинного атипізму пухлини були розподілені на три групи:

1. G1 – високодиференційовані пухлини (низького ступеня злоякісності);
2. G2 – помірнодиференційовані пухлини (помірного ступеня злоякісності);
3. G3 – низькодиференційовані пухлини (високого ступеня злоякісності).

Для G1 ступеню диференціювання РМЗ (рис. 3.3) характерним є утворення тубулярних структур, які займають більше 75% площі препарату. Цей вид пухлини найбільш наближений до проліферативних варіантів фіброзно-кістозної хвороби. Більшість клітин мають правильну форму та дрібні ядра, інколи простежуються різні варіанти ядерного і клітинного поліморфізму.

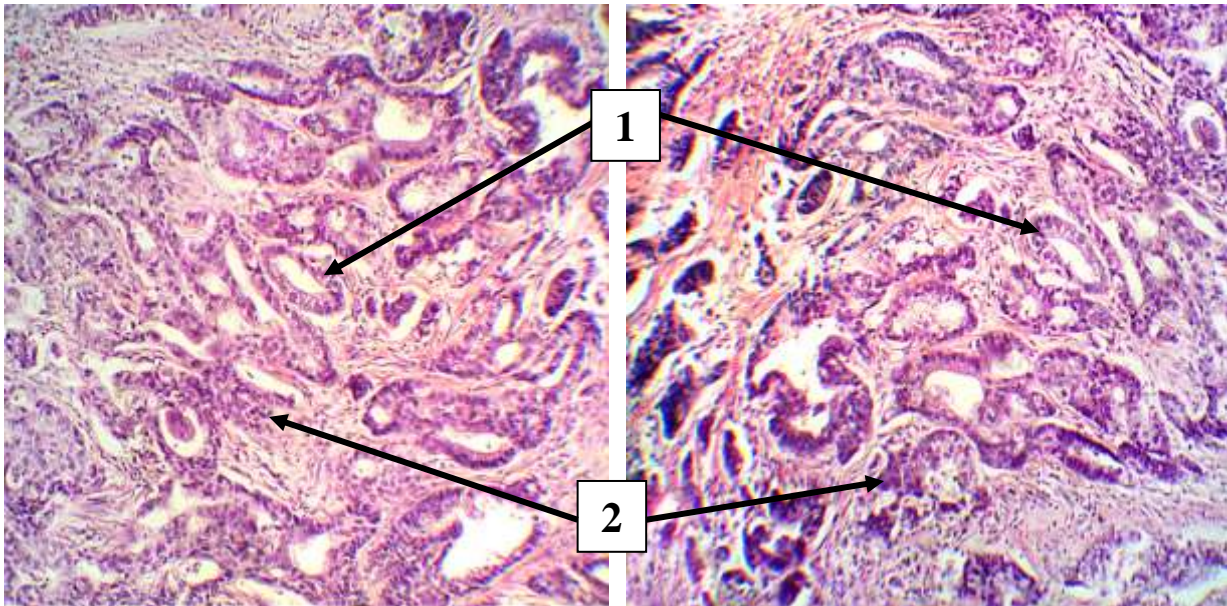


Рисунок 3.3 – ІПРМЗ низького ступеню злоякісності.

1 – тубулярні структури, 2 – ділянки інвазії.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 100$

Мітотична активність у високодиференційованій пухлини низька – від повної її відсутності до 10-15 мітозів у 10 полях зору при оптичному збільшенні мікроскопу $\times 400$. Структури раку можуть повторювати будову протоків, але в стромі присутні окремі комплекси пухлинних клітин, що підтверджує інвазивний тип росту пухлини. Згідно класифікації С.В. Elston та І.О. Ellis пухлина відповідає 3-5 сумі балів.

ІПРМЗ помірного ступеню злоякісності (рис. 3.4) характеризується поступовим зменшенням відсотку поширеності тубулярних структур серед пухлинної тканини, які подекуди займають не більше 10% (G2). Неопластичні клітини мають різний ступінь клітинного та ядерного поліморфізму. В них присутній значний проліферативний потенціал за рахунок значної кількості мітозів.

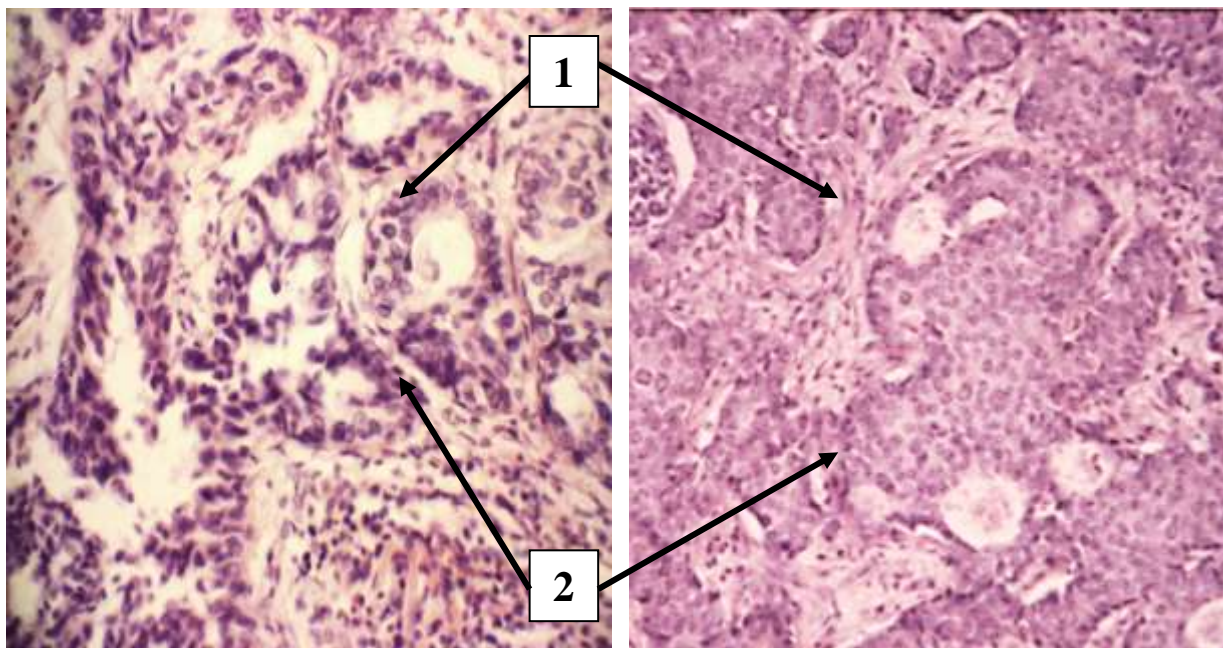


Рисунок 3.4 – ІПМЗ помірного ступеню злоякісності.

1 – тубулярні структури, 2 – солідні утворення.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 150$

Гістологічна картина пухлини знаходиться посередині між високо та низькодиференційованими варіантами РМЗ, тому на препараті можна знайти поля як одного, так і іншого варіантів пухлини МЗ.

У помірнодиференційованій неоплазії іноді присутні ділянки солідно-альвеолярної будови і, навпаки, відмічається скірозний тип росту, коли на фоні гіалінозу строми клітини формують ланцюжки, дрібні залозисті стуртури, невеликі солідні скупчення. В препараті помітні ділянки некрозу та дистрофічні зміни. Згідно класифікації С.W. Elston та I.O. Ellis даний вид неоплазії відповідає 6-7 сумі балів.

G3 ступінь диференціювання ІПМЗ (рис. 3.5) характеризується майже повною відсутністю тубулярно-залозистих структур, вираженим клітинним та ядерним атипізмом, значною кількістю патологічних мітозів, багатоядерністю, гіперхроматозом ядер.

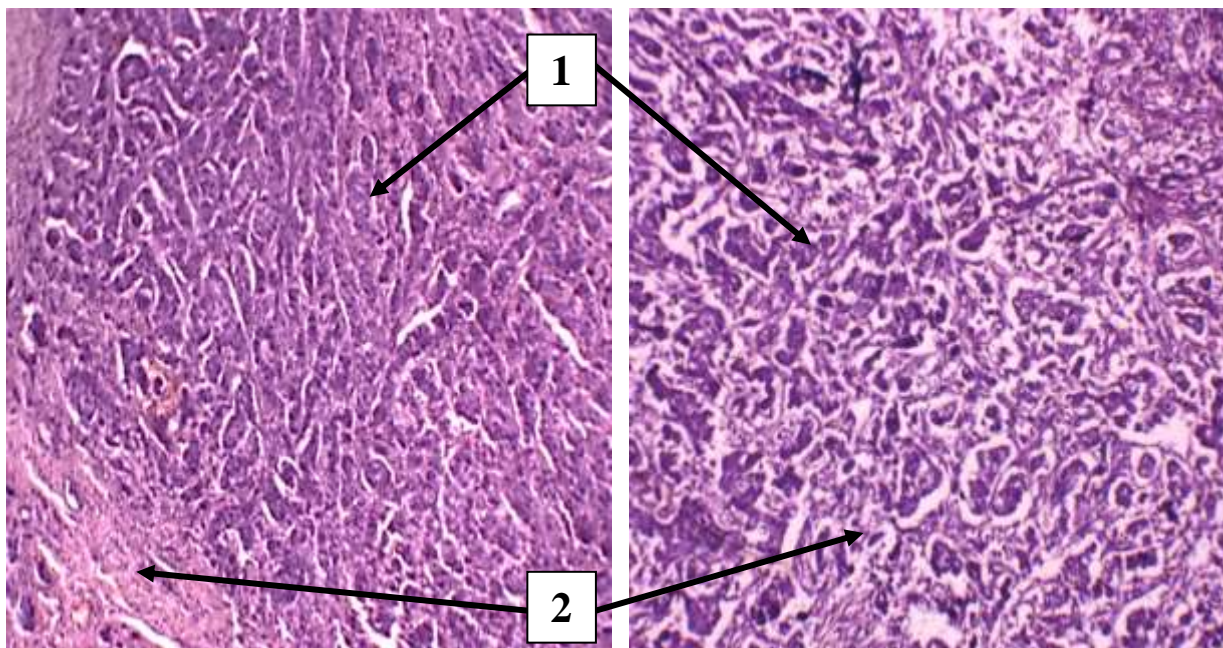


Рисунок 3.5 – ІПРМЗ високого ступеню злоякісності.

1 – паренхіма пухлини, 2 – строма пухлини.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 100$

У G3-пухлині в 10 полях зору при оптичному збільшенні мікроскопу можна знайти більше 20 мітозів. Тканина пухлини може складатися як з переважання паренхіматозного компоненту з майже повним витісненням строми, так і мати яскраво виражений скірозний варіант, при якому на фоні гіалінізованої сполучної тканини знаходяться окремо розсіяні або у вигляді ланцюжків неопластичні клітини.

Пухлинні клітини можуть бути у вигляді дрібних (лімфоцитоподібних) клітин з майже відсутньою цитоплазмою та дрібними гіперхромними ядрами. Іноді їх поліморфізм виражений у такому ступені, що їх навіть важко віднести до епітеліальних (підозра на недиференційовану пухлину) злоякісних пухлин. У більшості випадків тканина пухлини складається з великих клітин, які втратили можливість до характерного розподілу епітелію у вигляді шарів, але зберігають тенденцію до адгезії. У клітинах нерідко добре видна цитоплазма та великі поліморфні ядра з кількома ядерцями. Патологічні мітози виражені в різному ступені з формуванням виродливих багатоядерних клітин (рис. 3.6). У пухлинній тканині частіше за всі інші форми ІПРМЗ спостерігалися вторинні зміни у вигляді петрифікації, некрозів та запалення.

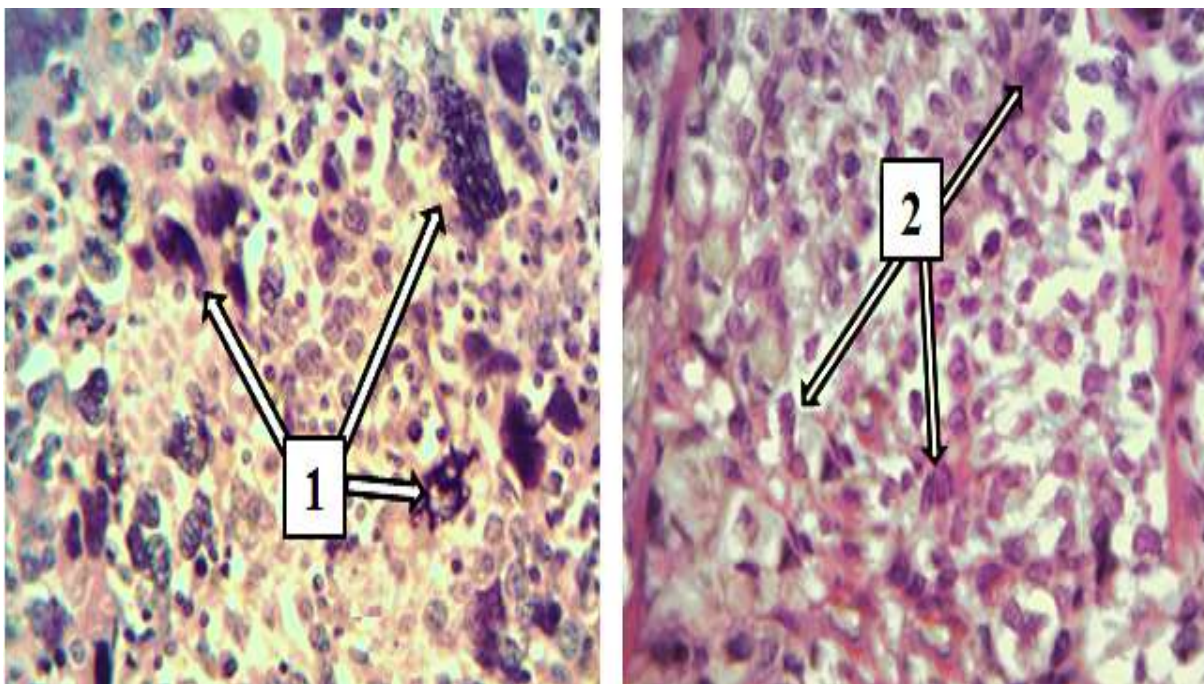


Рисунок 3.6 – ІПРМЗ високого ступеню злоякісності.

1 – виродливі багатоядерні клітини, 2 – патологічні мітози.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 400$

Згідно класифікації С.W. Elston та I.O. Ellis даний вид неоплазії відповідає 8-9 сумі балів.

В окремих випадках було важко віддиференціювати ІПРМЗ високого ступеню злоякісності від інфільтративного дольового РМЗ того ж ступеню анаплазії. В цьому випадку нам допомагало ІГХ дослідження з визначенням експресії рецепторів до Е-кадгерину. При позитивному забарвленні ракових клітин (наявність мембранної реакції) пухлину відносили до ІПРМЗ (рис. 3.7).

У табл. 3.4 наведено розподіл ІПРМЗ за ступенем диференціювання в залежності від досліджуваної групи. Як видно, в першій групі (жінок з «екологічно-забруднених» районів) випадки з низьким ступенем диференціювання (G2 та G3) зустрічали частіше ніж в другій (жінок з «екологічно-чистих» районів), що підтверджено статистичними розрахунками ($p < 0,05$).

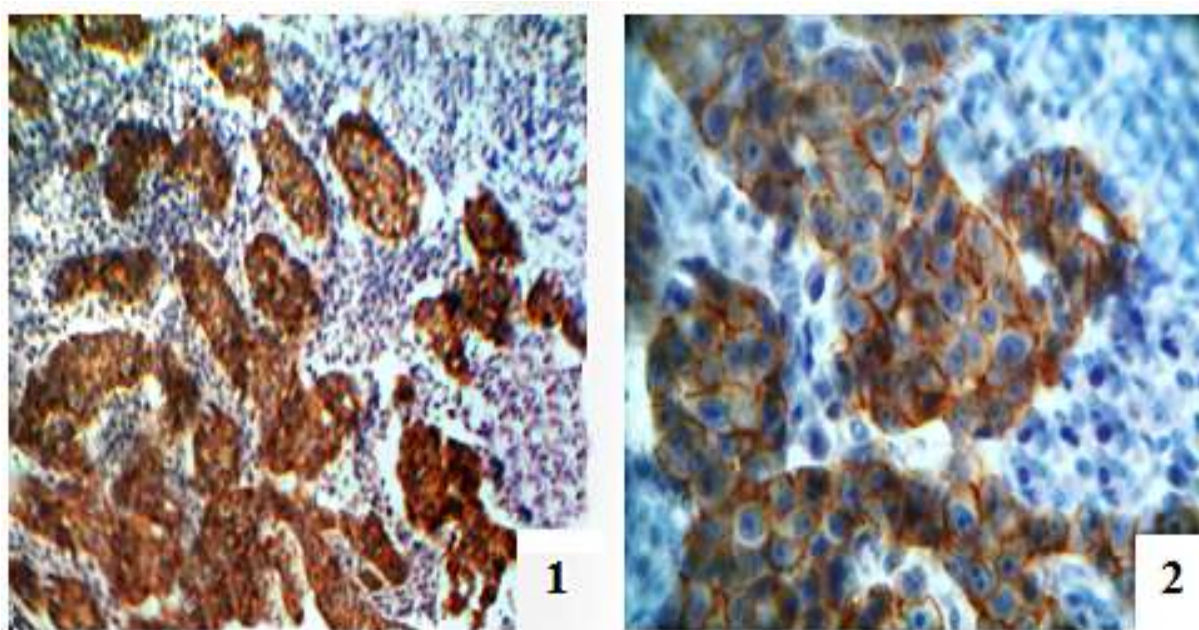


Рисунок 3.7 – ІПРМЗ низького ступеня диференціювання.

ІГХ реакція по виявленню рецепторів Е-кадгерину: позитивна інтенсивна мембранна реакція.

1 – збільшення $\times 100$, 2 – збільшення $\times 400$

Це вказує на негативний вплив оточуючого середовища та екзогенного надходження СВМ на перебіг ІПРМЗ, в результаті чого неопластична тканина набуває нових гістологічних характеристик.

Таблиця 3.4 – Розподіл тканини ІПРМЗ за ступенем диференціювання

Ступінь диференціювання ІПРМЗ	Перша група	Друга група
G1	8	11
G2	17	13
G3	36	9

Аналіз гістологічної картини в порівнянні з макроскопічними особливостями пухлини виявив наступні особливості: негативний кореляційний зв'язок між наявністю метастазів та ступенем диференціювання пухлини ($p < 0,05$), підвищену проліферативну активність на периферії, у порівнянні з центральною зоною

пухлини, яка супроводжувалась наявністю променеподібних розростань раку в навколишню тканину, наявність ураження шкіри та гематогенних метастазів у випадку тільки низькодиференційованого ІПРМЗ. Це вказує на прогресування пухлинного росту зі зниженням диференціювання РМЗ.

Серед варіантів вторинних змін у пухлинному мікрооточенні були присутні вогнища некрозу, петрифікації та змішано-клітинна запальна інфільтрація.

При проведенні гістологічного дослідження препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, встановлено, що біомінералізати розташовуються в усіх компонентах пухлинної тканини ІПРМЗ – стромі, паренхімі та внутрішньопротоково. Виявлені різні варіанти їх розташування в пухлинній тканині (рис. 3.8):

- вогнищева петрифікація, коли на всьому полі мікропрепарату знаходиться одне вогнище відкладання солей кальцію;
- дифузно-розкидані по тканині злоякісної пухлини поодинокі мінералізати;
- одна відносно велика «брила» петрифікату з навколо розташованими дрібними «дочірніми» вогнищами кальцифікації;
- петрифікати у вигляді півмісяця або замкнутого кола, які повторюють контури протоків МЗ;
- округлі, чітко контуровані мінералізати, які повністю або частково вповнюють просвіт залози або протоку МЗ;
- комбіновані варіанти розташування відкладання солей кальцію.

При виявленні кальцифікатів за допомогою забарвлення парафінових зрізів алізариновим червоним S, поряд з гематоксиліном та еозином, встановлено, що біомінералізати мали різну форму: округлу, X-подібну, сферичну з обідком мінералізації та у вигляді поздовжніх гранул (рис. 3.9).

У ряді випадків на одному і тому ж препараті були присутні як різні види розташування відкладань солей кальцію, так і різні форми біомінералікатів.

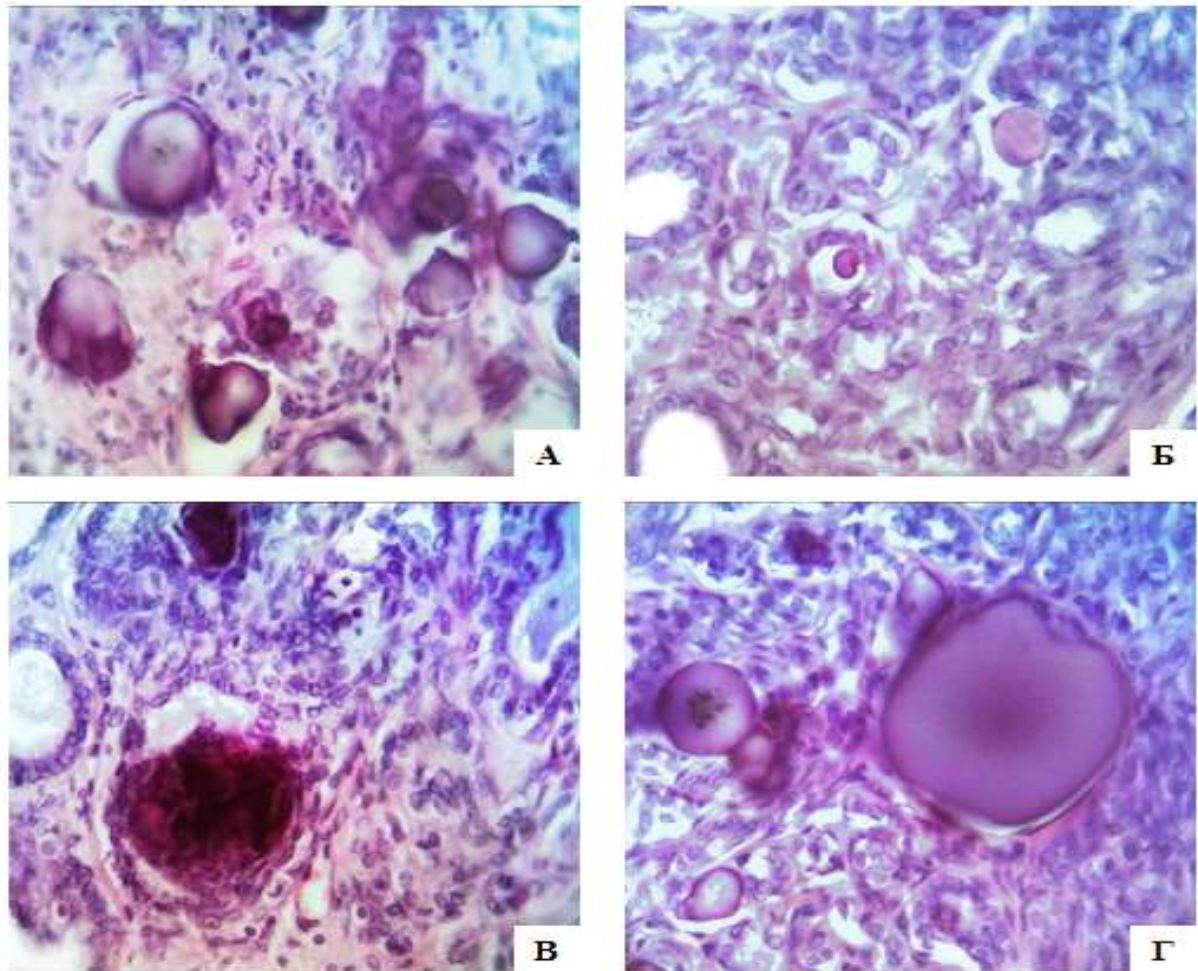


Рисунок 3.8 – Види розташування мінералізацій у тканині ІПРМЗ.

А – вогнищева петрифікація, Б – дифузно-розкидані мінералізати, В – внутрішньопротокові відкладання солей кальцію, Г – «брила» петрифікату з дрібними «дочірніми» вогнищами кальцифікації.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 300$

Аналізуючи розміри біомінералізацій у середовищі морфометричної програми «Digimizer», встановлено, що вони представлені від ледь помітних вогнищ ($0,001 \times 0,001$ см) до утворень $0,4 \times 0,4$ см (рис. 3.10).

Будь-якого взаємозв'язку між розміром петрифікату та видом патологічної біомінералізації нами не виявлено.

При порівнянні частоти виявлення петрифікації в першій та другій групах дослідження встановлено, що тканина ІПРМЗ жінок, які мешкали в «екологічно-забруднених» районах Сумської області містили вогнища звапнення на 19% частіше, 45% проти 26% випадків, ніж у другій групі.

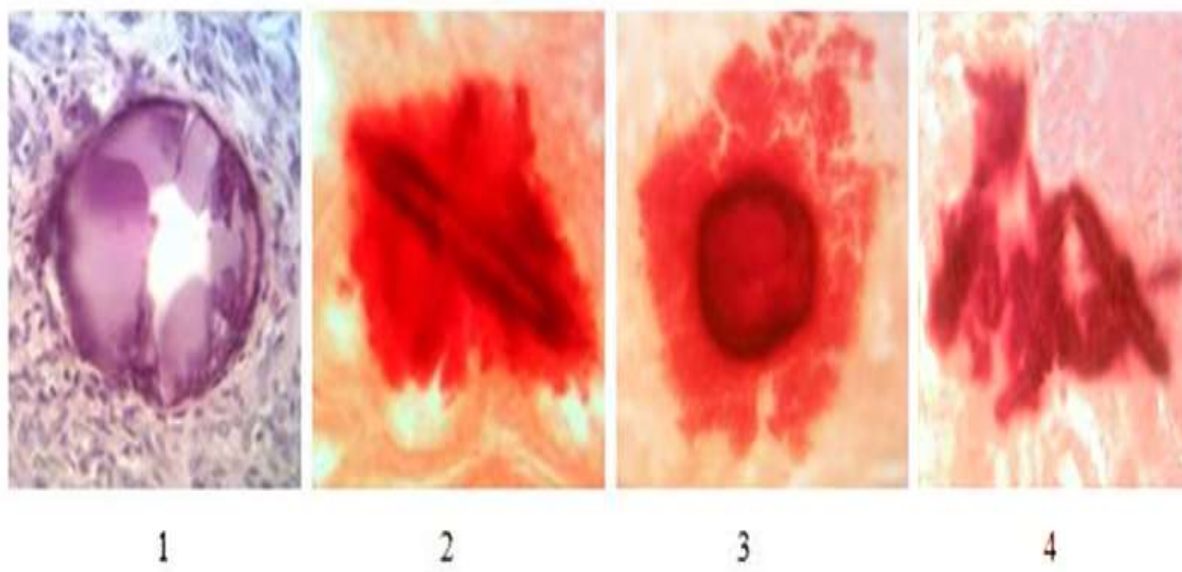


Рисунок 3.9 – Види мінералізацій у тканині РМЗ.

1 – округла форма (забарвлення гематоксиліном та еозином), 2 – Х-подібна форма, 3 – сферична форма з обідком мінералізації, 4 – у вигляді поздовжніх гранул (2,3,4 – забарвлення алізариновим червоним S). Збільшення $\times 400$.

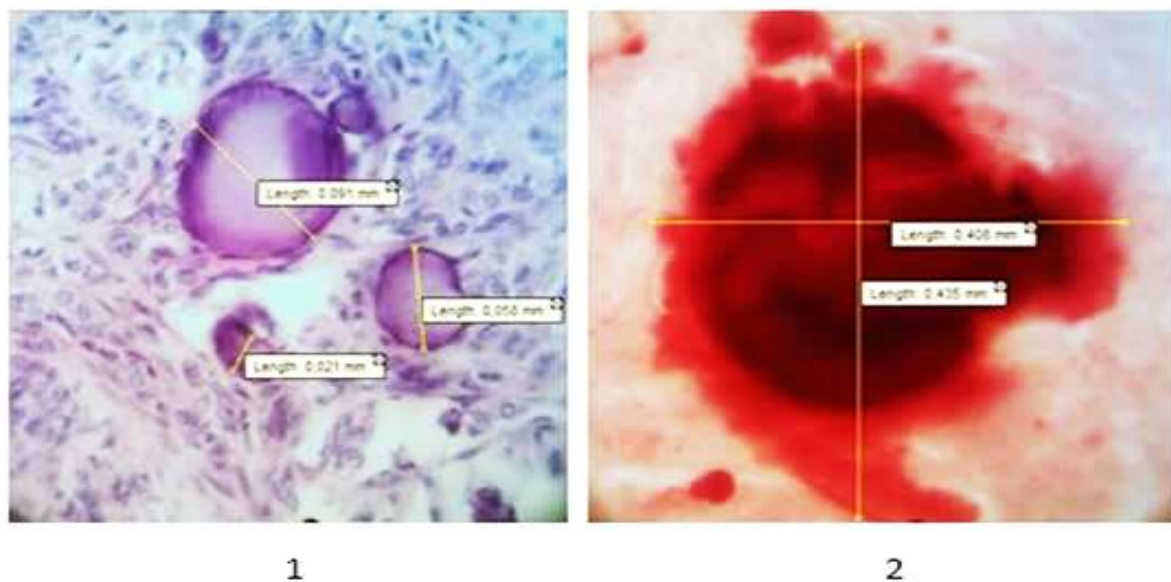


Рисунок 3.10 – Вимірювання розмірів мікрівкладань програмою «Digitizer».

1 – забарвлення гематоксиліном та еозином, 2 – забарвлення алізариновим червоним S. Збільшення $\times 400$

Виявлена кореляційна залежність між зниженням рівня диференціювання раку та інтенсивністю мінералізації МЗ ($p < 0,05$). Залежності між формою, розміром, видом розташування біомінералізацій та типом диференціювання ППМЗ не виявлено ($p > 0,05$).

При дослідженні препаратів, забарвлених алізариним червоним S привертає увагу обідок мінералізації навколо кристалів кальцію. Він представлений зоною різної товщини з поступовим зменшенням інтенсивності забарвлення алізарином від центру до периферії, відповідно зниженням насиченості кальцієм зони петрифікації. Це вказує на прогресуючий перебіг утворення мінералізацій від периферії до центру, з поступовим ущільненням структури конкрементів.

Іншою особливістю мінералогенезу в МЗ є наявність пухлинних клітин ППМЗ з внутрішньоклітинними гранулами, які також алізарин-позитивні. Це наводить на думку, що процес петрифікації відбувається не тільки позаклітинно, а ініціювання його з подальшим прогресуванням відбувається за участю внутрішньоклітинних механізмів.

Дослідження, спрямоване на вивчення особливостей лейкоцитарної інфільтрації, виявило, що в навколишньому пухлинному мікрооточенні наявність клітин імунної системи не є випадковою знахідкою. Вони представлені різними варіантами клітин. Значна частка клітин має округлу форму з округлим або бобовидним ядром і невеликою кількістю цитоплазми, розміром біля 6 мкм, які ідентифіковані як лімфоцити. Віднести їх до Т чи В групи лімфоцитів за гістологічними особливостями не можливо. Серед них зустрічаються гістіоцити, які характеризують наявністю різної (округлої, витягнутої чи неправильної) форми, щільного, гетерохромного ядра, базофільної неоднорідної плямистої (з-за присутності лізосом) цитоплазми, розміром біля 13 мкм. Виявлено також розсіяні різні форми сегментованих гранулоцитів з внутрішньоклітинною зернистістю. Встановити відсоткове співвідношення між лейкоцитами не представлялося можливим за рахунок однотипності лімфоцитів та інших форм лейкоцитів.

При вивченні топографічних особливостей розташування клітин імунного мікрооточення встановлено, що вони можуть знаходитись навколо тканини раку в різних варіаціях (рис. 3.11):

- інтерстиційно – у вигляді поодиноких розкиданих клітин на фоні як щільної так і пухкої сполучної тканини, без значного порушення навколопухлинного середовища;

- трабекулярно – клітини розташовуються у вигляді ліній, тяжів та трабекул, ніби розшаровують волокна сполучного компонента стромі;

- вогнищево (нодулярно) – у вигляді утворень округлої форми, інколи з формуванням псевдофолікулів. Вони мають різні розміри. Інколи в них можна помітити навіть центри розмноження, що вказує на стимулюючий місцевий антигенний вплив пухлини на реакцію навколишньої тканини;

- дифузно – займає майже всю міжклітинну пухлинну тканину, інколи навіть площа, зайнята імуніцитами, переважає над площею ракової тканини, створюючи враження метастазу аденокарциноми у лімфатичному вузлі;

- змішано – поєднання різних форм запальної інфільтрації.

Слід зазначити, що у стромі пухлинної тканини, яку вважали за таку, що не має імунної реакції в навколишній тканині, також були присутні клітини імунної системи, тому як вони є складовою частиною фіброзної тканини будь-якого органа, в т.ч. і МЗ, але вони знаходяться поодинокі і дуже розріджено.

В окремих випадках імунна відповідь виражалась у вигляді хронічного продуктивного запалення з формуванням гранульом, які, поряд з вище зазначеними типами клітин, містили епітеліоїдні та гігантські клітини типу «сторонніх тіл» (рис. 3.12), що вказує на персистенцію імунної відповіді на провокуючий етіологічний фактор.

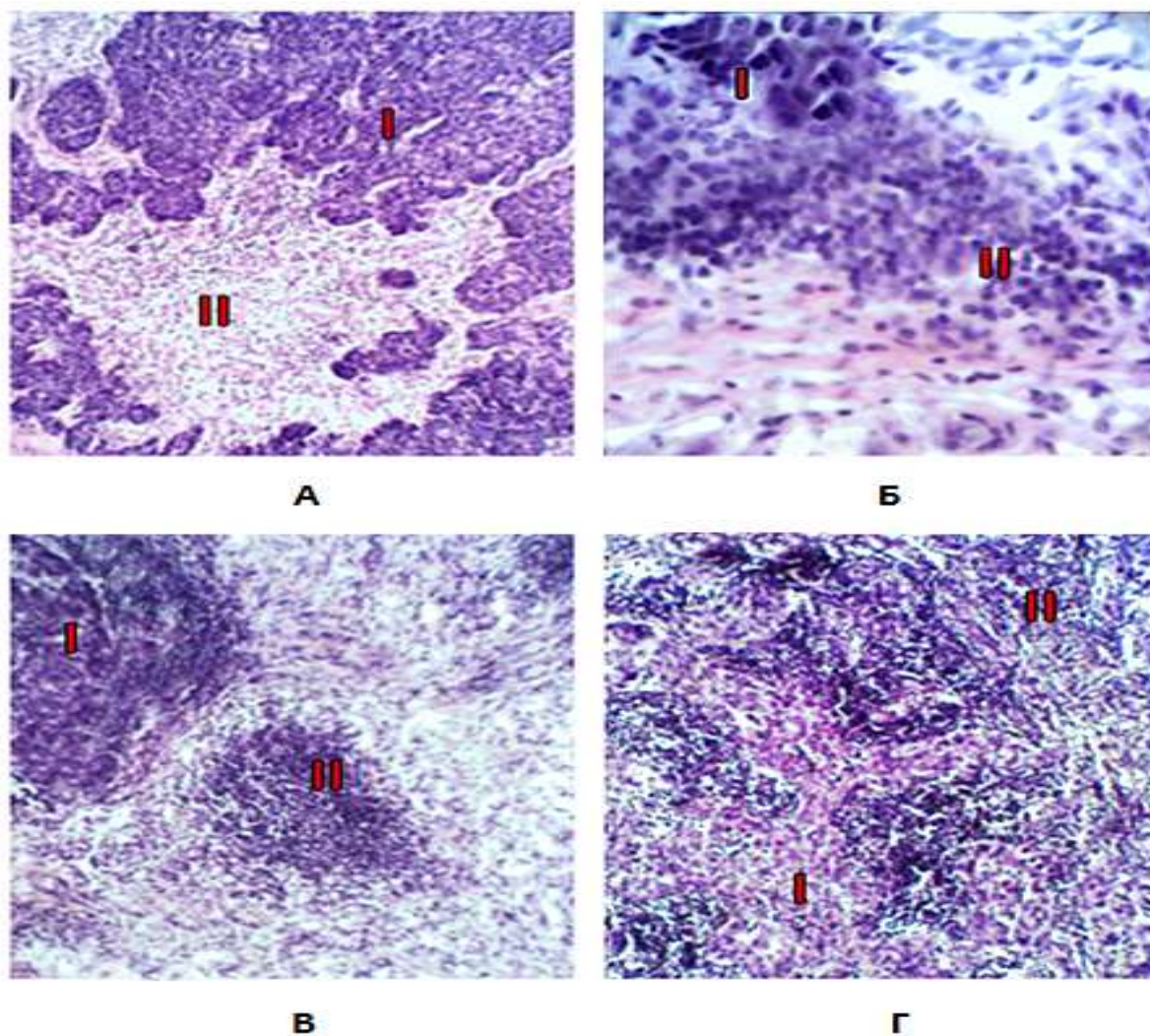


Рисунок 3.11 – Види імунного мікрооточення.

А – інтерстиційний, Б – трабекулярний, В – вогнищевий, Г – дифузний.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 100$

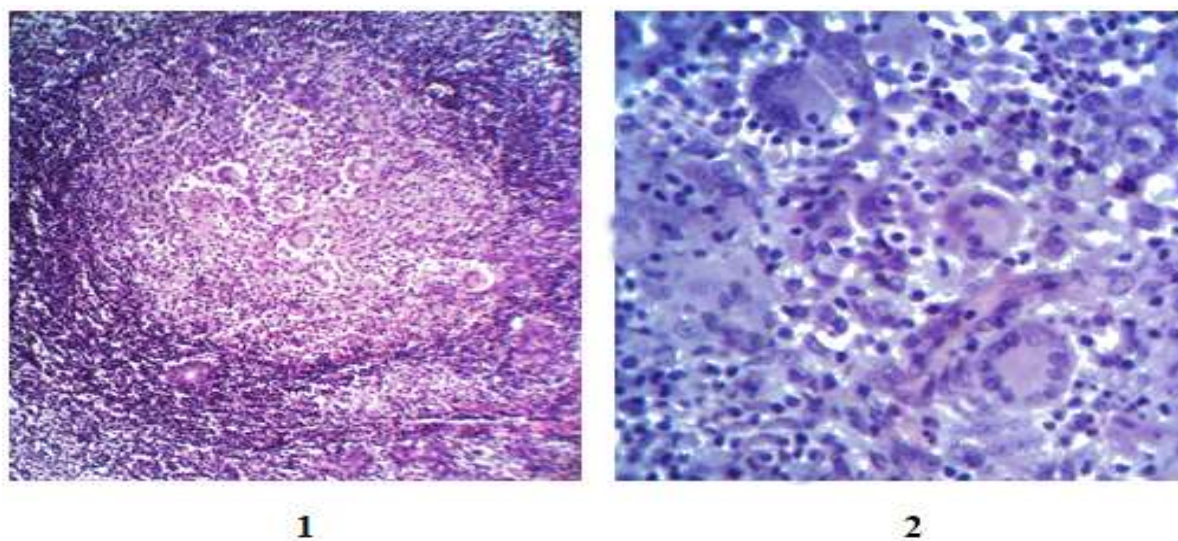


Рисунок 3.12 – Гранульома з гігантськими клітинами в тканині МЗ.
Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення 1 – $\times 100$, 2 – $\times 400$

При гістологічному дослідженні встановлено, що лейкоцити у стромальному компоненті у різних випадках займали різний відсоток площі пухлинного мікрооточення: від групованих утворень, не більше 10% стромы, до повного заміщення пухлинного мікрооточення імуноцитами.

Аналіз рівня запальної інфільтрації при різних гістологічних типах РМЗ виявив зростання імунної відповіді зі зниженням диференціювання раку. Було відзначено тенденцію до збільшення інфільтрації в разі зростання поліморфізму ракових клітин. Це свідчить про більш виражену реакцію макроорганізму у випадку прогресування анаплазії клітини. Чіткий взаємозв'язок між ступенем злоякісності ІПРМЗ і типом запального інфільтрату не виявлено ($p > 0,05$). Відмічалось поєднання наявності мінералізації в тканині МЗ та запальної інфільтрації, що вказує на реакцію з боку організму на чужорідний компонент, в якості якого виступають петрифікати та пухлинні клітини.

При вивченні рівня васкуляризації пухлинної тканини встановлено різний ступінь проростання раку судинами. Вони представлені як тонкостінними капілярами, так і більшими судинами, у вигляді венул та артеріол (рис. 3.13).

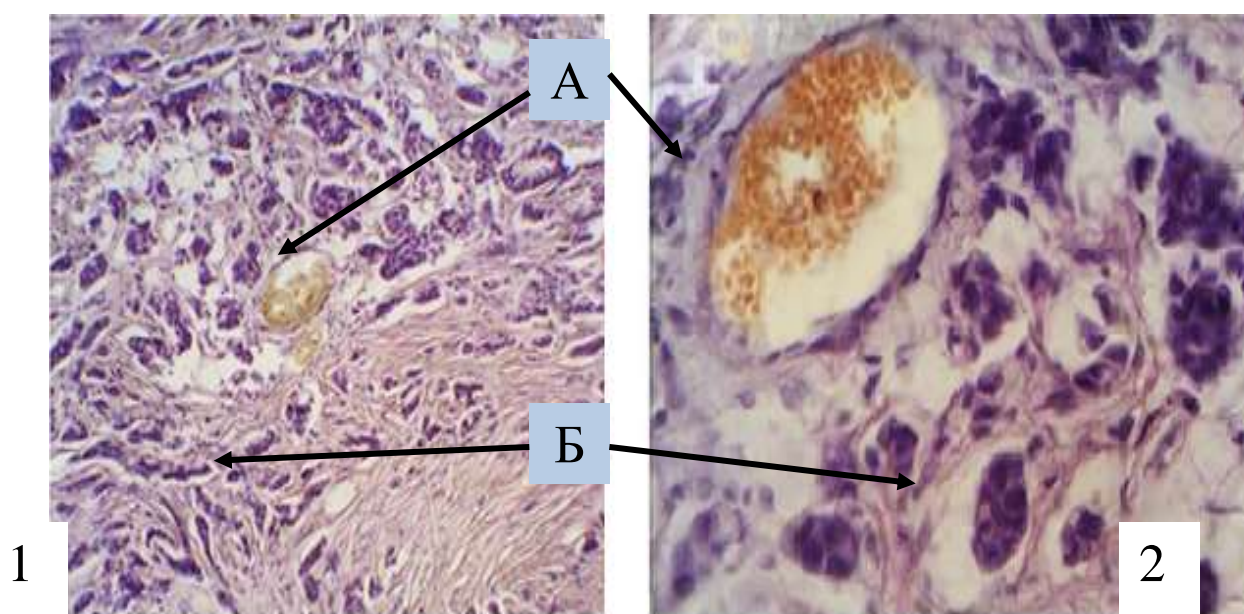


Рисунок 3.13 – ІПРМЗ помірного ступеня злоякісності. А – судини, Б – тканина раку. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення 1 – $\times 100$, 2 – $\times 400$

Процес васкуляризації виступає прогностично несприятливим маркером пухлинної прогресії, надаючи можливості раку до додаткового кровопостачання (надходження як поживних речовин, так і різних МЕ) та підвищуючи потенціал неоплазії до гематогенного розповсюдження.

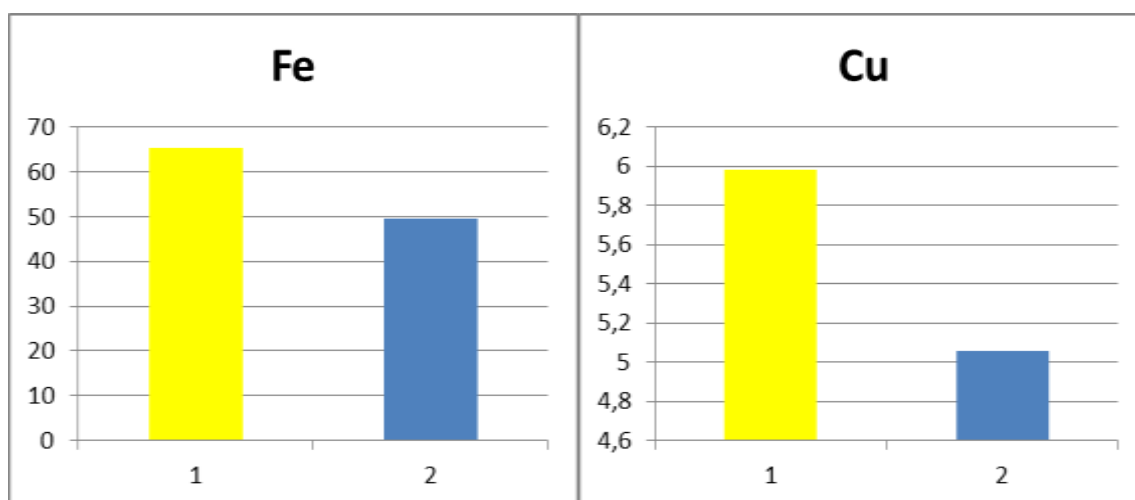
Встановлено позитивний кореляційний зв'язок між рівнем васкуляризації тканини та видом диференціювання пухлини ($r=0,46$).

Аналізуючи результати гістологічного та гістохімічного дослідження, можна зробити висновок, що ІПРМЗ супроводжується варіабельною морфологічною картиною, яка характеризується якісними та кількісними змінами, як паренхіматозного, так і стромального компонентів пухлини. Виявлено, що у жінок, які мешкають в «екологічно-забруднених» районах, значно частіше спостерігається ІПРМЗ з низьким ступенем диференціювання пухлини, який поєднується зі зростанням рівня патологічної мінералізації і васкуляризації неоплазії та активацією імунної відповіді з боку макроорганізму. Наявність взаємозв'язків між різними морфологічними характеристиками ракової тканини вказує на синхронність змін в пухлині при варіабельності одного з показників неопластичної тканини.

Наявність обідка мінералізації навколо конкрементів та активна відповідь з боку імунної системи є індикатором прогресування ІПРМЗ, за рахунок якого, як пухлина може впливати на якісні характеристики навколишнього мікрооточення, так і вони на перебіг злоякісного процесу.

3.2. Дослідження елементного складу тканини інфільтративного протокового раку молочної залози.

При визначенні мікроелементного складу тканини ППРМЗ жінок із «екологічно-забруднених» районів шляхом атомно-абсорбційної спектрофотометрії встановлено, що вміст заліза складає від 60,24 до 69,63мкг/г (в середньому $65,23 \pm 2,42$ мкг/г), міді – від 2,83 до 9,11мкг/г (в середньому $5,98 \pm 1,62$ мкг/г), хрому – від 1,45 до 3,66мкг/г (в середньому $2,56 \pm 0,62$ мкг/г), цинку – від 2,84 до 6,4мкг/г (в середньому $4,44 \pm 0,99$ мкг/г), свинцю – від повної відсутності до 0,6мкг/г (в середньому $0,11 \pm 0,089$ мкг/г) та нікелю – від 0,08 до 0,52мкг/г (в середньому $0,3 \pm 0,06$ мкг/г). У другій групі порівняння жінок з «екологічно-чистих» районів Сумської області спостерігалися значно нижчі показники вмісту зазначених МЕ у пухлинній тканині. Так кількість Fe складає від 38,46 до 65,39мкг/г (в середньому $49,56 \pm 5,81$ мкг/г), Cu – від 2,8 до 6,69мкг/г (в середньому $5,06 \pm 1,01$ мкг/г), Zn – від 1,89мкг/г до 5,38мкг/г (в середньому $3,88 \pm 0,89$ мкг/г), Cr – від повної його відсутності до 6,1мкг/г (в середньому $2,13 \pm 1,29$ мкг/г), Ni – від 0,11 до 0,42мкг/г (в середньому $0,28 \pm 0,067$ мкг/г) та Pb – від повної його відсутності до 0,19мкг/г (в середньому $0,098 \pm 0,06$ мкг/г) (рис. 3.14).



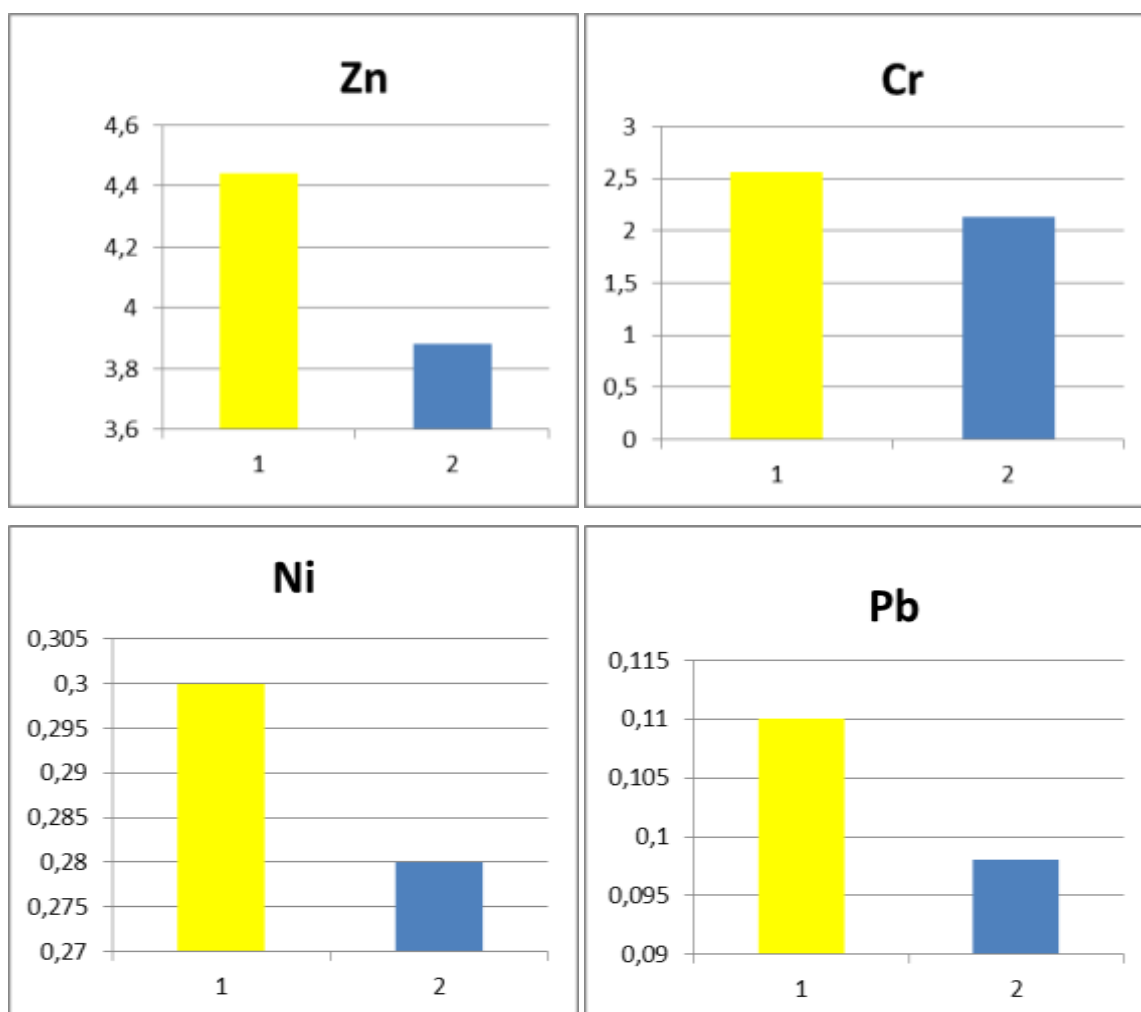


Рисунок 3.14 – Вміст ВМ у тканині ІПРМЗ (мкг/г)

Встановлено статистично достовірну різницю між накопиченням ВМ у двох групах тканин ($p < 0,05$). Загальна кількість ВМ в першій групі складає від 71,36 до 84,86 мкг/г (в середньому $78,63 \pm 3,47$ мкг/г), в другій групі – від 51,21 до 73,2 мкг/г (в середньому $61,02 \pm 5,77$ мкг/г). Як бачимо вміст вищезазначених елементів у групі порівняння на 22,4% менше за їх кількість у дослідницькій вибірці тканин.

Порівнюючи середні показники вмісту ВМ в пухлинній тканині між двома групами, виявлено, що кількість Fe у групі порівняння менше на 24% ($p = 0,001$), Cu – на 15,4% ($p = 0,002$), Cr – на 16,8% ($p = 0,016$), Zn – на 13,8% ($p = 0,005$), Pb – на 11,1% ($p = 0,026$) та Ni – на 9,3% ($p = 0,011$). Це підтверджує той факт, що з надходженням СВМ до організму жінок у підвищеній кількості з їжею та водою відбувається відкладання їх у тканинах макроорганізму, в тому числі і пухлинній тканині МЗ.

У МЗ без патологічних вогнищ та у віддалених метастазах кількість досліджуваних елементів була нижчою, у порівнянні з первинним вогнищем пухлини.

Встановлено взаємозв'язок ($r=0,62$, $p<0,05$) між накопиченням ВМ у вогнищах неоплазії і ступенем злоякісності РМЗ. Факт зростання концентрації МЕ в тканині ІПРМЗ з прогресуванням канцерогенезу можна пояснити порушенням механізмів регуляції засвоєння та утилізації ВМ пухлинними клітинами. Зростання рівня анаплазії ракових клітин призводить до блокування синтезу ферментів, які беруть участь в підтриманні внутрішньоклітинного гомеостазу епітеліоцитів. З іншого боку, підвищена кількість МЕ стимулює цей дисбаланс, підтримуючи зловісний вплив ВМ на перебіг злоякісного процесу.

Визначення елементного складу пухлинної тканини атомно-абсорбційною спектроскопією показує загальну кількість МЕ на грам досліджуваної тканини, але вона не дозволяє дослідити вміст цих елементів в різних структурних компонентах пухлини. З метою з'ясування просторових особливостей локалізації накопичення досліджуваних МЕ у раковій тканині проведено дослідження хімічного складу ІПРМЗ, який визначався енерго-дисперсійним методом на растровому електронному мікроскопі.

Процес визначення хімічного складу тканини МЗ відбувався у двох функціональних режимах: локальне сканування поверхні препарату при різному рівні збільшення зображення та вогнищеве сканування, з урахуванням мікроелементного складу у паренхіматозному на стромальному компонентах пухлини (рис. 3.15).

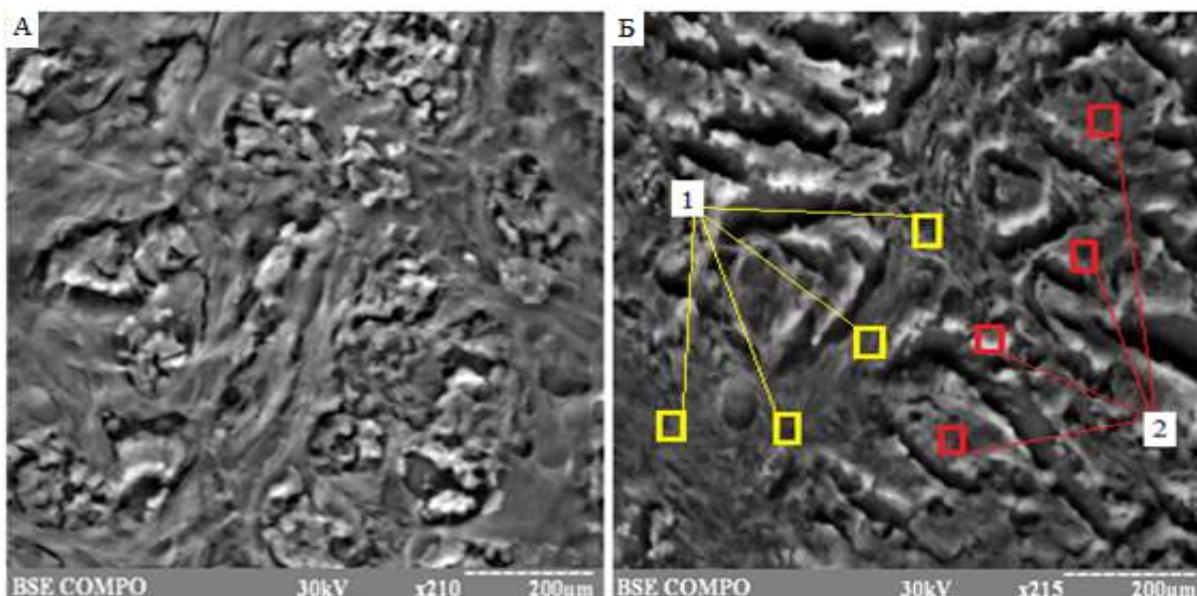


Рисунок 3.15 – Сканограми тканини ІПРМЗ. А – локальне сканування поверхні препарату (збільшення x210), Б – вогнищеве сканування (збільшення x215):

1-стромальний компонент пухлини, 2 – паренхіматозний компонент

Результати енерго-дисперсійної спектрометрії показують, що поряд з такими макроелементами, як кальцій, натрій, калій, фосфор, сірка та інші, які є обов'язковими складовими будь-якої тканини, в пухлинній тканині МЗ знаходились також такі ВМ як залізо, цинк, мідь, хром, нікель та сліди свинцю (рис. 3.16), що підтверджує виявлення їх методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії.

При дослідженні хімічного складу складових компонентів препаратів ІПРМЗ, розташованих на спектрально-чистому графіті, встановлено, що більше накопичує ВМ паренхіматозний компонент пухлинної тканини ($p < 0,05$). Пояснюється це тим, що саме клітини раку за рахунок порушення ендо-екзоцитозу хімічних речовин накопичують в середині МЕ, відповідно при зростанні їх кількості в судинах кровообігу (за рахунок підвищеного надходження СВМ до організму) може і зростати їх кількість всередині клітин. Підтвердженням цього є дані, отримані при порівнянні хімічного складу двох груп дослідження. Отримані результати показують, що вміст ВМ в першій групі на 15-25% більший за кількість їх у жінок з «екологічно-чистих» районів області.

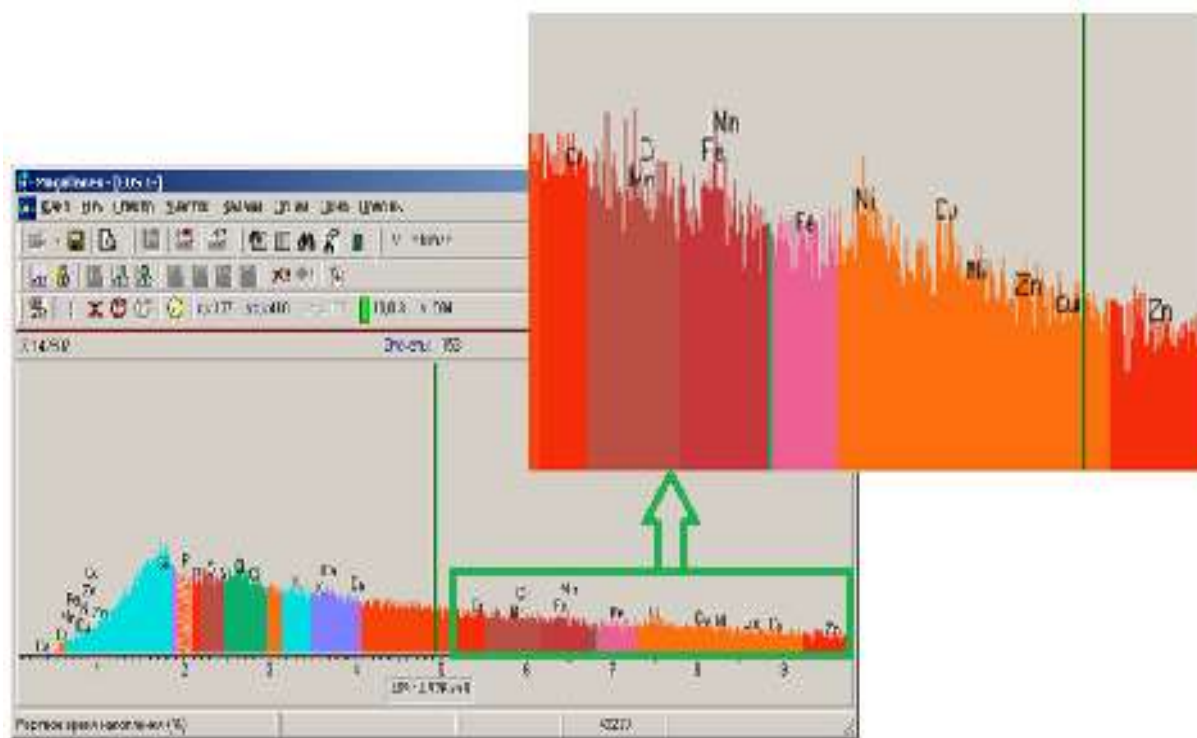


Рисунок 3.16 – Спектр хімічних елементів, виявлений під час енерго-дисперсійної спектрометрії

При порівнянні даних двох досліджень по виявленню хімічного складу тканини ІПРМЗ отримані ідентичні результати – при підвищенні концентрації ВМ в грамі пухлини, що виявляли атомно-абсорбційною спектрофотометрією, зростає їх відсоток вмісту, отриманим за допомогою енерго-дисперсійного методу дослідження ($p < 0,05$).

Проведена растрова електронна мікроскопія пухлинної тканини з мінералізатами виявила в них окремі та згруповані у вигляді брил відкладання солей кальцію. Вони також мають різні розміри та форму. Розташовувались у всіх компонентах пухлинної тканини (рис. 3.17).

Вивчення мікроелементного складу біомінералізату показало, що поряд з значним вмістом кальцію та фосфору у його структурі містяться такі мікроелементи як Fe, Zn, Cu, Cr та Ni (рис.3.18).

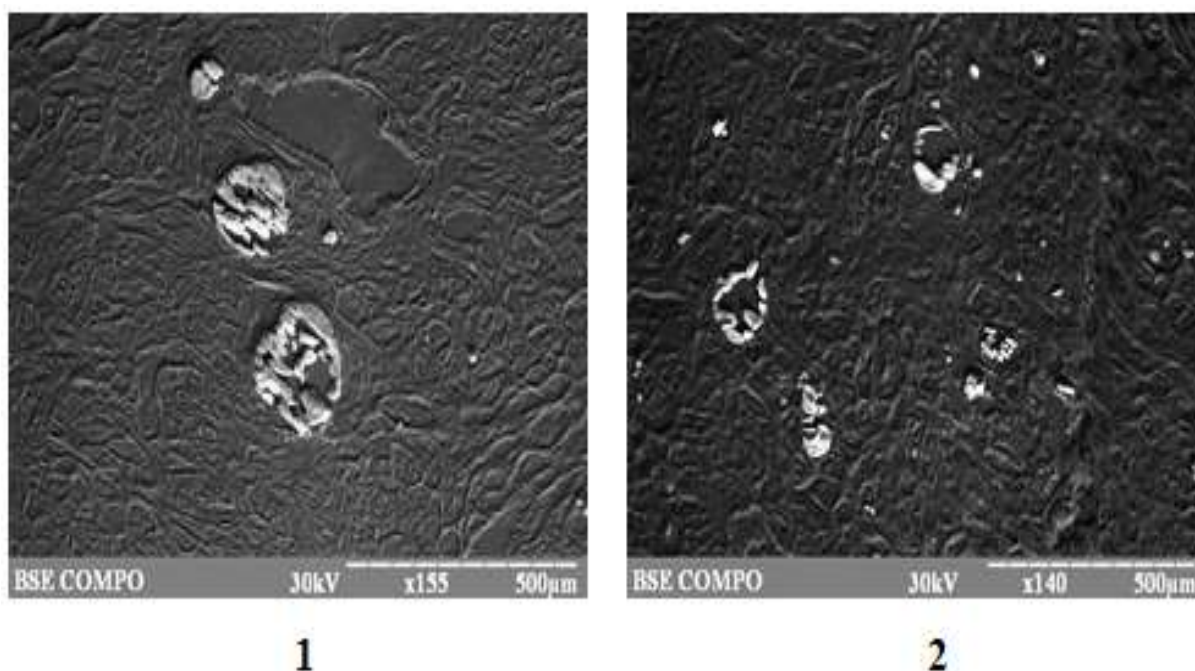


Рисунок 3.17 – Растрова електронна мікроскопія мінералізованої тканини ІПРМЗ при оптичному збільшенні $\times 155$ (1) та $\times 140$ (2)

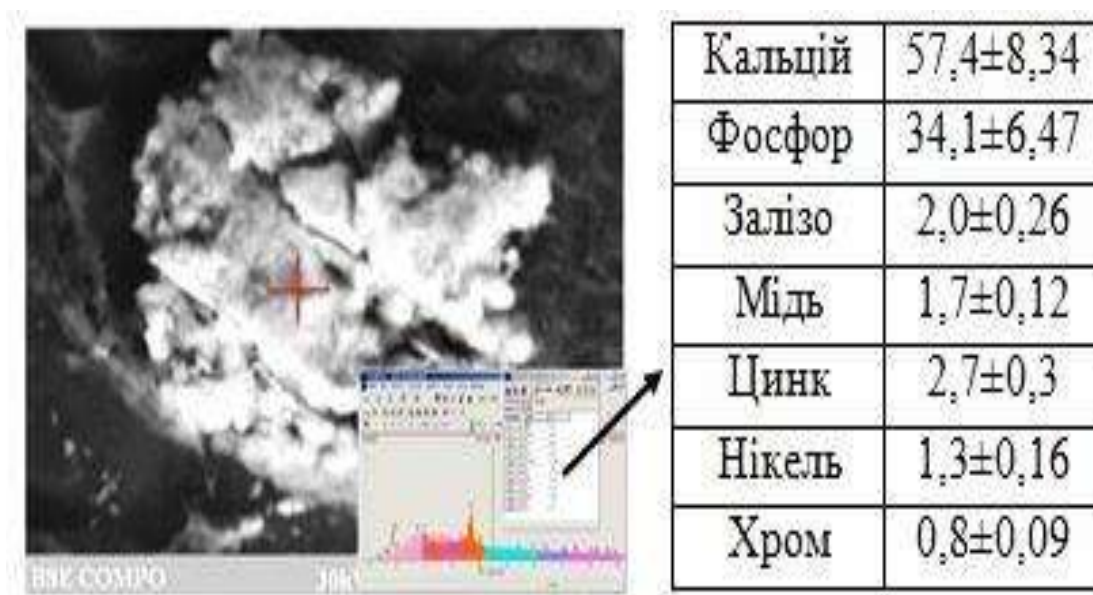


Рисунок 3.18 – Сканограма та хімічний склад біомінералізату.

Збільшення $\times 1360$

Враховуючи кальцієво-фосфорне співвідношення (за даними енерго-дисперсійної спектрометрії), яке дорівнює 1,56-1,73, можна стверджувати, що мінералізати пухлинної тканини є не що інше, як відкладання ГА. Присутність

вищезазначених ВМ у складі мінералізату говорить про здатність їх вступати у взаємозв'язки з молекулами ГА. В цьому випадку можна припустити, що такі МЕ як Fe, Zn, Cu, Cr та Ni заміщують іони кальцію у молекулі ГА.

При порівнянні імунної реакції в навколопухлинному просторі з мікроелементним складом пухлинної тканини встановлено синхронне зростання показників ($r=0,19$, $p=0,034$), що може вказувати на участь ВМ в ініціюванні та пролонгації запальної інфільтрації тканини ІПРМЗ.

Аналізуючи результати атомно-абсорбційної спектрофотометрії та енерго-дисперсійної спектрометрії, можна констатувати факт наявності ВМ у складі пухлин МЗ. Істотна відмінність у їх кількості у двох групах дослідження вказує на вплив навколишнього середовища на рівень вмісту цих елементів у неопластичній тканині.

Наявність взаємозв'язків між кількістю ВМ у тканині ІПРМЗ та ступенем диференціювання пухлин і рівнем імунної відповіді вказує на участь підвищеного екзогенного надходження СВМ у прогресуванні неопластичного процесу.

Дані, стосовно вивчення складу мінералізатів, показали, що вони представлені ГА, і до їх складу також входять ВМ, що слугує доказом участі останніх у прогресуванні патологічної біомінералізації неопластичної тканини МЗ.

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

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

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

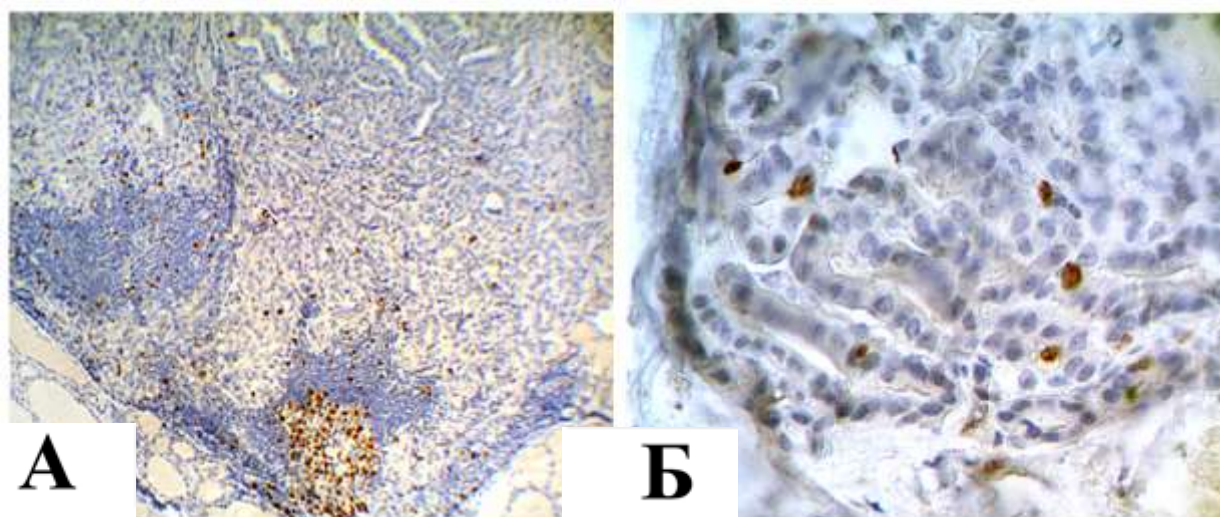


Рисунок 3.18 – Імуногістохімічне дослідження експресії білка Кі-67 в тканині ПРЦЗ з явищами біомінералізації. А – експресія Кі-67 в переважно лімфоцитах, слабка реакція у пухлинних клітинах; Б – помірнопозитивна реакція Кі-67 в тканині ПРЦЗ. Дофарбовування гематоксиліном Майєра. Збільшення x400

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

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

Оцінка імуногістохімічної експресії Кі-67 у тканині ПРЦЗ II групи показала позитивну імуногістохімічну реакцію білка Кі-67 у всіх досліджуваних випадках (табл. 3.7). Пухлинна тканина за своїм проліферативним потенціалом переважає над навколишніми інтактними тканинами ЦЗ. Кі-67-позитивні клітини локалізувалися в

пухлинних псевдофолікулах та сосочках (рис 3.18 Б). Кількість випадків із слабо позитивним забарвленням ядер пухлинних клітин ПРЦЗ без явищ мінералізації дорівнювало 6 (20%), що відповідало такому ж показнику I групи. Тільки у 3 випадках ПРЦЗ (10%) відзначалась сильнопозитивна імуногістохімічна експресія Кі-67 (рис 3.19 А). Основну масу у II групі ПРЦЗ складала зразки з помірнопозитивною реакцією - 21 (70%) (табл. 3.7).

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

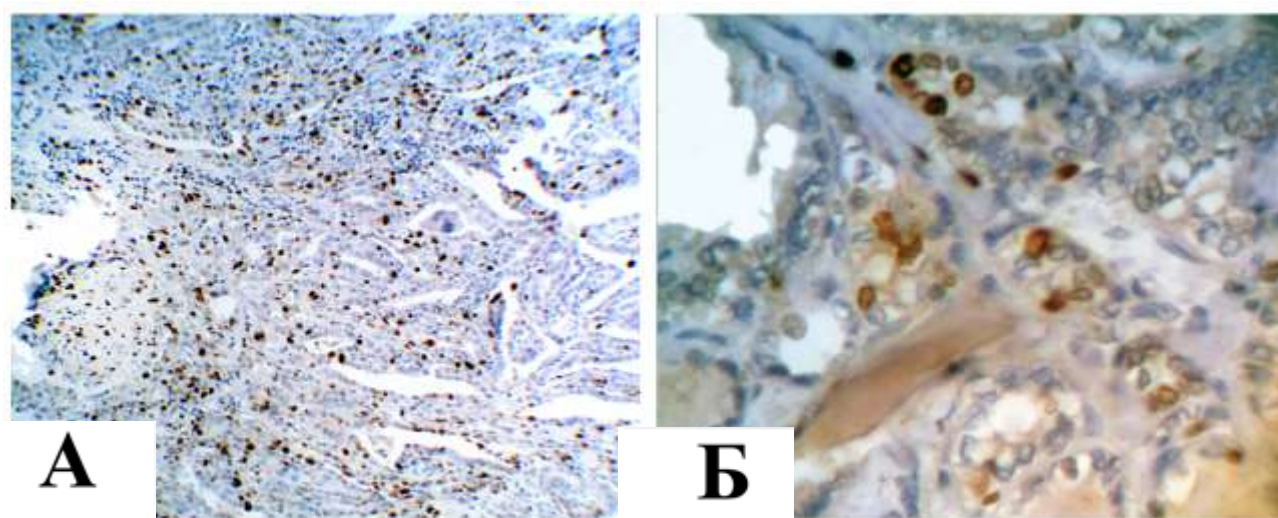


Рисунок 3.19 – Імуногістохімічне дослідження експресії Кі-67 в тканині ПРЦЗ без біомінералізації. А – помірна експресія білка Кі-67, зб. х400; Б – сильнопозитивна реакція Кі-67 в ядрах пухлинних клітин ПРЦЗ, зб. х100. Дофарбовування гематоксином Майєра

Сімейство білків bcl-2 складають 17 клітинних білків, які мають широкий спектр активності відносно апоптотичних процесів. Субсімейство близьких до bcl-2 за морфологією білків (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w та ін.) пригнічують апоптоз, в той час як білки субсімейств Вах и ВНЗ активують апоптотичні процеси. Функціональна різниця між близькими за структурою молекулами цього сімейства білків полягає у впливі на вивільнення цитохрому С з мітохондрій. Вах та близькі до нього білки

формують канали в мембрані мітохондрій, через які в цитоплазму клітини виходить цитохром С. Білки-антагоністи bcl-2 та bcl-XL пригнічують вивільнення цитохрому С шляхом зниження здатності білка Вах до формування каналів. Крім того, Bcl-2 та Bcl-XL здатні безпосередньо зв'язувати цитохром С і витіснити його з апоптосом, попереджуючи таким чином активацію каспаз.

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

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

Для білка Вах характерна цитоплазматична локалізація. Експресія гену Вах регулюється білком p53, що показує його залучення до p53-опосередкованого апоптозу.

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

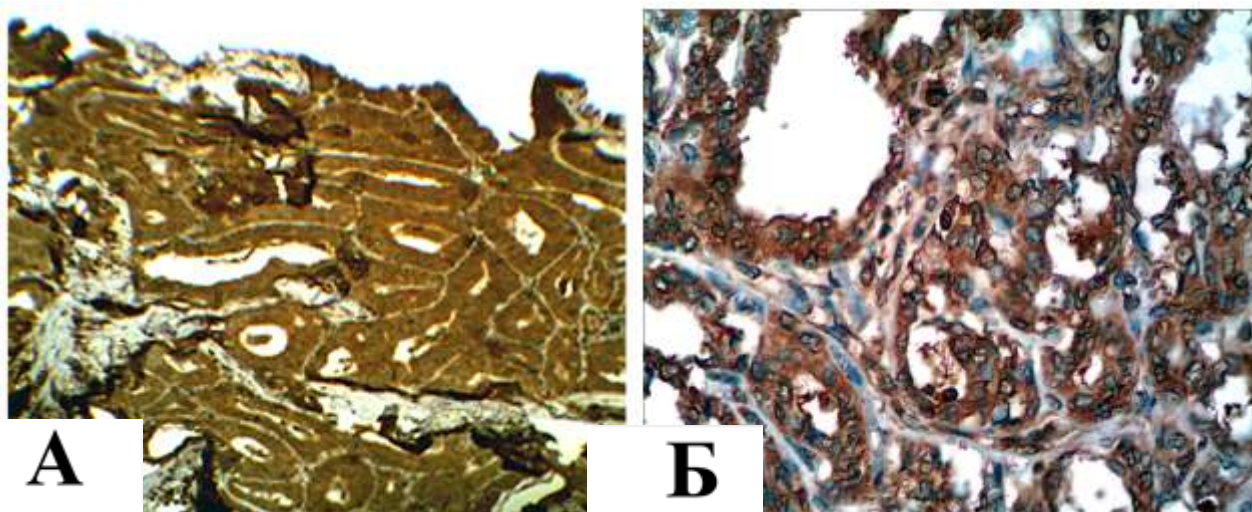


Рисунок 3.20 – Імуногістохімічне дослідження експресії вах в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка вах, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція вах у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра

Таблиця 3.8 - Експресія білка вах в цитоплазмі клітин ПРЦЗ I групи

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

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

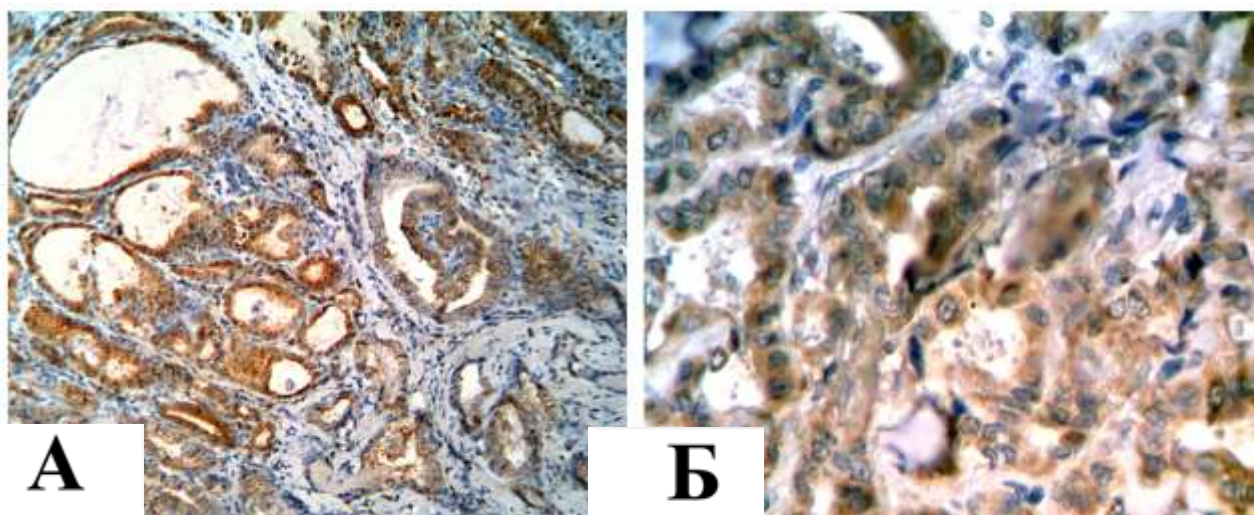


Рисунок 3.21 – Імуногістохімічне дослідження експресії *vax* в тканині ПРЦЗ без ознак мінералізації. А – помірна експресія білка *vax*, зб. $\times 100$; Б – помірно-позитивна реакція *vax* у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. $\times 400$. Дофарбовування гематоксиліном Майєра

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

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

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

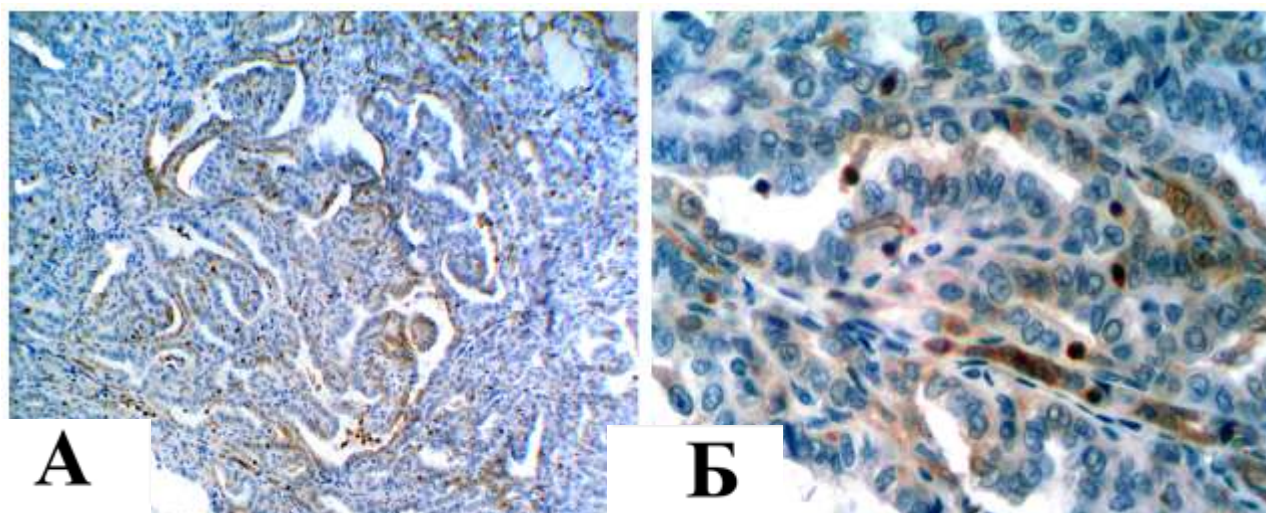


Рисунок 3.22 - Імуногістохімічне дослідження експресії bcl-2 в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – слабка експресія білка bcl-2, зб. x100; Б – помірнопозитивна реакція bcl-2 у цитоплазмі окремих клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра.

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

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

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

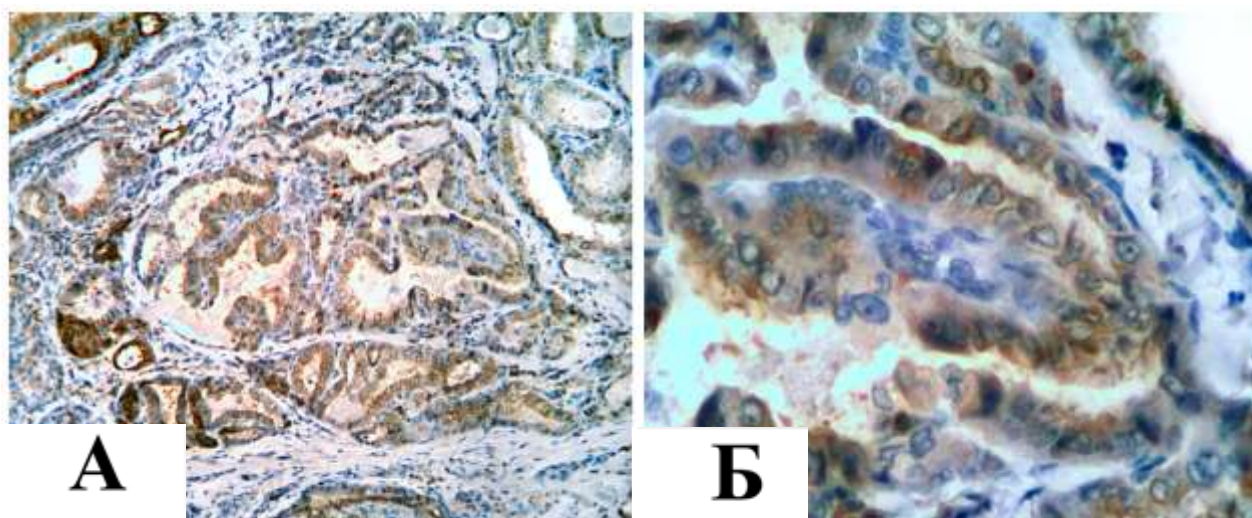


Рисунок 3.23 – Імуногістохімічне дослідження експресії bcl-2 в тканині ПРЦЗ без ознак мінералізації. А – помірна експресія білка bcl-2, зб. x100; Б – помірно-позитивна реакція bcl-2 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400.

Дофарбовування гематоксилином Майєра

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

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

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

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

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

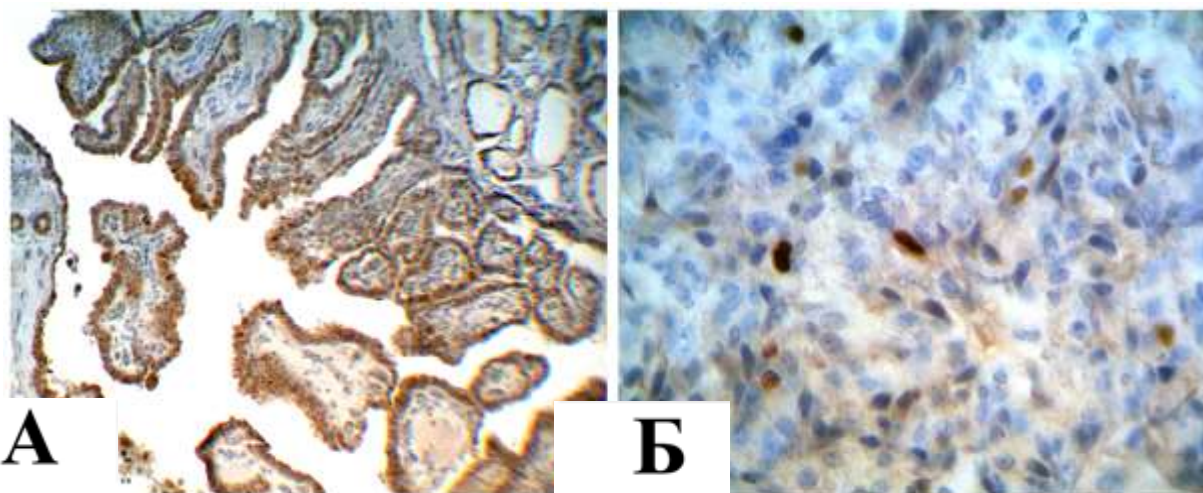


Рисунок 3.24 – Імуногістохімічне дослідження експресії p53 в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка p53, зб. x100; Б – слабкопозитивна реакція p53 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра

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

При порівнянні результатів бальної оцінки імуногістохімічного дослідження експресії p53 в тканині ПРЦЗ за наявності ($3,5 \pm 0,31$) та відсутності ($3,7 \pm 0,35$) явищ біомінералізації, показують факт відсутності достовірної різниці рівнів експресії цього маркера проліферації ($p > 0,42$).

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

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

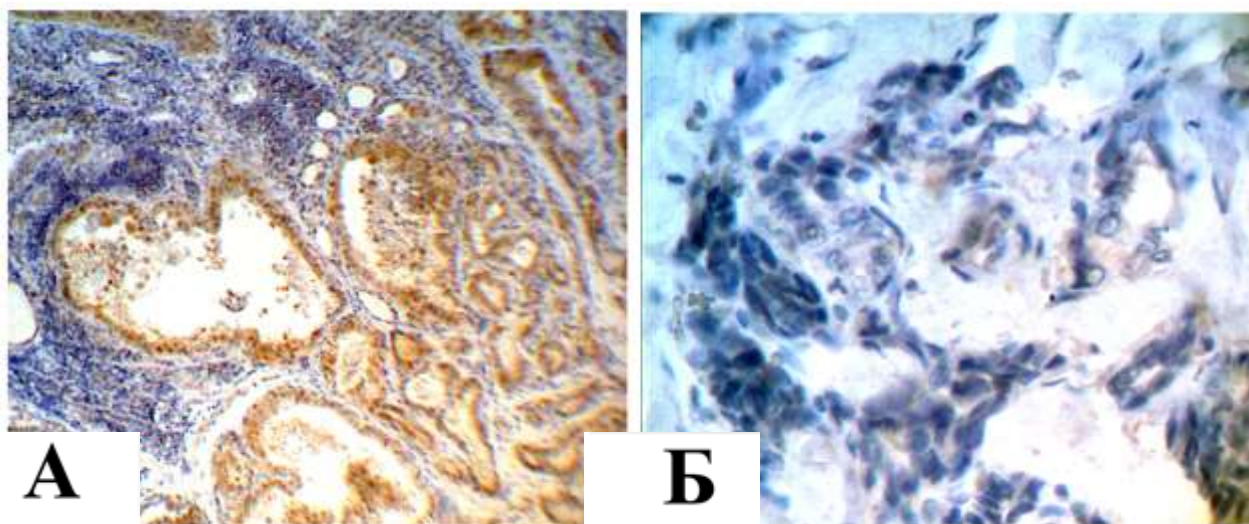


Рисунок 3.25 – Імуногістохімічне дослідження експресії p53 в тканині ПРЦЗ без ознак мінералізації. А – помірна експресія білка p53, зб. x100; Б – негативна реакція p53 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра

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

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

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

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

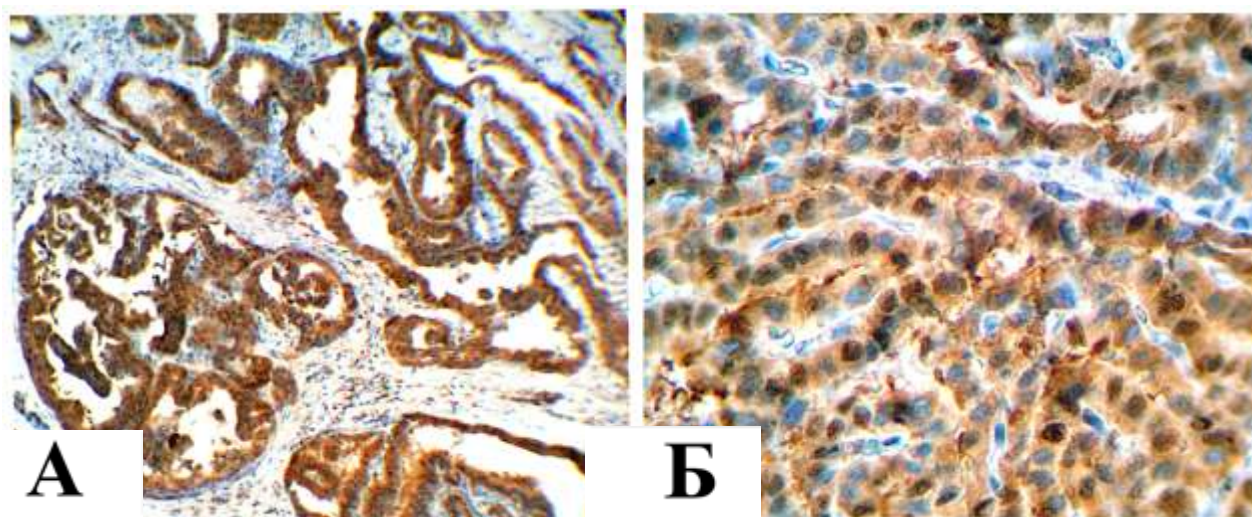


Рисунок 3.26 – Імуногістохімічне дослідження експресії OPN в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка OPN, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція OPN у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра

Таблиця 3.14 – Експресія білка OPN в клітинах ПРЦЗ I групи

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

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

очевидно, ґрунтується на молекулярній схожості глікопротеїнів колоїду та OPN (рис. 3.27).

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

Таблиця 3.15 – Експресія білка OPN в клітинах ПРЦЗ II групи

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

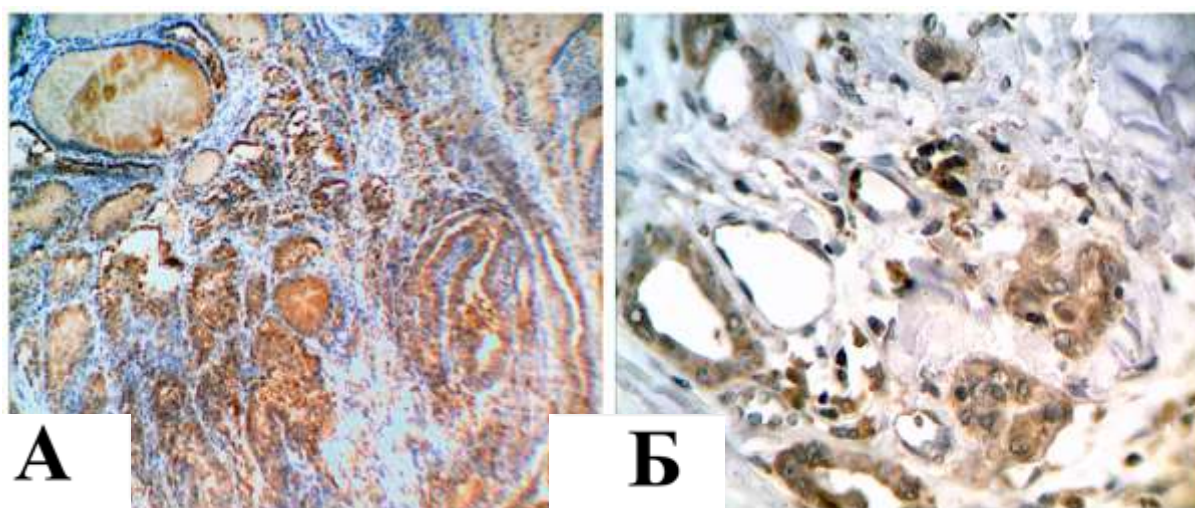


Рисунок 3.27 – Імуногістохімічне дослідження експресії OPN в тканині ПРЦЗ без ознак біомінералізації. А – слабка експресія білка OPN, зб. x100; Б – помірнопозитивна реакція OPN у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400.

Дофарбовування гематоксилином Майєра

Матриксна металопротеїназа 1 (ММР1) відносяться до сімейства цинквмісних металопротеїназ, маючи в активному центрі Zn^{2+} [129]. У пухлинній тканині ММР1, руйнуючи колаген, розщеплює екстрацелюлярний матрикс, що сприяє процесам інвазивного росту та метастазування злоякісних клітин [22]. Таким чином, експресія ММР1 відноситься до прогностично несприятливих факторів, характеризуючи інвазивну спроможність пухлини та її метастатичний потенціал.

У ході імуногістохімічного дослідження виявлено, що переважна частина зразків «мінералізованих» ПРЦЗ має сильно- та помірно виражену експресію ММР1: у 8 (26,67%) та 10 випадках (33,33%) відповідно (рис. 3.28). Головною локалізацією експресії білка була цитоплазма пухлинних клітин, крім цього імуногістохімічне забарвлення спостерігалось і в клітинах пухлинного мікрооточення (фібробластах, макрофагах). Також у 6 випадках ПРЦЗ були виявлені слабо позитивна реакція (20%), а в інших 6 зразках (20%) експресія ММР1 оцінювалася як негативна (табл. 3.16).

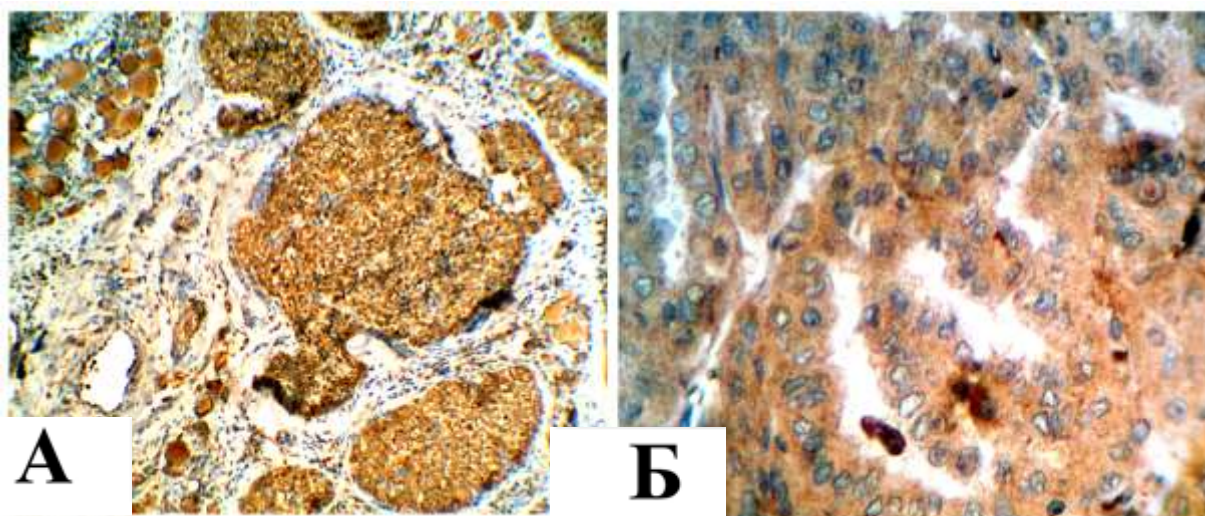


Рисунок 3.28 – Імуногістохімічне дослідження експресії ММР1 в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка ММР1, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція ММР1 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400.

Дофарбовування гематоксилином Майєра

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

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

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

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

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

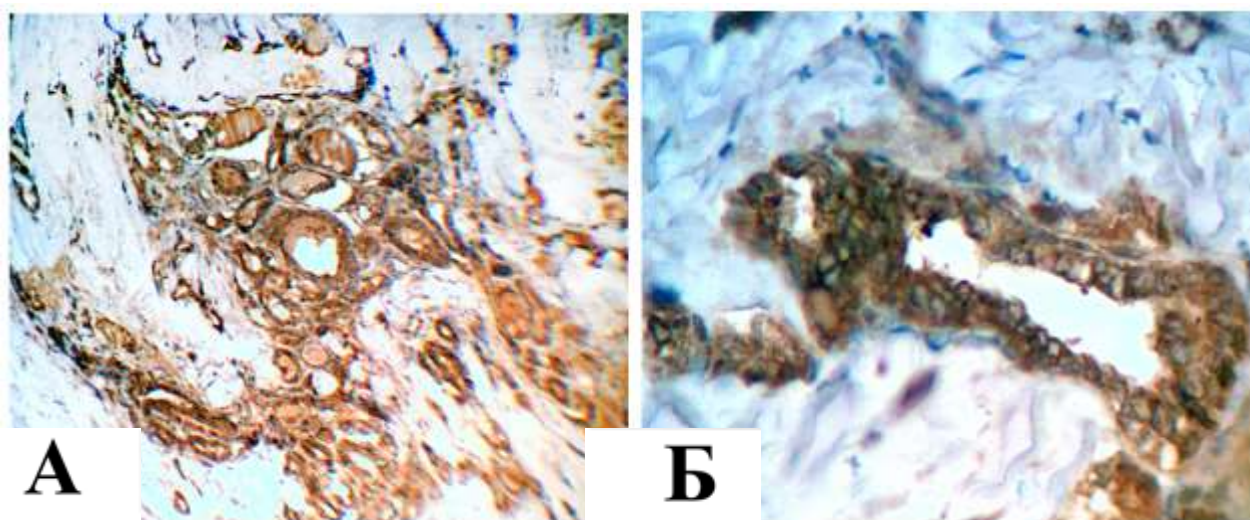


Рисунок 3.29 – Імуногістохімічне дослідження експресії MMP1 в тканині ПРЦЗ без ознак біомінералізації. А – виражена експресія білка MMP1, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція MMP1 у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400.

Дофарбовування гематоксилином Майєра

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

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

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

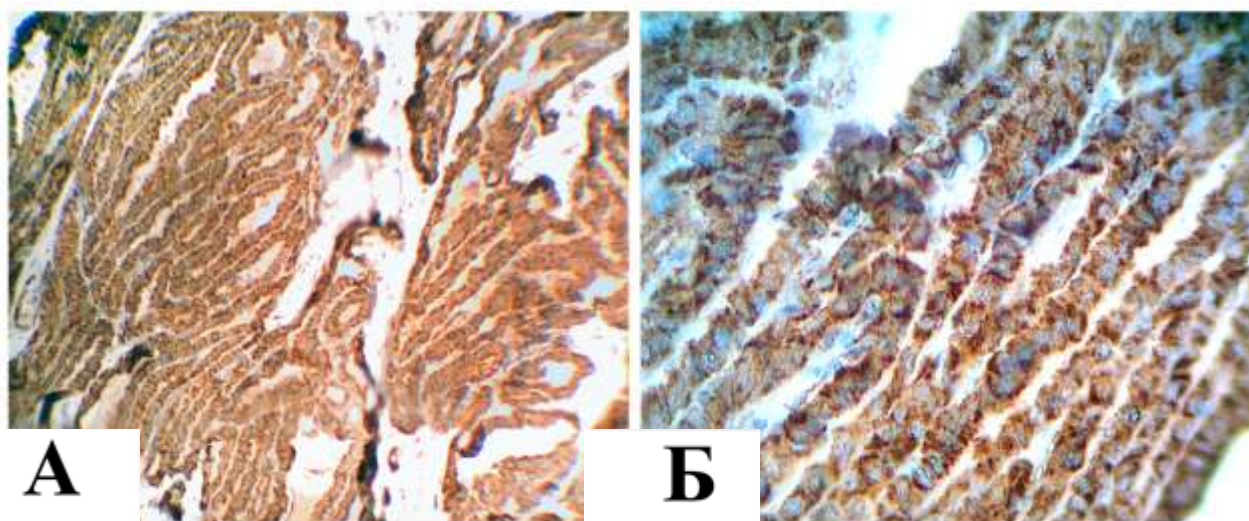


Рисунок 3.30 – Імуногістохімічне дослідження експресії VEGF в тканині ПРЦЗ з біомінералізацією. А – виражена експресія білка VEGF, зб. x100; Б – сильнопозитивна реакція VEGF у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400. Дофарбовування гематоксиліном Майєра

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

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

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

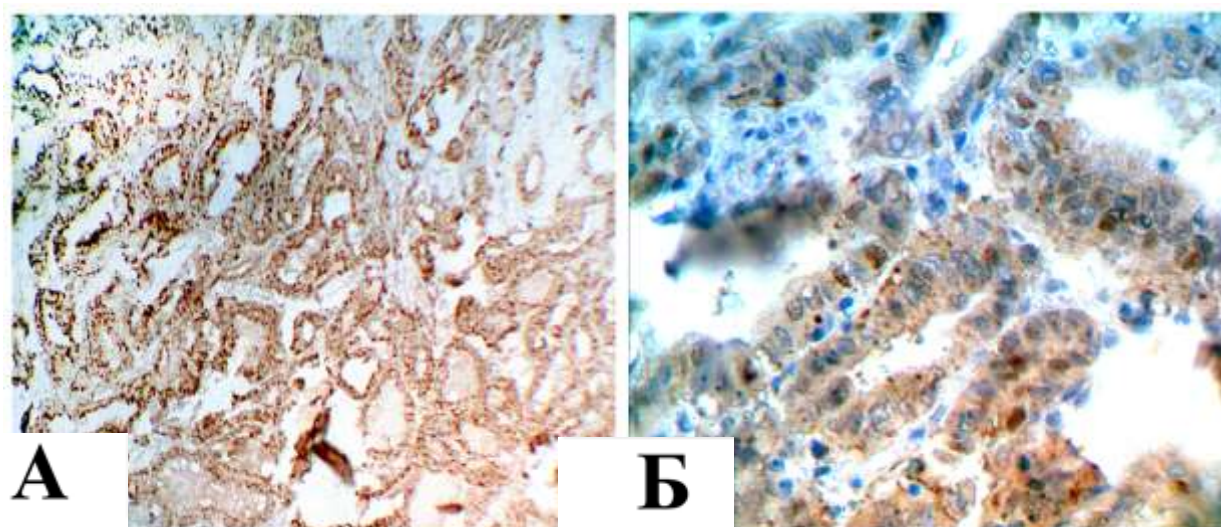


Рисунок 3.31 – Імуногістохімічне дослідження експресії VEGF в тканині ПРЦЗ без ознак біомінералізації. А –слабка експресія білка VEGF, зб. x100; Б – помірнопозитивна реакція VEGF у цитоплазмі клітин ПРЦЗ, зб. x400.

Дофарбовування гематоксилином Майєра

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Аналіз даних вивчення мікрморфометричних показників посмугованих м'язів молодих щурів показав, що після першого місяця експерименту значення у групі, що отримували препарат-коректор, істотно не відрізнялися від тварин інтактної серії. Після другого місяця ШЕ та ПППВ були достовірно меншими в особин, які отримували фармакологічний препарат, ніж у щурів, які вживали лише солі важких металів (на 9,96 % та 7,89 % відповідно, ($p \leq 0,05$)). Ще істотнішими виявилися зміни після останнього місяця експерименту. ДМВ у молодих щурів, які отримували коректор, був меншим на 6,14 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати із тваринами, яким коректора не давали. ШЕ була меншою на 12,42 % ($p \leq 0,05$), ШП – на 9,08 % ($p \leq 0,05$) у серії тварин, що отримували Мексикор® (рис. 3.4.1). Значення співвідн. І виявилось також достовірно меншим на 6,69 % ($p \leq 0,05$). ПППВ посмугованих м'язів молодих щурів, які на фоні інтоксикації вживали коректор, був меншим на 11,9 %, якщо порівнювати із тваринами, яким препарат не давали ($p \leq 0,05$).

Щодо морфометричних показників гемомікроциркуляторного русла, то після третього місяця експерименту у тварин, які отримували медикаментозну корекцію, ДК виявився на 9,07 % більшим, ніж у тварин, які вживали лише солі металів ($p \leq 0,05$). ДВ, навпаки, був у тварин із корекцією на 7,85 % меншим ($p \leq 0,05$). ДА виявився на 4,06 % більшим, ніж у групі порівняння, проте ці зміни не мали статистичної значущості ($p > 0,05$). Однак, АВК зріс на 12,92 % ($p \leq 0,05$).

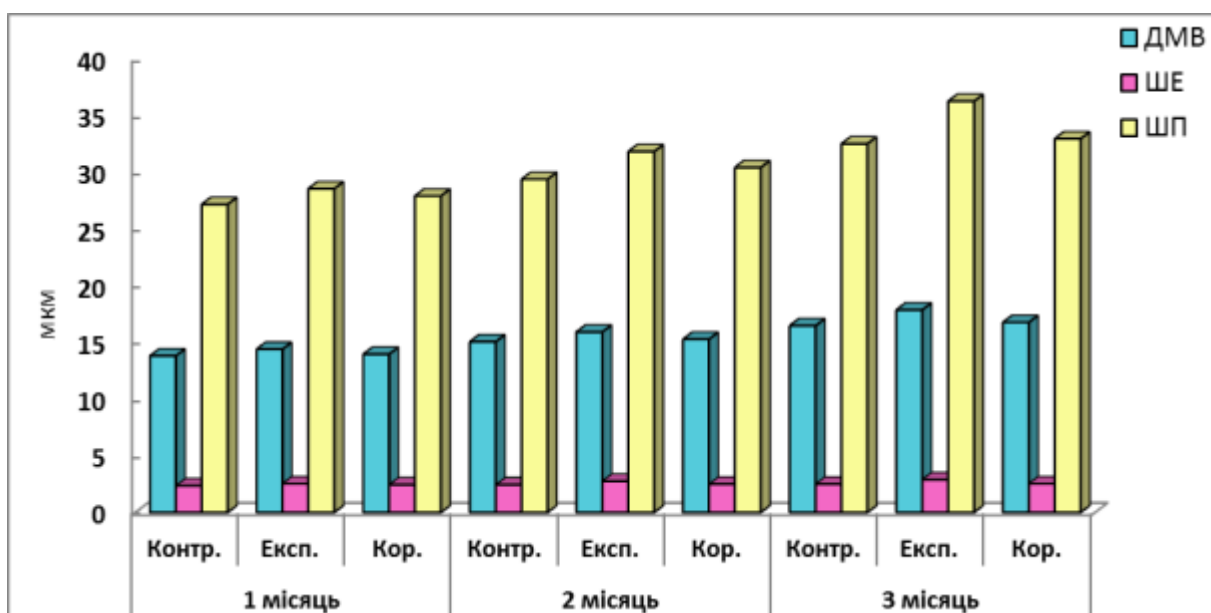


Рисунок 3.4.1 – Співвідношення гістоморфометричних параметрів посмугованих м'язів щурів молодого віку контрольної серії, експериментальної групи та групи тварин, які отримували препарат Мексикор®

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

Вивчення ультрамікроскопічних параметрів уже після першого місяця дослідження дало змогу встановити, що показники ОЯМ і ОМ у щурів, які отримували препарат-коректор, були статистично значуще меншими, ніж у тварин, які вживали лише воду із солями цинку, хрому та свинцю (на 6,14 % ($p \leq 0,05$) та 6,41 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Після другого місяця експерименту ОЯМ виявився меншим на 8,77 % ($p \leq 0,05$) а ОМ – на 10,72 % ($p \leq 0,05$), ніж у групі без препарату. Достовірними виявилися зміни ПМ, яка на цьому етапі у серії тварин з корекцією була меншою на 7,69 % ($p \leq 0,05$), ніж у серії щурів, які медикаментозної підтримки не отримували.

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

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

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

Гiстологiчне дослiдження зразкiв скелетних м'язiв щурiв зрiлого вiку лише пiсля третього мiсяця експерименту показало наявнiсть певної кiлькостi набряклих та деформованих м'язових волокон. Їх зовнiшнiй контур мав хвилястий вигляд, ядра в цитоплазми розмiщувалися здебiльшого по периферiї симпласта, проте траплялися

і такі, що знаходилися ближче до центру. Прошарки ендомізія та перимізія виглядали дещо розширеними, містили повнокровні венули та капіляри. Крововиливів не спостерігалось.

Аналіз даних мікроморфометричного аналізу латеральної голівки триголового м'яза литки щурів порівнюваних груп виявив відсутність значущих змін після першого місяця дослідження. Після другого місяця достовірні зміни виявилися лише під час розрахунку АВК. Так, у щурів, які отримували медичну корекцію, цей показник був на 7,66 % вищим, ніж у тих, які вживали лише солі металів ($p \leq 0,05$). Більш виражені зміни мікроскопічних параметрів посмугованих м'язів зрілих щурів були встановлені після третього місяця експерименту. У тварин, які отримували фармакологічну протекцію, ДМВ зменшився на 6,41 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 11,32 % ($p \leq 0,05$), ШП – на 7,17 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.4.2), ПППВ – на 12,41 % ($p \leq 0,05$), ДВ – на 7,18 % ($p \leq 0,05$), якщо порівнювати із групою щурів, які вживали лише солі важких металів. ДК у серії щурів, які отримували Мексикор®, був більшим на 9,17 % ($p \leq 0,05$), АВК – на 11,09 % ($p \leq 0,05$), порівняно з відповідними показниками групи тварин, які вживали солі металів.

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

Аналіз ультрамікроморфометричних показників показав відсутність достовірних змін у шуканих параметрах між групами порівняння після перших двох місяців експерименту. Після тримісячного терміну дослідження у щурів, які отримували поряд із солями металів медичний коректор, значуще меншими виявилися значення ПЯМ (на 5,61 %, $p \leq 0,05$), ОЯМ (на 7,74 %, $p \leq 0,05$), ПМ (на

5,23 %, $p \leq 0,05$), ОМ (на 7,29 %, $p \leq 0,05$), якщо порівнювати з відповідними показниками у групі, у якій не вживали коректора.

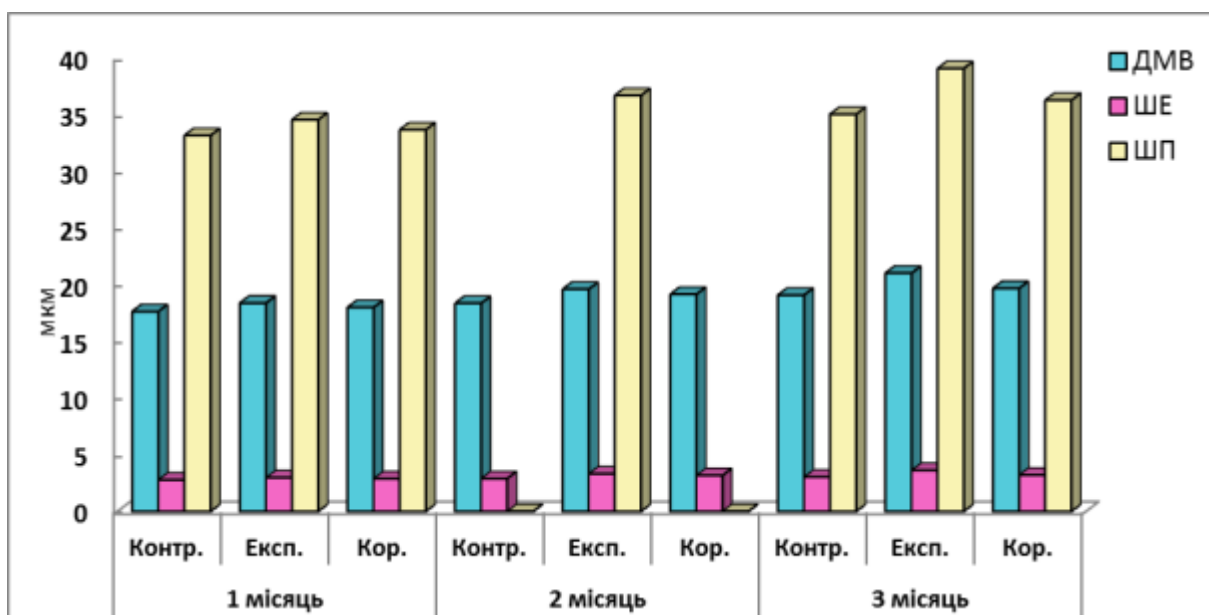


Рисунок 3.4.2 – Співвідношення гістоморфометричних параметрів посмугованих м'язів щурів зрілого віку контрольної серії, експериментальної групи та групи тварин, які отримувала препарат Мексикор®

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

Вивчення органометричних параметрів латеральної голівки триголового м'яза литки щурів регресивного віку дало змогу встановити доволі незначну кількість достовірних відмінностей у зазначених показниках між групами з коректором і без нього. Так, лише після третього місяця дослідження у серії щурів, які на фоні інтоксикації солями важких металів вживали медичний препарат, АОМ та ПППМ виявилися значуще меншими (на 7,18 % і 5,87 % відповідно ($p \leq 0,05$)), ніж у тварин, які отримували лише солі металів. Показник ЦМ у тварин із коректором у раціоні був більшим на 10,06 % ($p \leq 0,05$), ніж у щурів, які піддавалися лише інтоксикації.

Вивчення зразків скелетних м'язів щурів старечого віку, які вживали солі важких металів на фоні приймання фармакологічного коректора, показало наявність змін гістологічної структури після другого і третього місяців. Так, м'язові волокна виглядали дещо набряклими, вкороченими та деформованими. Траплялися місця розщеплення волокон сполучною тканиною. Остання мала гарний розвиток і чітко розмежовувала кожне волокно та групи волокон. Ядра симпласта мали різну форму й забарвлення, проте майже завжди розміщувались по периферії саркоплазми (рис. 3.4.3).

Щодо судинного компонента скелетних м'язів щурів старечого віку, які отримували разом із солями металів фармакологічний коректор, то після другого місяця експерименту відзначалося розширення стінок дрібних та середніх судин за рахунок підвищення кількості елементів сполучної тканини в них. Також у просвіті багатьох судин спостерігалось значне скупчення формених елементів крові, їх стаз (рис. 3.4.3).

Після першого місяця експерименту шукані гістоморфометричні параметри та індекси істотно не відрізнялися між групами порівняння. Після другого місяця дослідження достовірних відмінностей зазнав лише АВК, який у тварин, які разом із солями металів отримували Мексикор®, виявився більшим на 7,06 % ($p \leq 0,05$), ніж у щурів, які вживали лише солі хрому, свинцю та цинку. Більш істотними гістологічні зміни у тварин старечого віку виявилися після останнього місяця експерименту. У тварин, які отримували фармакологічний захист, ДМВ був меншим на 4,19 % ($p \leq 0,05$), ШЕ – на 7,59 % ($p \leq 0,05$), ШП – на 6,18 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3.4.4).

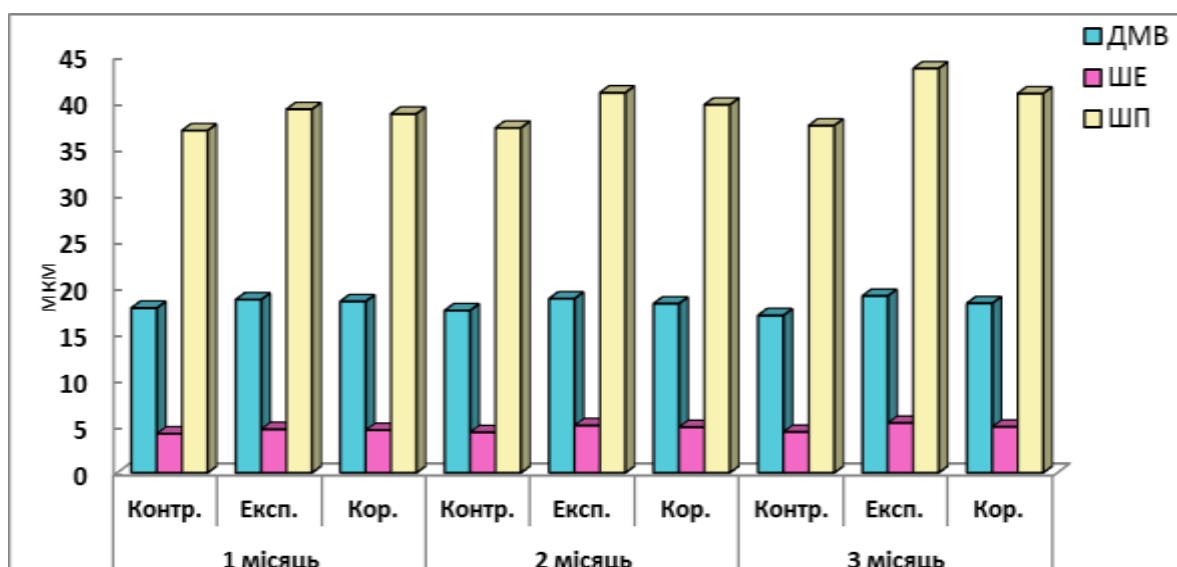


Рисунок 3.4.4 – Співвідношення гістоморфометричних параметрів посмугованих м'язів щурів старечого віку контрольної серії, експериментальної групи та групи тварин, які отримували препарат Мексикор®

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

Аналіз посмугованих м'язів старечих тварин за допомогою електронної мікроскопії показав наявність морфологічних змін у тварин, які отримували коректор лише після третього місяця експериментального дослідження. Проте необхідно зауважити, що вираженість зазначених змін мала набагато менший ступінь, ніж при аналізі препаратів щурів старечого віку, які не отримували коректор. Скорочувальний апарат міосимпласта містив поодинокі вогнища контрактур, деформації та дезорганізації за збереження своєї цілісності (рис. 3.4.5).

Ядра та мітохондрії були гідропічними. Хроматин мав звичайний вигляд, кристи мітохондрій – деформовані. У саркоплазмі розміщувалися скупчення вакуолей та поодинокі лізосоми. Саркотубули виглядали дещо дилатованими, проте не мали ділянок розриву. Сателітоцити мали нормальний розмір і розміщувались під базальною мембраною міоцитів.

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

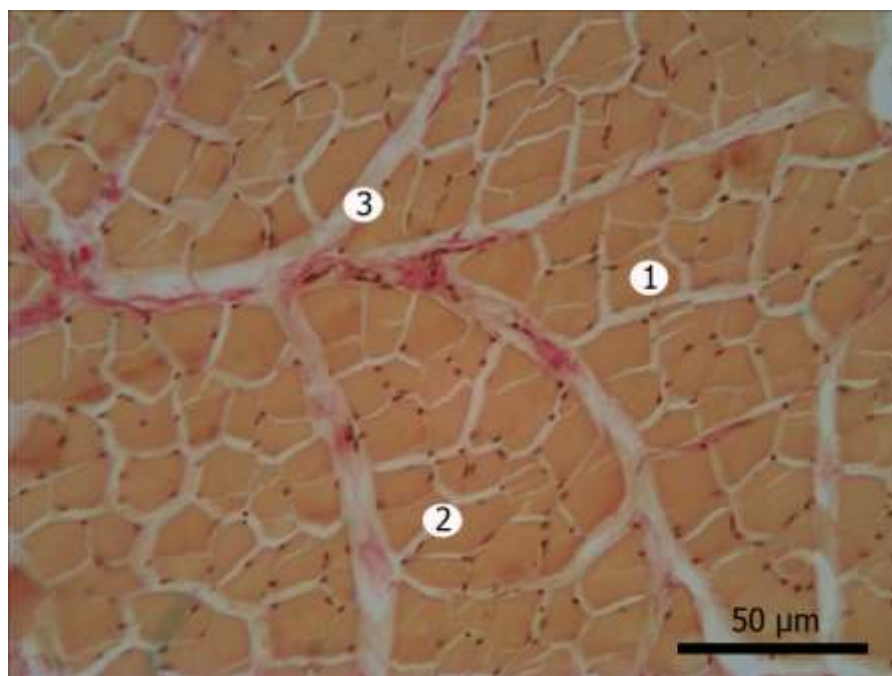


Рисунок 3.4.3 – Скелетний м'яз щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr і протектор Мексикор®. Поперечний зріз. Розширення сполучнотканинних прошарків, набряк та деформація м'язових волокон, повнокров'я судин. Забарвлення за Ван-Гізоном: 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – перимізій

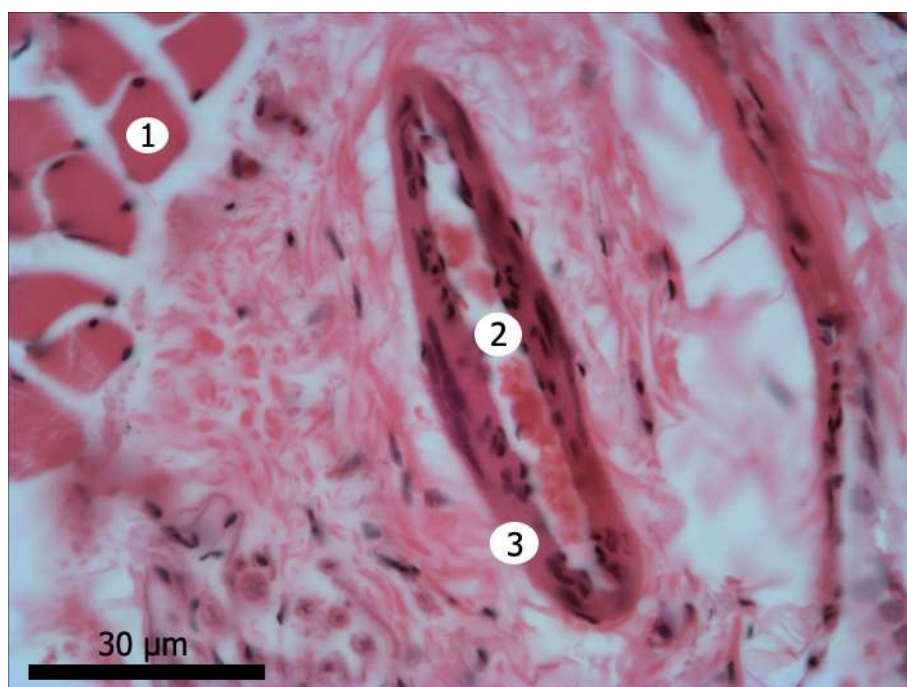


Рисунок 3.4.5 – Скелетний м'яз щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців вживав солі Zn, Pb та Cr і протектор Мексикор®. Збільшення сполучної тканини у стінці судини, перивазальний набряк, явище повнокров'я. Поперечний зріз. Забарвлення гематоксилін-еозином: 1 – м'язове волокно; 2 – просвіт венули; 3 – стінка венули

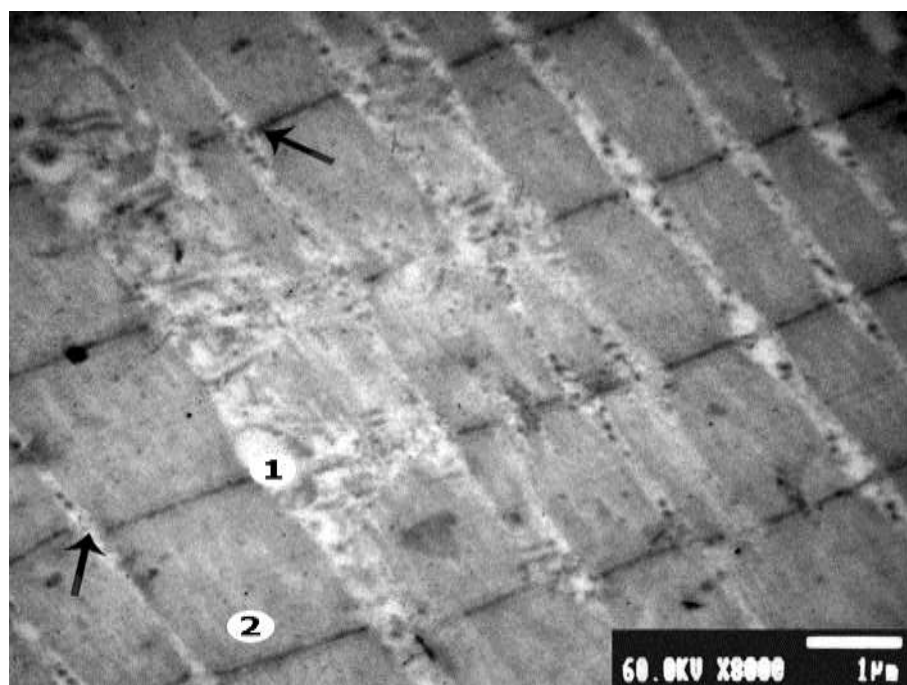


Рисунок 3.4.6 – Ультраструктура посмугованого м'яза щура старечого віку, який упродовж 3-х місяців отримував Zn, Pb та Cr і протектор Мексикор®.

Поодинокі ділянки розриву Z-ліній (зазначені стрілками): 1 – саркоплазматичний ретикулум; 2 – міофібрила

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

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

3.5 Морфологічна характеристика язика щурів за умов дії позаклітинного зневоднення і корекції вітамінами А та Е

Під час вивчення органометричних показників язика щурів, які після впливу тяжкого ступеня позаклітинного зневоднення отримували вітаміни А та Е упродовж 2 тижнів було виявлено зменшення АМЯ на 2,45 % ($p = 0,4399$), а ВМЯ – на 1,31 % ($p = 0,8164$) порівняно з контрольною групою. При цьому ДЯ, ШЯ та ТЯ стали меншими лише на 0,85 % ($p = 0,8131$), 1,24 % ($p = 0,8279$) та 1,37 % ($p = 0,8774$) відповідно.

Дослідження слизової оболонки язика щурів, які після впливу тяжкого ступеня позаклітинного зневоднення отримували вітаміни упродовж 2 тижнів показало клітини базального шару, які щільно розміщувалися один біля одного та були дещо сплющеними. Спостерігалися клітини з просвітленою цитоплазмою без ядра. Місцями відзначалися фігури мітозу. Шипуватий шар налічував незначну кількість епітеліоцитів з одиничними відростками та навколо яких відзначалася зона просвітлення. Місцями спостерігалися залишки лізованих клітин. Зернистий шар містив велику кількість різнокаліберних гранул кератогіаліну. Власна сполучнотканинна пластинка містила видовженої форми фіброласти, які рівномірно розміщувалися по всій її площі. Капіляри були повнокровними та добре візуалізувалися (рис. 3.5.1).

Аналіз даних морфометричного дослідження слизової оболонки язика показав незначне зменшення ТЕШ на 1,63 % ($p = 0,4161$) та ТВП – на 1,39 % ($p = 0,7702$) порівняно з контролем. ТРШ та ІК також не мали значних змін відповідно до контролю та збільшилися на 3,45 % ($p = 0,1687$) і 5,05 % ($p = 0,1783$). ЯЦС клітин базального шару збільшилися на 1,23 % ($p = 0,6915$), шипуватого – на 1,36 % ($p = 0,9024$) та зернистого – на 2,68 % ($p = 0,804$). Дослідження судин мікроциркуляторного русла показало зменшення ДА на 3,52 % ($p = 0,1849$), ДК – на 4,36 % ($p = 0,2163$) та ДВ – на 4,05 % ($p = 0,0003$) порівняно з інтактною групою тварин (рис. 3.5.2). АВК при цьому став більшим на 0,49 % ($p = 0,0707$).

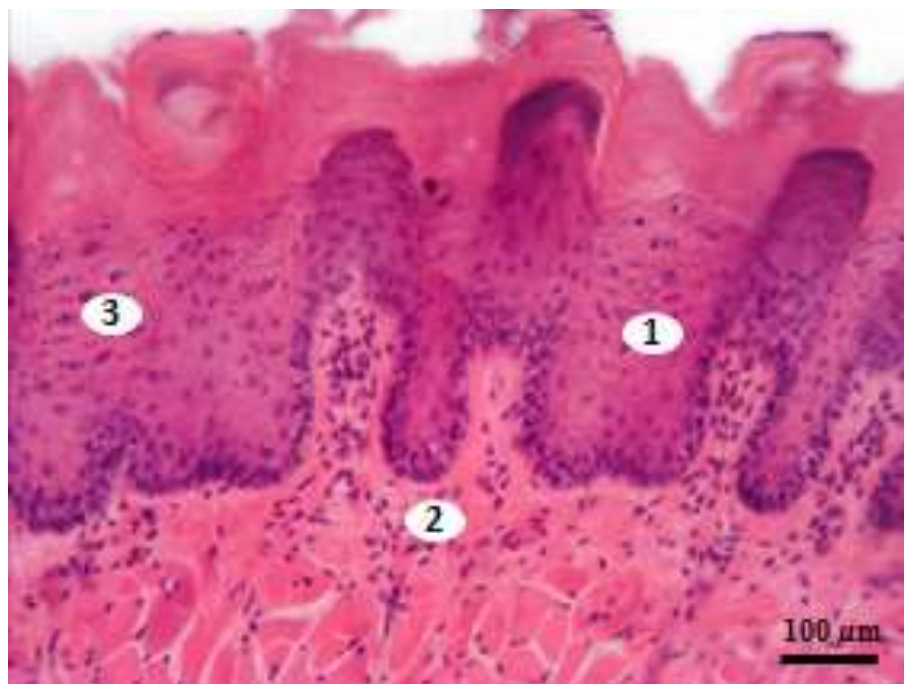


Рисунок 3.5.1 – Слизова оболонка дорсальної поверхні язика щура зрілого віку після впливу важкого ступеня позаклітинного зневоднення і вживання вітамінів А та Е:

1 – залишки лізованих клітин; 2 – фібробласти; 3 – гранули кератогіаліну

Дослідження ультраструктури м'яза язика щурів, які після впливу важкого ступеня позаклітинного зневоднення отримували як фармакологічну протекцію вітаміни А та Е, показало велику кількість мітохондрій зі незміненою структурою навколо ядер міосимпласта. Проте виявлялися такі, що мали просвітлений матрикс, дезорганізовані та лізовані кристи. Ядра міосимпластів розміщувалися під сарколемою, яка мала хвилястий хід. Добре візуалізувалися Z- та M-лінії саркомерів та поперечна посмугованість. Саркоплазматичний ретикулум мав незмінений вигляд. Капіляри мали тонку базальну мембрану та нормальний просвіт. Сполучнотканинні перетинки були нерозширеними. Лише між мембраною капілярів та сарколемою спостерігалися незначні розпушення пучків колагенових волокон (рис. 3.5.3).



Рисунок 3.5.2 – Співвідношення гістоморфометричних параметрів слизової оболонки язика щурів контрольної та експериментальної серій тяжкого ступеня позаклітинного зневоднення із застосуванням коректора

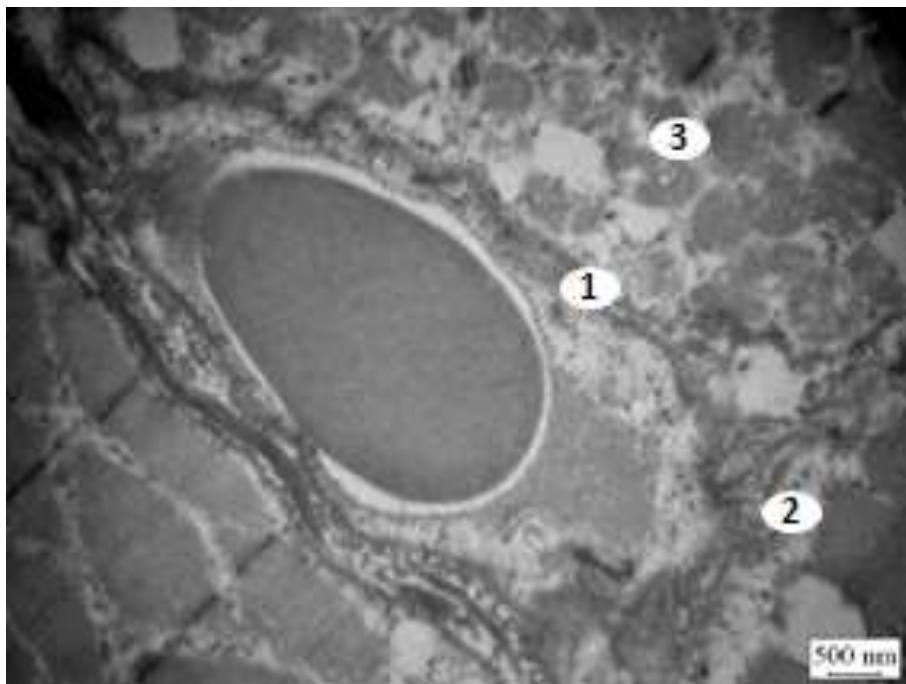


Рисунок 3.5.3 – Ультраструктура м'яза язика щура зрілого віку після впливу тяжкого ступеня позаклітинного зневоднення і вживання вітамінів А та Е: 1 – базальна мембрана капіляра; 2 – пучки колагенових волокон; 3 – мітохондрії

Під час вивчення мікро- та ультраморфометричних показників м'яза язика щурів, які після впливу важкого ступеня позаклітинного зневоднення зазнали фармакологічної корекції, виявили зменшення ДМВ лише на 1,15 % ($p = 0,8695$), ШЕ та ШП на 0,95 % ($p = 0,9392$) і 1,13 % ($p = 0,9221$) відповідно до контролю. ДМФ також став меншим на 0,91 % ($p = 0,7329$), а ОЯМ та ОМ – на 1,25 % ($p = 0,8827$) і 0,85 % ($p = 0,9409$) порівняно з інтактною групою тварин. Дослідження судин МЦР м'яза язика показало зменшення ДА, ДК та ДВ на 2,68 % ($p = 0,3137$), 3,24 % ($p = 0,7349$) і 3,11 % ($p = 0,0388$) відповідно (рис. 3.5.4).

Аналіз морфометричних даних сосочків язика щурів, які після впливу важкого ступеня позаклітинного зневоднення отримували вітаміни упродовж 2 тижнів показав незначне зменшення довжини та діаметра основи усіх досліджуваних сосочків. Але найменше довжина змінилася у БС та стала меншою на 1,15 % ($p = 0,4597$) відповідно до контролю. При цьому ДО зазнала найменших змін також у БС і зменшилася лише на 0,94 % ($p = 0,7887$). Зміни ТРШ були незначними порівняно з контрольною групою (рис. 3.5.5).

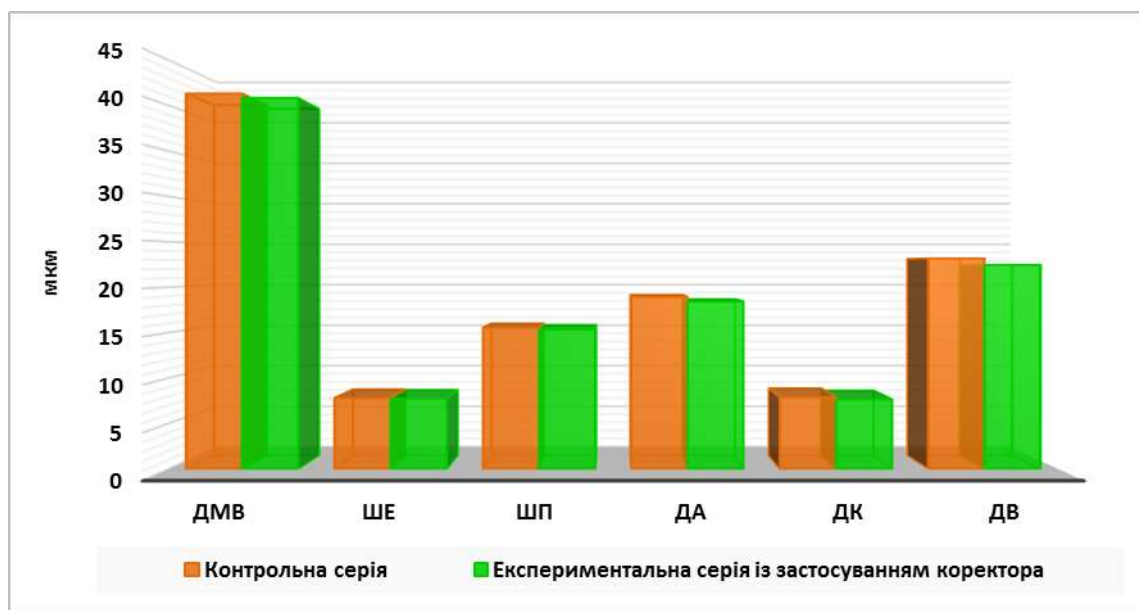


Рисунок 3.5.4 – Співвідношення гістоморфометричних параметрів м'яза язика щурів контрольної та експериментальної серій важкого ступеня позаклітинного зневоднення із застосуванням коректора

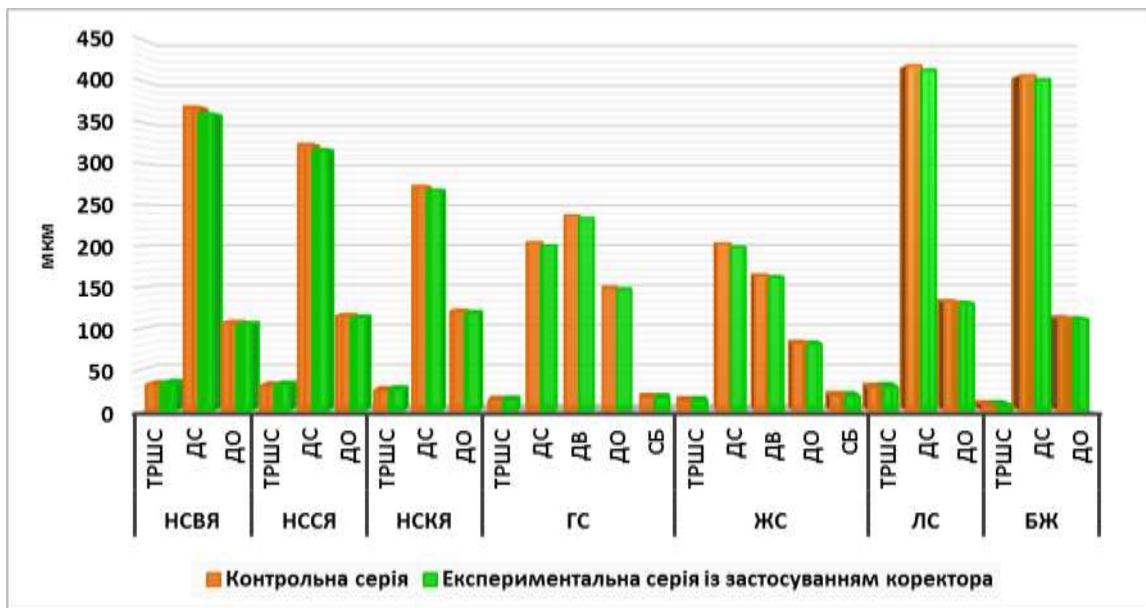


Рисунок 3.5.5 – Співвідношення ультраморфометричних показників сосочків язика щурів контрольної та експериментальної серій тяжкого ступеня позаклітинного зневоднення із застосуванням коректора

Дослідження хімічного складу язика цієї групи щурів показало зменшення концентрації натрію на 3,85 % ($p = 0,4507$), калію – на 2,51 % ($p = 0,7068$), кальцію – на 2,97 % ($p = 0,677$) та міді – на 3,59 % ($p = 0,0389$) порівняно з контролем. Уміст магнію, марганцю, цинку та заліза став більшим на 1,24 % ($p = 0,6274$), 1,83 % ($p = 0,6519$), 1,14 % ($p = 0,746$) і 2,16 % ($p = 0,2721$) відповідно (рис. 3.5.6).

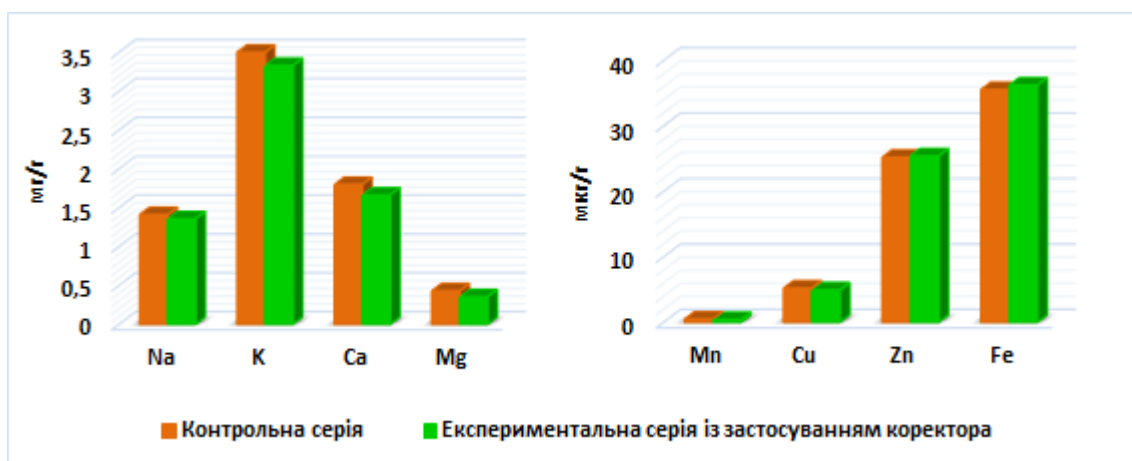


Рисунок 3.5.6 – Співвідношення вмісту Na, K, Ca, Mg, Mn, Cu, Zn і Fe язика щурів контрольної та експериментальної серій тяжкого ступеня позаклітинного зневоднення із застосуванням коректора

Таким чином, застосування фармакологічної протекції у цій групі тварин сприяє найбільш повному відновленню морфологічних змін у язиці, порівняно з групою тварин, яких досліджували на 14-ту добу після закінчення впливу позаклітинного зневоднення та у попередніх групах. Спостерігалися лише незначні розпушення пучків колагенових волокон та поодинокі дезорганізовані мітохондрії. Макро- та мікроелементний склад язика характеризувався зростанням концентрації натрію, калію, кальцію, міді та зниженням вмісту магнію, марганцю, цинку і заліза порівняно з групою, яка корекції не отримувала.

ВИСНОВКИ

1. За період з 2004 по 2014 роки в Сумській області відмічено зростання захворюваності на рак молочної залози з 39 до 46 % відповідно. Жінки, які проживають в «екологічно-забруднених» районах Сумської області, майже у два рази частіше хворіють на рак молочної залози, ніж жінки, які мешкають у відносно «екологічно-чистих» районах. В обох групах районів переважає інфільтративний протоковий рак молочної залози (91 %). В «екологічно-забруднених» районах переважають пухлини з низьким ступенем диференціювання (G2 і G3).

2. За умов забруднення довкілля солями важких металів у тканині інфільтративного протокового раку молочної залози зростає вміст іонів важких металів ($p < 0,05$), який у другій групі на 22,4 % менше, ніж у першій, що зумовлює більш агресивний перебіг злякисного процесу. Вміст Fe у пухлинній тканині в «екологічно-забруднених» районах на 24 % більший, ніж в «екологічно-чистих» районах ($p = 0,001$), вміст Cu – на 15,4 % ($p = 0,002$), Cr – на 16,8 % ($p = 0,016$), Zn – на 13,8 % ($p = 0,005$), Pb – на 11,1 % ($p = 0,026$) та Ni – на 9,3 % ($p = 0,011$). Дані, отримані при енерго-дисперсійній спектроскопії, підтверджують результати елементного складу неопластичної тканини. Вміст важких металів більш високий у паренхіматозному компоненті пухлини у порівнянні зі стромою ($p < 0,05$).

3. Підвищення кількості важких металів у неопластичній тканині молочної залози супроводжується зниженням ступеня диференціювання пухлини, зростанням рівня патологічної біомінералізації на 19 % та імунної запальної інфільтрації ($p < 0,05$), що виступають факторами прогресування злякисного процесу.

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

5. Встановлена різниця між результатами імуногістохімічного дослідження експресії bax ($p < 0,001$), OPN ($p < 0,001$) та VEGF ($p < 0,05$) у групах зразків ПРЦЗ з

наявністю та відсутністю біомінералізації, що свідчить про їх участь у процесах патологічної біомінералізації за умов даної патології. Висока експресія білка *bax* та низька експресія його антагоніста *bcl-2* у мінералізованій тканині ПРЦЗ свідчить про посилення апоптозу у пухлинних клітинах. Виявлена гіперпродукція OPN пухлинними клітинами є можливим фактором протидії біомінералізації ПРЦЗ. Високий рівень експресії VEGF може свідчити про більш високий рівень гіпоксії в тканині мінералізованого ПРЦЗ.

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

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

8. При позаклітинному зневодненні найбільші відновні можливості відбулися у язиці щурів, які виявили себе повнокров'ям судин мікроциркуляторного русла, дилатацією везикул та розширенням елементів саркотубулярної системи у саркоплазмі м'яза язика, зменшенням абсолютної маси язика (на 8,56 % ($p = 0,0159$)), товщини епітелію (на 7,24 % ($p = 0,0031$)), діаметра м'язового волокна (на 9,56 % ($p = 0,1748$)), діаметра артеріоли м'яза язика (на 8,12 % ($p = 0,008$)), об'єму ядра міосимпласта (на 5,23 % ($p = 0,5329$)), збільшенням рогового шару у листоподібних сосочків (на 4,62 % ($p = 0,4528$)). Хімічний склад язика характеризувався збільшенням вмісту натрію, калію, кальцію, міді та зменшенням концентрації магнію, марганцю, цинку та заліза відповідно до групи тварин, яка зазнала впливу важкого ступеня позаклітинного зневоднення.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. The importance of alcohol-induced muscle disease / V. R. Preedy, A. K. Hlendieck, J. Adachi [et al.] // *J Muscle Res Cell Motil.* – 2008. – V. 24. – P. 55 – 63.
2. Toxic effects of lead exposure in Wistar rats: Involvement of oxidative stress and the beneficial role of edible jute (*Corchorus olitorius*) leaves / S. Dewanjee, R. Sahu, S. Karmakar [et al.] // *Food and Chemical Toxicology.* – 2013. – V. 55. – P. 78 – 91.
3. Voelkel T. Conformation-regulated mechanosensory control via titin domains in cardiac muscle / T. Voelkel, W. A. Linke // *Pflugers Arch.* – 2011. – V. 462. – P. 143 – 154.
4. Titin diversity--alternative splicing gone wild / W. Guo, S. J. Bharmal, K. Esbona [et al.] // *J Biomed Biotechnol.* – 2010. – V. 75. – P. 675 – 682.
5. Valiyil R. Drug-related Myopathies of Which the Clinician Should Be Aware / R. Valiyil, L. C. Stine // *Curr Rheumatol Rep.* – 2010. – V. 12 (3). – P. 213 – 220.
6. Holmes A. L. Chronic exposure to lead chromate causes centrosome abnormalities and aneuploidy in human lung cells / A. L. Holmes, S. S. Wise, S. J. Sandwick, W. L. Lingle [et al.] // *Cancer Research.* – 2006. – V. 66, № 8. – P. 4041 – 4048.
7. Wei L. Myopathy induced by amiodarone treatment: a case report / L. Wei, XQ Li, Z. H. Liu // *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* – 2007. – V. 35. – P. 93 – 97.
8. Bornman M. S. Environmental pollutants and diseases of sexual development in humans and wildlife in South Africa: harbingers of impact on overall health / M. S. Bornman, H. Bouwman // *Reprod Domest Anim.* – 2012. – V. 47. – P. 327 – 332.
9. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases / M. Chin-Chan, J. Navarro-Yepes, B. Quintanilla-Vega [et al.] // *Front Cell Neurosci.* – 2015. – V. 10. – P. 124 – 131.
10. Heavy Metal Risk Management: Case Analysis / J. A. Kim, S. H. Lee, S. H. Choi [et al.] // *Toxicol Res.* – 2012. – V. 28. – P. 143 – 149.

11. Heavy metal toxicity and the environment / P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla [et al.] // *EXS*. – 2012. – V. 101. – P. 133 – 164.
12. Зотов А. С. Мастопатии и рак молочной железы / А. С. Зотов, Е. О. Белик. – М: МЕДпресс-информ, 2005. – 112 с.
13. WHO classification of tumours of the breast. IARC/World health organization classification of tumours / [S. R. Lakhani, I. O. Ellis, S. J. Schnitt at all.] – Lyon, France: WHO Press, 2012.
14. Tavassoli F. A. 3. Tumor of the Breast and female genital organs. World Health Organization Classification of Tumours / F. A. Tavassoli, P. Devilee. – Lyon: IARC Press, 2003. – 432 p.
15. Семиглазов В. Ф. Неинвазивные и инвазивные опухоли молочной железы / В. Ф. Семиглазов, В. В. Семиглазов, А. Е. Клецель. – СПб, 2009. – 349 с.
16. Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2009 році. — Суми : ПКП "Еллада S", 2010. — 84 с.
17. Apostolou P. Hereditary Breast Cancer: The Era of New susceptibility Genes / P. Apostolou, F. Fostira. // *BioMed Research International*. – 2013. – №6. – P. 77-96.
18. Hentze M. W. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism / M. W. Hentze, M. U. Muckenthaler, B. Galy, C. Camaschella. // *Cell*. – 2010. – V.142. – P. 24-38.
19. Hentze M. W. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism / M. W. Hentze, M. U. Muckenthaler, B. Galy, C. Camaschella. // *Cell*. – 2010. – V.142. – P. 24-38.
20. Khoo M.L. Thyroid calcification and its association with thyroid carcinoma / M.L. Khoo, S.L. Asa, I.J. Witterick [et al] // *Head Neck*. – 2002. – Vol. 24. – P. 651-655.
21. Kwak J.Y. Papillary thyroid carcinoma manifested solely as microcalcifications on sonography / J.Y. Kwak, E-K. Kim, E.J. Son [et al] // *Am J Roentgenol*. – 2007. – Vol. 189. – P.227-31. doi: 10.2214/AJR.06.0750.
22. Lee J. Fine needle aspiration of thyroid nodules with macrocalcification / J. Lee, S.Y. Lee, S.H. Cha [et al] // *Thyroid*. - 2013. – Vol. 12 (8). – P. 153-162.

23. LiVolsi V. A. Papillary thyroid carcinoma: an update / V.A. LiVolsi // *Modern Pathology*. – 2011. – Vol. 24. – P.1-9.
24. LiVolsi L. A. The many faces of follicular variant of papillary thyroid carcinoma / V.A. LiVolsi, Z.W. Baloch // *Pathol Case Rev*. – 2009. – Vol. 14. – P. 214-218.
25. Kwak J.Y. Diffuse sclerosing variant of papillary carcinoma of thyroid gland: specimen radiographic features with histopathological correlation / J.Y. Kwak, E-K. Kim, S.W. Hong [et al] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2009. – Vol. 94. – P. 1491-1492.
26. Eman M. A. Heavy Metal Poisoning and Cardiovascular Disease / M. A. Eman, A. F. Gordon // *J Toxicol*. – 2011. – V. 114. – P. 1 – 21.
27. Endocrine disruptor & nutritional effects of heavy metals in ovarian hyperstimulation / E. H. Dickerson, T. Sathyapalan, R. Knight [et al.] // *J Assist Reprod Genet*. – 2011. – V. 28. – P. 1223 – 1228.
28. Кабата-Пендиас А. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989. – 439 с.
29. Тронько М. Мікроелементи в ендокринології / М. Тронько, О. Щербак // *Аспекти фармакології*. – 2002. – №10. – С. 24-27.
30. Жолнин А. В. Химические элементы в окружающей среде и в организме человека / А. В. Жолнин. – Челябинск: ЧГМА, 2000. – 30 с.
31. Агаджанян Н. А. Химические элементы в среде обитания и экологический портрет человека / Н. А. Агаджанян, А. В. Скальный. – М: Изд-во КМК, 2001. – 83 с.
32. Скальный А. В. Микроэлементозы у детей: распространенность и пути коррекции / А. В. Скальный, Г. В. Яцык, Н. Д. Одинаева. – М: Изд-во КМК, 2002. – 86 с.
33. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм / [Р.С. Гильденскиольд, Ю.В. Новиков, Р.С. Хамидулин та ін.]. // *Гигиена и санитария*. – 1992. – №5-6. – С. 6-9.

34. Mammalian metallothionein in toxicology, cancer, and cancer chemotherapy / [M. Namdarghanbari, W. Wobig, S. Krezoski at all.]. // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2011. – №7. – P. 1087-101.
35. Sutherland D. E. The "magic numbers" of metallothionein / D. E. Sutherland, M. J. Stillman. // *Metallomics.* – 2011. – №5. – P. 444-63.
36. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism / M. W. Hentze, M. U. Muckenthaler, B. Galy, C. Camaschella // *Cell.* – 2010. – V.142. – P. 24-38.
37. Lutzen A. Cadmium inhibits human DNA mismatch repair in vivo / A. Lutzen, S. E. Liberti, L. J. Rasmussen. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2004. – №1. – P. 21-5.
38. Nikolic J. Lespeflan, a bioflavonoid, and amidinotransferase interaction in mercury chloride intoxication / J. Nikolic, D. Sokolovic. // *Ren Fail.* – 2004. – №6. – P. 607-11.
39. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology / [N. Thirumoorthy, A. Shyam Sunder, K. Manisenthil Kumar at all.]. // *World J Surg Oncol.* – 2011. – №9. – P. 54.
40. Щелягина Л. А. Цинк в педиатрической практике (учебное пособие) / Л. А. Щелягина. – М., 2001. – 84 с.
41. Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах / [Ю. П. Благой, В. Л. Галкин, Г. О. Гладченко та ін.]. – Киев: Наукова думка, 1991. – 78 с.
42. De Bont R. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data / R. De Bont, N. V. Larebeke. // *Mutagenesis.* – 2004. – №3. – P. 169-85.
43. Жолнин А. В. Химические элементы в окружающей среде и в организме человека / А. В. Жолнин. – Челябинск: ЧГМА, 2000. – 30 с.
44. Interference by toxic metal ions with DNA repair processes and cell cycle control: molecular mechanisms / A. Hartwig, M. Asmuss, I. Ehleben, U. Herzer. // *Environ Health Perspect.* – 2002. – №5. – P. 797-9.
45. Бабенко Г. А. Микроэлементозы человека: патогенез, профилактика, лечение / Г. А. Бабенко. // *Микроэлементы в медицине.* – 2001. – №2. – С. 2-5.

46. Антошина Е. Е. Канцерогенное действие хрома и его соединений / Е. Е. Антошина, Т. Г. Горькова. // Экспериментальная онкология. – 1992. – №2. – С. 79.
47. Воронцова Л. Л. Состояние оксидантно-антиоксидантной системы организма у больных раком гортани / Л. Л. Воронцова, В. А. Каширин. // Вісник СумДУ. – 2005. – №3. – С. 184-189.
48. Балаболкин М. И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета. / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова // Проблемы эндокринологии. – 2000. – №6. – С. 29-34.
49. Тронько М. Мікроелементи в ендокринології / М. Тронько, О. Щербак. // Аспекти фармакології. – 2002. – №10. – С. 24-27.
50. Состояние минерального обмена и коррекция микроэлементозов у детей дошкольного возраста в крупном промышленном центре Западной Сибири / Е. А. Вильмс, Д. В. Турчанинов, Л. А. Боярская, М. С. Турчанинова. // Педиатрия. – 2010. – №1. – С. 81-86.
51. Макро- и микроэлементы крови у пациентов пожилого и старческого возраста, страдающих ишемической болезнью сердца / [Т. М. Юрина, Т. А. Куприянова, О. И. Лямина та ін.]. // Клин мед. – 2005. – №1. – С. 20-24.
52. Eide D. J. Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc / D. J. Eide. // Biochim Biophys Acta. – 2006. – V.17. – P. 711-722.
53. Overview of mammalian zinc transporters / T. Kambe, Y. Yamaguchi-Iwai, R. Sasaki, M. Nagao. // Cell Mol Life Sci. – 2004. – V.61. – P. 49-68.
54. Palmiter R. D. Efflux and compartmentalization of zinc by members of the SLC30 family of solute carriers / R. D. Palmiter, L. Huang. // In: Hediger MA. – 2003. – V.447. – P. 744-751.
55. Lee J. Fine needle aspiration of thyroid nodules with macrocalcification / J. Lee, S.Y. Lee, S.H. Cha [et al] // Thyroid. - 2013. – Vol. 12 (8). – P. 153-162.
56. Lin J.-D. Early recurrence of papillary and follicular thyroid carcinoma predicts a worse outcome / J.-D. Lin, Chuen Hsueh, Tzu-Chieh Chao // Thyroid. – 2009. – Vol. 19(10). – P. 1053-1059. doi:10.1089/thy.2009.0133.

57. Liotta L.A. The microenvironment of the tumor-host interface / L.A. Liotta, E.C. Kohn // *Nature*. – Vol. 411. – P.375-379.
58. Liu H.F., Tang W.S., Yang Z.Y. [Thyroid nodules with calcification and thyroid carcinoma]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 2003; 25(5):626-9 [Article in Chinese].
59. LiVolsi V. A. Papillary thyroid carcinoma: an update / V.A. LiVolsi // *Modern Pathology*. – 2011. – Vol. 24. – P.1-9.
60. LiVolsi L. A. The many faces of follicular variant of papillary thyroid carcinoma / V.A. LiVolsi, Z.W. Baloch // *Pathol Case Rev*. – 2009. – Vol. 14. – P. 214-218.
61. LiVolsi V.A., Mazzaferri E.L., Schneider A.B., Albores-Savedra J., Hay I. Papillary carcinoma. In: Delellis R.A., Lloyd R.V., Heitz P.U., Eng C. editors. *World Health Organization Classification of tumors, pathology and genetics of tumors of endocrine organs*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2004. p. 57-66.
62. Lloyd R.V. Papillary thyroid carcinoma variants / R.V. Lloyd, D. Buchner, E. Khanafshar // *Head and Neck Pathol*. – 2011. – Vol. 5. – P. 51-56.
63. Lubitz C.C, Cong C.Y, McMahon P.M, et al. Annual financial impact of well-differentiated thyroid cancer care in United States. *Cancer*. 2014; 120 (9):1345-1252.
64. Lupi C. Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma / C. Lupi, R. Giannini, C. Ugolini [et al] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2007. – Vol. 92 (11). – P. 4085-4090.
65. Lyons R. An unusual presentation of calcified thyroid gland / R. Lyons, P.S. Waters, C. Sugrue [et al] // *BMJ Case Rep*. 2012. Pii: bcr 2012007844. Doi:10.1136/bcr-2012-007844.
66. Maceri D. Lateral neck mass: sole presenting sign of metastatic thyroid cancer / D. Maceri, J. Babyak, S. Ossakow // *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. – 1986. – Vol. 112. – P. 47-49.

67. Matrix gla protein inhibits ectopic calcification by a direct interaction with hydroxyapatite crystals / J. O'Young, Y. Liao, Y. Xiao [et al] // *J Am Chem Soc.* – 2011. – Vol. 133. – P. 18406-12.
68. Matrix metalloproteinase Mmp-1a is dispensable for normal growth and fertility in mice and promotes lung cancer progression by modulating inflammatory responses / [M. Fanjul-Fernández, A. R. Folgueras, A. Fueyo et al.]. // *J Biol Chem.* – 2013. – V.288. – P. 14647-14656.
69. Mazzaferri E.L. Long-term outcome of patients with differentiated thyroid carcinoma: effect of therapy / E.L. Mazzaferri // *Endocr Pract.* – 2000. – Vol. 6. – P. 469-476.
70. Mazzaferri E.L. Management of low-risk differentiated thyroid cancer / E.L. Mazzaferri // *Endocr Pract.* – 2007. – Vol. 13. – P. 498-512.
71. Mazzaferri E.L. Management of a solitary thyroid nodule / E.L. Mazzaferri // *N Engl J Med.* – 1993. – Vol. 328. – P. 553–559.
72. McKee M.D. Hierarchies of extracellular matrix and mineral organization in bone of the craniofacial complex and skeleton / M.D. McKee, W.N. Addison, M.T. Kaartinen // *Cells Tissues Organs.* – 2005. – Vol. 181 (3-4). – P. 176–88. [doi:10.1159/000091379](https://doi.org/10.1159/000091379).
73. McKee M.D. Postembedding colloidal-gold immunocytochemistry of noncollagenous extracellular matrix proteins in mineralized tissues / M.D. McKee, A. Nanci // *Microsc. Res. Tech.* – 1995. – Vol. 31(1). – P. 44–62. [doi:10.1002/jemt.1070310105](https://doi.org/10.1002/jemt.1070310105).
74. Merlin Olivera P.S. A study on inorganic elements in psammomas from ovarian & thyroid cancer / P.S. Merlin Olivera, P. del C. Leyva Bohorquez, R. Martinez-Cruz [et al] // *Indian J Med Res.* – 2012. – Vol. 135. – P. 217-220.
75. Mestdagh C. Correlated autoradiographic and ion-microscopic study of the role of iodine in the formation of “cold” follicles in young and old mice / C. Mestdagh, M.C. Many, S. Halpern [et al] // *Cell Tissue Res.* – 1990. – Vol. 260. – P. 449–457.

76. Mezosi E. Abberant apoptosis in thyroid epithelial cells from goiter nodules / E. Mezosi, H. Yamazaki, J. D. Bretz // *J. Clin. Endocrinology & Metabolism*. – 2002. – Vol. 87. - №9. – P. 4264-4272.
77. Miller J. D. Cardiovascular calcification: Orbicular origins / J. D. Miller // *Nature Materials*. – 2013. – Vol. 12 (6). – P. 476–478. doi:10.1038/nmat3663.
78. Mirza M. Osteopontin-c is a selective marker of breast cancer / M. Mirza, E. Shaughnessy, J. K. Hurley [et al] // *Int J Cancer*. – 2008. – Vol. 122(1). – P. 889–897. doi:10.1002/ijc.23204.
79. Mizukami Y. Papillary thyroid carcinoma in Kanazawa, Japan / Y. Mizukami, M. Yoguchi, T. Michigishi [et al] // *Histopathology*. – 2000. – Vol. 55. – P. 243-250.
80. Moreno-Egea A. Multivariate analysis of histopathological features as prognostic factors in patients with papillary thyroid carcinoma / A. Moreno-Egea, M. Rodriguez-Gonzales, J. Sola-Perez [et al] // *Br J Surg*. – 1995. – Vol. 82. – p. 1092-1095.
81. Morphogenetic aspects of biomineralization on the background of benign prostatic hyperplasia / R. Moskalenko, A. Romanyuk, S. Danilchenko [et al] // *Georgian medical news*. - 2013. - № 1 (214). - P. 54-61.
82. Moskalenko R. A. Rare case of pathological biomineralization of eye tissue / R. A. Moskalenko, A. N. Romanyuk, S. N. Danilchenko [et al] // *Čes. a slov. Oftal.* – 2014. – Vol. 70 (4). - P. 160-163.
83. Moskalenko R. Intrafollicular pressure of colloid thyroid gland determinate the type of folliculogenesis / R. Moskalenko, A. Romanyuk, A. Logvin // *Georgian medical news*. – 2012. - №4 (205). – C. 67-73.
84. Nakachi K. Sixty years of follow up of Hiroshima and Nagasaki survivors: cancer progress in molecular epidemiology / K. Nakachi, T. Haryashi, K. Hamatani [et al] // *Mutat Res*. – 2008. – Vol. 659. – P. 109-117.
85. Nakashima K. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation / K. Nakashima, X. Zhou, G. Kunkel [et al] // *Cell*. – 2002. – Vol. 108 (1). – P. 17–29. doi:10.1016/S0092-8674(01)00622-5.

86. Nemir M. Normal rat kidney cells secrete both phosphorylated and nonphosphorylated forms of osteopontin showing different physiological properties / M. Nemir, W. DeVouge, B. Mukherjee // *J. Biol. Chem.* - 2007. - V. 164. - P. 18202 - 18208.
87. Nikiforova M.N. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas / M.N. Nikiforova, E.T. Kimura, M. Gandhi [et al] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2003. Vol. 88. – P. 5399-5404.
88. Nikiforova M.N. RAS point mutations and PAX/PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma / M.N. Nikiforova, R.A. Lynch, P.W. Biddiger [et al] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2003. – Vol. 88. – P. 2318-2326.
89. Nikiforov Yu. Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors / Yu. E. Nikiforov, R.R. Seethala, G. Tallini [et al] // *JAMA Oncology.* – 2016. doi:10.1001/jamaoncol.2016.0386. Published online April 14, 2016.
90. Nikiforov Yu.E. Molecular analysis of thyroid tumors / Yu.E. Nikiforov // *Modern Pathology.* – 2011. – Vol. 24. - S34–S43.
91. Nikiforov Yu.E. Pediatric thyroid cancer after the Chernobyl disaster. Pathomorphologic study of 84 cases (1991-1992) from the Republic of Belarus / Yu.E. Nikiforov, D.R. Gnepp // *Cancer.* – 1994. – Vol. 74. – P. 748-766.
92. Nikiforov Yu.E. Thyroid lesions in children and adolescents after the Chernobyl disaster: implications for the study of radiation tumorogenesis / Ye. Nikiforov, D.R. Gnepp, J.A. Faggin // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1996. – Vol. 81. – P. 9-14.
93. Nishio S. Calcium phosphate crystal-associated proteins: alpha2-HS-glycoprotein, prothrombin F1, and osteopontin/ S. Nishio, M. Hatanaka, H. Takeda [et al] // *Mol. Urol.* – 2000. - V.4. - P. 383 - 390.
94. Nomura S. Developmental expression of 2ar (osteopontin) and SPARC (osteonectin) RNA as revealed by in situ hybridization/ S. Nomura, A. Wills, D. Edwards // *J. Cell Biol.*, 2006. - V. 106. - P. 441 - 450.

95. Nose V. Familial cancer of thyroid gland / V. Nose // *Modern Pathology*. - 2011. – Vol. 24. - S. 19-33.
96. Oldbarg A. Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell-binding sequence / A. Oldbarg, A. Franzen, D. Heinegard // *PNAS USA*. - 2004. - Vol. 83. - P. 8819 - 8823.
97. Oltvai Z.N. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death / Z.N. Oltvai, C.L. Milliman, S.J. Korsmeyer // *Cell*. – 1993. – Vol. 74 (4). – P. 609–19. doi:10.1016/0092-8674(93)90509-O. PMID 8358790.
98. Ordonez N. Thyroid transcription factor 1 is a marker of lung and thyroid carcinomas / N. Ordonez // *Adv. Anat. Pathol.* – 2000. – Vol. 7. – P. 123-127.
99. O'Regan A. Osteopontin: a key cytokine in cell-mediated and granulomatous inflammation/ A. O'Regan, J. Berman // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2000. - V. 81. - P. 373 - 390.
100. Osteopontin facilitates angiogenesis, accumulation of osteoclasts, and resorption in ectopic bone / Asou Y, Rittling SR, Yoshitake H, [et al] // *Endocrinology* 2001., V. 142., P. 1325 - 32.
101. Osteopontin expression profiles predict pathological and clinical outcome in breast cancer / [N. Patani, F. Jouhra, W. Jiang at all.]. // *Anticancer*. – 2008. – №6. – P. 4105-10.
102. O'Young J. Phosphorylation of osteopontin peptides mediates adsorption to and incorporation into calcium oxalate crystal / J. O'Young, S. Chirico, N. Al Tarhuni [et al] // *Cells Tissues Organs*. – 2009. – Vol. 189 (1-4). – P. 51–5. [doi:10.1159/000151724](https://doi.org/10.1159/000151724).
103. Park S.H. A histopathologic study on 1095 surgically resected thyroid specimens / S.H. Park, E.H. Suh, J.G. Chi // *Jpn J Clin Oncol*. -1988. – Vol. 18. – P. 297-302.
104. Patarca R. Structural and functional studies of the early T-lymphocyte activation 1 (Eta-1) gene/ R. Patarca, G. Freeman, R.Singh [et al] // *J. Exp. Med.* - 2001. - V. 170. - P. 145 - 161.

105. Pedrazzini L. Cancer recurrence in papillary thyroid microcarcinoma: a multivariate analysis on 231 patients with a 12-year follow-up / L. Pedrazzini, A. Baroli, L. Marzoli [et al] // *Minerva Endocrinol.* – 2013. – Vol. 38 (3). –P.269-79
106. Phosphorylation-dependent inhibition of mineralization by osteopontin ASARM peptides is regulated by PHEX cleavage / [Addison W.N, Masica D.L, Gray J.J, McKee M.D.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2010. – Vol. 25 (4). - P. 695–705. doi:10.1359/jbmr.090832.PMID 19775205.
107. Presence of nanobacteria in psammoma bodies of ovarian cancer. Evidence for pathogenetic role in intratumoral biomineralization / Hudelist G., Singer C.F., Kubista E. [et al] // *Histopathology.* - 2004. – Vol. 45. – P. 633-7.
108. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis / [D. C. Allred, J. M. Harvey, M. Berardo, G. M. Clark] // *Mod. Path.* – 1998. – V.11. – P. 155-168.
109. Pyo J.S. The prognostic relevance of psammoma bodies and ultrasonographic intratumoral calcifications in papillary thyroid carcinoma / J.S. Pyo, G. Kang, D.H. Kim [et al] // *World J Surg.* - 2013. –Vol. 37. – P. 2330-2335.
110. Rangaswami H. Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression / H. Rangaswami, A. Bulbule, G.C. Kundu // *Trends Cell Biol.* – 2006. – Vol. 16 (2). – Vol. 79–87. doi:10.1016/j.tcb.2005.12.005.
111. Toxic effects of lead exposure in Wistar rats: Involvement of oxidative stress and the beneficial role of edible jute (*Corchorus olitorius*) leaves / S. Dewanjee, R. Sahu, S. Karmakar [et al.] // *Food and Chemical Toxicology.* – 2013. – V .55. – P. 78 – 91.
112. Toxicity of organic pollutants to seven aquatic organisms: effect of polarity and ionization / W. C. Qin, L. M. Su, X. J. Zhang [et al.] // *SAR QSAR Environ Res.* – 2010. – V. 21. – P. 389 – 401.
113. Toxicity, accumulation, and removal of heavy metals by three aquatic macrophytes / A. Basile, S. Sorbo, B. Conte [et al.] // *Int J Phytoremediation.* – 2012. – V. 14. – P. 374 – 387.

114. Trachtenberg I. M. Priority aspects of environmental health and preventive toxicology / I. M. Trachtenberg // *Zdorovya Ukrainy*. – 2011. – V. 473. – P. 60 – 63.
115. Traffic-related air pollution, particulate matter, and autism / H. E. Volk, F. Lurmann, B. Penfold [et al.] // *JAMA Psychiatry*. – 2013. – V. 70. – P. 71 – 77.
116. Trumbull K. A. Role for Copper in the Toxicity of Zinc-Deficient Superoxide Dismutase to Motor Neurons in Amyotrophic Lateral Sclerosis / K. A. Trumbull, J. S. Beckman // *Antioxidants & redox signaling*. – 2009. – V. 11. – P. 1627 – 1639.
117. Tskhovrebova L. Roles of Titin in the Structure and Elasticity of the Sarcomere / L. Tskhovrebova, J. Trinick // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2010. – V. 20. – P. 40 – 47.
118. Lim S. R. Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with flat panel displays / S. R. Lim, J. M. Schoenung // *J Hazard Mater*. – 2010. – V. 15. – P. 251 – 259.
119. Linke W. A. Sense and stretchability: the role of titin and titin-associated proteins in myocardial stress-sensing and mechanical dysfunction / W. A. Linke // *Cardiovascular Research*. – 2008. – V. 77. – P. 637 – 648.
120. Longo M. V. Morphology of the claw closer muscle in two estuarine crab species (Crustacea, Varunidae): an ultrastructural study / M. V. Longo, A. O. Díaz // *Zoolog Sci*. – 2013. – V. 30 (8). – P. 663 – 669.
121. Lymphedema: a comprehensive review / A. G. Warren, H. Brorson, L. J. Borud [et al.] // *Ann Plast Surg*. – 2007. – V. 59. – P. 464 – 472.
122. Macroscopic–microscopic characterization of the passive mechanical properties in rat soleus muscle / S. Bensamouna, L. Stevensb, M. J. Fleury [et al.] // *Journal of Biomechanics*. – 2006. – V. 39. – P. 568–578.
123. Eman M. A. Heavy Metal Poisoning and Cardiovascular Disease / M. A. Eman, A. F. Gordon // *J Toxicol*. – 2011. – V. 114. – P. 1 – 21.
124. Ultrastructure of pedal muscle as a function of temperature in nacellid limpets / G. Lurman, T. Blaser, M. Lamare [et al.] // *Marine Biology*. – 2010. – V. 157. – P. 1705 – 1712.

125. Малышева Е. С. Влияние возраста на технологические и микроструктурные характеристики говядины в условиях влияния на организм солей тяжелых металлов на примере крупного рогатого скота черно-пестрой породы / Е. С. Малышева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 7. – С. 97 – 100.
126. Михайлова Н. Н. Влияние вдыхания угольно-породной пыли на морфологические изменения сердечной мышцы (экспериментальные исследования) / Н. Н. Михайлова, М. С. Бугаева, О. И. Бондарев // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №5(87). – С. 112 – 114.
127. Differences in sodium voltage-gated channel properties according to myosin heavy chain isoform expression in single muscle fibres / F. Rannou, M. Droguet, M. A. Giroux-Metges [et al.] // J Physiol. – 2009. – V. 587. – P. 5249 – 5258.
128. Dirksen R.T. Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial through-space coupling in skeletal muscle / R. T. Dirksen // Appl Physiol Nutr Metab. – 2009. – V. 34 (3). – P. 389 – 395.
129. Dirks-Naylor A. J. Glucocorticoid-induced apoptosis and cellular mechanisms of myopathy / A. J. Dirks-Naylor, C. L. Griffiths // J Steroid Biochem Mol. Biol. – 2009. – V. 117. – P. 1 – 7.
130. Distribution of costameric proteins in normal human ventricular and atrial cardiac muscle / D. D. Mauro, R. Gaeta, A. Arco [et al.] // Folia Histochem Cytobiol. – 2009. – V. 47 (4). – P. 605 – 608.
131. Dominguez R. Actin structure and function / R. Dominguez, K. C. Holmes // Annu Rev Biophys. – 2011. – V. 40. – P. 169 – 186.
132. Duruibe J. O. Heavy metal pollution and human biotoxic effects / J. O. Duruibe, M. C. Ogwuegbu, J. N. Egwurugwu // International Journal of Physical Sciences. – 2007. – V. 2. – № 5. – P. 112 – 118.
133. Dynamic regulation of sarcoplasmic reticulum Ca(2⁺) stores by stromal interaction molecule 1 and sarcolipin during muscle differentiation / M. Seth, T. Li, V. Graham [et al.] // Dev Dyn. – 2012. – V. 241 (4). – P. 639 – 647.

134. Effects of HCM cTnI mutation R145G on troponin structure and modulation by PKA phosphorylation elucidated by molecular dynamics simulations / S. Lindert, Y. Cheng, P. Kekenes-Huskey [et al.] // *Biophys J.* – 2015. – V. 108 (2). – P. 395 – 407.
135. Huxley H. E. Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation / H. E. Huxley, J. Hanson // *Nature.* – 1954. – V.173. – P. 973 – 976.
136. Ibatullina R. B. Protective and restorative effect of antioxidants in experimental intoxication with chlorophenols / R. B. Ibatullina, V. A. Myshkin // *Med Tr Prom Ekol.* – 2008. – V. 5. – P. 28 – 31.
137. Impact of environmental air pollutants on disease control in asmatic patients / R. Fernandez, M. Ariza, M. Iscar [et al.] // *Lung.* – 2015. – V. 193. – P. 195 – 198.
138. Impaired Muscle Mitochondrial Biogenesis and Myogenesis in Spinal Muscular Atrophy / M. Ripolone, D. Ronchi, R. Violano [et al.] // *JAMA Neurol.* – 2015. – V. 72 (6). – P. 666 – 675.
139. Increased autophagy accelerates colchicine-induced muscle toxicity / J. K. Ching, J. S. Ju, S. K. Pittman [et al.] // *Autophagy.* – 2013. – V. 9. – P. 2115 – 2125.
140. Interaction forces between F-actin and titin PEVK domain measured with optical tweezers / P. Bianco, A. Nagy, A. Kengyel [et al.] // *Biophys. J.* – 2007. – V. 93. – P. 2102–2109.
141. Interactions with titin and myomesin target obscurin and obscurin-like 1 to the M-band-implications for hereditary myopathies / A. Fukuzawa, S. Lange, M. Holt [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2008. – V. 121. – P. 1841–1851.
142. International Olympic Committee consensus statement: molecular basis of connective tissue and muscle injuries in sport / A. Ljungqvist, M. P. Schwellnus, N. Bachl [et al.] // *Clin Sports Med.* – 2008. – V. 27 (1). – P. 231 – 239.
143. Kalajian A. H. Myopathy induced by antimalarial agents: the relevance of screening muscle enzyme levels / A. H. Kalajian, J. P. Callen // *Arch Dermatol.* – 2009. – V. 145. – P. 597 – 600.

144. Kan H. Environment and Health in China: Challenges and Opportunities / H. Kan // *Environ Health Perspect.* – 2009. – V. 117. – P. 530 – 531.
145. Kawada S. Skeletal muscle hypertrophy after chronic restriction of venous blood flow in rats / S. Kawada, N. Ishii // *Med Sci Sports Exerc.* – 2005. – V. 37 (7). – P. 1144 – 1150.
146. Kimura T. Molecular mechanism involved in chromium(VI) toxicity / T. Kimura // *Yakugaku Zasshi.* – 2007. – V. 127. – P. 1957 – 1965.
147. Klopstock T. Drug-induced myopathies / T. Klopstock // *Curr Opin Neurol.* – 2008. – V. 21. – P. 590 – 595.
148. Oxidative metabolism of chemical pollutants in marine organisms: molecular and biochemical biomarkers in environmental toxicology / M. Benedetti, M. E. Giuliani, F. Regoli [et al.] // *Ann N Y Acad Sci.* – 2015. – V. 1340. – P. 8 – 19.
149. Ritz P. Chronic Cellular Dehydration in the Aged Patient // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001. Vol. 56 (6). P. 349-52.
150. Scanning Electron Microscopic Study of the Human Fungiform Papillae / K. B. Singha et al. // *J Anat Soc India.* 2010. Vol. 59 (2). P. 154-157.
151. Scanning Electron Microscopy of the Tongue, Pharynx, and Larynx of Rats Exposed to Cigarette Smoke / R. H. Martins et al. // *J Voice.* 2014. Vol.28 (3), P. 287–290.
152. Sexual Dimorphism in the Histologic Organization of the Muscle Fibers in Human Tongue / D. Campos et al. // *J Voice.* 2014. Vol. 28 (4). P. 424-429.
153. Structural and ultrastructural features of the agouti tongue (*Dasyprocta aguti* Linnaeus, 1766) / Ciena A. P. et al. // *J. Anat.* 2013. Vol. 223 (2). P. 152-158.
154. Subudhi A. W., Askew E. W., Luetkemeier M. J. Dehydration // *Encyclopedia of Human Nutrition* (Third edition) - Amsterdam, Oxford: Academic Press, 2013. Vol. 2. P. 518-526.
155. The anatomical and morphological aspects of the papillae, the epithelium, the muscules and the glands of the rats' tongue: a light, scanning and transmission electron microscope study / L. Davydova et al. // *Interv Med Appl Sci.* 2017. Vol. 9 (2). P. 65-72.

156. The Effects of Aging on Hypoglossal Motoneurons in Rats / Schwarz E. C. Et al. // *Dysphagia*. 2009. Vol. 24 (1). P. 40–48.
157. The Role of Vitamin E in Human Health and Some Diseases / Rizvi S. et al. // *SQU Medical Journal*. 2014. Vol. 14 (2). P. 157-165.
158. Three-Dimensional Aspects of the Lingual Papillae and Their Connective Tissue Cores in the Tongue of Rats: A Scanning Electron Microscope Study / G. S. Reginato et al. // *The Scientific World Journal*. 2014. doi.org/10.1155/2014/841879.
159. Tongue Fat and its Relationship to Obstructive Sleep Apnea / A. M. Kim et al. // *Sleep*. 2014. Vol. 37 (10). P. 1639-1648.
160. Turner M. D. Hyposalivation and Xerostomia: Etiology, Complications, and Medical Management // *Dent Clin North Am*. 2016. Vol. 60 (2). P. 435-443.
161. Dehydration and clinical outcome in hospitalised older adults: A cohort study / A. M. El-Sharkawy et al. // *Eur Geriatr Med*. 2017. Vol. 8 (1). P. 22-29.
162. Effects of Acute Dehydration on Brain Morphology in Healthy Humans / M. J. Kempton et al. // *Hum Brain Mapp*. 2009. Vol. 30. P. 291-298.
163. França M. B., Panek A. D., Eleutherio E. C. Oxidative stress and its effects during dehydration // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2007. Vol. 146 (4). P. 621-631.
164. Ultrastructure of Weber's Salivary Glands of the Root of the Tongue in the Rat / T. Nagato et al. // *Anat Rec*. 1997. Vol. 249 (4). P. 435-440.
165. 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 p.
166. Finkel T., Holbrook N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing // *Nature*. 2000. Vol. 408 (6809). P. 239-247.
167. Understanding Clinical Dehydration and Its Treatment / D. R. Thomas et al. // *J Am Med Dir Assoc*. 2008. Vol. 9 (5). P. 292-301.
168. Vitamin A, Cancer Treatment and Prevention: The New Role of Cellular Retinol Binding Proteins / E. Doldo et al. // *Biomed Res Int*. 2015. Article ID 624627. doi: 10.1155/2015/624627.