

**О.Р.Джура
А.М.Ященко**

Львівський національний
медичний університет
імені Данила Галицького

Ключові слова: прищито-
подібні залози, лектинова
гістохімія, паратгормон,
кальцій, фосфор, магній.

*Надійшла: 03.07.2007
Прийнята: 17.08.2007*

УДК: 611.441+616.44)-018:547.96]-019

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ЛЕКТИНО- ГІСТОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРИЩИТОПОДІБНИХ ЗАЛОЗ ТА КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ПОРІВНЯЛЬНОМУ АСПЕКТІ

Дослідження проведене у рамках науково-дослідної роботи "Пошук нових препаратів лектинів із сировини Карпатського регіону та можливості їх застосування у біології і медицині" (№ державної реєстрації 0102U007224).

Резюме. Метою роботи було проведення порівняльного аналізу кісткової тканини морських свинок і людини на фоні морфології прищитоподібних залоз у віковому аспекті. Об'єкт дослідження – структурні елементи та вуглеводні детермінанти клітин прищитоподібних залоз та кісткової тканини у порівнянні з показниками мінерального обміну та рівня паратгормону. Використовували морфометричні, гістохімічні, лектиногістохімічні, біохімічні та імунологічний методи. Виявлено корелятивні зв'язки між об'ємом ядер паратироцитів та вмістом у них ДНК та РНК, рівнем паратгормону та вмістом кальцію, фосфору, магнію як у сироватці крові, так і кістковій тканині. Встановлено достовірне зменшення ширини кортикального шару і трабекул відростка клубової кістки на фоні незначного зростання вагового вмісту кісткового мінералу – кальцію у III (60-74 pp.) та IV (75-90 pp.) групах жінок. Показано вікову залежність зміни вуглеводних детермінант паренхіми та стромальних елементів як прищитоподібних залоз, так і кісткової тканини. Це розширило наші знання про гістохімічні зміни досліджуваних органів впродовж постнатального онтогенезу, демонструючи важливість використання лектинів як селективних маркерів хондроцитів, остеобластів, остеоцитів та остеокластів.

Dzhura O.R., Yashchenko A.M. Comparative changes of morphology and lectin histochemistry characteristics of parathyroid glands and bone tissue.

Summary. The aim of the study was comparative analysis of guinea pig and human bone tissue due to postnatal changes of parathyroid glands morphology. The object of research were structural elements and cellular carbohydrate determinants of parathyroid glands and bone tissue with comparative characteristics of mineral exchange and parathyroid hormone levels. Were used morphometric, histochemistry, lectin histochemistry, biochemistry and immunology methods. Age- and sex-related morpho-functional and lectin histochemical peculiarities of parathyroid glands and bone tissue were investigated during postnatal ontogenesis in human and guinea pig. Correlations between DNA/RNA contents, nuclear volume of parathyrocytes, blood parathormone level with respect to Ca-, P-, and Mg- content in blood serum and bone tissue were estimated. We detected significant reduction of the width cortical layer and osseous trabecules, increased iliac bone mineralization, with simultaneous enhancement of nuclear volume and DNA/RNA content of parathyrocytes in females of groups III (aged 60-74) and IV (aged 75-90). We revealed age-related changes in lectin binding to cellular and stromal elements of parathyroid glands and bone tissue. The data extend our knowledge on the histochemical peculiarities of parathyroid glands and bone tissue during postnatal ontogenesis and under hyperparathyroidism, demonstrate possibilities of lectin application for selective labelling of chondrocytes, osteoblasts, osteocytes and osteoclasts.

Key words: parathyroid glands, bone tissue, lectin histochemistry, parathyroid hormone, Ca-, P-, Mg-content.

Вступ

На сьогодні проведено широкий спектр наукових досліджень по вивченню патології прищитоподібних залоз (ПЩЗ), зокрема різних форм гіпер- та гіпопаратирозидизму, їх взаємозв'язок із розвитком патологічних процесів, що відбуваються у кістковій системі, шлунково-кишковому тракті, нирках, нервовій і серцево-судинній системі та ін. (Котова И.В. и др., 2003; Bilezikian J.P. et al., 2004). Увага дослідників зосередилась на

аналізі механізмів прояву первинного гіперпаратирозидизму переважно жінок постменопаузального віку, у яких є фізіологічно обумовленою втрата кісткової маси внаслідок зниження ендокринної функції яєчників (Villareal D.T. et al., 2001; Siris E.S. et al., 2001). Проте досліджень стосовно вікових морфофункціональних особливостей розвитку кісткової тканини (КТ) у порівнянні зі змінами у складі ПЩЗ та на фоні мінерального обміну у порівняльновидовому аспекті у доступ-

ній нам літературі ми не зустріли.

Мета

Провести порівняльний аналіз кісткової тканини морських свинок і людини на фоні морфології прищитоподібних залоз у віковому аспекті.

Матеріали та методи

Для дослідження були використані прищитоподібні залози, кісткова тканина (стегнові кістки) та кров 30 морських свинок, яких розділили на три вікові групи: I група – 3 міс., II група – 1 рік, III група – 3 роки; у кожній групі по 5 самців та 5 самок. Тварини утримувались у стандартних умовах віварію. Для одержання матеріалу тварин піддавали ефірному наркозу згідно правил проведення робіт з використання лабораторних тварин (1977) та Наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. “Про міри по подальшому вдосконаленню організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин”. Аутопсійний матеріал прищитоподібних залоз та кісткової тканини (з ділянки верхньої передньої клубової ості) чоловіків та жінок різних вікових груп отримували у Львівському патолого-анатомічному бюро у процесі проведення поточних розтинів при відсутності в анамнезі та патоморфологічному заключенні хвороб, що могли вплинути на результати проведених досліджень. Весь матеріал було розділено на 4 вікові групи (згідно класифікації ВООЗ) : I група, люди зрілого віку (30–44 pp.), II група, середній вік (45–59 pp.), III група, похилий вік (60–74 pp.), IV група, старечий вік (75–90 pp.), окремо чоловіки (n = 20) та жінки (n = 20). Кров на паратгормону (ПТГ) досліджували у 77 умовно здорових осіб. Матеріал отримували у відповідності з вимогами норм біоетики.

Отриманий матеріал ПЩЗ фіксували у 4% нейтральному розчині формальдегіду впродовж доби та піддавали подальшій гістологічній обробці відповідно до методики (Горальський та співавт., 2005) метою виготовлення препаратів товщиною 5–7 мкм. Для загальногістологічних та морфометричних досліджень зрізи зафарбовували гематоксиліном та еозином. Зафарбування по Ейнарсону, використовували з метою оцінки процесів транскрипції у ядрах паратироцитів із застосуванням напівкількісного методу визначення нуклеїнових кислот (НК) – ядерної ДНК та РНК (Горальський та співавт., 2005). Морфометричні дослідження передбачали підрахунок: а) кількісного співвідношення головних та оксифільних паратироцитів (%); б) середнього діаметру ядер головних паратироцитів, у відносних одиницях (в.од.); в) визначення об'єму ядер паратироцитів (мкм³), який проводили за формулою: $V = 1/6 \times \pi \times D \times d^2$, де π – (3,14159...); D – найбільший діаметр ядра паратироцита; d – найменший діаметр ядра паратироцита (Автанділов Г.Г., 1990). Для вивчення особливостей вуглеводного профілю прищитоподібних залоз та кісткової тканини здійснювали лектиногістохімічні дослідження (Луцик и др., 1989) за допомогою шести лектинів різної вуглеводної специфічності: лектин зарод-

ків пшениці, WGA (специфічний до NAcDGlс>NAcNeu), лектин арахісу, PNA (специфічний до β DGal-H>3DGal NAcD-Gal), лектин рицини, RCA (специфічний до β DGal> β DGalNAc), конканаваліну А, ConA (специфічний до α Man>DGal), лектин золотого дощу звичайного, LABA (специфічний до α LFuc), лектин бузини чорної, SNA (специфічний до Neu5Ac/2>6 Gal), отриманих у лабораторії “Лектинотест” Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (Антонюк В.О., 2005). Експресію рецепторів визначали у плюсах: – відсутність зв'язування, \pm слабе зв'язування, + помірне зв'язування, ++ сильне зв'язування, +++ дуже сильне зв'язування. Визначення рівня паратгормону у плазмі крові здійснювали імунорадіологічним методом з використанням набору реактивів BioSource hPTH-120min-IRMA Kit (Antwerp, Belgium) на гамалічильнику “ГАМА-800” (Україна, Київ) (ліцензія МОЗ України № 628244 серія АА від 22.08.2003 р.). Визначення вмісту кальцію, фосфору та магнію у крові здійснювали за методиками (Камышников В.С., 2000) з використанням стандартних реактивів Bio-La-Test фірми LaChema (Brno, Czech Republic) та кістковій тканині на атомно-абсорбційному спектрофотометрі AAC-115 на базі Львівської обласної СЕС із використанням стандартних наборів реактивів при відповідній довжині хвилі: кальцій (II) – ДСЗУ 022.41-96 (1мг/см³), λ = 422,7нм; магній (II) – ДСЗУ 022.88-98 (1мг/см³), λ = 285,2нм. Вміст фосфору визначали спектрофотометрично (СФ-46) при довжині хвилі λ = 360–370 нм з використанням стандартного набору для фосфору (III) ДСЗУ 022.119-00. При статистичній обробці результатів дослідження з метою візуалізації результатів морфологічних досліджень використовували ліцензовану програму подачі відеозображення AVerMedia. Морфометричні параметри визначали за допомогою комп'ютерної програми UTHSCSA “Image Tool for Windows. Version 2.00” (USA). Статистичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Office Excel 2003 та STATISTICA.6 (USA) з визначенням “М” та середньої похибки “m”, які представлено у таблицях та графіках. У роботі використовували три рівні достовірності: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Результати та їх обговорення

При загальноморфологічному дослідженні ПЩЗ досліджуваних тварин та людини було виявлено характерну трабекулярну структуру ПЩЗ з наявністю головних темних, світлих та оксифільних паратироцитів. Елементи стромы, вростаючи з поверхні капсули у паренхіму ПЩЗ, ділили її на часточки. З віком кількість стромальних елементів (адипоцити, колагенові волокна) зростала. Морфологічні дослідження клітинного складу ПЩЗ морських свинок та людини з віком показали зменшення відносної кількості головних паратироцитів поряд зі зростанням вмісту

оксифільних клітин. Оцінка різниці клітинного складу ПЩЗ обох статей в онтогенезі показала достовірне зростання кількості оксифільних паратироцитів у II та III групах самок морських свинок від $2,57 \pm 0,31 \%$ до $5,03 \pm 0,23 \%$ ($p < 0,001$) та $5,35 \pm 0,51 \%$ ($p < 0,01$) відповідно. Подібна тенденція була відсутньою у самців II групи, проте у III віковій групі спостерігали достовірне зменшення кількості головних паратироцитів із відповідним зростанням оксифільних клітин до $4,16 \pm 0,29 \%$ ($p < 0,05$). У жінок достовірне зниження головних клітин ПЩЗ спостерігали у III (60-74 pp.) та IV (75-90 pp.) досліджуваних групах, а саме $93,00 \pm 1,50 \%$ ($p < 0,05$) та $91,70 \pm 1,30 \%$ ($p < 0,01$), порівняно з $97,70 \pm 1,10 \%$ у I (30-44 pp.) віковій групі. Натомість у чоловіків зниження відносної кількості головних клітин виявляли в II (45-59 pp.) та III (60-74 pp.) вікових групах $93,90 \pm 1,20 \%$ та $94,60 \pm 1,00 \%$ ($p < 0,05$) відповідно, порівняно із $98,00 \pm 0,90 \%$ у I групі чоловіків. У III віковій групі процентний вміст оксифільних паратироцитів жінок був достовірно вищим, ніж у чоловіків.

Корелятивний аналіз між зменшенням відносної кількості головних клітин ПЩЗ людей з віком, порівняно із зростанням об'єму їх ядер, виявив його слабкий характер у чоловіків, проте зберігав сильний обернений зв'язок серед жінок $r = -0,89$. Зростання об'єму ядер головних паратироцитів (на $6,81\%$, $p < 0,05$ та $17,45\%$, $p < 0,001$) супроводжувалось зниженням кількості цих клітин (на $4,74\%$, $p < 0,05$ та $6,00\%$, $p < 0,01$) у складі паренхіми прищитоподібних залоз жінок III та IV груп. Серед самців та самок морських свинок в онтогенезі кореляція між відносною кількістю головних паратироцитів та об'ємом ядер (рис. 1) в обох випадках зберігала сильний обернений характер $r = -0,98$ та $r = -0,96$ відповідно. Це свідчить про тенденцію зростання середнього об'єму ядер головних паратироцитів поряд із зменшенням їх відносної кількості у паренхімі ПЩЗ як людей, так і досліджуваних груп тварин з віком незалежно від статі.

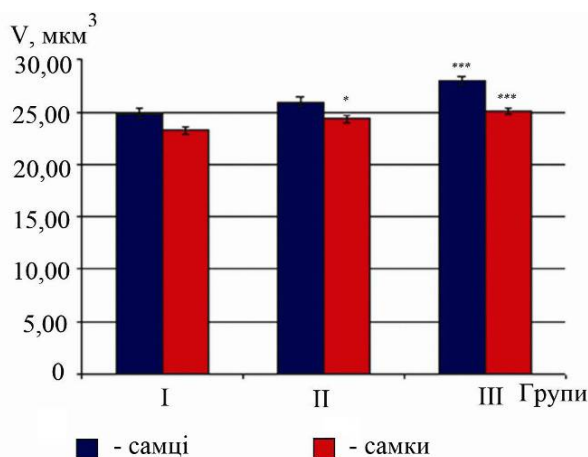


Рис. 1. Об'єм ядер головних паратироцитів самців та самок різних вікових груп.

Аналіз препаратів, зафарбованих по Ейнарсону, засвідчив достовірне зменшення відносної кількості головних клітин з високим вмістом НК у ПЩЗ самок морських свинок з віком. Так, у II групі спостерігали зниження відносної кількості цих клітин на $23,00\%$, $p < 0,05$, а у III групі на $27,66\%$, $p < 0,05$, що супроводжувалось відповідним зростанням головних паратироцитів з помірним вмістом НК у ядрі на $21,00\%$, $p < 0,01$ та $22,67\%$, $p < 0,01$ відповідно. Відносна кількість клітин зі слабо пофарбованими ядрами паратироцитів у самок з віком зростала. Поряд з тим у самців спочатку спостерігалось у двічі більше зростання відносної кількості паратироцитів з інтенсивно пофарбованими ядрами з подальшим їх зменшенням, та паралельно зменшувалась відносна кількість клітин з помірним вмістом НК на $25,00\%$, $p < 0,001$ та $15,00\%$, $p < 0,001$ у II та III групі відповідно.

Корелятивний аналіз між об'ємом ядер головних паратироцитів та відносною кількістю клітин з високим та середнім вмістом НК засвідчив тісний обернений зв'язок у самок ($r = -0,97$) та відсутність такого у самців морських свинок.

Проте відмічено високий позитивний зв'язок між рівнем ПТГ у крові та високим ступенем інтенсивності фарбування ядер паратироцитів як у самок, так і у самців $r = 0,78$ та $r = 0,93$ відповідно.

Підвищення відносної кількості клітин із високим вмістом НК у ядрах паратироцитів I групи самок морських свинок та II групи самців зумовлено потребою молодого організму тварин у ПТГ, необхідного у відповідних вікових групах самців та самок для реалізації процесів остеогенезу КТ (Држевецкая І.А., 1989; Риггс Б.Л. и др., 2000).

У осіб обох статей зростання відносної кількості оксифільних клітин як і у досліджуваних тварин супроводжувалось збільшенням процентного вмісту паратироцитів із низьким вмістом НК, причому кореляція між цими клітинами у жінок характеризувалась сильним позитивним зв'язком $r = 0,95$. Зменшення відносної кількості клітин із сильною та помірною реакцією Ейнарсона у ядрах паратироцитів характеризувалось сильним позитивним зв'язком із зниженням процентного вмісту головних клітин ПЩЗ як у жінок, так і чоловіків $r = 0,95$ та $r = 0,92$ відповідно. Між зниженням відносної кількості паратироцитів із високим та помірним вмістом НК у ядрах і зростанням середнього діаметру та об'єму ядер головних клітин у жінок виявлялась сильна негативна кореляція $r = -0,83$ та $r = -0,81$ відповідно, а у чоловіків в обох випадках вона була дуже низькою.

Отже, на фоні зменшення відносної кількості головних паратироцитів синтетичні процеси посилювались у ПЩЗ жінок за рахунок зростання середнього діаметру та об'єму ядер паратироцитів, що співзвучно із (Robbins С. et al., 1999; Риггс Б.Л. и др., 2000), проте у IV віковій групі

співвідношення відносної кількості клітин із різним рівнем НК у ядрах і чоловіків, і жінок був майже однаковий.

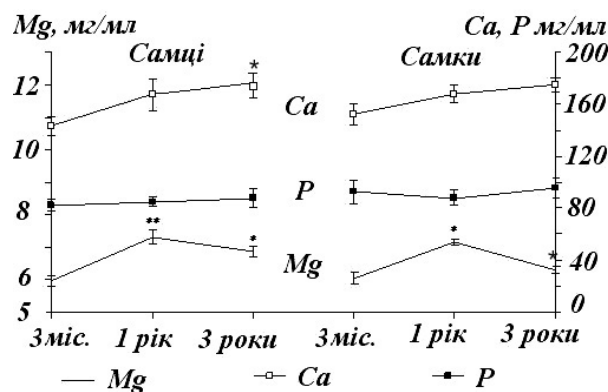
Лектиногістохімічні дослідження ПЩЗ показали однакове слабе гомогенне зв'язування клітин паренхіми ПЩЗ з манозоспецифічним лектином Con A. Високим ступенем зв'язування рецепторів лектинів WGA та SNA характеризувалися стінки судин мікроциркуляторного русла як ПЩЗ морських свинок, так і людини, що співпадає з результатами досліджень на щурах (Луцук О.Д. та ін., 1997). Слід відмітити помірну експресію рецепторів лектинів PNA, RCA та SNA у перинуклеарному просторі численних паратироцитів усіх вікових груп самців та II, III груп самок морських свинок, що простежувалося і в окремих скупченнях клітин паренхіми ПЩЗ чоловіків усіх вікових груп та III - IV групі жінок.

Однак, спостерігали і відмінні риси в експресії рецепторів лектинів у складі клітинних та позаклітинних структур ПЩЗ тварин та людини з віком. Так, у людей спостерігалось посилення зв'язування лектинів PNA та LABA паратироцитами паренхіми, локалізованих окремими скупченнями довкола адипоцитів, місць стромального переродження паренхіми ПЩЗ з віком, що може свідчити про появу в них апоптичних процесів. Нещодавно було проведено ряд досліджень із використанням лектинів різної вуглеводної специфічності, що засвідчили здатність окремих α -D-манозо- та β -D-галактозоспецифічних лектинів факультативно виявляти клітини за умов індукції в них апоптичних процесів (Фільченков О.О. та ін., 2006; Білий Р., 2007). У I групі чоловіків та III - IV групах жінок спостерігали поодинокі клітини паренхіми, що відповідно помірно зв'язувалися лектинами WGA та Con A.

На відміну від досліджень, проведених раніше (Doi N., 1991), з використанням лектинів SBA, Con A, WGA, RCA, BSA II, PNA, у яких не вказані диференційні ознаки клітин паренхіми ПЩЗ як у нормі, так і при патології, нами виявлені суттєві відмінності у прояві тих чи інших вуглеводних детермінант окремих груп клітин чоловіків та жінок з віком. Нагромадження рецепторів лектинів PNA та Con A в цитоплазмі оксифільних клітин співзвучні з результатами досліджень (Луцук А.Д. и др., 1989), що може бути ознакою клітинної диференціації.

При аналізі результатів дослідження впливу

рівня ПТГ на стан КТ тварин у процесі онтогенезу слід відмітити незначні коливання рівня цього гормону у самців та самок морських свинок. В обох статей виявлено зростання вмісту кальцію та фосфору у КТ з віком. Відмічено достовірне зростання вмісту кальцію на 16,56% ($p < 0,05$) у кістковій тканині у самців III групи (рис. 2). Поряд з тим виявлено високий ступінь кореляції рівня ПТГ із показниками загального рівня кальцію та фосфору в крові самців $r = 0,98$ та $r = -0,99$ відповідно, а також вмістом кальцію у КТ $r = 0,94$. У самок характер корелятивного зв'язку між рівнем ПТГ та вмістом кальцію у крові та КТ дещо послаблювався $r = 0,77$ та $r = -0,85$ відповідно, що свідчить про незалежне зростання рівня кальцію у кістковій тканині самок з віком.



Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

Рис. 2. Рівень кальцію, фосфору, магнію в кістковій тканині самців і самок морських свинок з віком.

Водночас вплив ПЩЗ на стан КТ у людей ми могли оцінювати за співвідношенням головних та оксифільних паратироцитів, а також інтенсивністю зафарбування НК у ядрах паратироцитів відповідних груп. Значні індивідуальні коливання вагового вмісту кальцію, фосфору та магнію у КТ чоловіків та жінок дозволили провести аналіз середніх значень в межах кожної окремої групи, який показав тенденцію до зниження рівня кальцію для чоловіків та певного зростання у жінок, зростання рівня фосфору лише у жінок та підвищення рівня магнію у II та III вікових групах і чоловіків, і жінок (табл. 1).

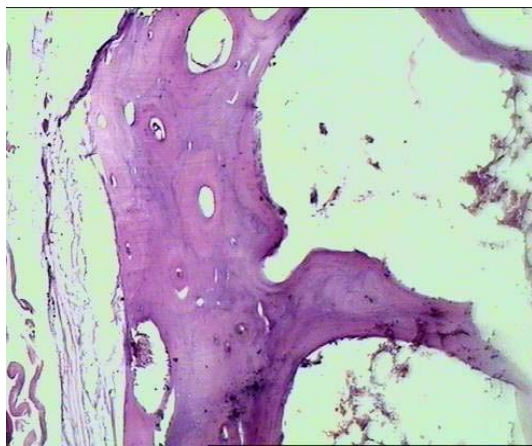
Таблиця 1

Вміст кальцію, фосфору та магнію у кістковій тканині людей в онтогенезі ($M \pm m$)

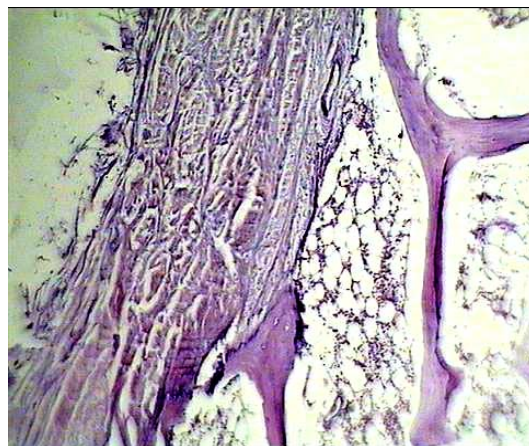
Стать Вид КТ Групи	Чоловіки			Жінки		
	Кальцій, мг/г	Фосфор, мг/г	Магній, мг/г	Кальцій, мг/г	Фосфор, мг/г	Магній, мг/г
I	105,98 \pm 21,93	56,35 \pm 9,70	1,44 \pm 0,20	80,30 \pm 4,40	29,95 \pm 8,45	1,87 \pm 0,73
II	93,87 \pm 10,85	42,87 \pm 2,00	2,34 \pm 0,34	86,55 \pm 16,85	45,55 \pm 24,65	2,25 \pm 0,15
III	91,47 \pm 10,70	43,20 \pm 13,51	2,14 \pm 0,31	84,45 \pm 3,15	41,15 \pm 9,65	2,74 \pm 0,20
IV	87,70 \pm 14,10	44,40 \pm 24,20	1,97 \pm 0,11	83,78 \pm 8,87	50,28 \pm 4,37	1,34 \pm 0,08

При порівнянні вмісту кальцію у КТ із відносною кількістю головних паратироцитів та відносною кількістю клітин ПЩЗ з високим та помірним вмістом НК відмічено тісний позитивний зв'язок у чоловіків ($r = 0,95$ та $r = 0,91$ відповідно), що свідчить про незалежне від ступеня синтетичних процесів у ПЩЗ, а отже і рівня ПТГ зниження рівня кальцію з віком у КТ чоловіків, та повну обернену кореляцію між досліджуваними показниками у жінок, що однак вказує на можливість утримання з віком вмісту кальцію у КТ, поряд із зниженням рівня естрогенів. Така тенденція у жінок пояснюється різницею між поняттям мінеральна щільність КТ та вміст мінеральних речовин, кількість яких з віком може зростати (Риггс Б.Л. и др., 2000), однак не у всіх жінок. Слід зазначити, що і у чоловіків, і у жінок IV вікової групи відносна кількість паратироцитів із

найбільшим та найменшим вмістом НК у ядрах була на одному рівні, проте у жінок середній об'єм ядер зростав на 17,45%, при $p < 0,001$, що може бути непрямим свідченням підвищення синтетичної активності клітин ПЩЗ у осіб слабкої статі у найстаршій віковій групі (Риггс Б.Л. и др., 2000). При порівняльній характеристиці ширини кортикального шару відростка клубової кістки та ширини трабекул у чоловіків та жінок з віком слід відмітити достовірне зниження ширини кортикального шару і трабекул у III та IV групах жінок, а також IV групі чоловіків. Отже, посилення мінералізації кісткової тканини жінок III та IV вікових груп (зростання вмісту кальцію на 5,2% та 4,3%) супроводжувалось зменшенням ширини кортикального (на 52,96% та 57,01%, $p < 0,001$) і трабекулярного шару (на 50,82% та 56,25% відповідно, $p < 0,001$) (рис. 3).



А



В

Рис. 3. А – трабекулярна КТ чоловіка III вікової групи ($\times 120$); В – трабекулярна КТ жінки III вікової групи ($\times 120$).

Лектиногістохімічна оцінка КТ морських свинок та людини виявила ряд спільних та відмінних рис прояву вуглеводних детермінант глікокон'югатів як у кістковому матриксі, так і клітинному складі в онтогенезі. Так, у самців I групи ступінь зв'язування рецепторів лектинів Con A, PNA, SNA у хондромукоїді метаепіфізарної пластинки (МЕП) був вищим ніж у самок. У II віковій групі МЕП зберігалась лише у самців, і ступінь експресії рецепторів лектинів дещо знижувався, що може свідчити про активність синтетичних процесів у хондробластах проліферативних ділянок даного хряща порівняно із хрящем суглобових поверхонь (СП). Найяскравішою у цьому випадку була різниця експресії α DMan \rightarrow DGal-рецепторів лектину Con A в першій групі самців. Подібну високу інтенсивність манозоспецифічних лектинів спостерігали у гіалінових хрящах різних місць локалізації впродовж ембріонального розвитку щурів (Howard D.R. et al., 1982). Нами виявлено помірно позитивну експресію рецепторів лектину PNA в першій

віковій групі обох статей як у хондромукоїді усіх зон МЕП, так і СП. З віком ступінь нагромадження досліджуваних нами глікополімерів у міжклітинній речовині гіалінового хряща знижувався, зберігаючи при цьому якісну відмінність в залежності від їх локалізації.

Використані нами лектини вказали на значний вміст у капсулах ізогенних груп вуглеводних детермінант NAcDGlc \rightarrow NAcNeu у ділянці СП, а також рецепторів лектину SNA (Neu5Ac/2 \rightarrow 6Gal) усіх зон СП та МЕП. Слід відмітити високий ступінь експресії рецепторів лектину SNA, та у меншій мірі RCA у хондроцитах гіалінового хряща різних місць локалізації, що вказує на ступінь їх диференціації та уможливорює спостерігати міотичні процеси в проліферативних зонах росту. В усіх досліджуваних групах тварин спостерігалась часткова або повна відсутність експресії фукозоспецифічного лектину LABA в міжклітинній речовині та у складі клітинних елементів кісткової та хрящової тканин, що співпадає з результатами (Zschabitz A. et al., 1995). Подібну ареаактивність

зв'язування лектинів LABA і Con A, та незначну із лектинами WGA, PNA, SNA проявляв осеомукоїд КТ чоловіків та жінок.

Розташовані у лакунах остецити проявляли переважно лектин-негативну реакцію, за винятком лектинів SNA та RCA, що дозволяє простежити розгалуження лакунарно-каналцевої системи грубоволокнистої та компактної кісток самців та самок морських свинок усіх досліджуваних груп. У лакунарно-каналцевій системі морських свинок слабо або помірно виявлялися рецептори лектинів PNA та LABA, у людей подібні зв'язки остецитів між собою та поверхнею КТ забезпечували біополімери β DGal > β DGal NAc та NAcDGlc > NAcNeu, причому останній у IV групі чоловіків проявляв помірну спорідненість до остецитів КТ.

Усі клітини хрящової тканини (ХТ) та остеогенного ряду тварин були виразно сіалоспецифічними, хоча з віком спостерігали редукцію зв'язування лектину SNA. У людей ступінь сіалізації клітин остеогенного ряду був слабкий, за винятком старших вікових груп жінок. Рецептори цього лектину інтенсивно нагромаджувалися у зоні резорбції МЕП хряща стегнових кісток морських свинок, а саме в місцях цементації, що дозволяє чітко бачити лінію розмежування хондро- та осеомукоїду. Це свідчить про ймовірне забезпечення сіалогліканами механізму лінії цементації при формуванні кістки у процесах хрящового остеогенезу, на що вказують (Kagayama M. et al., 1993).

У процесі формування нової КТ у зонах резорбції хряща та ремоделювання її з віком у компактну речовину діафізів трубчастих кісток морських свинок нами показано нагромадження рецепторів лектину PNA та SNA на поверхні остеокластів різних вікових груп обох статей морських свинок. Поряд з тим, дослідження, проведені з NAcDGal-специфічним лектином MPA (*Maclura pomifera*) констатували високий ступінь його зв'язування на поверхні цих клітин (Nakamura M. et al., 1989). Осеомукоїд грубоволокнистої кістки морських свинок проявляв слабо позитивну реакцію з лектинами WGA, Con A, PNA, SNA. Показано помірне нагромадження рецепторів лектинів Con A, PNA, RCA, SNA в колагенових волокнах та гістіоцитах окістя як тварин, так і людей, що свідчить про роль вуглеводних компонентів у формуванні пучків колагенових волокон. Проведені нами дослідження показали загальний прояв редукції ступеня експресії олігосахаридних структур у складі позаклітинного матриксу як хрящо-

вої, так і кісткової тканини у динаміці онтогенезу, що співпадає з даними літератури (Kagayama M. et al., 1993; Zschabitz A. et al., 1995).

Результати досліджень показали видову специфічність глікокон'югатів поверхні клітин, внутріклітинних компартментів та екстрацелюлярних структур прищитоподібних залоз досліджуваних об'єктів. Помірна експресія рецепторів лектинів PNA, RCA та SNA у перинуклеарних зонах паратироцитів II (1 рік) та III (3 роки) груп досліджуваних тварин супроводжувалась редукцією рецепторів окремих лектинів (Con A, WGA) як у прищитоподібних залозах, так і кістковій тканині. У чоловіків та жінок поряд із зростанням PNA-позитивних клітин у паренхімі ПЩЗ також відбувалась редукція рецепторів лектинів Con A, WGA у складі кісткової тканини з віком. Видова специфічність зв'язування лектинів з клітинами остеогенного та хондрогенного ряду: лектини RCA для остеобластів та остецитів морських свинок та WGA – людини, свідчить про перспективність використання їх у якості селективних маркерів клітин.

Висновки

1. Вивчення морфофункціональних та лектиногістохімічних особливостей прищитоподібних залоз морських свинок і людини показало подібні риси їх будови у віковому аспекті, поряд із видовими відмінностями у експресії рецепторів окремих лектинів (PNA, RCA та SNA).

2. У кістковій тканині тварин на фоні незначних коливань рівня паратгормону відмічено стабільне зростання вагового вмісту кальцію з віком, тоді як у людей старших вікових груп спостерігали індивідуальні відмінності як чоловіків, так і жінок на фоні достовірного зменшення товщини кортикального і трабекулярного шару верхньої передньої клубової ості.

3. Лектини RCA та WGA можна вважати специфічними видовими маркерами клітин остеогенного ряду морських свинок і людини відповідно.

Перспективи подальших розробок. Отримані при використанні морфометричних, гістохімічних та біохімічних методів результати досліджень можуть бути використані у подальшому при моделюванні патологічних станів. Виявлені у результаті лектиногістохімічних досліджень особливості видових, вікових та статевих змін вуглеводного профілю структурних компонентів досліджуваних органів тварин і людини доводять потребу враховувати специфічність зв'язування лектинів у порівняльно видовому аспекті за умов проведення експерименту.

Літературні джерела

Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство.- М.: Медицина, 1990.- 384 с.

Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела.- Львів: Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького, 2005.- 554 с.

Білий Р. Мембранні глікопротеїни клітин за умов апоптозу: виявлення, характеристика, біомедичні аспекти дослідження: Автореф. дис. ... кандидата біол. наук / Інститут біології клітини НАН України.- Львів, 2007.- 21 с.

Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології.- Житомир: Полісся, 2005.- 288 с.

Држевецкая И.А. Эндокринная система растущего организма.- М.: Высшая школа, 1987.- 206 с.

Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике.- Минск: Беларусь, 2000.- 286 с.

Котова І.В., Бритві Т.А., Богатирьов О.П. Первинний гіперпаратиреоз і рак прищитоподібних залоз // Клін. ендокринол. та ендокрин. хірургія.- 2003.- Т.4, №3.- С.43-47.

Луцик А.Д., Детюк Е.С. Луцик М.Д. Лектины в гистохимии / Под ред. Е.Н.Панасюка.- Львов: Выща школа, 1989.- 144с.

Луцик О.Д., Бенкстон П.В. Гетерогенність деяких клітинних популяцій шура, виявлена методами лектиногістохімії // Acta Medica Leopoliensia.- 1997.- Vol. 3, № 1-2.- P.70-78.

Риггс Б.Л., Мелтон III Дж. Остеопороз / Пер. с англ. И. Скрипникова, Н.Бунчук, Т. Баркова.- М.: БИНОМ, 2000.- 560 с.

Фільченков О.О., Стойка Р.С. Апоптоз і рак: від теорії до практики.- Тернопіль: ТДМУ, 2006.- 524 с.

A histochemical localization on Maclura pomifera lectin during osteogenesis / M. Nakamura, H. Akita, I. Mizoguch et al. // Histochemistry and Cell

Biology.- 1989.- Vol.92, №3.- P.225-230.

Bilezikian J.P., Silverberg S.J. Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism // Neu England Journal of Medicine.- 2004.- Vol.350, №17.- P.1746-1751.

Bone mineral density response to estrogen replacement in frail elderly women / D.T.Villareal, E.F.Binder, D.B.Williams et al. // JAMA.- 2001.- Vol.286, №7.- P.815-820.

Glicoconjugate expression of chondrocytes and perichondrium during hyaline cartilage development in the rat / A.Zschabitz, V.Krahn, H.Gabius et al. // J. Anat.- 1995.- Vol.187, №1.- P.67-83.

Howard D.R., Batsakis J.G. Peanut agglutinin: a new marker for tissue histiocytes // Am. J. Clin. Path.- 1982.- Vol.77.- P.401-408.

Identification and fracture outcomes of undiagnosed low bone mineral density in postmenopausal women / E.S.Siris, P.D.Miller, E.Barrett-Connor et al. // JAMA.- 2001.- Vol.286, №33.- P.2815-2822.

Kagayama M., Sasano Y., Akita H. Lectin binding in bone matrix of adult rats with special reference to cement lines // Tohoku J Exp Med.- 1993.- Vol.170, №2.- P.81-91.

Lectins expression of parathyroid glands with primary hyperparathyroidism / N.Doi, N.Moriyama, Y.Hosaka et al. // Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi.- 1991.- Vol. 82, № 4.- P.572-578.

Robbins C., Ramzis W.B. Pathologic basis of disease.- Philadelphia: Saunders Company, 1999.- 1490 p.

Джура О.Р., Ященко А.М. Морфологические и лектиногистохимические характеристики околощитовидных желез и костной ткани в аспекте сравнения.

Резюме. Цель работы определялась проведением сравнительного анализа костной ткани морских свинок и человека на фоне морфологии околощитовидных желез в возрастном аспекте. Объектом исследования выступали структурные элементы и углеводные детерминанты клеток околощитовидных желез и костной ткани в сравнении с показателями минерального обмена и уровня паратгормона. Использовали морфометрические, гистохимические, лектиногистохимические, биохимические и иммунологические методы.

Обнаружена корреляционная связь между объемом ядер паратироцитов и содержанием в них нуклеиновых кислот, уровнем паратгормона и весовым содержанием кальция фосфора, магния как в сыворотке крови, так и костной ткани. Установлено достоверное уменьшение ширины кортикального шара и трабекул отростка подвздошной кости на фоне незначительного увеличения весового содержания костного минерала – кальция в III (60-74 гг.) и IV (75-90 гг.) женских группах. Показана возрастная зависимость изменений углеводных детерминант паренхимы и стромальных элементов как околощитовидных желез, так и костной ткани. Это расширило наши познания о гистохимических изменениях исследуемых органов в процессе постнатального онтогенеза, демонстрируя важность использования лектинов как селективных маркеров хондроцитов, остеобластов, остеоцитов и остеокластов.

Ключевые слова: околощитовидные железы, костная ткань, лектиногистохимия, паратгормон, кальций, фосфор, магний.