

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЛИНДІНА ЮЛІЯ МИКОЛАЇВНА

УДК 611.018.46+611.43.018]-092.9:613.63:615.356:577.161.3(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КІСТКОВОГО МОЗКУ
ЗА УМОВ ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

14.03.01 – нормальна анатомія

22 – «Охорона здоров'я»

222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук.
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Ю.М. Линдіна

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

Суми – 2020

АНОТАЦІЯ

Линдіна Ю. М. Морфологічні особливості кісткового мозку за умов впливу солей важких металів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.01 «Нормальна анатомія». – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2020.

Останніми десятиріччями одержано безліч результатів про кількісний та якісний склад кісткового мозку, основного органа кровотворення у ссавців, що враховують топографію його розміщення та вік тварин. Але існує постійна потреба в уточненні одержаних результатів. У наш час значної актуальності набувають проблеми впливу екзогенних факторів на живі організми. Одними з найпотужніших полютантів є солі важких металів, уміст яких у деяких регіонах перевищує гранично допустимі концентрації у довкіллі. За рахунок індукції перекисного окиснення ліпідів й утворення активних форм кисню, конкуруючого заміщення есенційних мікроелементів, дезактивації ферментних систем, ушкодження ДНК тощо може відбуватися їх прямий та опосередкований негативний вплив на процес кровотворення.

Можливість кісткового мозку накопичувати важкі метали в умовах підвищеного їх надходження до організму спонукає до дослідження гемопоезу та пошуку коректора в умовах мікроелементозу. Саме тому дисертаційна робота спрямована на вивчення морфофункціональних особливостей кісткового мозку статевозрілих щурів і хімічного складу гемопоетичної тканини за дії на організм важких металів та обґрунтування можливості корекції їх пошкоджувальної дії вітаміном Е.

Для комплексного вивчення впливу важких металів було визначено дизайн дослідження, що включав використання 84 статевозрілих білих щурів-самців. З метою встановлення дії полютантів на кістковий мозок та

відновлювальних можливостей гемопоетичної тканини тварин було поділено на дві групи. Додавання вітаміну Е до раціону тварин було підґрунтям для поділу всіх тварин на серії з метою вивчення протективних властивостей коректора.

Вивчення основних результатів експерименту та обґрунтування використання коректора з профілактично-терапевтичною метою було виконано за рахунок сучасних методів дослідження (мікроскопічне дослідження морфологічних змін кісткового мозку в гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних препаратах, їх морфометрія, кількісне оцінювання показників хімічного складу гемопоетичної тканини, дослідження показників загального та біохімічного аналізу крові, статистична обробка цифрових даних).

Наявність у літературних джерелах відомостей про екзогенний вплив полютантів окремо на гемопоез та кров, а також відсутність даних про комплексний вплив комбінації солей заліза, міді, цинку, хрому, марганцю й свинцю на гемопоетичну тканину та її функціональну здатність актуалізують весь спектр досліджень, які ми провели.

Під час виконання роботи ми вивчили елементний склад кісткового мозку в статевозрілих щурів. Установлено, що додавання до раціону тварин солей важких металів призводить до їх акумулювання у гемопоетичній тканині. Це супроводжується зменшенням площі еритроцито- та гранулоцитопоезу при одночасному зростанні кількості мегакаріоцитів. Більше того, виникають значні коливання в якісному складі кісткового мозку, що виявляються дистрофічно-некротичними та початковими диспластичними змінами в усіх його складових. Ми виявили, що гематотоксична дія проявляється порушенням функціональної спроможності кровотворної тканини у вигляді коливання показників загального аналізу крові, що безпосередньо залежать від терміну споживання важких металів та ступеня їх накопичення.

За рахунок використання комплексу сучасних методів встановлено особливості реадaptaційних можливостей кісткового мозку за умови припинення вживання ксенобіотиків. Показані виражені відновні можливості

кровотворної тканини, які також залежать від терміну спостереження. З'ясовано, що навіть упродовж 90 діб після відмінення полютантів не відбувалося повного виведення важких металів з організму, що виявлялося відхиленням від норми якісних та кількісних показників мієлоїдної тканини та крові.

Уперше за експериментальних умов надмірного надходження до організму солей важких металів вивчено протективні властивості вітаміну Е для відновлення нормальної будови та функції кісткового мозку піддослідних тварин. За рахунок додавання його в терапевтичних дозах до раціону щурів спостерігалось зменшення негативних морфологічних змін у кістковому мозку та крові впродовж вживання солей важких металів, а також прискорення регенераторних можливостей кровотворної тканини в період відновлення.

Комплексний аналіз одержаних результатів дозволив уточнити й доповнити відомості про патогенетичні ланки негативного впливу важких металів на процес кровотворення, що реалізується через прямий та опосередкований вплив екзогенних полютантів на різні паростки гемопоезу. Виявлено чіткий зв'язок між гематотоксичним ефектом ксенобіотиків та функціонуванням системи гемопоез – кров.

На підставі результатів комплексного експериментального дослідження уточнені структурні особливості кісткового мозку щурів та з'ясовані ключові його відмінності від гемопоетичної тканини людини як у нормі, так і під час споживання ксенобіотиків. Це може бути підґрунтям для подальших моделювань змін у кровотворній тканині під час вивчення впливу пошкоджувальних факторів. Виявлені результати детально демонструють особливості коливання показників гемопоезу та крові упродовж споживання суміші солей важких металів. Установлені зміни чітко демонструють виражений гематотоксичний ефект цих ксенобіотиків за їх надмірного надходження до організму.

Ми виявили відновлювальні можливості кісткового мозку після припинення екзогенного впливу полютантів, що для досягнення більш

оптимальних рівнів потребують додаткової корекції терапевтичними засобами. Таким профілактично-терапевтичним препаратом, який виявив гематопротекторні властивості впродовж експерименту, є вітамін Е. За рахунок своїх ангіопротекторних, антиоксидантних та інших властивостей він зменшує негативну дію важких металів на кістковий мозок як упродовж вживання солей важких металів, так і в період відновлення. Тому вітамін Е рекомендований до вживання за умов підвищеного забруднення довкілля цими ксенобіотиками як упродовж перебування в екологічно-небезпечних середовищах, так і впродовж відновного періоду.

Виявлені особливості будови гемопоетичної тканини в інтактних тварин та експериментальних щурів за умов впливу на організм солей важких металів і корекції виявлених змін можна використовувати припад час вивчення відповідних розділів навчального матеріалу на кафедрах теоретичного та практичного профілів, із подальшим поширенням знань у практичну діяльність лікарів. Одержані результати значно поглиблюють знання з екологічної морфології й можуть бути основою для подальшого дослідження значної кількості питань у токсикології та гематології.

Ключові слова: кістковий мозок, солі важких металів, вітамін Е, гранулоцитопоез, еритроцитопоез, тромбоцитопоез, кров.

Список публікацій здобувача:

1. Романюк АМ, Гринцова НБ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковій системі та внутрішніх органах за умови впливу на організм солей важких металів. Актуальні питання медичної науки і практики. 2015;82(2):155–160. (Здобувач провела експериментальне дослідження, опрацювала одержані результати дослідження, сформулювала висновки).

2. Romaniuk A, Lyndina Yu, Sikora V, Lyndin M, Karpenko L, Gladchenko O, Masalitin I. Structural features of bone marrow. Interv Med Appl Sci. 2016;9(2):105–11. DOI: 10.1556/1646.8.2016.3.3 (Дисертант провела експериментальне дослідження, виконала гістологічне та імуногістохімічне

вивчення препаратів, опрацювала результати дослідження, сформулювала висновки).

3. Романюк АМ, Сікора ВВ, Линдіна ЮМ, Линдін МС. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму. Буковинський медичний вісник. 2017;21(82),ч.1:145–50. DOI: 10.24061/2413-0737/XXI.2.82.1.2017.32. (Автор провела огляд та детальний аналіз літературних джерел, підготувала статтю до друку).

4. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73–81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412. (Здобувач виконала експериментальне дослідження, гістологічне та імуногістохімічне вивчення гемопоетичної тканини, інтерпретувала одержані результати).

5. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гусак ЄВ, Сумцова НГ. Визначення важких металів у кістковому мозку щурів в умовах модельованого мікроелементозу. Вісник проблем і медицини. 2018;1(142):171–7. (Дисертант провела атомно-абсорбційне дослідження кісткового мозку щурів, опрацювала одержані результати, підготувала статтю до друку).

6. Гринцова НБ, Романюк АМ, Линдін МС, Линдіна ЮМ. Вплив забруднювачів водного середовища (солей важких металів) на неспецифічні механізми регуляції гемопоезу за умов підгострої дії та корекції антиоксидантами (І-токоферол). Екологічні науки. 2018;1(20): 126–30. (Дисертант провела лабораторне дослідження крові піддослідних тварин, інтерпретувала одержані результати).

7. Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гирявенко НІ, Линдін МС, Романюк АМ. Дослідження протективних властивостей вітаміну Е на кістковий мозок щурів в умовах підвищеного споживання солей важких металів. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019;23(1):59–64. (Дисертант провела експериментальне дослідження, сформулювала результати дослідження та висновки).

8. Романюк АН, Гринцова НБ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Линдіна ЮН. Морфологические изменения в костной системе и внутренних органах в условиях влияния на организм солей тяжелых металлов. В: Збірник тез VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії; 2015 Верес 16-18; Запоріжжя. Запоріжжя: Запорізький державний медичний університет; 2015, с. 77. (Здобувач виконала гістологічне дослідження кісткового мозку, проаналізувала одержані результати).

9. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Дослідження гістологічних особливостей червоного кісткового мозку у статевозрілих щурів. В: Деміхова НВ, редактор. Збірник тез доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2015 Квіт 23-24; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2015, с. 222–23. (Дисертант провела гістологічне та імуногістохімічне дослідження гемопоетичної тканини інтактної групи щурів, проаналізувала одержані результати).

10. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковому мозку щурів за умов впливу на організм солей важких металів. В: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. Перспективні напрями наукових досліджень – 2015; 2015 Жовт 17-22; Братислава. Київ: Вид-во «Центр навчальної літератури»; 2015. Том 2; с. 116–17. (Дисертант провела експериментальне дослідження, опрацювала результати, сформулювала висновки, підготувала тези до друку).

11. Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ, Фесюра ГМ. Гістологічні особливості стромального компоненту кісткового мозку статевозрілих щурів. В: Деміхова НВ, редактор. Збірник тез доповідей IV Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2016 Квіт 21-22; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2016. Том 1; с. 135. (Здобувач виконала експериментальне дослідження, опрацювала результати дослідження, підготувала тези до друку).

12. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Линдін МС, Будко ГЮ. Особливості будови кісткового мозку у щурів. В: Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції. Природничі читання 2016; 2016 Трав 19-22; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2016, с. 69–70. (Автор виконала гістологічне дослідження, опрацювала результати, сформулювала висновки).

13. Bambizzle D, Lyndina Yu, Romaniuk A, Sikora V. Features of histological and immunohistochemical structure of rat's bone marrow. In: Third global students' conference of biomedical sciences: abstract book; 2016 Oct 20–23; Belgrade. Belgrade: Faculty of Medicine, University of Belgrade; 2016, p. 75. (Дисертант провела морфологічне дослідження кісткового мозку, опрацювала результати дослідження, сформулювала висновки).

14. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Гістоморфологічні зміни кісткового мозку за умов впливу солей важких металів. В: Марковський ВД, Сорокіна ІВ та ін, ред. кол. Збірник матеріалів заочної науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведенкова. Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи; 2016 Груд 24; Харків. Харків: ХНМУ; 2016, с. 103–5. (Здобувач провела експериментальне дослідження, сформулювала висновки, підготувала тези до друку).

15. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Особливості процесу реадaptaції у кістковому мозку щурів після вживання солей важких металів. В: Погорелов МВ. редактор. Збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2017 Квіт 20-21; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 195-6. (Дисертант виконала гістологічне дослідження, опрацювала результати дослідження, сформулювала висновки).

16. Romaniuk AM, Sikora VV, Lyndina YM, Unawunwa F. Protector properties of the vitamin E in the urinary bladder and bone marrow under conditions of simulated effect of heavy metals in high concentrations. In: Cibakova V, Boychuk TM, editors. Natural Science Readings: abstract book; 2017 May 18-21; Bratislava;

2017, р. 53-4. (Дисертант провела гістологічне дослідження, опрацювала результати дослідження, підготувала тези до друку).

17. Линдіна ЮМ. Особливості елементного складу кісткового мозку щурів за умов споживання солей важких металів. В: Погорелов МВ, редактор. Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету. Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 Лист 16-17; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 28.

18. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Особливості гематологічних показників за умови впливу солей важких металів на статевозрілих щурів-самців. В: Вадзюк СН, редактор. Збірник матеріалів науково-практичної конференції. Довкілля і здоров'я; 2017 Квіт 27-28, Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017, с. 205-6. (Здобувач провела експериментальне дослідження, опрацювала статистичні дані та результати дослідження, сформулювала висновки).

19. Линдіна ЮМ. Порівняльний аналіз морфологічної будови кісткового мозку щурів та людини. В: Корда ММ, редактор. Матеріали ХХІІ Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2018 Квіт 23–25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 265-6.

20. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ. Вивчення мієлопротективних властивостей вітаміну Е при надходженні підвищеної кількості солей важких металів у статевозрілих щурів. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 60-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука. Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі; 2018 Верес 13-15; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет, 2018, с. 116–7. (Дисертант провела гістологічне дослідження кісткового мозку, підготувала результати та сформулювала висновки).

SUMMARY

Lyndina Yu.M. Morphological features of the bone marrow under the heavy metal salts influence. – Qualification scientific work on the manuscript rights.

Thesis for acquiring academic degree of Candidate of Medical Sciences (PhD) according to specialty 14.03.01 – normal anatomy. – Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2020.

In the last decades, many results have been obtained about quantitative and qualitative composition of bone marrow, the main organ of hematopoiesis in mammals, taking into account the topography of its location and age of the animals. Nowadays problems of the influence of exogenous factors on living organisms become of great relevance. One of the most powerful pollutants is heavy metal salts, the content of which in some regions exceeds the maximum permissible concentrations in the environment. Due to the induction of lipid peroxidation and the formation of reactive oxygen species, the competitive substitution of essential microelements, the deactivation of enzyme systems, DNA damage, etc., their direct and indirect negative effects on the process of hematopoiesis can occur.

The ability of the bone marrow to accumulate heavy metals in the conditions of excessive access to the body leads to the study of hematopoiesis and the search for the corrector in the conditions of microelementosis. That is why the dissertation is aimed at studying the morphofunctional features of the bone marrow of rats and the chemical composition of hematopoietic tissue by acting on the body of heavy metal salts and substantiating the possibility of correcting their damaging effect by vitamin E.

For a complex study of the effects of heavy metals, a design of research was identified which included the use of 84 pubescent white male rats. In order to determine the action of pollutants on the bone marrow and the restorative capacity of hematopoietic tissue, animals had been into two groups divided. Addition of vitamin E to the animal diet was the basis for dividing all the animals into series in order to study the protective properties of the corrector.

The study of the main results of the experiment and the rationale for using the corrector for preventive-therapeutic purposes were performed at the expense of modern research methods (microscopic examination of morphological changes of bone marrow in histological, histochemical and immunohistochemical drugs, their

morphometry, quantitative evaluation of indicators of the chemical composition of hematopoietic tissue, study of indicators of general and biochemical analysis of blood, statistical processing of digital data).

The presence in the literature the information of the exogenous influence of pollutants separately on hematopoiesis and blood, as well as no data about the complex effect of the combination of salts of iron, copper, zinc, chromium, manganese and plumbum on the hematopoietic tissue and its functional ability, actualize the full range of research we have conducted.

In the course of our work, we studied the elemental composition of bone marrow in pubescent rats. It was found that the addition of heavy metals to the diet of animals leads to their accumulation in hematopoietic tissue. This is accompanied by a decrease in the area of the erythrocyte granulocytogenesis while increasing the number of megakaryocytes. Moreover, there are significant fluctuations in the qualitative composition of the bone marrow, which are manifested by dystrophic-necrotic and initial dysplastic changes in all its components. We found that the haematotoxic action is manifested by a violation of the functional capacity of the hematopoietic tissue in the form of fluctuations in indicators of general blood analysis, which are directly dependent on the period of consumption of heavy metals and their degree of accumulation.

Due to the use of a complex of modern methods, the features of bone marrow re-adaptation capabilities have been established, provided that xenobiotics are discontinued. The expressed restorative possibilities of hematopoietic tissue, which also depend on the term of observation, are shown. It was found that even within 90 days after the abolition of the pollutants, there was no complete removal of heavy metals from the body that turned out a deviation from the norm of qualitative and quantitative indicators of myeloid tissue and blood.

For the first time, under the experimental conditions of excessive intake of salts of heavy metals, the protective properties of vitamin E were studied for restoration of normal structure and function of bone marrow of experimental animals. By adding it at therapeutic doses to the diet of rats, there was a decrease in negative morphological

changes in the bone marrow and blood during the use of heavy metal salts, as well as accelerating the regenerative capacity of hematopoietic tissue during the recovery period.

The complex analysis of the obtained results made it possible to clarify and supplement information on the pathogenetic links of the negative influence of heavy metals on the process of hematopoiesis, which is realized through the direct and indirect influence of exogenous pollutants on various sprouts of hematopoiesis. A clear link between the hematotoxic effect of xenobiotics and the functioning of the hematopoietic blood system was revealed.

On the basis of the results of a comprehensive experimental study, the structural features of the bone marrow of rats were clarified and its key differences from human hematopoietic tissue were determined, both in normal and during the consumption of xenobiotics. This may be the basis for further modeling of changes in hematopoietic tissue when studying the effects of damaging factors. The revealed results demonstrate in detail the fluctuations of hematopoiesis and blood indices during consumption of a mixture of heavy metal salts. The established changes clearly demonstrate the pronounced hematotoxic effect of these xenobiotics upon their excessive admission to the body.

We have identified the restorative ability of bone marrow after the cessation of exogenous exposure to pollutants, which, in order to achieve more optimal levels, requires additional correction with therapeutic agents. Such a prophylactic therapeutic drug, which revealed hepatoprotective properties during the experiment, is vitamin E. Due to its angioprotective, antioxidant and other properties, it reduces the negative effect of heavy metals on the bone marrow, both during the consumption of heavy metal salts and during recovery. Therefore, vitamin E is recommended for use in conditions of increased environmental contamination with these xenobiotics, both during stay in ecologically hazardous environments and during the recovery period.

The revealed features of the structure of hematopoietic tissue in intact animals and experimental rats under conditions of influence on the body of heavy metal salts

and correction of the detected changes can be used in the study of the relevant sections of the educational material at the departments of theoretical and practical profiles, with the subsequent extension of knowledge into practical doctors' activity. The findings greatly enhance knowledge of ecological morphology and can be the basis for further research of large number of toxicology and hematology issues.

Key words: bone marrow, heavy metal salts, vitamin E, granulocytopoiesis, erythrocytopoiesis, thrombocytopoiesis, blood.

List of applicant's publications:

1. Romaniuk AM, Hryntsova NB, Korobchanska AB, Sauliak SV, Lyndina YuM. Morfolohichni zminy u kistkovii systemi ta vnutrishnikh orhanakh za umovy vplyvu na orhanizm solei vazhkykh metaliv. Aktualni pytannia medychnoi nauky i praktyky. 2015;82(2);155–160.

2. Romaniuk A, Lyndina Yu, Sikora V, Lyndin M, Karpenko L, Gladchenko O, Masalitin I. Structural features of bone marrow. Interv Med Appl Sci. 2016;9(2):105–11. DOI: 10.1556/1646.8.2016.3.3

3. Romaniuk AM, Sikora VV, Lyndina YuM, Lyndin MS. Poshyrenist vazhkykh metaliv u navkolyshnomu seredovyshchi ta yikh rol u zhyttiediialnosti orhanizmu. Bukovynskyi medychnyi visnyk. 2017;21(82),ch.1:145–50. DOI: 10.24061/2413-0737/XXI.2.82.1.2017.32.

4. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoetic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73–81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412.

5. Romaniuk AM, Lyndina YuM, Sikora VV, Husak YeV, Sumtsova NH. Vyznachennia vazhkykh metaliv u kistkovomu mozku shchuriv v umovakh modelovanoho mikroelementozu. Visnyk problem i medytsyny. 2018;1(142):171–7.

6. Hryntsova NB, Romaniuk AM, Lyndin MS, Lyndina YuM. Vplyv zabrudniuvachiv vodnoho seredovyshcha (solei vazhkykh metaliv) na nespetsyfichni mekhanizmy rehuliatcii hemopoezu za umov pidhostroi dii ta korektsii antyoksydantamy (l-tokoferol). Ekolohichni nauky. 2018;1(20): 126–30.

7. Lyndina YuM, Sikora VV, Hyriavenko NI, Lyndin MS, Romaniuk AM. Doslidzhennia protektyvnykh vlastyvostei vitaminu E na kistkovyi mozok shchuriv v umovakh pidvyshchenoho spozhyvannia solei vazhkykh metaliv. Visnyk Vinnytskoho natsionalnogo medychnoho universytetu. 2019;23(1):59–64.

8. Romanyuk AN, Grintsova NB, Korobchanskaya AB, Saulyak SV, Lyndina YuN. Morfologicheskie izmeneniya v kostnoy sisteme i vnutrennih organah v usloviyah vliyaniya na organizm soley tyazhelyih metallov. V: Zbirnyk tez VI konhresu anatomiv, histolohiv, embriolohiv ta topografoanatomiv Ukrainy. Aktualni pytannia anatomii, histolohii, embriolohii ta topografichnoi anatomii; 2015 Veres 16-18; Zaporizhzhia. Zaporizhzhia: Zaporizkyi derzhavnyi medychnyi universytet; 2015, s. 77.

9. Lyndina YuM, Fesiura HM. Doslidzhennia histolohichnykh osoblyvostei chervonoho kistkovoho mozku u statevozirlykh shchuriv. V: Demikhova NV, redaktor. Zbirnyk tez dopovidei III Mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii studentiv ta molodykh vchenykh. Aktualni pytannia teoretychnoi ta praktychnoi medytsyny; 2015 Kvit 23-24; Sumy. Sumy: Sumskyi derzhavnyi universytet; 2015, s. 222–23.

10. Romaniuk AM, Lyndina YuM. Morfolohichni zminy u kistkovomu mozku shchuriv za umov vplyvu na orhanizm solei vazhkykh metaliv. V: Materialy Mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii. Perspektyvni napriamy naukovykh doslidzhen – 2015; 2015 Zhovt 17-22; Bratislava. Kyiv: Vyd-vo «Tsentri navchalnoi literatury»; 2015. Tom 2; s. 116–17.

11. Lyndina YuM, Karpenko LI, Fesiura HM. Histolohichni osoblyvosti stromalnogo komponentu kistkovoho mozku statevozirlykh shchuriv. V: Demikhova NV, redaktor. Zbirnyk tez dopovidei IV Mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii studentiv ta molodykh vchenykh. Aktualni pytannia teoretychnoi ta praktychnoi medytsyny; 2016 Kvit 21-22; Sumy. Sumy: Sumskyi derzhavnyi universytet; 2016. Tom 1; s. 135.

12. Romaniuk AM, Lyndina YuM, Lyndin MS, Budko HIu. Osoblyvosti budovy kistkovoho mozku u shchuriv. V: Materialy III mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi

konferentsii. Pryrodnychi chytannia 2016; 2016 Trav 19-22; Chernivtsi. Chernivtsi: Meduniversytet; 2016, s. 69–70.

13. Bambizzle D, Lyndina Yu, Romaniuk A, Sikora V. Features of histological and immunohistochemical structure of rat's bone marrow. In: Third global students' conference of biomedical sciences: abstract book; 2016 Oct 20–23; Belgrade. Belgrade: Faculty of Medicine, University of Belgrade; 2016, p. 75.

14. Romaniuk AM, Lyndina YuM, Fesiura HM. Histomorfologichni zminy kistkovoho mozku za umov vplyvu solei vazhkykh metaliv. V: Markovskyi VD, Sorokina IV ta in, red. kol. Zbirnyk materialiv zaochnoi naukovo-praktychnoi konferentsii z mizhnarodnoiu uchastiu prysviachenoj 150-richchju z dnia narodzhennia profesora M. F. Melnykova-Razvedenkova. Suchasni aspekty morfologii liudyny: uspihky, problemy ta perspektyvy; 2016 Hrud 24; Kharkiv. Kharkiv: KhNMU; 2016, s. 103–5.

15. Lyndina YuM, Fesiura HM. Osoblyvosti protsesu readaptatsii u kistkovomu mozku shchuriv pislia vzhyvannia solei vazhkykh metaliv. V: Pohorielov MV, redaktor. Zbirnyk tez dopovidei V Mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii studentiv ta molodykh vchenykh. Aktualni pytannia teoretychnoi ta praktychnoi medytsyny; 2017 Kvit 20-21; Sumy. Sumy: Sumskyi derzhavnyi universytet; 2017, s. 195-6.

16. Romaniuk AM, Sikora VV, Lyndina YM, Unawunwa F. Protector properties of the vitamin E in the urinary bladder and bone marrow under conditions of simulated effect of heavy metals in high concentrations. In: Cibakova V, Boychuk TM, editors. Natural Science Readings: abstract book; 2017 May 18-21; Bratislava; 2017, p. 53-4.

17. Lyndina YuM. Osoblyvosti elementnoho skladu kistkovoho mozku shchuriv za umov spozhyvannia solei vazhkykh metaliv. V: Pohorielov MV, redaktor. Zbirnyk tez dopovidei Vseukrainskoi naukovo-metodychnoi konferentsii, shcho prysviachena 25-richchju Medychnoho instytutu Sumskoho derzhavnoho universytetu. Perspektyvy rozvytku medychnoi nauky i osvity; 2017 Lyst 16-17; Sumy. Sumy: Sumskyi derzhavnyi universytet; 2017, s. 28.

18. Romaniuk AM, Lyndina YuM. Osoblyvosti hematolohichnykh pokaznykiv za umovy vplyvu solei vazhkykh metaliv na statevozirlykh shchuriv-samtsiv. V: Vadziuk SN, redaktor. Zbirnyk materialiv naukovo-praktychnoi konferentsii. Dovkillia i zdorovia; 2017 Kvit 27-28, Ternopil. Ternopil: Ukrmedknyha; 2017, s. 205-6.

19. Lyndina YuM. Porivnialnyi analiz morfolohichnoi budovy kistkovoho mozku shchuriv ta liudyny. V: Korda MM, redaktor. Materialy KhXII Mizhnarodnoho medychnoho konhresu studentiv ta molodykh vchenykh; 2018 Kvit 23–25; Ternopil. Ternopil: Ukrmedknyha; 2018, s. 265-6.

20. Romaniuk AM, Lyndina YuM, Karpenko LI. Vyvchennia mieloprotektyvnykh vlastyvostei vitaminu E pry nadkhodzhenni pidvyshchenoi kilkosti solei vazhkykh metaliv u statevozirlykh shchuriv. V: Materialy naukovo-praktychnoi konferentsii z mizhnarodnoiu uchastiu, prysviachenoii 60-richchiu vid dnia narodzhennia profesora Yu.T. Akhtemiichuka. Indyvidualna anatomichna minlyvist orhaniv ta struktur orhanizmu v ontogenezi; 2018 Veres 13-15; Chernivtsi. Chernivtsi: Meduniversytet, 2018, s. 116–7.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.	
1.1. Загальні відомості про гістогенез, будову та функціонування кісткового мозку	29
1.2. Морфологічні особливості кісткового мозку за умов впливу патологічних факторів.....	35
1.3. Участь важких металів у функціонуванні живих організмів.....	42
1.4. Біологічна роль, метаболізм і функції вітаміну Е у живому організмі.....	46
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.	
2.1. Характеристика експериментального матеріалу.....	51
2.2. Гістологічне та гістохімічне дослідження тканини кісткового мозку.....	54
2.3. Імуногістохімічне дослідження тканини кісткового мозку	54
2.4. Визначення хімічного складу тканини кісткового мозку	55
2.5. Аналіз гематологічних показників	56
2.6. Проведення морфометричних та математичних розрахунків	57
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.	
3.1. Морфологічні особливості кісткового мозку щурів контрольної групи.....	58
3.2. Морфологічні особливості кісткового мозку щурів за умов мікроелементозу та відновлення.....	72
3.2.1. Зміни у кістковому мозку за умов споживання солей важких металів у надлишкових концентраціях.....	72
3.2.2. Зміни у кістковому мозку за умов споживання солей важких металів та корекції змін вітаміном Е.....	81
3.2.3. Зміни у кістковому мозку щурів за умов відновлення.....	89
3.3. Визначення мікроелементного складу кісткового мозку у щурів.....	100
3.3.1. Елементний аналіз кісткового мозку інтактних щурів та	

піддослідних тварин у період вживання солей важких металів.....	
3.3.2. Елементний аналіз кісткового мозку піддослідних тварин у 100	
період відновлення.....	
3.4. Дослідження показників крові у щурів.....	104
3.5. Визначення взаємозв'язків між досліджуваними параметрами.....	109
	115
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ	
ДОСЛІДЖЕНЬ.....	124
ВИСНОВКИ.....	144
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	146
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	147
ДОДАТКИ.....	168

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФК-----	активні форми кисню
БАК-----	біохімічний аналіз крові
ВМ-----	важкі метали
Нь -----	гемоглобін
ДАБ -----	діамінобензидин
ЗАК-----	загальний аналіз крові
ІГХ дослідження ---	імуногістохімічне дослідження
КМ-----	кістковий мозок
КУО-----	колонієутворююча одиниця
МЕ-----	мікроелементи
МПО -----	мієлопероксидаза
М:Е співвідношення--	мієлоїдно:еритроїдне співвідношення
ПОЛ-----	перекисне окиснення ліпідів
СВМ-----	солі важких металів
СКК-----	стовбурові клітини крові
ФЕК-----	форменні елементи крові

ВСТУП

Кістковий мозок (КМ) – це найбільший гемопоетичний орган у ссавців. Він становить 3–5% від загальної маси тіла з постійною варіабельністю цього показника впродовж життя [1]. Гемопоез у кістках починається ще у внутрішньоутробному періоді і триває впродовж онтогенезу [2]. Тому як ендогенні, так і екзогенні чинники можуть постійно впливати на якість процесу кровотворення, що відображається в порушенні гістоархітекτονіки КМ [3].

За останні десятиріччя отримано значну кількість даних про кількісний та якісний склад КМ, які враховують топографію його розміщення та вік тварин [1,4]. Але існує постійна потреба в уточненні одержаних результатів у зв'язку зі стрімким розвитком науки. Рутинні гістологічні методи дослідження не дозволяють повною мірою ідентифікувати всі складові КМ, що спонукає до використання інших (гістохімічних, імуногістохімічних) методик [5].

У наш час значної актуальності набувають проблеми впливу екзогенних факторів на живі організми. Одними з найпотужніших поллютантів є солі важких металів (СВМ), концентрація яких у деяких регіонах України перевищує гранично допустимі концентрації у воді та ґрунті [6]. На сьогодні з'ясовано, що більшість важких металів (ВМ) є життєво необхідними елементами, які потенціюють значну кількість реакцій в усіх живих організмах [7-10]. Проте за умови їх надлишкового надходження або порушення їх метаболізму вони виявляють свої токсичні властивості, хоча більшість з них є есенційними мікроелементами (МЕ) [11,12]. Вплив патогенних чинників, якими є й СВМ, на процес кровотворення може відбуватися шляхом їх прямої дії на КМ або опосередковано, через ушкодження інших внутрішніх органів [13,14]. Свій негативний ефект вони реалізують шляхом індукції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та утворення активних форм кисню (АФК) [13,15], конкуруючого заміщення есенціальних МЕ [16], дезактивації ферментних систем, ушкодження ДНК тощо [17,18]. Всі ці процеси можуть відбуватися в гемопоетичній тканині, що позначається на показниках периферичної крові.

Незважаючи на досить з'ясований вплив зазначених факторів на більшість органів [19-22], на жаль, мало досліджень присвячено вивченню впливу сполук ВМ на гемопоез. Більше того, наявні дослідження щодо цієї тематики здебільшого присвячені або крові, або КМ [20,23] з вивченням гематотоксичного ефекту окремих полутантів [24].

Якісні та кількісні показники крові є віддзеркаленням функції системи гемопоезу та функціонування інших внутрішніх органів. Тому здебільшого морфологічні зміни в КМ (зміна архітектоники кровотворної тканини) швидко відображаються на показниках формених елементів крові (ФЕК). Саме комплексне дослідження системи гемопоезу – кров дозволяє детально проаналізувати особливості негативної дії ксенобіотиків, ураховуючи можливість прямого їх впливу на клітини крові, які циркулюють у судинах [25].

Останнім часом усе більшу увагу приділяють вивченню змін у кровотворній тканині шляхом комплексного дослідження морфологічних особливостей КМ у зв'язку з можливістю одержання недостатньої інформації при цитологічному вивченні кровотворної тканини [26]. Це досягається завдяки виконанню трепанобіопсії клубової кістки та виготовленню гістологічних препаратів, на яких є можливість оцінювати не лише паренхіматозний компонент КМ (різні попередники гемопоезу), а й зміни з боку стромы, що відіграє регульовальну роль у проліферації та дозріванні всіх ФЕК [27].

Іншим, не менш важливим, напрямом сучасної медицини є пошук ефективних коригувально-профілактичних засобів, які б сприяли підвищенню стійкості організму до умов постійно зростаючої урбанізації й технічного прогресу, що призводять до стрімкого забруднення довкілля. Враховуючи виражені прооксидантні властивості ВМ з одночасним ураженням ДНК, клітинних мембран, судин та інших складових більшості тканин, виправданим є використання вітаміну Е, що протидіє більшості цих ефектів [28-32]. При використанні цього коректора обов'язково ураховують його терапевтичну дозу для людини та видову належність тварин у зв'язку з доведеним протилежним ефектом вітаміну Е при його надлишковому надходженні до організму [33,34].

Гіпотетична можливість КМ накопичувати ВМ в умовах підвищеного їх надходження до організму спонукає до вивчення морфофункціональних особливостей гемопоезу та пошуку коректора в умовах мікроелементозу.

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

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень Медичного інституту Сумського державного університету і є складовою частиною науково-дослідних тем кафедри патологічної анатомії № 0113U003315 «Морфогенез загальнопатологічних процесів» та № 0119U100887 «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів». Тема дисертації затверджена вченою радою Сумського державного університету МОН України (протокол № 4 від 10.12.2015 року).

Мета і завдання дослідження.

Метою дослідження стало вивчення морфофункціональних особливостей кісткового мозку статевозрілих щурів і хімічного складу гемопоетичної тканини стегнових кісток за дії на організм важких металів та обґрунтування можливості корекції їх пошкоджувальної дії вітаміном Е.

Для досягнення зазначеної мети визначені такі *завдання*:

1. Вивчити закономірності будови та елементного складу кісткового мозку інтактних щурів статевозрілого віку з метою подальшого проведення коректного порівняльного аналізу одержаних даних із результатами експерименту.
2. Визначити закономірності змін елементного складу кісткового мозку щурів за надмірного вживання солей важких металів.
3. Дослідити особливості коливань кількісних та якісних показників гемопоетичної тканини при підгострому й хронічному впливі солей важких металів.
4. Установити динаміку змін у загальному та біохімічному аналізах крові в умовах змодельованого мікроелементозу.

5. З'ясувати морфофункціональні особливості у системі гемопоез – кров та елементний склад кісткового мозку в період відновлення за умови відмінення поллютантів із раціону піддослідних тварин.

6. Дослідити можливість корекції впливу важких металів на кістковий мозок та кров вітаміном Е у період споживання екзогенних ксенобіотиків та впродовж відновлення.

Об'єкт дослідження – кістковий мозок стегнових кісток лабораторних щурів.

Предмет дослідження – морфофункціональні особливості кісткового мозку за умов впливу на організм комбінації солей важких металів та корекції їх дії вітаміном Е.

Методи дослідження: мікроскопічне дослідження морфологічних змін кісткового мозку за допомогою гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методик; морфометрія виявлених змін; атомно-абсорбційна спектрофотометрія гемопоетичної тканини; дослідження показників загального та біохімічного аналізу крові; статистичне оброблення цифрових даних.

Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше встановлено, що додавання до раціону тварин комбінації солей заліза, міді, цинку, марганцю, свинцю та хрому за рахунок акумулювання їх у кістковому мозку призводить до пригнічення еритроцито- та гранулоцитопоезу за одночасного зростання кількості мегакаріоцитів. При цьому виникають значні коливання в якісному складі гемопоетичної тканин, що виявляються дистрофічно-некротичними та початковими диспластичними змінами в усіх його складових. Виявлено, що гематотоксичний ефект солей важких металів характеризується порушенням функціональної спроможності кровотворної тканини у вигляді коливання показників загального аналізу крові, які безпосередньо залежать від терміну споживання поллютантів та ступеня їх гематотоксичного впливу.

За допомогою використання комплексу сучасних методів (гістохімічних, імуногістохімічних, спектрофотометричних) встановлено особливості

реадаптаційних можливостей кісткового мозку за умов припинення вживання солей важких металів. Виявлено виражені регенераторні можливості кровотворної тканини, які також залежать від терміну відновного періоду. З'ясовано, що навіть упродовж 90 діб після відмінення полютантів не відбувається повного виведення важких металів з організму, що відбивається у відхиленнях від норми якісних та кількісних показників мієлоїдної тканини й крові.

Уперше за експериментальних умов вивчені протективні властивості вітаміну Е на кістковий мозок в умовах мікроелементозу. За рахунок додавання його у терапевтичних дозах до раціону щурів відбуваються зменшення морфологічних змін у кістковому мозку та крові упродовж вживання солей важких металів, а також прискорення регенераторних можливостей кровотворної тканини у період відновлення.

Комплексний аналіз одержаних результатів дозволив уточнити й доповнити дані про патогенетичні ланки негативної дії важких металів на процес кровотворення, що реалізується через прямий та опосередкований вплив екзогенних полютантів на різні паростки гемопоезу. Виявлений чіткий зв'язок між гематотоксичним ефектом ксенобіотиків та функціонуванням системи гемопоез – кров.

Практичне значення одержаних результатів.

На підставі результатів експериментального дослідження виявлені структурні особливості КМ щурів та з'ясовані ключові відмінності від гемопоетичної тканини людини як у нормі, так і упродовж споживання ксенобіотиків. Це може бути підґрунтям для подальших моделювань змін у кровотворній тканині під час вивчення впливу пошкоджувальних факторів. Виявлені результати детально демонструють особливості коливання показників кісткового мозку та крові упродовж споживання суміші солей важких металів. Установлені зміни чітко демонструють виражений гематотоксичний ефект ксенобіотиків за їх надлишкового надходження до організму.

Виявлені виражені відновні можливості кісткового мозку після припинення екзогенного впливу ксенобіотиків, які для досягнення більш оптимальних рівнів потребують додаткової корекції змін терапевтичними засобами. Таким профілактично-терапевтичним препаратом, що виявив гематопротекторні властивості упродовж експерименту, є вітамін Е. За рахунок своїх ангіопротекторних, антиоксидантних та інших властивостей він пригнічує негативну дію важких металів на кістковий мозок як упродовж їх уживання, так і в період відновлення. Тому вітамін Е рекомендований до вживання за умов підвищеного забруднення довкілля солями важких металів як упродовж перебування в екологічно-небезпечних середовищах, так і в період відновлення.

Виявлені особливості будови гемопоетичної тканини в інтактних тварин та щурів за умов впливу на організм солей важких металів та корекції виявлених змін можна використовувати під час вивчення відповідних розділів навчального матеріалу на теоретичних і практичних кафедрах із подальшим поширенням знань у практичну діяльність лікарів.

Одержані результати уточнюють дані про будову кісткового мозку й можуть бути основою для подальшого дослідження значної кількості питань у токсикології та гематології. Матеріали дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний процес та наукову роботу на кафедрах морфології Сумського державного університету, анатомії людини Харківського національного медичного університету, оперативної хірургії з топографічною анатомією Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, гістології, цитології та ембріології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету, анатомії людини; гістології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії; гістології, цитології та ембріології; анатомії людини ім. М. Г. Туркевича Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», нормальної анатомії; оперативної хірургії з

топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, анатомії людини Української медичної стоматологічної академії (Додаток 1).

Особистий внесок здобувача.

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Здобувач здійснив інформаційний пошук, аналіз та інтерпретацію даних літературних джерел із проблемної тематики. Разом із науковим керівником було сформульовано мету та шість ключових завдань проведених досліджень. Дисертант виконала експериментальну частину дослідження та здійснила забір матеріалу для подальшого проведення комплексного вивчення. Автор самостійно провела гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні дослідження, сумісно з працівниками Центру морфологічних досліджень Медичного інституту Сумського державного університету виконала спектрофотометричне вивчення елементного складу гемопоетичної тканини. Дисертант провела лабораторне дослідження крові, здійснила статистичне опрацювання та аналіз одержаних результатів. Здобувач написала всі розділи дисертаційної роботи. З науковим керівником провела узагальнення основних результатів, а також обговорила висновки та практичні рекомендації. У наукових працях здобувача, опублікованих одноосібно та в співавторстві, висвітлено основні результати, одержані під час виконання дисертаційної роботи.

Апробація матеріалів дисертації.

Основні результати дисертаційної роботи представлені на науково-практичних конференціях і семінарах: конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України «Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії» Запорізького державного медичного університету (Запоріжжя, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини» Сумського державного університету (Суми, 2015, 2016, 2017); Міжнародній науково-практичній конференції «Перспективні напрями наукових досліджень – 2015» (Братислава, 2015); III Міжнародній науково-практичній

конференції «Природничі читання 2016» Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 2016); III Всесвітній студентській конференції з біомедичних наук (Third global students' conference of biomedical sciences) медичного факультету Белградського університету (Белград, 2016); заочній науково-практичній конференції за міжнародної участі, присвяченій 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведенкова «Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи» Харківського національного медичного університету (Харків, 2016); у матеріалах «Natural Science Readings» (Братислава, 2017); Всеукраїнській науково-методичній конференції, присвяченій 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету «Перспективи розвитку медичної науки і освіти» (Суми, 2017); науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я» ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (Тернопіль, 2017); XXII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (Тернопіль, 2018); науково-практичній конференції за міжнародної участі, присвяченій 60-річчю від дня народження професора Ю. Т. Ахтемійчука «Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі» Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (Чернівці, 2018). Дисертаційну роботу заслухано на міжкафедральному семінарі Медичного інституту Сумського державного університету 19 червня 2019 року (протокол № 7).

Публікації.

Матеріали дисертаційної роботи висвітлені у 20 працях, зокрема, 7 статтях, з яких 4 представлені у наукових фахових виданнях України, 2 – у закордонних журналах, що індексуються наукометричною базою Scopus, 13 тез опубліковано в матеріалах науково-практичних конференцій; 2 наукові праці опубліковано одноосібно.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота викладена на 198 сторінках і складається з анотацій, вступу, розділів «Огляд літератури», «Матеріали та методи дослідження», «Результати власних досліджень (5 підрозділів)», «Аналіз та узагальнення результатів власних досліджень», висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Обсяг основного тексту – 146 с. Робота містить 56 рисунків, 12 таблиць та список цитованої літератури із 206 найменувань (48 кирилицею і 158 латиницею).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.

1.1. Загальні відомості про гістогенез, будову та функціонування кісткового мозку.

У дорослих ссавців гемопоєз зазвичай відбувається у КМ, в якому у тісному взаємозв'язку знаходяться різні популяції клітин, що беруть участь у підтриманні, регулюванні та утворенні кінцевих стадій формених елементів крові [2]. Як і в інших хребетних, кровотворення у людини починається за межами зародка, у жовтковому мішку, потім переходить тимчасово в печінку, перш ніж відбудеться адаптація до дорослого життя у КМ. Тільки Т-клітини утворюються в тій же тканині на ембріональному, фетальному і постнатальному етапах розвитку [35].

З шостого дня гестації перші осередки гемопоєзу з'являються у стінці жовткового мішка у вигляді ущільнень ділянки мезенхіми, так званих кров'яних острівців, – жовтково-мішкове кровотворення [35,36]. У цих, спочатку гомогенних твердих кластерах, периферичні клітини набувають морфологію і маркери ендотеліальних клітин, у той час як внутрішні клітини починають зникати, утворюючи просвіти перших судин. Частина центральних клітин заокруглюється, втрачає відростки та перетворюється у стовбурові клітини крові (СКК). Ко-експресія рецепторів CD34 та MB1 двома групами клітин вказує на спільне походження попередників ангіо- та гемопоєзу [37]. Під час гістологічних досліджень встановлено, що людський жовтковий мішок виробляє в основному еритроїдні клітини, хоча у деяких випадках спостерігалась наявність макрофагів, примітивних мегакаріоцитів та гранулоцитів [38,39]. Цей етап кровотворення має короткочасне значення для ембріонів та повністю зникає після виникнення процесу гемопоєзу в інших органах [38].

З настанням серцебиття та поступовим розвитком судинної мережі відбувається розселення СКК в інші ембріональні тканини. Одним з таких

місце є аорто-гонадо-мезонефральна ділянка ембріона, яка розташована навколо спинної частини аорти, пупково-мезентеріальної та пуповинної артерії [40,41]. Іншою такою ділянкою є плацента, в якій, починаючи з 8-12 дня гестації, також відбувається процес кровотворення [42]. Першим найбільшим органом для колонізації є печінка, яка заселяється СКК у щурів до середини вагітності і залишається основним місцем гемопоезу до початку кістково-мозкового кровотворення. Тут, поряд з процесом еритропоезу, відбувається утворення попередників гранулоцитів та тромбоцитів [43]. Після того, як кількість СКК значно підвищується у печінці ембріона, вони починають поступово заселяти інші органи. На 13-14 добу ембріонального розвитку формується тимус, куди поступово з кровотоком надходять СКК [35]. Першими з них утворюються лімфоцити. На 14 добу кровотворення виникає і у селезінці, де після диференціювання СКК у макрофаги, починають утворюватися всі форменні елементи крові [44].

КМ виступає основним кровотворним органом у ссавців у постнатальному періоді. У щурів сюди СКК потрапляють наприкінці вагітності (16-17 доба гестації) та залишаються упродовж життя. Однією з основних особливостей будови гемопоетичної тканини є те, що всі попередники розташовані близько біля кровоносних судин, як у фетальних органах гемопоезу, так і у КМ [45]. Саме синусоїдальні ендотеліальні клітини мають найвагомий вплив на виживаність та проліферативну активність попередників ФЕК у довгих трубчастих кістках [46,47]. Гемопоетичні клітини КМ мають тісний зв'язок і з остеогенними клітинами, які є унікальними для їх мікрооточення [48].

Формування КМ розпочинається на 15 добу гестації, коли відбувається проростання судин у діафізі хрящової моделі кістки через кісткову манжетку. На 16 добу те ж саме відбувається і в епіфізах майбутньої кістки. З вростанням судинної мережі відбувається вихід остеогенних клітин (16-17 доба) і формування кістково-мозкової порожнини (резорбція тканини остеокластами) [49]. Повна васкуляризація кістково-мозкової порожнини завершується на 17-

18 добу внутрішньоутробного розвитку щурів. Установлено, що перші частково детерміновані мультипотентні попередники гемопоетичних клітин (колонієутворюючі одиниці гранулоцитів, еритроцитів, моноцитів та мегакаріоцитів) знаходяться на 16 добу у ділянці діафізу стегнової кістки з поступовим поширенням у напрямку епіфізів, які вони заселяють на 17 добу [48,50]. Саме з цього часу починається процес кровотворення у КМ з утворенням всіх ФЕК.

На підставі дослідження, проведеного J. Mark Cline та Robert R. Maronpot у 1985 році, встановлено, що клітинний склад КМ у щурів змінюється, як з віком, так і з його локалізацією. Найбільш стабільна клітинність (частка гемопоетичних клітин) була у віці піддослідних 4-16 місяців [4]. Дослідники виявили, що найкращим місцем для вивчення морфологічних особливостей гемопоезу є стегнова кістка [1,4,51].

КМ дорослих щурів знаходиться у центральних порожнинах плоских і довгих трубчастих кісток. Він складається з кровотворних клітин та острівців жирової тканини, оточених судинними синусоїдами, які чергуються із сіткою кісткових трабекул. На його частку припадає близько 3% від маси тіла дорослого щура [1,52]. Внутрішня поверхня кістково-мозкової порожнини і зовнішня поверхня кісткових трабекул вкриті ендостом, що складається з одного шару плоских остеогенних клітин. Джерелом кровопостачання КМ є живильна артерія, яка під кутом крізь компактну кісткову тканину на рівні діафізу проходить у кістково-мозкову порожнину і розгалужується у двох напрямках – дистальному і проксимальному, закручуючись навколо однойменних центральних вен та поступово зменшуючи свій діаметр [51]. Вона дає початок дрібним тонкостінним артеріолам і капілярам, які простягаються назовні в напрямку до компактною кістки, поряд з якою відкриваються і анастомозують зі сплетеннями венозних синусів. За рахунок наявності переривчастої базальної мембрани у них кров збагачується ФЕК та відтікає у зворотному напрямку [1,51]. Артеріоли, які наскрізь проникають через компактну кісткову тканину, з'єднують періостальні артерії з венозними синусами, забезпечуючи посилене

кровопостачання гемопоетичної тканини [53,54]. КМ не має лімфатичного дренивання.

Гемопоетична тканина складається з різних типів клітин, включаючи клітини крові та їх попередники, адвентиційні (пограничні клітини), адипоцити і макрофаги. Клітини гемопоетичної тканини розташовані не хаотично, а демонструють особливу організацію [1]. Кровотворення відбувається за підтримки мікрооточення (макрофаги, пограничні, ендотеліальні, кісткові та інші клітини і позаклітинний матрикс), яке здатне розпізнавати і зберігати гемопоетичні СКК, забезпечувати їх факторами росту (наприклад, цитокінами), необхідними для підтримки проліферації, диференціювання і дозрівання уздовж комітованих ліній [53,55].

Гемопоез являє собою безперервний процес, але в ньому виділяють окремі стадії. Перша стадія включає в себе некомпітовані (плюрипотентні) СКК, які розташовані на ендостальному кордоні КМ та мають наступні особливості: зберігають свою кількість за допомогою процесу самооновлення, дають початок усім кровотворним клітинам, мають низький рівень проліферативної активності (знаходяться у G_0 стадії клітинного циклу), який легко змінюється під впливом зовнішніх подразників, перебувають у стані постійної репопуляції, в результаті чого їх можна знайти у великій кількості у периферичній крові [56,57]. У залежності від умов мікрооточення та впливу факторів росту СКК диференціюються у попередники мієло- та лімфопоезу (друга стадія диференціювання). Вони мають обмежені можливості до самооновлення, але виражену здатність до поділу та диференціювання. Мієлоїдні стовбурові клітини є мультипотентними колоніями, з яких утворюються гранулоцити, моноцити, еритроцити і мегакаріоцити (колонієутворюючі одиниці (КУО) – ГМЕМ). Третя стадія представлена уніпотентними клітинами-попередниками еритроцитів (КУО-Е), моноцитів (КУО-М), гранулоцитів (КУО-Гн) і тромбоцитів (КУО-МГЦ) [35,56,58].

Для еритроцитопоезу характерним є вогнищевий тип локалізації у КМ з утворенням еритробластичних острівців, клітинний склад яких представлений

попередниками червоних кров'яних клітин крові (проеритробластами, базофільними, поліхроматофільними та оксифільними еритробластами, нормоцитами і ретикулоцитами) [51]. Ці острівці знаходяться у тісному контакті з макрофагами, які накопичують та передають їм зерна феритину, які необхідні для синтезу гемоглобіну (Hb) [56]. Проеритробласти мають доволі великі розміри ($14,28 \pm 0,08$ мкм), великі ядра і тонкий обідок базофільної цитоплазми. В їх цитоплазмі знаходиться значна кількість вільних рибосом. У ядрі помітно від 1 до 3 ядерця [51]. При диференціюванні розміри клітин зменшуються (базофільні еритробласти – $9,99 \pm 0,11$ мкм, поліхроматофільні – $8,56 \pm 0,09$ мкм, оксифільні – $7,14 \pm 0,08$ мкм, нормобласти – $5,44 \pm 0,07$ мкм, еритроцити – $5,25 \pm 0,06$ мкм), ядро ущільнюється та елімінується з клітин (на рівні оксифільного еритробласта), базофілія цитоплазми через поліхроматофілію змінюється на оксифілію, зникають всі органели [35,51].

Гранулоцитопоез відбувається у більшості випадків у щільному контакті з ендостом [1,56]. Першим морфологічно розпізнаваним попередником гранулоцитопоезу є мієлобласт (до 20 мкм), який легко ідентифікувати під світловим мікроскопом (ексцентрично розташоване круглої або овальної форми ядро з ніжно-сітчастою структурою хроматину, одним або кількома ядерцями, базофільною цитоплазмою з неспецифічною азурофільною зернистістю) [35,59]. При подальшому диференціюванні клітин у попередниках гранулоцитів (промієлоцити, мієлоцити, метамієлоцити та сегментоядерні гранулоцити) зменшується індекс Гертвіга, ядро пікнотизується та змінює свою форму (сегментується), розміри клітин та базофілія цитоплазми зменшуються, з'являється специфічна зернистість [35,59,60].

Мегакаріоцитопоез відбувається в менш відокремлених ділянках і поряд з ендотелієм синусоїдів. Найпершою морфологічно-розпізнаваною клітиною тромбоцитопоезу є мегакаріобласт (розмір 25-40 мкм). У процесі диференціювання розмір наступних попередників поступово збільшується (промегакаріоцит – 40-80 мкм, мегакаріоцит – 70-100 мкм), форма ядра змінюється, воно фрагментується, зникають ядерця, з'являється азурофільна

зернистість [60]. Відростки мегакаріоцитів проникають у просвіт синусоїдів та шляхом клазматозу (відокремлення) дають початок зрілим тромбоцитам [35,58].

Моноцити та їх наступники також беруть свій початок у КМ. Тут моноцитопоез координується через ряд тісно пов'язаних сигналів, які спонукають СКК до дозрівання у моноцити. КУО-М, які утворюються при дозріванні КУО-ГЕММ та КУО-ГнМ, є уніпотентними попередниками моноцитів, що виникають під впливом макрофагального колонієстимулюючого фактора [61]. У процесі наступного диференціювання (моноцитобласт (до 22 мкм), промоноцит, моноцит) відбувається збільшення кількості цитоплазми, ядро стає бобоподібним, зменшується базофілія цитоплазми [35,56,61].

Початок лімфопоезу у дорослих ссавців відбувається також всередині КМ. За рахунок експресії специфічних білків (CD3, CD79) попередники Т- і В-лімфоцитів можуть бути тут ідентифіковані. Починаючи з другої стадії гемопоезу (КУО лімфопоезу (КУО-Л)) вони мають окремий шлях комітування (КУО Т-лімфопоезу, КУО В-лімфопоезу, Т- і В-лімфобласти, незрілі та зрілі Т- і В-лімфоцити) [1]. Т-клітинний антигенезалежний лімфопоез відбувається в тимусі, куди КУО-Л мігрували з КМ [62]. Антигенезалежний лімфопоез В-лімфоцитів відбувається у КМ. У процесі диференціювання лімфоцити не тільки змінюють свої морфологічні особливості (зменшуються в розмірі, змінюється форма ядра і т.д.), а й набувають специфічних антигенних властивостей [58]. Під впливом антигенів виникає антигензалежний процес диференціювання лімфоцитів, який відбувається вже за межами КМ (селезінка, лімфатичні вузли) [35].

Утворення, диференціювання і дозрівання клітин крові регулюється значною кількістю гуморальних факторів. Деякі фактори (фактор стовбурових клітин, інтерлейкін (ІЛ) 6) діють на більш ранні стадії клітин і мають загальну дію [63,64]. У той час інші діють на більш пізні попередники конкретної клітинної лінії [64-68]. У якості факторів, які регулюють процес еритропоезу, виступають еритропоетин, різні біологічно активні речовини, гранулоцитарно-

макрофагальний колонієстимулюючий фактор, тиреоїдні гормони, тестостерон та гормон росту [64,65]. Гранулоцитопоез підпорядкований впливу таких факторів, як лейкопоетини, ІЛ-1, ІЛ-5, ІЛ-3, еозинофіло- та базофілопоетини, інтерферон, фактор некрозу пухлин, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор та інші [64,66]. Макрофагальний колонієстимулюючий фактор, моноцитопоетин, ІЛ-3 та гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор відповідальні за дозрівання моноцитів [64]. Регулювання процесу лімпопоезу є найбільш складним, в якому бере участь найбільша кількість ендогенних факторів (інтерлейкіни, фактори росту диференціювання Т- та В-лімфоцитів, цитокіни, гормони та інші) [64,67]. На процес тромбоцитоутворення найбільш вагомий вплив мають концентрація тромбопоетину та макрофагального колонієстимулюючого фактору [64,68].

Узагальнюючи вище зазначене, стає зрозумілим, що КМ є найголовнішим органом гемопоезу у щурів, починаючи з внутрішньоутробного періоду. Він має доволі складну гістологічну будову, яка представлена строкатим паренхіматозним та стромальним компонентами, співвідношення між якими може змінюватись, як з віком, так і під впливом різних нейро-гуморальних факторів. Для різних предикторів гемопоезу характерна чітка зональність, що пов'язано з їх функціонуванням та стимулами, які надходять з навколишнього мікрооточення.

1.2. Морфологічні особливості кісткового мозку за умов впливу патологічних факторів.

Морфологічна оцінка КМ, як основного кровотворного органу, є важливою складовою визначення токсичності різних екзогенних речовин. Незважаючи на повноту відповіді при цитологічному дослідженні аспіратів або мазків, оцінка гістологічних зрізів КМ надає інформацію про структуру тканини і стан гемопоезу, який є відображенням прямої або непрямої дії хімічних речовин [3,69]. Вивчення гістологічних зрізів гемопоетичної тканини дає інформацію про його структуру: клітинний склад, походження клітин, судинні або стромальні зміни, запалення, некроз та інше.

Зміни кількості гемопоетичних клітин

Кількісні зміни у КМ проявляються підвищенням або зниженням його клітинності (целюлярності), яка встановлюється шляхом співставлення площі, зайнятої кровотворними клітинами, з площею, що відведена на стромальну тканину. Зростання кількості ядермісних клітин (гіперклітинність, гіперплазія) у гістологічних зрізах КМ, як правило, визначає відповідь на підвищену потребу формених елементів у крові [70]. У статевозрілих щурів ознаками гіперплазії є зростання клітинності понад 60-75% [71]. Іноді кровотворні клітини можуть повністю виповнювати кістково-мозкову порожнину [72]. Гіперцелюлярність може включати всі гемопоетичні клітини (пангіперплазія) або окремі її клітинні лінії. Морфологія клітин, як правило, не змінюється і послідовність дозрівання залишається синхронною, хоча, розсіяні атипові клітини (двоядерні попередники еритроцитів, гігантські паличкоядерні нейтрофіли, тільця Хауелл-Джоллі) можуть спостерігатися, що пов'язано зі збільшенням потреби у їх виробленні [73].

Залежно від ураження тієї чи іншої клітинної лінії може змінюватись мієлоїдно:еритроїдне (М:Е) співвідношення, яке в нормі у тварин складає від 0,8 до 4,0. Тому збільшення еритроїдних попередників буде зумовлювати зменшення М:Е співвідношення, а зростання предикторів гранулоцитів – його збільшення [74]. У більшості випадків, збільшується кількість еритропоетичних клітин (еритроїдна гіперплазія) та відповідно зменшується М:Е співвідношення, що виникає у відповідь на анемію [73]. Збільшення гранулопоетичних клітин (мієлоїдна гіперплазія) у КМ та підвищення його М:Е співвідношення часто пов'язані із запальною реакцією та стресом [75]. Під час гострої запальної реакції, кількість сегментоядерних нейтрофілів у КМ може знижуватися за рахунок збільшення виходу їх у кров'яне русло. Зростання кількості у гемопоетичній тканині мегакаріоцитів (мегакаріоцитарна гіперплазія) часто пов'язане з підвищеною витратою або руйнуванням тромбоцитів. Крім того, збільшення мегакаріоцитів може виникати у відповідь на деякі види анемії [73,76].

Зменшення ядервмісних клітин у зрізах КМ (гіпоцелюлярність, гіпоклітинність, гіпоплазія та атрофія) може включати всі клітини (пангіпоплазія) або окремі клітинні лінії, які заміщуються жировою тканиною. При монолінійній гіпоплазії, як і у випадку з гіперплазією, може змінюватись М:Е співвідношення: зменшуватись при пригніченні лейкопоезу та зростати при зменшенні еритропоезу [3,71-73]. Зменшення площі еритропоезу та кількості предикторів еритроцитів у КМ відбувається внаслідок прямих (естрогени, хлорамфенікол, противірусні засоби, хіміотерапія) або непрямих (фактор некрозу пухлин, сульфат міді, свинець) екзогенних впливів [77-80], а також супутніх захворювань (хронічне запалення, неоплазія, виснаження, гіпотиреоз, гіперадренкортицизм, хронічна ниркова або печінкова недостатність) [81,82]. При анемії, яка пов'язана з хронічним запаленням, клітинний малюнок та морфологія еритроцитів не змінюється, але вміст заліза і гемосидерину збільшується [82]. Пригнічення мієлопоезу виникає найчастіше при застосуванні хіміотерапевтичних препаратів, антибіотиків (хлорамфенікол, цефалоспорини), гіпотензивних засобів, фенілбутазону, фенобарбіталу та гризеофульвіну [83]. Набуті тромбоцитопенії, які пов'язані з пригніченням мегакаріоцитів, підтверджені для різних препаратів (хіміотерапевтичних та протизапальних засобів, антибіотиків, протисудомних препаратів, естрогенів) [84].

Дисплазія гемопоетичних клітин

Диспластичні зміни гемопоетичних клітин пов'язані з хімічним впливом (3'-азидо-3'-дезокситимідина, 2',3'-дидезоксицитидін) і нестачею поживних речовин (вітаміну В12, фолієвої кислоти). Вони можуть включати окремі клітини (дисеритроцитопоез, дисгранулоцитопоез або дистромбоцитопоез) або комбінації клітинних ліній [73,83,85,86]. Дисеритроцитопоез може бути виявлений за наявністю мультинуклеарних еритропоетичних клітин або клітин з фрагментацією ядер, каріорексисом чи мегалобластозом. Диспластичні зміни еритропоезу спостерігаються в багатьох первинних (вроджених) та вторинних (набутих) станах: вроджена дисеритропоетична анемія та порфірія, таласемія та

інші [87]. Ознаки дисгранулоцитопоезу включають в себе утворення гігантської форми клітин, гіпосегментацію або гіперсегментацію ядер, химерні форми ядер, їх аномальну кількість, зміни розмірів або тинкторіальних властивостей первинних гранул. Дистромбоцитопоез може проявлятися утворенням малих або великих мегакаріоцитів, багатоядерністю, підвищенням їх плоідності, наявністю дрібних, розсіяних чи фрагментованих ядер [88]. Емперіоплез нейтрофілів всередину мегакаріоцитів спостерігається у щурів і мишей при введенні фактора росту або при гіперплазії гемопоетичних клітин, що пов'язано з хронічною крововтратою, запаленням, радіаційним ушкодженням [89,90].

Вторинні мієлодиспластичні зміни виявляються при значній кількості хвороб на пізніх стадіях, вживанні наркотиків та алкоголю, інтоксикаціях, аутоімунних захворюваннях, дефіциті вітаміну В12, фолієвої кислоти та міді [86,91-94]. За певних обставин у тварин може розвиватися мієлодиспластичний синдром, що характеризується однією або більше цитопеніями в крові, диспластичними змінами в кровотворних клітинах КМ, а також схильністю до прогресування гострої мієлоїдної лейкемії [95,96]. У щурів, характерною ознакою мієлодиспластичного синдрому у зрізах КМ є гіпо- чи гіперплазія з підвищеним М:Е співвідношенням, диспластичні зміни у всіх клітинних лініях, які легко визначаються в кістково-мозкових аспіратах. Вони включають в себе такі зміни, як збільшення числа ранніх еритроїдних і/або мієлоїдних попередників, багатоядерних еритропоетичних клітин або фрагментацію їх ядер, еритроїдні мегалобластні зміни, появу сидеробластів, гіпофрагментацію ядер мегакаріоцитів, гіпо- або гіперсегментацію попередників гранулоцитів і зменшення кількості, розміру та/або тинкторіальних властивостей гранул еозинофілів [97]. Деякі хімічні речовини (ВМ та інші) втручаються у метаболізм заліза (Fe) та синтез Hb. У цьому випадку Fe накопичується в мітохондріях і може бути виявленим у вигляді «залізних» плям. Попередники еритроцитів, які містять ці залізовмісні мітохондрії, що розташовуються у вигляді кільця навколо ядра, називаються "кільцевидними сидеробластами" [98].

Зміни в стромальних клітинах КМ

Початкові зміни КМ під дією різних факторів можуть починатися зі стромальних клітин. Ці стани є діагностично-складними і, як правило, проявляються певним різновидом гіперплазії стромальних клітин, мієлостромальною проліферацією, мієлофіброзом, фіброзною остеодистрофією, фіброзно-кістковим ураженням, вогнищевим ліпоматозом.

Вогнищева гіперплазія стромальних клітин спостерігається у вигляді невеликих вогнищ ураження, які важко відрізнити від вогнищевої атрофії. У деяких випадках ці пошкодження мають більш виражений характер, містять клітини з блідою вакуолізованою цитоплазмою і круглим везикулярним ядром та одним ядрцем, що як раз і відрізняє їх від вогнищевої атрофії КМ [99].

Мієлостромальна проліферація проявляється дифузним розмноженням ретикулярних, адвентиційних клітин або гістіоцитів. Проліферати представлені однією популяцією клітин з нечіткими межами, багатою на дрібні вакуолі цитоплазмою (іноді містить залізопозитивні включення), круглими (овальними) або злегка неправильної форми везикулярними ядрами з одним ядрцем. Іноді присутні багатоядерні клітини. У значній частині випадків важко віддиференціювати мієлостромальну проліферацію від гістіоцитарної саркоми [99].

Вогнищевий ліпоматоз це ураження жирової тканини. MacKenzie W. F. та Eustis S. L. описали його у щурів F344 як достатньо добре окреслене вогнище зрілих адипоцитів всередині порожнини КМ [99]. Вогнище адипоцитів, як правило, знаходиться в центрі мозкової порожнини з кровотворною тканиною на периферії (поряд з кортикальним шаром кістки або біля епіфіза). Гемопоетичні клітини можуть бути розсіяні серед адипоцитів.

Фіброз КМ характеризується збільшенням колагенових волокон та активно проліферуючих фібробластів зі зниженням кровотворних клітин. Вогнищевий фіброз спостерігається у молодих щурів і може бути пов'язаний із запаленням, травмою або некрозом [100-102]. У лабораторних тварин був використаний термін мієлофіброз для опису фіброзно-проліферативного

ушкодження КМ при ураженні радіацією та вірусом лейкемії [99]. Але нині прийнято ці проліферативні вогнища називати не мієлофіброзом (бо це ознака мієлодиспластичного синдрому), а вогнищевим фіброзом.

Збільшення кількості макрофагів або гістіоцитів у КМ називають гістіоцитарною інфільтрацією. Вона представлена скупченнями макрофагів, які мають вакуолізовану цитоплазму або містять значну кількість фагоцитованих клітинних залишків, холестерину та пігменту (гемосидерину) [103]. Термін "гістіоцитарна інфільтрація" правомірний лише за умови відсутності інших ознак запалення. Місцями можуть утворюватися гранульоми, до складу яких входять епітеліоїдні або багатоядерні макрофаги. Гістіоцитарна інфільтрація зазвичай є реактивним процесом внаслідок впливу цитотоксичних речовин, які викликають некроз КМ [104].

Інфільтрація КМ мастоцитами є реактивним процесом, що проявляється збільшенням числа вільно розсіяних, морфологічно нормальних тучних клітин, що в нормі у щурів становлять приблизно 1-3% всіх ядерних клітин. На сьогодні відсутні чіткі дані про причини збільшення мастоцитів у системі гемопоезу у гризунів, хоча повідомляється про можливість їх зростання при запаленні, наявності паразитарних уражень, уремії, апластичній анемії, остеопорозі та гематологічних захворюваннях [105].

Дегенеративні зміни

Дегенерація (некроз) КМ пов'язана з надлишковим введенням токсичних сполук до живого організму і має бути диференційована від посмертних змін (аутоліз тканини ферментами дегранульованих лейкоцитів) та артефактів під час приготування препаратів (недостатнє проникнення фіксатору). Мегакаріюцити перші демонструють посмертні зміни у вигляді конденсації (пікнозу) ядра [99]. Інфаркти КМ можуть з'являтися за умови припинення кровопостачання, що пов'язано з такими станами, як тромбоз або оклюзія судин [100,106]. Некротичні ураження можуть бути вогнищевими, мультифокальними або дифузними. Вони характеризуються вакуолізацією цитоплазми гемопоетичних клітин, каріопікнозом, каріорексисом і каріолізісом

[99,100]. Навколо них скупчуються макрофаги. Ділянки некрозу іноді заповнюються еритроцитами (крововилив – із-за пошкодження судин) або запальним інфільтратом [100,107]. У зонах старих крововиливів у складі КМ наявні макрофаги з гемосидерином (сидерофаги). Серед жирової і гемопоетичної тканини окремо виявляються свіжі крововиливи. У результаті токсичної дії речовин у кровотворній тканині щурів виявлено ознаки ектазії (дилатації) судин та синусоїдів із-за значної і гострої втрати гемопоетичної тканини [73].

Запальні ураження КМ у гризунів зустрічаються рідко, іноді спостерігається гранулематозне запалення [99,100]. Запальний компонент складається переважно з вакуолізованих або епітеліоїдних макрофагів. Епітеліоподібні макрофаги мають велику кількість еозинофільної цитоплазми та овальне ядро з дисперсним хроматином, іноді зливаються з утворенням багатоядерних гігантських клітин. Гнійне запалення рідко спостерігається у КМ щурів, що брали участь у токсикологічних дослідженнях. Запалення завжди супроводжується розширенням синусоїдів, інтерстиційним набряком або крововиливами. При гострому запаленні у складі інфільтрату переважають нейтрофіли, при хронічному – лімфоцити [3,103,107-110].

Збільшення гемосидерину у КМ пов'язане зі старими або хронічними кровотечами або гемолітичною анемією, через введення надмірної кількості перорального або парентерального заліза (перевантаження залізом) [111]. Анемія при хронічних інтоксикаціях та захворюваннях також може призвести до гемосидерозу КМ. Це пов'язано зі збільшенням виробництва гепсидина, який бере участь у підтримці нормального гомеостазу заліза шляхом пригнічення абсорбції харчового заліза з шлунково-кишкового епітелію і запобігання експорту заліза з макрофагів. Запальні і пухлинні розлади призводять до збільшення виробництва гепсидина, що з часом призводить до збільшення заліза у КМ, але вони недоступні для еритропоезу [112].

Отже, досліджуючи гістологічні особливості КМ, можна отримати важливу інформацію про систему кровотворення і її зміни, пов'язані з

використанням екзогенних речовин. Ці зміни можуть проявлятися кількісними та якісними варіаціями, що стосується, як паренхіматозного, так і стромального компонентів КМ.

1.3. Участь важких металів у функціонуванні живих організмів.

Метали це речовини з високою електричною провідністю, щільністю та блиском, які легко втрачають свої електрони з утворенням катіонних форм. Їх розподіл у довкіллі залежить від властивостей даного металу і різних факторів навколишнього середовища [113]. Щодо визначення терміну (їх відомо близько сорока) «важкі метали» на сьогодні існують певні розбіжності у його трактуванні. Як правило, важкими називають ті метали, які мають питому вагу більше 5 г/см^3 і негативно впливають на навколишнє середовище і живі організми [114]. В інших випадках до них відносять всі метали, починаючи з ванадія (атомна маса яких понад 50), незалежно від щільності. В окремих випадках крапкою відрахунку є щільність заліза (8 г/см^3). Деякі класифікації роблять винятки для благородних і рідкісних металів, не відносячи їх до важких, інші виключають не кольорові метали (залізо, марганець) [115].

У залежності від впливу на організм всі їх можна розділити на 2 великі підгрупи: есенційні (Fe, Cu, I, Zn, Se, Mn, Co, Mo, Ni, V, Br, Cr), при нестачі яких виникають хвороби недостатності, та токсичні (Al, Cd, Pb, Hg, Ba, Bi, As, Ti, Sr), коли навіть незначні контакти з ними призводять до стану інтоксикації [12]. Але за умови підвищеного надходження есенційних МЕ при виснаженні компенсаторних захисних механізмів можуть також виникати токсичні ефекти у вигляді зниження неспецифічної резистентності, дистрофічно-некротичних змін, мутагенної перебудови генетичного матеріалу та інші [19,116,117].

У зв'язку з постійним розвитком промислового виробництва, зростання екзогенного впливу людини на навколишнє середовище, останнім часом особливої актуальності набули проблеми гематоекології, які безпосередньо пов'язані зі зростанням кількості СВМ у воді, повітрі та ґрунті [7,118,119]. Це питання найбільш гостро стоїть у тих регіонах, де їх кількість значно перевищує гранично допустимі концентрації [6,120-122].

Не зважаючи на негативний вплив на функціонування живих організмів при надходженні ВМ у надмірних кількостях, вони є життєво-необхідними МЕ. ВМ залучені в усі життєво-важливі процеси макроорганізму: підтримання електролітного гомеостазу та кислотно-лужної рівноваги, перенесення електронів і активних груп ($-\text{CH}^3$, $-\text{O}$, $-\text{S}$) [10]. При їх участі відбувається активація 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.

Залізо входить до складу багатьох ферментів: у складі каталази та пероксидази бере участь у знешкодженні пероксиду водню; як складова частина Hb бере участь у транспорті кисню та вуглекислого газу; будучи складовою міоглобіну, надає можливість м'язам скорочуватись; у складі кінцевого ферменту мітохондріального транспорту електронів (цитохромоксидази) залучене в утворенні АТФ та інші [7,8,13,123].

Цинк у складі більш ніж 100 протеїнів входить до складу дегідрогеназ, альдолаз, ДНК- і РНК-полімераз, пептидаз, фосфатаз, циклічної фосфодіестерази, які беруть участь в процесі функціонування та поділу клітин. У складі металотіоноїдів він бере участь у окисно-відновних реакціях [9], за рахунок антагоністичної дії щодо перехідних металів (Cu та Fe) знижує утворення $\bullet\text{OH}$ радикалів [7], бере участь у механізмах сульфгідрильної стабілізації ферментних систем [10]. Зі зміною концентрації Zn пов'язана регуляція синтезу стероїдних, тиреоїдних та інших гормонів [124].

Мідь входить до складу білків і ферментів (близько 25), що відіграють важливу роль у прискоренні процесів обміну, посиленні тканинного дихання (у складі цитохромоксидази), прискоренні процесу окислення глюкози та інших. Важливу фізіологічну функцію виконує купрумвмісний фермент супероксиддисмутаза, яка прискорює реакцію розкладання супероксидіона, що виникає при вільно радикальному окисленні речовин у клітині [7].

Встановлено, що в біохімічних процесах бере участь тільки тривалентний хром, концентрація якого в організмі з віком знижується [125]. Найважливіша його біологічна роль полягає у регуляції синтетичних процесів, регуляції обміну холестерину (входить до складу трипсину), сприянні виведення з організму шкідливих речовин, стабілізації структури та синтезі нуклеїнових кислот [7,13,126].

Марганець відіграє значну роль в обміні речовин і процесах кровотворення, сприяє прискоренню утворення антитіл, входить до складу великої кількості ферментів, сприяє зниженню рівня ліпідів, формуванню кісток, хрящів і сполучної тканини, виробленню тироксину, сприяє активації антиоксидантних систем, підсилює ефективність інсуліну, обміну вітаміну С, Е, групи В, холіну і міді [7].

Зовсім протилежних властивостей набувають ВМ при їх підвищеному надходженні до живих організмів у складі СВМ і проявляють у більшості випадків спільні механізми токсичного впливу. Так, підвищена кількість Fe, Cu, Cr та Pb у клітині каталізує окислювальні реакції, які призводять до ПОЛ і утворення АФК [13,15,127,128]. Попередні дослідження показали, що в першу чергу виникає окисне пошкодження біологічних макромолекул за рахунок зв'язування ВМ з ДНК і ядерними білками [14]. Активація ПОЛ відбувається також шляхом зв'язування іонами металів сульфгідрильних груп глутатіону та ліпоєвої кислоти, завдяки яким відбувається регенерація і відновлення інших антиоксидантів в організмі (цикл вітамінів Е і С) [128]. При дуже високих концентраціях АФК можуть викликати пошкодження структурних елементів клітин, білків, нуклеїнових кислот, мембран і ліпідів, що відбувається на клітинному рівні [129].

Fe, Cu, Cr, Pb, Zn, Mn можуть змінювати структуру нуклеїнових кислот і порушувати процеси передачі генетичної інформації (реплікацію, транскрипцію і трансляцію), викликати одно- та двониткові розриви в ДНК, блокувати синтез білка та призводити до генетичних аномалій і пухлинного росту [117,130]. Зв'язування іонів металів (Mn, Zn, Cu) з азотистими основами ДНК знижує їх

стабільність [17]. Деякі ВМ (Cu, Ni, Hb, Zn, Mn) можуть впливати на проліферативну активність клітин та їх здатність до апоптозу [14,117].

За рахунок антагоністичних відносин Cu та Zn можуть витіснятися з комплексних сполук Hg, Cd, Cr, Ni, Pb, надлишок Hg, As, Cd призводить до дефіциту селену, зростання Pb – до дефіциту Ca і Zn, а Mn – до зменшення Mg і Cu [12].

У значної кількості ВМ виявлено естрогеноподібну активність, що формує «новий клас ендокринної системи». Завдяки цим властивостям МЕ можуть впливати на стероїд-чутливі клітини [131].

Певні ВМ можуть проявляти і вибірккові токсичні властивості на різні органи. Так, Pb здатний замінити інші двовалентні катіони, такі як Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} та одновалентні катіони, такі як Na^{+} [16]. Вступаючи в конкуруючі відносини з солями кальцію, він призводить до вимивання останніх з кісток та заміщення звільнених позицій у структурі гідроксиапатиту [132]. Це слугує джерелом хронічного токсичного впливу на КМ, навіть за умови відсутності підвищеного надходження Pb до організму. При поступовому отруєнні він має виражену нейротоксичну властивість [20,133], порушує синтез Hb та пошкоджує мембрани еритроцитів [25].

Вплив великих кількостей сполук хрому на організм людини може призвести до пригнічення в еритроцитах глутатіонредуктази, що, в свою чергу, знижує здатність до перетворення метгемоглобіну в Hb [18].

У багатьох роботах доведено, що Cu бере активну участь в ангиогенезі. Більш того цей процес прямо або опосередковано залежить від концентрації міді в тканинах. Саме звільнена з білкового комплексу мідь набуває ростових властивостей [134].

Сполуки Mn у надлишкових кількостях мають виражену нейротоксичну дію, призводячи до незворотніх змін у структурі головного мозку. Він має конкуруючі відносини з Fe та Cu, призводячи до розвитку порушень гемопоезу [135].

У численних дослідженнях продемонстровано негативну дію ВМ на різні органи лабораторних тварин. Так, при їх надмірному надходженні в організм вони здатні до акумулювання у внутрішніх органах, призводячи до різних ускладнень: у щитоподібній залозі виникає зменшення функціональної активності та морфології тироцитів [19], з'являються дистрофічні зміни в екзокринних залозах [21], атрофія паренхіми нирок, сім'яників, передміхурової залози, головного мозку та інших органів [20,22,136]. Окрім цього, вони за рахунок конкуруючого механізму призводять до накопичення у кістковій тканині, викликаючи незворотні остеопорозні зміни [137].

Незважаючи на достатньо вивчений вплив зазначених факторів на більшість органів, на жаль, відносно мало досліджень присвячено вивченню впливу сполук ВМ на систему гемопоезу. Більш того, наявні дослідження щодо цієї тематики у більшості випадків присвячені окремо або крові, або системі гемопоезу [23-25].

Тому ретельне вивчення токсичних властивостей ВМ є дуже важливим напрямом для одержання можливості забезпечити належний захист у разі їх надмірного надходження до організму [138].

Аналізуючи вище зазначене, можна стверджувати, що ВМ є життєво-необхідними МЕ. Але при надмірному їх надходженні до живого організму вони проявляють токсичні властивості, які при довготривалому впливі мають незворотній характер. Основними місцями їх негативної дії є антиоксидантні системи, активність ферментів, цілісність та стабільність ДНК. За рахунок конкуруючих відносин між собою та іншими МЕ вони призводять до морфо-функціональних розладів у більшості органів та виникнення в них мікроелементозів.

1.4. Біологічна роль, метаболізм і функції вітаміну Е у живому організмі.

На сьогодні не викликає сумнівів той факт, що процеси вільно-радикального окислення ліпідів відіграють надзвичайно важливу роль у життєдіяльності клітин. Це пов'язано, з одного боку, з необхідністю його

проведення, як ключового етапу різних метаболічних процесів, а з іншого боку, з можливістю підвищення його інтенсивності, що може призводити до патологічних змін у клітинах і тканинах. Порушення регуляції ПОЛ вважається пусковим патогенетичним механізмом значної кількості захворювань. Саме тому вивченню біологічних властивостей біоантиоксидантів, як чинників, здатних регулювати інтенсивність ПОЛ, приділяється особлива увага [29,139].

Вітамін Е зустрічаються у природі у вигляді двох речовин – токоферолу і токотрієнолу, які складаються з ядра гідрохінону та ізопренового бічного ланцюга [140]. Характерною особливістю токоферолів є наявність насиченого бічного ланцюга, у той час як токотрієноли мають ненасичений його аналог. Існує по чотири основних ізоформ кожної з цих двох речовин (альфа, бета, гамма та дельта), які відрізняються один від одного за положенням метильної групи ($-CH^3$) у структурі бензодегідропіранового кільця. Альфа-токоферол, є найбільш біологічно активною формою вітаміну Е [141,142].

Молекула токоферолу має три асиметричних атома вуглецю, розташовані в 2', 4' і 8' позиції. У d-формі альфа-токоферолу, метильні групи на трьох асиметричних атомах вуглецю мають ідентичне просторове розташування. Це позначається як RRR форма альфа-токоферолу, яка має природне походження (міститься в рослинах) [143,144]. Синтетичні форми називаються all-*rac*-альфа-токофероли, які є рацемічною сумішшю з 8 стереоізомерів, з яких 7 навіть не знайдено у природі [145].

Альфа-токоферол являє собою в'язку, жовту, маслянисту рідину, нерозчинну у воді, але розчинну у більшості органічних розчинників. Він легко зазнає окислювального руйнування, яке прискорюється під впливом тепла, вологи, ультрафіолетового опромінення, міді і заліза [28].

Всмоктування вітаміну Е відбувається у кишківнику (більшість у верхніх двох третинах тонкої кишки) одночасно з перетравлюванням інших жирів під дією жовчних кислот, а також панкреатичної ліпази та естерази. Існують дані, що при зростанні кількості та концентрації альфа-токоферолу у складі харчових продуктів ефективність його всмоктування знижується [146]. В ентероцитах,

вітамін Е з'єднується з хіломікронами, які потім екскретуються в лімфатичну систему. Новоутворені білково-ліпідні комплекси частково гідролізуються і поглинаються тканинами (у першу чергу печінкою). У печінці він зв'язується з токоферол-зв'язуючими білками, причому найбільшою спорідненістю володіє RRR-альфа-токоферол [147]. Ці білки "експортують" вітамін у кров у складі ліпопротеїдів дуже низької щільності, де відбувається його обмін з іншими ліпопротеїнами, забезпечуючи його рівновагу у крові [29]. До екстрапечінкових тканин вітамін надходить у складі ліпопротеїнів через відповідні рецептори та ферментативно-опосередкованим шляхом (шляхом пасивної дифузії). Саме останній шлях призводить до зростання концентрації RRR- α -токоферолу у мембранах клітин, забезпечуючи захист від оксидативного стресу [30].

Імунні клітини (нейтрофіли, макрофаги і лімфоцити), як і еритроцити (попередження гемолізу), містять дуже високі концентрації вітаміну Е [148].

Поглинання вітаміну Е знижується при різних захворюваннях, пов'язаних з порушенням мальабсорбції жирів, а також при зміні кількості ВМ (наприклад, цинку) у складі їжі [149,150].

Потрапивши у тканини, альфа-токоферол бере участь у значній кількості процесів [29,32,151-155]. Він є універсальним протектором при ушкодженні клітинних мембран продуктами ПОЛ: перешкоджає контакту кисню з ненасиченими ліпідами [156]; безпосередньо взаємодіє з вільними радикалами кисню ($O^{\cdot 2}$, HO^{\cdot} , $HO^{\cdot 2}$), вільними радикалами ненасичених жирних кислот (RO^{\cdot} , $RO^{\cdot 2}$) і пероксидами жирних кислот [29]; оберігає від окислення SH-групи мембранних білків [139,151]; захищає від окислення подвійні зв'язки в молекулах каротину і вітаміну А [157]; спільно з аскорбіновою кислотою сприяє включенню селену до складу активного центру глутатіонпероксидази, тим самим він активізує ферментативний антиоксидантний захист [157,158]; змінюючи валентність лабільного заліза та міді, попереджає утворення активних форм кисню при їх надлишку [159,160]. Натомість, встановлено, що надходження альфа-токоферолу у надфізіологічних кількостях до організму може бути передумовою прояву його прооксигеназних властивостей, за

рахунок промоції утворення активних форм вільних радикалів (у тому числі і металів) [34,153].

Альфа-токоферол у клітинах проявляє виражені антигіпоксанти властивості, стабілізуючи мітохондріальну мембрану та беручи участь у синтезі убіхінону (компонента дихального ланцюга і головного антиоксиданту мітохондрій) [152]. Він підвищує активність мікросомального цитохрому Р-450.

Відома також значна кількість функцій вітаміну Е, не пов'язаних з впливом на утворення АФК – позаоксидантні функції. За рахунок активації фосфатази А2 і, як наслідок, дефосфорилування кіназ відбуваються зміни в транскрипції ДНК та пригнічення проліферативної активності клітин [153], їх мутагенної активності [32]. Він також впливає на зниження рівня холестерину [154], стабілізує клітинні мембрани [31], контролює процес тромбоутворення [31,155], чинить ангіопротекторну дію, стимулює утворення нових капілярів, модулює імунну відповідь. Значна роль вітаміну Е полягає у підтримці нормального перебігу репродуктивних процесів (запліднення, розвиток плода, формування та функціонування статевої системи) [28,139,161], протипухлинному захисті організму [162,163], попередженні розвитку і прогресуванні катаракти [164] та серцево-судинних захворювань [165,166], хвороби Альцгеймера [167], зниженні рівня імуносупресії при СНІДі [168].

При дефіциті вітаміну Е виникають порушення зору, м'язова слабкість, імунодефіцити, атаксія, міопатія, дизартрія, анемічні стани (внаслідок оксидазного пошкодження еритроцитів та попередників еритропоезу), кардіоміопатії, безпліддя та інші [164]. У зв'язку з цим альфа-токоферол знайшов широке застосування у повсякденній медичній практиці, як при вищезазначених станах, так і при інших патологічних процесах (захворюваннях сполучної тканини з аутоімунізацією, атеросклерозі, порушеннях менструального циклу, дерматитах) [169].

Низка експериментальних досліджень на лабораторних тваринах показали значні антиоксидантні протективні властивості вітаміну Е при токсичному впливі різних препаратів на гепатоцити [170], дихальну та статеву

системи [171-173], лейкоцити [174], нервову систему [175], кров [176] та інші органи. Встановлено антагоністичні властивості альфа-токоферолу з різними екзогенними пошкоджувальними чинниками (опромінення та інші) і у червоному КМ тварин [177].

Аналізуючи вищезазначені дані можна стверджувати, що альфа-токоферол є багатофункціональним природнім жиророзчинним вітаміном, який проявляє виражені антиоксидантні, мембранопротекторні та інші властивості у тканинах ссавців. За рахунок його антагоністичних властивостей з екзогенними пошкоджувальними агентами він може бути використаний у медичній практичній діяльності. Але очікуваний протективний ефект попередньо має бути підтверджений в експериментальних дослідженнях на тваринах.

Підсумовуючи дані літературного огляду можна стверджувати, що КМ щурів є високо еволюційно розвиненим гемопоетичним органом у ссавців, який може реагувати зміною якісних та кількісних характеристик на різні, як ендогенні, так і екзогенні впливи. Серед останніх значної актуальності у сучасному світі набули СВМ, які показали свій негативний вплив на більшість органів при їх надлишковому потраплянні до організму. Залишається відкритим питання проявів комбінованого впливу різних ВМ на процес кровотворення, як у щурів, так і у людини, та пошук мієлопротективних засобів. Враховуючи виражені цитотоксичні ефекти екзогенних полютантів (СВМ) перспективним корегуючим препаратом може бути альфа-токоферол з усіма його протективними властивостями. Саме встановлення цих особливостей і стало метою наших подальших досліджень.

Матеріали з даного розділу висвітлені в наступних публікаціях:

1. Романюк АМ, Сікора ВВ, Линдіна ЮМ, Линдін МС. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму. Буковинський медичний вісник. 2017;21(82),ч.1:145–50. DOI: 10.24061/2413-0737/XXI.2.82.1.2017.32.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

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

2.1. Характеристика експериментального матеріалу.

Вивчення особливостей будови КМ та показників крові проводили на 84 білих статевозрілих (4 місяці) щурах-самцях, урахувавши відсутність значної варіабельності щодо будови гемопоетичної тканини у даного виду тварин у цьому періоді життя (від 4 до 16 місяців) [4]. Щури, як об'єкт дослідження були вибрані у зв'язку зі значною подібністю морфології та функціонування їх КМ і людини.

Піддослідні тварини перебували на стандартному раціоні харчування (сухий гранульований корм, що містить усі необхідні для нормальної життєдіяльності речовини) в приміщенні віварію Медичного інституту Сумського державного університету при температурі повітря 20-25°C, вологості – не більше 50%, світловому режимі день/ніч. Доступ до води був вільний. Комісією з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 1/5 від 4 травня 2019 року) встановлено, що наукове дослідження відповідає вимогам Європейської конвенції по захисту хребетних тварин (Страсбург, 18.03.1986 р.) [198], директиви Європейського парламенту та ради ЄС від 22.09.2010 р. та «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) [199], закону України «Про лікарські засоби», 1996, ст. 7, 8, 12, інструкції ICH GCP (2008 р.), GLP (2002 р.), відповідно до вимог та типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Піддослідним тваринам давали розчинені у воді (при постійному вживанні) СВМ для вивчення морфофункціональних особливостей КМ за умов впливу їх комбінацій, концентрації яких були властиві північним районам

Сумської області (з надлишковим умістом заліза, міді, цинку, хрому, марганцю та свинцю) [6,200].

Всі щури, які були використані в експериментальному дослідженні, розподілені на дві групи (табл. 2.1). До першої групи входили три серії лабораторних тварин (по 12 щурів у кожній): перша серія – контрольна серія (тварини вживали звичайну питну воду, якість якої відповідала санітарним нормам і правилам); друга – щури, які отримували водний розчин суміші СВМ: цинку ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5мг/л, міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганцю ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1мг/л, свинцю ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1мг/л та хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1мг/л); третя – щури, які отримували вищезазначену суміш солей на фоні корекції змін вітаміном Е.

Таблиця 2.1.

Розподіл щурів при експериментальному дослідженні

		І група тварин	
		30 діб	90 діб
Серія 1	Контроль	6	6
Серія 2	СВМ	6	6
Серія 3	СВМ + Віт. Е	6	6
		ІІ група тварин	
		120 діб (30 діб відновлення)	180 діб (90 діб відновлення)
Серія 1	Контроль	6	6
Серія 2	-СВМ	Вода	6
Серія 3		+Віт. Е	6
Серія 4	-СВМ	Віт. Е	6
Всього			84

Дозу вітаміну Е для щурів розраховували за формулою Ю. Р. і Р. С. Риболовлевих [201]:

$$x = r \times \frac{\text{доза для людини}}{R \times 70}$$

Де x – кількість вітаміну Е на 1 кг маси тварини, r – коефіцієнт видової витривалості для щура ($r=3,62$), R – коефіцієнт видової витривалості для людини ($R=0,57$). Враховуючи середню терапевтичну дозу для людини у 100мг/кг, кількість вітаміну Е для щурів була наступною:

$$x = r \times \frac{\text{доза для людини}}{R} = 3.62 \times \frac{100\text{мг}}{0.57 \times 70\text{кг}} = 9.1\text{мг/кг}$$

У дослідженні були використані тварини з масою тіла $207,6 \pm 7,9\text{г}$. Тому, добова потреба у вітаміні для одного щура склала близько 2 мг, що дорівнювало 1 краплі з очної піпетки. Коректор давали тваринам перорально.

Для корекції порушень викликаних СВМ використовували вітамін Е у вигляді 10% олійного розчину, який має високу антиоксидантну, ангіо- та радіопротекторну дію, бере участь у біосинтезі гема і білків, покращує споживання тканинами кисню, проліферації клітин та інших найважливіших процесах клітинного метаболізму.

У першій групі з метою вивчення підгострого та хронічного впливу СВМ на процес гемопоезу і кров тварин виводили з експерименту (шляхом декапітації під ефірним наркозом) на 30-ту та 90-ту доби (по 6 тварин із кожної серії).

До другої групи (процес відновлення) входили чотири серії лабораторних тварин: перша серія – контрольна серія; друга – щури, які вживали розчин суміші СВМ (90 діб), а потім переходили на звичайну питну воду; третя – тварини, які вживали розчин суміші СВМ (90 діб), а потім починали вживати звичайну питну воду з вітаміном Е, четверта – щури, які вживали розчин суміші СВМ на фоні корекції вітаміном Е (90 діб), а потім перейшли на звичайну питну воду та продовжували вживати вітамін Е. Процес швидкого та віддаленого відновлення вивчали шляхом виведення з експерименту по 6 тварин із кожної серії також на 30-ту (4-й місяць експерименту) та 90-ту (6-й місяць експерименту) доби відновлення.

2.2. Гістологічне та гістохімічне дослідження тканини кісткового мозку.

Вивчення особливостей будови КМ проводили на стегнових кістках щурів, які після видалення фіксували у 10 % забуференому розчині формаліну впродовж 24 годин. Декальцинацію проводили в розчині ЕДТА (рН – 7,0) впродовж 14 діб за умови щоденної зміни розчину. Вилучення препаратів проводили за наявності ознак остаточно завершеної декальцинації (оцінювали за допомогою голкового тесту). Морфологічному дослідженню підлягали всі частини стегнової кістки – епіфізи та діафіз. Зневоднення та просочування парафіном відбувалося в апараті карусельного типу «ТМ-4М». З метою детального вивчення гістоархітекtonіки тканини КМ ми виготовляли тонкі зрізи – 5×10^{-6} м. Загальну будову органа вивчали при забарвленні препаратів гематоксиліном та еозином. Якісний склад стромального компонента досліджували при фарбуванні препаратів за Ван-Гізоном та ШИК-реакцією (PAS-реакція).

За допомогою вищезазначених методів забарвлення нам вдалося виявити і розрахувати відсоткове співвідношення між стромальним (кількість кісткової, жирової тканини, площа зайнята судинами та інше) та паренхіматозним компонентами (відсоток попередників еритроцито-, лейкоцито-, тромбоцитопоезу) КМ.

2.3. Імуногістохімічне дослідження тканини кісткового мозку.

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводили на зрізах (4×10^{-6} м) декальцинованої тканини стегнових кісток щурів, які підлягали стандартній депарафінації та зневодненню у ксилолі та спиртах у знижуючих концентраціях. Демаскування антигенів проводили у водяній бані «ВБ-4» при температурі 97-98 °С у цитратному буфері (рН – 7,0). Реакція антиген-антитіло була візуалізована з використанням системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP DAB Chromogen» («Thermo scientific», США), що включала блокування ендогенної активності пероксидази перекисем водню, блокування неспецифічного фонового забарвлення з використанням «Ultra V

block», посилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto» та кінцеву візуалізацію діамінобензидином (ДАБ) з дозобарвленням ядер гематоксилином Маєра. У дослідженнях використана така панель антитіл («Thermo scientific», США) (табл. 2.2):

Таблиця 2.2.

Панель антитіл для ІГХ дослідження

Антитіло	Імунізована тварина	Клон	Розведення	Локалізація в клітині
CD3	Кролик	SP7	1:150	Мембрана
CD79 α	Кролик	SP18	1:200	Мембрана
S100	Миша	4C4.9	1:150	Цитоплазма
МПО	Кролик	Поліклон	1:100	Цитоплазма

- попередники мієлоцитопоезу були візуалізовані за допомогою поліклональних кролячих антитіл до мієлопероксидази (МПО);
- різні класи лімфоцитів були віддифенційовані за допомогою моноклональних кролячих антитіл до Т-лімфоцитів (CD3 – маркер популяції Т-лімфоцитів) та моноклональних кролячих антитіл до В-лімфоцитів (CD79 α – маркер усіх проміжних форм В-лімфоцитів);
- поліклональні кролячі антитіла до S100 протеїнів були використані для ідентифікації антиген-презентуючих макрофагів;

Контроль якості проведеного ІГХ дослідження проводили з використанням визначення експресії рецепторів у тканині, з попередньо встановленою позитивною та негативною реакцією.

2.4. Визначення хімічного складу тканини кісткового мозку.

Частина стегнових кісток щурів використана для визначення елементного вмісту в тканині КМ. Атомно-абсорбційна спектрофотометрія виконана в лабораторії атомно-абсорбційного аналізу Центру морфологічних досліджень

Сумського державного університету з метою встановлення вмісту ВМ в 1 мг досліджуваної тканини. Для одержання матеріалу проводили виділення стегового фрагмента в його середній частині. Після цього виштовхували вміст кістково-мозкової порожнини за допомогою бужувальних засобів (рис. 2.1).

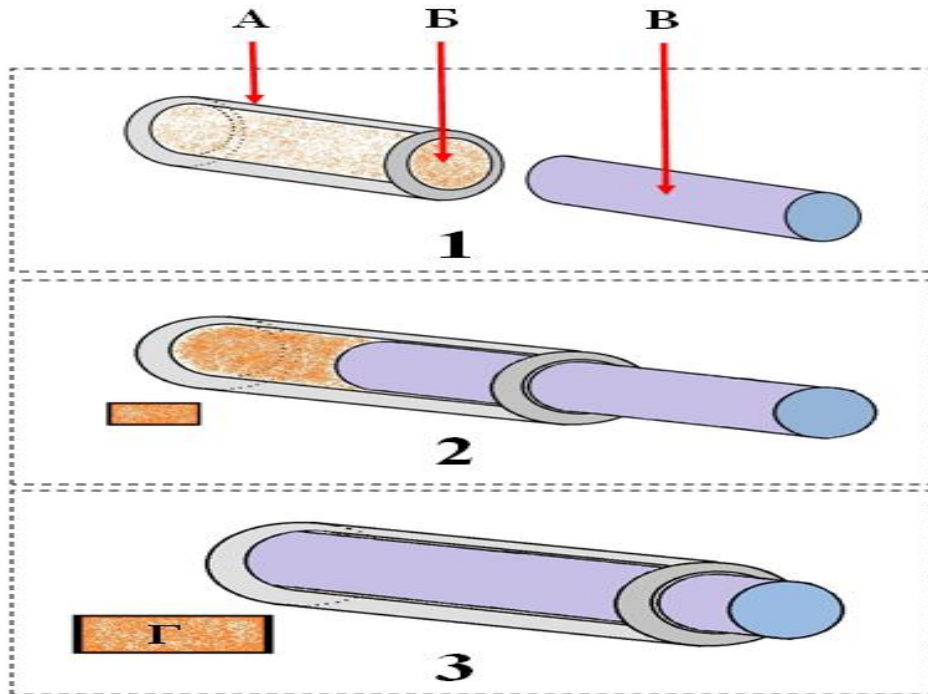


Рис. 2.1. Методика одержання КМ для хімічного дослідження.

1-3 – етапи вилучення КМ. А – стегова кістка; Б – КМ; В – засіб для виштовхування КМ; Г – одержана тканина КМ для хімічного дослідження.

Зразки тканини спалювали у муфельній печі при температурі 450 °С. Одержаний попіл розчиняли у суміші кислот (соляної та азотної) та доводили об'єм розчину до 10 мл бідистильованою водою. Одержаний розчин аналізували на спектрофотометрі С115-01 із полуменевим та електротермічним атомізатором. Вміст кожного МЕ вимірювався за певної довжини хвили: Zn – 213,9нм, Cu – 324,7нм, Pb – 217,0нм, Cr – 357,9нм, Fe – 248,3нм та Mn – 279,5нм. Проведення вимірів та розрахунків проводили з використанням програми ААS-SPECTR на комп'ютері.

2.5. Аналіз гематологічних показників.

Для встановлення функціонального стану КМ щурів проводили визначення найбільш поширених показників загального аналізу крові на

автоматичному гематологічному аналізаторі PCE-210 (Японія): кількість еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, Hb, швидкість осідання еритроцитів. Матеріалом для дослідження цих параметрів була кров, одержана з аорти щурів під час виведення їх з експерименту.

З метою виявлення впливу ВМ на біохімічні показники ми визначили в сировотці крові на автоматичному аналізаторі «Cormay plus» кількість кальцію, натрію, калію, креатиніну та сечовини.

2.6. Проведення морфометричних та математичних розрахунків.

Препарати досліджували за допомогою мікроскопа «Carl Zeiss Primo Star» (Німеччина). Одержання та зберігання знімків проводили за допомогою цифрової камери «Zeiss AxioCam ERc 5s» (Німеччина) з цифровим виходом системи зображення «ZEN 2 (blue edition)» (Німеччина). Вимірювали розміри складових елементів мікропрепаратів у середовищі морфометричної програми «Digimizer» 3.0.5.0. Визначали середні значення співвідношення паренхіми до строми, площі кожного з його компонентів.

Оброблення даних здійснювали прикладними статистичними методами, які використовуються в медицині, за допомогою програми Microsoft Excel 2010 із додатком AtteStat 12.0.5. Обчислювали середню арифметичну (M) і стандартне відхилення (SD), зазначаючи відсоток коливання параметрів між досліджуваними групами.

Першочергово вибірки перевірялися на нормальність. Нормальними вважали ті показники, в яких значення χ^2 (критерій Пірсона) менше від значення χ^2 критичного (згідно з таблицею критеріїв Пірсона). Оцінювання ймовірності розбіжностей порівнюваних показників проводили з використанням t-критерію Стюдента (t), урахувавши наявність нормального розподілу вибірок досліджуваних параметрів. Взаємозв'язок між досліджуваними показниками оцінювали згідно з критерієм кореляції Пірсона (r). Результати вважали статистично достовірними за ступеня ймовірності більше 95 % ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Морфологічні особливості кісткового мозку щурів контрольної групи.

При комплексному дослідженні морфологічних особливостей будови КМ встановлено, що гемопоетична тканина присутня у всіх відділах стегнової кістки – кістково-мозковому каналі діяфізу та міжтрабекулярному просторі губчастої кістки епіфізів. У складі КМ розрізняють паренхіму (вогнища гемопоетичних клітин) та строму. Стромальний компонент представлений кістковою та жировою тканинами, поодинокими колагеновими волокнами, кровоносними судинами, ретикулярними волокнами та клітинами, макрофагами, мастоцитами та адвентиційними клітинами (рис. 3.1).

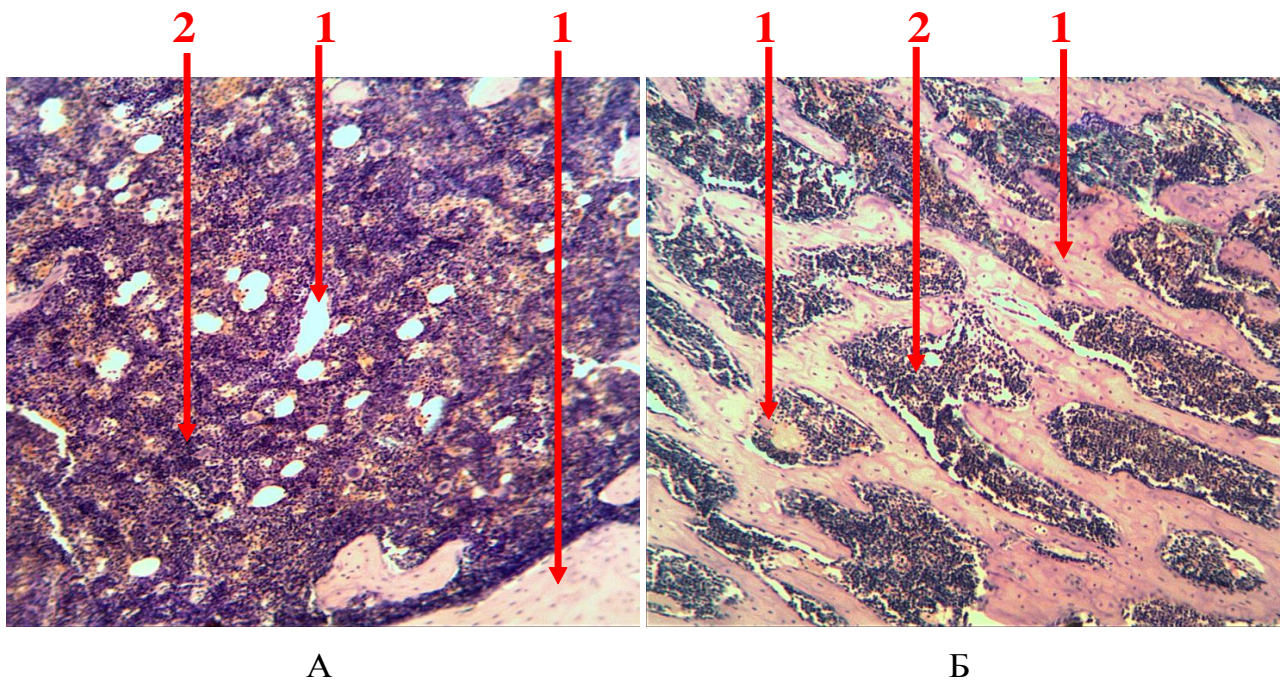


Рис. 3.1. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

А – ділянка діяфізу; Б – ділянка епіфізу: 1 – строму; 2 – паренхіма.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 100$.

Компактна кісткова тканина є зовнішньою межею, як медулярної порожнини, так і губчастої кістки. Вона має типову Гаверсову систему будови з

наявністю упорядкованого розташування кісткових пластинок та остеоцитів у лакунах. Губчаста кістка епіфізів представлена у вигляді балок (трабекул, спікул), що являють собою складну трьохмірну структуру. Трабекули сполучаються між собою під кутом у різних напрямках та мають пластинчасту будову. Вони обмежують з усіх сторін кістково-мозкові комірки, у яких локалізована гемопоетична тканина. В інтактних щурів товщина спікул більш ніж у три рази перевищує середній розмір ліпоцита КМ (рис. 3.2). Внутрішня поверхня компактної кісткової тканини та кісткові трабекули вкриті одним шаром остеогенних клітин – ендостом, який представлений остеобластами (клітини з ексцентричними ядрами та базофільною цитоплазмою) та остеокластами (гігантські багатоядерні клітини).

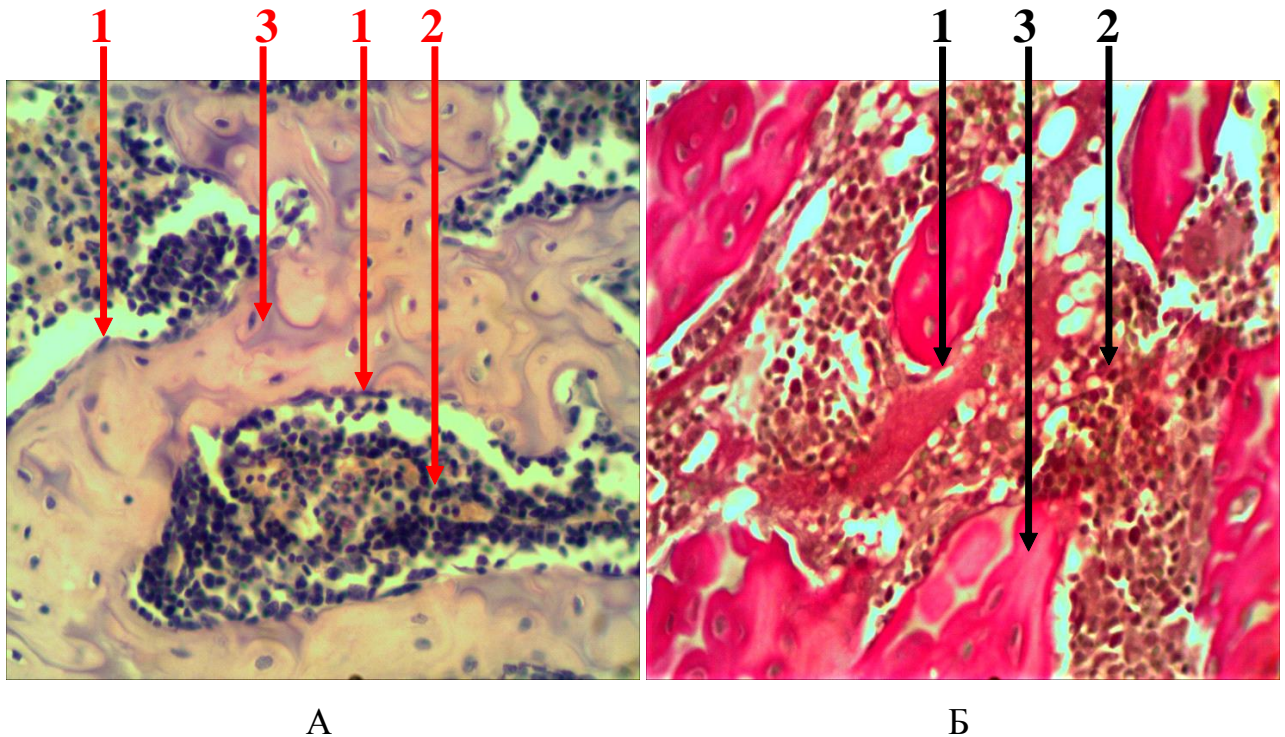


Рис. 3.2. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – ендост (остеогенні клітини – остеобласти); 2 – гемопоетична тканина; 3 – кісткова тканина. А – забарвлення гематоксиліном та еозином; Б – забарвлення за Ван-Гізоном. Збільшення $\times 400$.

На частку кісткової тканини у складі губчастої кістки у середньому припадає $48,8 \pm 3,3$ % (від 42 % до 53 %) від загальної кількості тканин.

Гемопоетична тканина на усіх ділянках КМ пронизана значною кількістю кровоносних судин, які представлені висхідною та низхідною гілками живильної артерії та вени. Від артерій відходить розгалуджена мережа артеріол з наступним їх впадінням у венозні синуси. У ці ж синуси впадає і наскрізь пронизуюча кісткову тканину мережа радіальних артерій, які відходять від periostальної артерії. Більш товстостінні судини легко помітні при гістологічному дослідженні препаратів, але значну кількість синусоїдів, які представлені одним шаром ендотелію з майже повною відсутністю базальної мембрани, можна помітити лише при використанні додаткових методів забарвлення тканини (рис. 3.3).

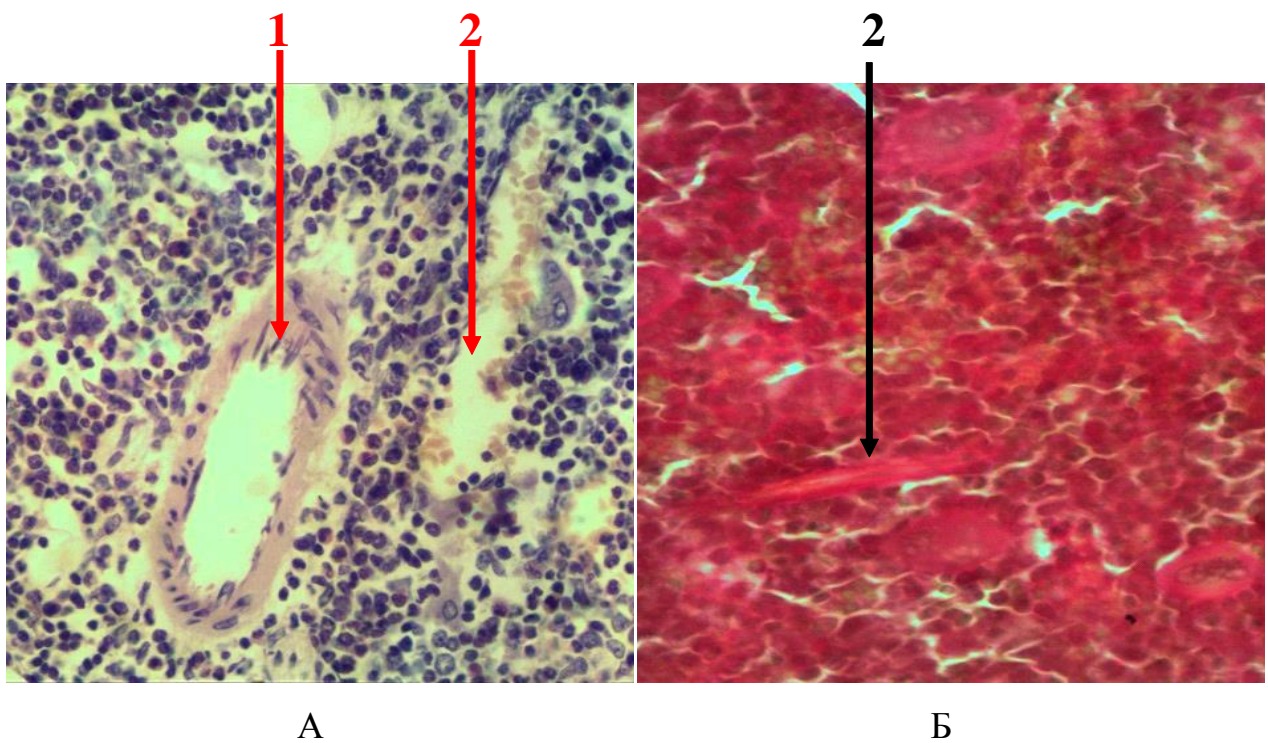


Рис. 3.3. Поперечний зріз стегнової кістки щура.

1 – артеріола; 2 – синусоїд. А – забарвлення гематоксилином та еозином; Б – забарвлення за Ван-Гізоном. Збільшення $\times 400$.

Ззовні стінка синусів представлена фенестрованим шаром адвентиційних клітин, які виступають камбіальним пулом для адипоцитів, фібробластів, капілярів, макрофагів. Загальна площа, зайнята мережею кровоносних судин у КМ щурів складає $18,7 \pm 2,1$ % (від 15 % до 22 %).

Серед паренхіми КМ наявні поодинокі-розкидані та згруповані ліпоцити (жовтий кістковий мозок), які представлені на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином, у вигляді пустот з периферично розміщеними ядрами (у вигляді каблучки) (рис. 3.4 – А). На рівні діафізу стегнової кістки вони локалізовані більш центральніше, мають тенденцію до згруповування. В епіфізах стегнових кісток щурів у більшості випадків жирові клітини розташовуються одним безперервним шаром на поверхні трабекул. На частку жирової тканини припадає $11 \pm 2\%$ (від 8% до 15%) від загальної кількості КМ.

Вся гемопоетична тканина пронизана сполучнотканинними волокнами (еластичними, ретикулярними та колагеновими), які слугують для неї своєрідним каркасом. Вони майже не помітні при рутинних гістологічних дослідженнях, але чітко проявляються при зростанні їх кількості чи залученні гістохімічних та імуногістохімічних досліджень.

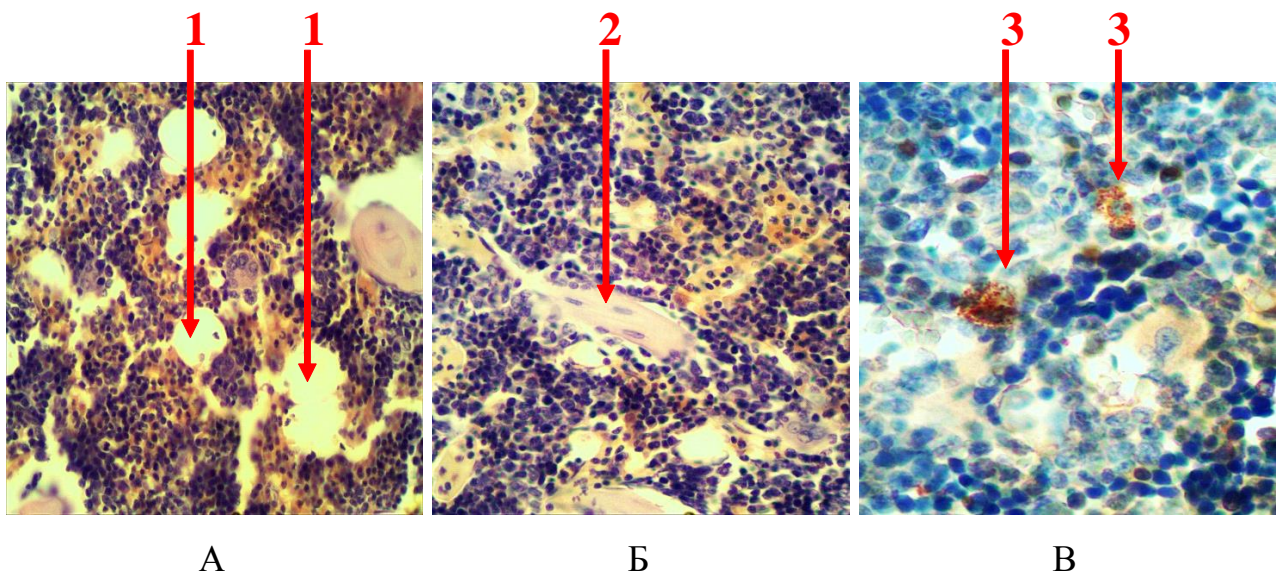


Рис. 3.4. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – ліпоцити; 2 – кісткова балка; 3 – мастоцити. А,Б – забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 100$. В – ІГХ дослідження, збільшення $\times 400$.

У тканині КМ завжди присутні поодинокі мастоцити, що мають округлу або овальну форму, розміром від $4,5$ до 15 мкм, у цитоплазмі яких наявна

значна кількість гранул (розмір – $0,25-2,5 \times 10^{-6} \text{м}$). Вони здатні виробляти, зберігати і виділяти біологічно-активні речовини (гепарин, серотонін, гістамін та інші), що впливає на морфо-функціональний стан гемопоетичної тканини. При проведенні імуногістохімічного дослідження встановлено, що внутрішньоклітинні гранули мастоцитів неспецифічно зв'язуються з ДАБом (рис. 3.4 – В), що значно полегшує їх ідентифікацію та підрахунок. На їх частку припадає не більше 0,1 % від загальної кількості клітин.

Узагальнюючи вищезазначене, можна стверджувати, що серед загального об'єму КМ на частку строми на рівні епіфізів стегнової кістки у статевозрілих щурів приходиться $79,1 \pm 3,7 \%$ (від 73,7 % до 84,1 %), а на рівні діафізу – $30,4 \pm 2,2 \%$ (від 25,7 % до 32,8 %) (Додаток 2, табл. 1).

Паренхіматозний компонент КМ щурів представлений попередниками еритроцитопоезу, лейкоцитопоезу та тромбоцитопоезу на всіх стадіях гемопоезу (I-VI стадії).

Для гранулоцитопоезу у КМ притаманна більш ендостальна локалізація попередників. У діафізарній частині стегнової кістки вогнища лейкоцитопоезу розміщені навколо синусоїдів. Вони представлені різними дозріваючими предикторами (мієлобластами, промієлоцитами, мієлоцитами, метамієлоцитами, паличкоядерними гранулоцитами) та зрілими (сегментоядерними) гранулоцитами (рис. 3.5 – А).

Початкові форми лейкоцитопоезу (мієлобласти та промієлоцити), які у значній мірі знаходяться біля кісткової тканини та судин, дуже важко розрізнити на гістологічних препаратах за рахунок наявності подібних морфологічних ознак: розмір клітин від 10 до 20 мкм, відносно велике ядро з одним ядерцем, нерівність контурів клітин, незначна кількість гранул (рис. 3.5 – Б).

Зі зростанням диференціювання клітин відбувається поступове зменшення їх розмірів, з'являється специфічна зернистість, відбуваються якісні зміни в ядрі (посилюється його фрагментація, знижується базofilія ядер, конденсується хроматин).

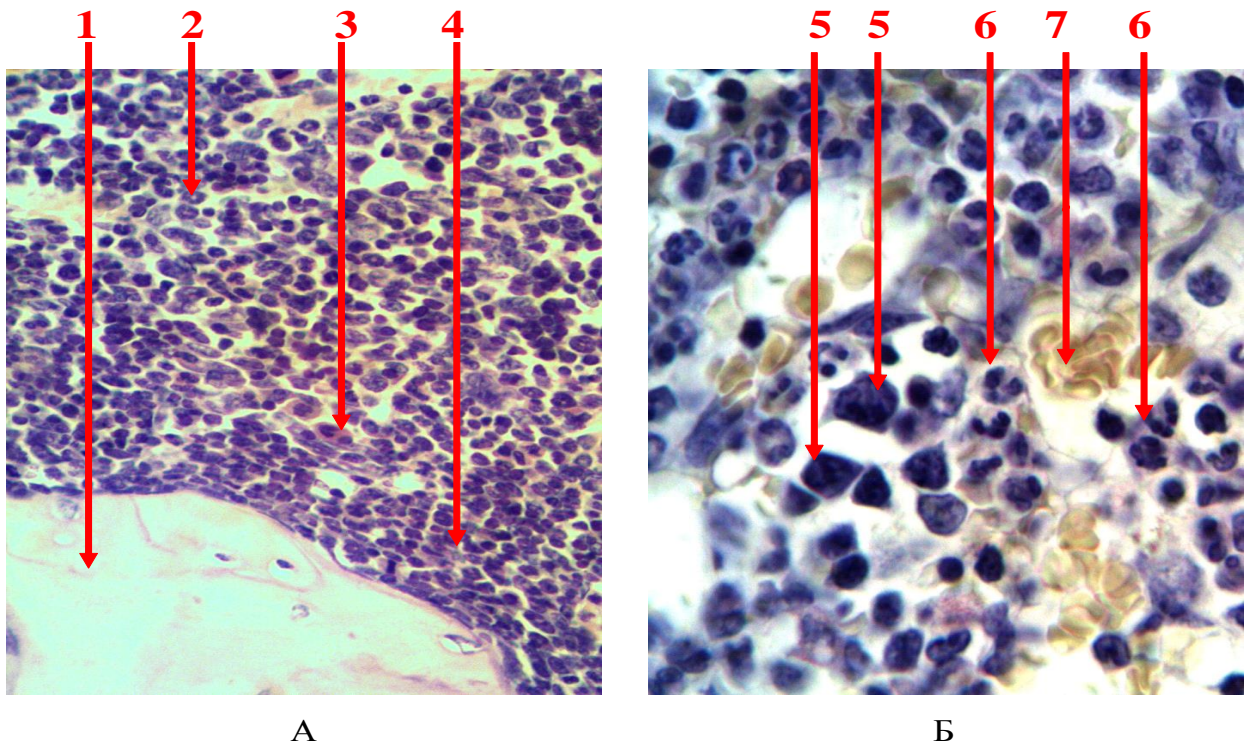


Рис. 3.5. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – кісткова тканина; 2 – кільцевидні нейтрофіли; 3 – еозинофіли; 4 – періостальний ріст попередників гранулоцитів; 5 – початкові предиктори мієлопоезу; 6 – дозріваючі форми гранулоцитів; 7 – синусоїди із зрілими еритроцитами. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Збільшення: А – $\times 400$, Б – $\times 1000$.

Так, для мієлоцитів характерні більш чіткі контури клітин, менші їх розміри ($9-14 \times 10^{-6} \text{ м}$), неоднорідна конденсація хроматину, поява чіткої зернистості. За тинкторіальними властивостями цих гранул стає можливим віддиференціювати еозинофільний, базофільний та нейтрофільний паростки гранулоцитопоезу (рис. 3.6 – А).

Для дозріваючих попередників лейкоцитів (паличкоядерні гранулоцити) характерне подальше зменшення розмірів та форми ядра (у вигляді підкови). У більшості еозинофілів, юних та паличкоядерних нейтрофілів наявне кільцевидне ядро тому, що у щурів розвиток гранулоцитів проходить за кільчастим типом. Більшість площі, зайнятої під лейкоцитопоез, представлена зрілими сегментоядерними гранулоцитами, які локалізуються ближче до центру

кістково-мозкової порожнини діафізу та центральної зони кістково-мозкових комірок епіфізу. Зернистість нейтрофільних гранулоцитів дуже дрібна, їх ядра мають 5-8 сегментів (рис. 3.6 – Б).

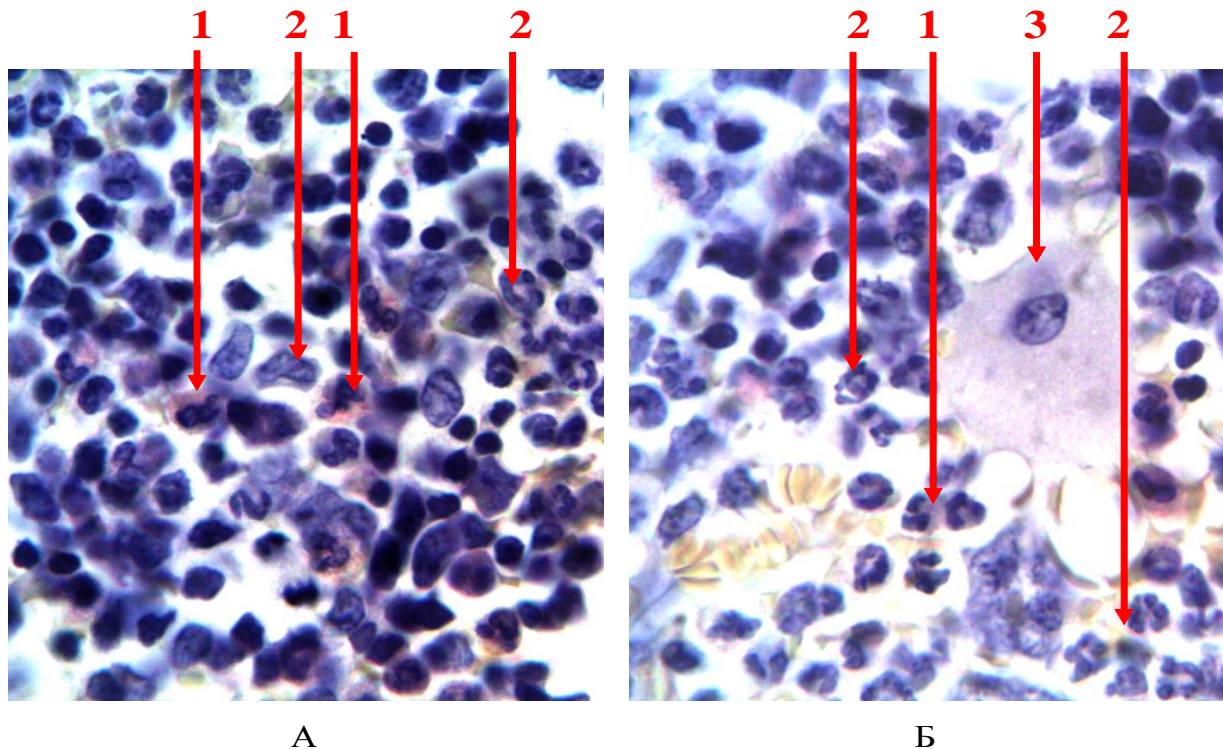


Рис. 3.6. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – попередники еозинофільних гранулоцитів; 2 – попередники нейтрофільних гранулоцитів; 3 – мегакаріоцит. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Збільшення $\times 1000$.

При використанні ІГХ дослідження з метою виявлення рецепторів МПО, які є індикатором гранулоцитарного паростка, встановлено, що предиктори гранулоцитопоезу серед гемопоетичної тканини розташовуються як розрізнено, так і у вигляді скупчень (рис. 3.7). У клітин, які знаходяться на нижчій сходинці диференціювання (мієлобласти, промієлоцити), спостерігається більш інтенсивна реакція при імуногістохімічному виявленні рецепторів до МПО (незважаючи на зростання її кількості у цитоплазмі більш диференційованих попередників гранулоцитопоезу).

Серед загальної кількості гемопоетичних клітин на рівні епіфізу стегнової кістки на долю гранулоцитарного паростка припадає 62-81 % (у середньому

70,6 ± 2,3 %), що складає 13-17 % (у середньому 14,8 ± 1,4 %) від загальної площі КМ. На рівні діафізу площа, зайнята під гранулоцитопоез, складає 46-58 % (у середньому 51,2 ± 3,3 %). Серед паренхіми цей показник становить 67-84 % (у середньому 74,2 ± 4,7 %).

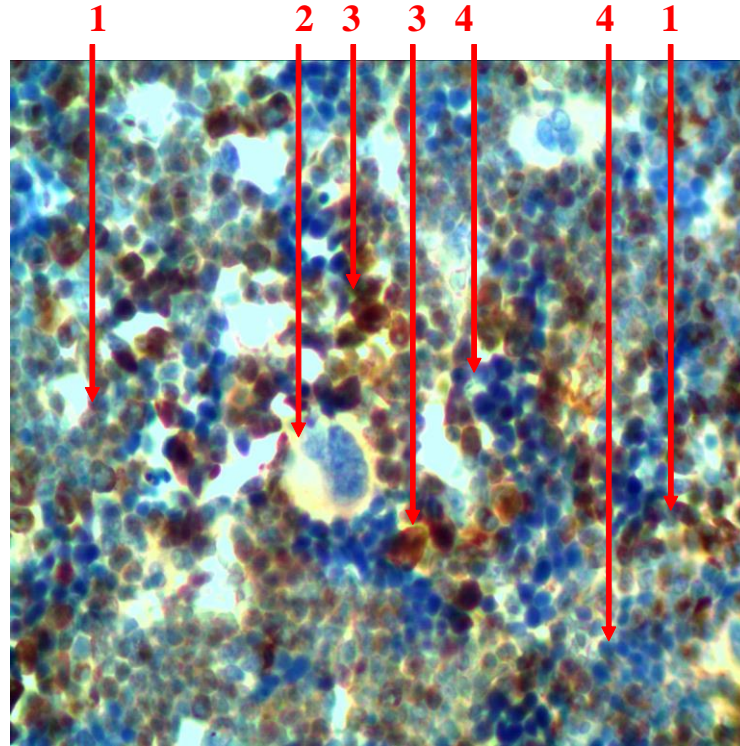


Рис. 3.7. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – зрілі предиктори гранулоцитопоезу; 2 – мегакаріоцит; 3 – незрілі предиктори гранулоцитопоезу; 4 – еритроїдний острівець. ІГХ дослідження рецепторів до МПО. Збільшення ×400.

Для процесу еритроцитопоезу притаманне, в основному, групове розташування предикторів у КМ безпосередньо біля синусоїдів, у вигляді так званих еритроїдних острівців (рис. 3.8). Ядервмісні клітини, які були рецептор-негативні (CD3, CD79 α , МПО) при ІГХ дослідженні, ми вважали за попередники еритроцитів. Вони представлені, як початковими предикторами еритроцитопоезу (еритробластами, пронормобластами, нормобластами), які важко віддиференціювати на гістологічних препаратах, так і дозріваючими (ретикулоцити) та зрілими формами (еритроцити).

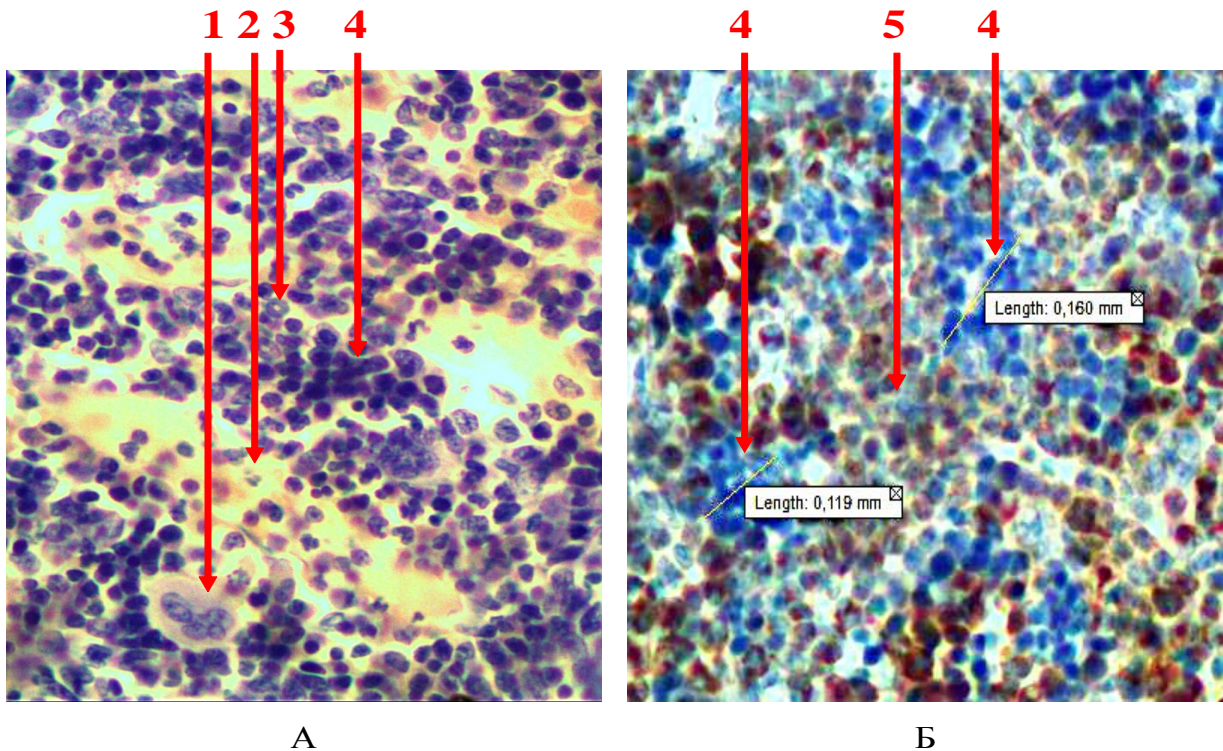


Рис. 3.8. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – мегакаріоцит; 2 – синусоїд; 3 – кільцевидний нейтрофіл; 4 – еритроїдний острівець; 5 – ділянка гранулоцитопоезу. А – забарвлення гематоксиліном та еозином; Б – ІГХ дослідження рецепторів до МПО. Збільшення $\times 400$.

Еритроїдні острівці, які мають більш центральне розташування стосовно кістково-мозкового каналу, представлені усіма представниками еритроїдного диферону, які знаходяться навколо центрально-розташованого макрофагу (рис. 3.9). Ці S100-позитивні клітини (маркер макрофагальних клітин) мають у більшості випадків нечіткі межі з поодинокими цитоплазматичними відростками (псевдоподіями), відносно великі розміри (у 4-6 разів більше еритроциту), світло-блакитну цитоплазму. Інколи в середині цих клітин помітні уламки клітинних ядер попередників еритропоезу, які виштовхують нормобласти, перетворюючись в еритроцити.

Найбільш наближено до макрофагів у складі острівців знаходяться ранні форми еритроїдного диферону (еритробласти та пронормобласти), які мають доволі значні розміри ($15-20 \times 10^{-6} \text{ м}$), велике центрально-розташоване ядро із перинуклеарним просвітленням, базофільну цитоплазму.

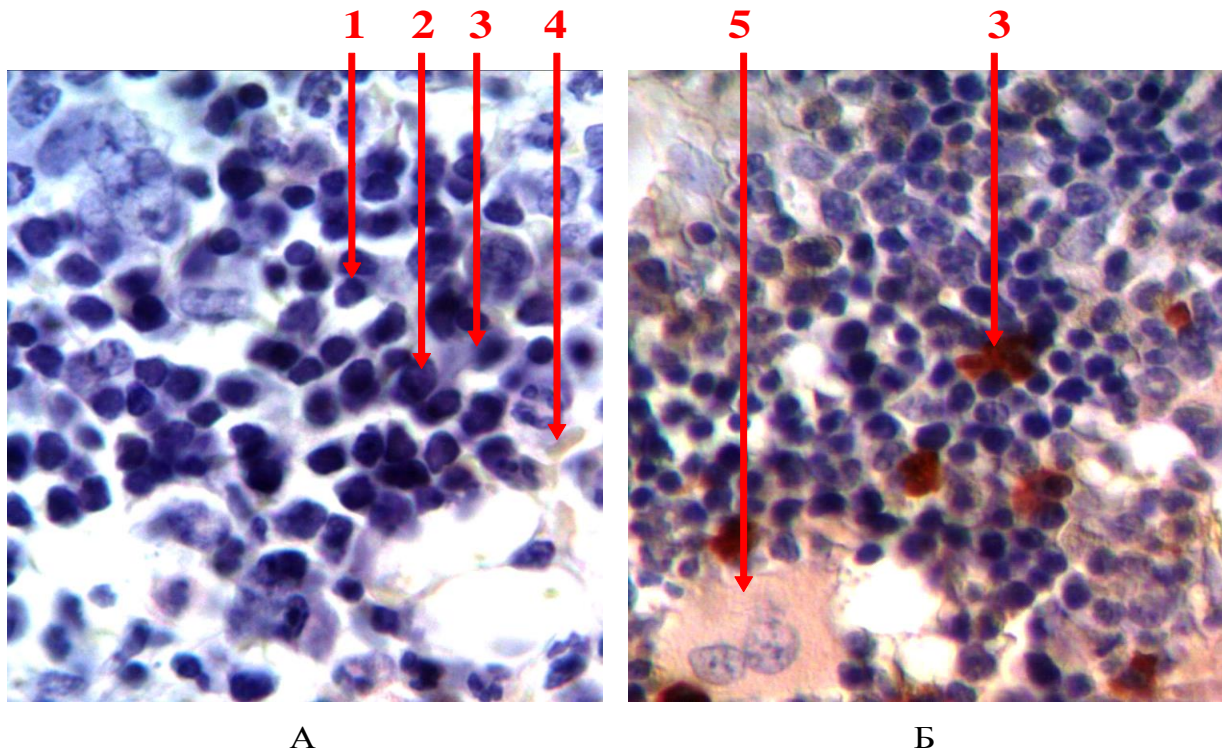


Рис. 3.9. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – пізні форми еритроїдного диферону; 2 – ранні форми еритроїдного диферону; 3 – макрофаг; 4 – зрілий еритроцит; 5 – мегакаріоцит. А – забарвлення гематоксиліном та еозином; Б – ІГХ дослідження рецепторів до S100. Збільшення $\times 1000$.

Зі зростанням диференціювання клітин (перехід у нормобласт) відбувається поступове зменшення їх розмірів, конденсація хроматину в ядрі, зміна форми ядра, перехід базofilії цитоплазми через поліхроматофілію в її оксифілію (базофільний, поліхроматофільний та оксифільний нормобласти), накопичення Нв. На завершальних стадіях диференціювання відбувається набуття клітинами подвійно-увігнутої форми та виштовхування ядра, які можуть фагоцитуватися макрофагами. Кількість клітинних попередників у складі еритроїдного острівця червоного КМ становить $30,6 \pm 2,4$. Середня площа цих утворень становить $0,014 \text{ мм}^2$ (рис. 3.8).

Серед загальної кількості гемопоетичних клітин еритропоетичний паросток на рівні епіфізу стегнової кістки складає 14-33 % (у середньому $24,4 \pm 6,3$ %) та займає 3-7 % (у середньому $5,3 \pm 1,4$ %) від загальної площі КМ.

На рівні діяфізу площа, зайнята попередниками еритроцитів, складає 11-23 % (у середньому $17,8 \pm 3,3$ %). Серед паренхіми цей показник становить 15-31 % (у середньому $24,3 \pm 4,7$ %).

Співвідношення між попередниками гранулоцитопоезу та еритроцитопоезу становить 2:1–5:1. Його коливання залежить як від відділу стегнової кістки (епіфіз чи діяфіз), так і від ділянки розташування у межах одного анатомічного відділу (центральна чи периферична ділянки кістково-мозкового каналу).

Попередники тромбоцитопоезу у КМ щурів представлені у вигляді гігантських клітин – мегакаріоцитів (рис. 3.10 – А).

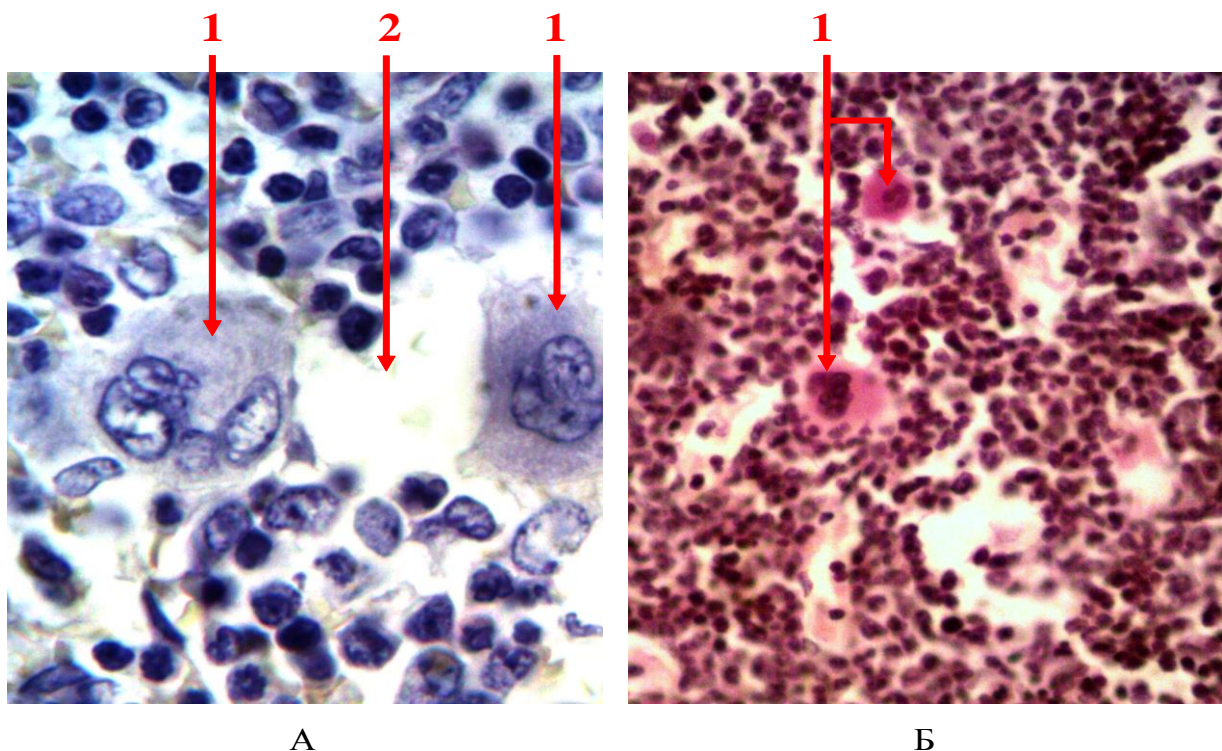


Рис. 3.10. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – мегакаріоцити з явищами клазматозу; 2 – синусоїд. А – забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 1000$.

Б – PAS-реакція, збільшення $\times 400$.

Більш ранні форми тромбоцитопоезу (мегакаріобласти та промегакаріоцити) виявити, нажаль, не вдалося за рахунок відсутності специфічних маркерів. Мегакаріоцити являють собою великі (їх розміри

коливаються у межах $70-110 \times 10^{-6} \text{ м}$) одноядерні клітини. Їх ядро складається з багатьох фрагментів різної, химерної форми (у вигляді хмарок, оленячих рогів та інші). Цитоплазма попередників тромбоцитів великих розмірів з еозинофільною зернистістю, на її периферії наявні відокремлені частини (класматоз), що є зрілими тромбоцитами. За рахунок значних розмірів на гістологічних препаратах не завжди можна помітити повністю весь мегакаріоцит, інколи бувають помітні лише окремі його частини, що створює враження еноклейованої гігантської клітини. Наявна зернистість у середині цих клітин, яка містить глікоген, дозволяє дуже легко візуалізувати їх при забарвленні гістологічних препаратів на вуглеводи (рис. 3.10 – Б). Вони мають яскраву рожеву цитоплазму, яка виокремлює ці клітини поміж інших гемопоетичних клітин (останні мають у більшості випадків прозору цитоплазму).

Мегакаріоцити нерівномірно розсіяні у мережі ретикулуму (у центральних відділах кістковомозкових комірок та біля кровоносних судин), розташовуючись серед гемопоетичних клітин поодинці або утворюючи групи (до 5 клітин) та кластери (більше 5 клітин) поблизу синусоїдів (рис. 3.11).

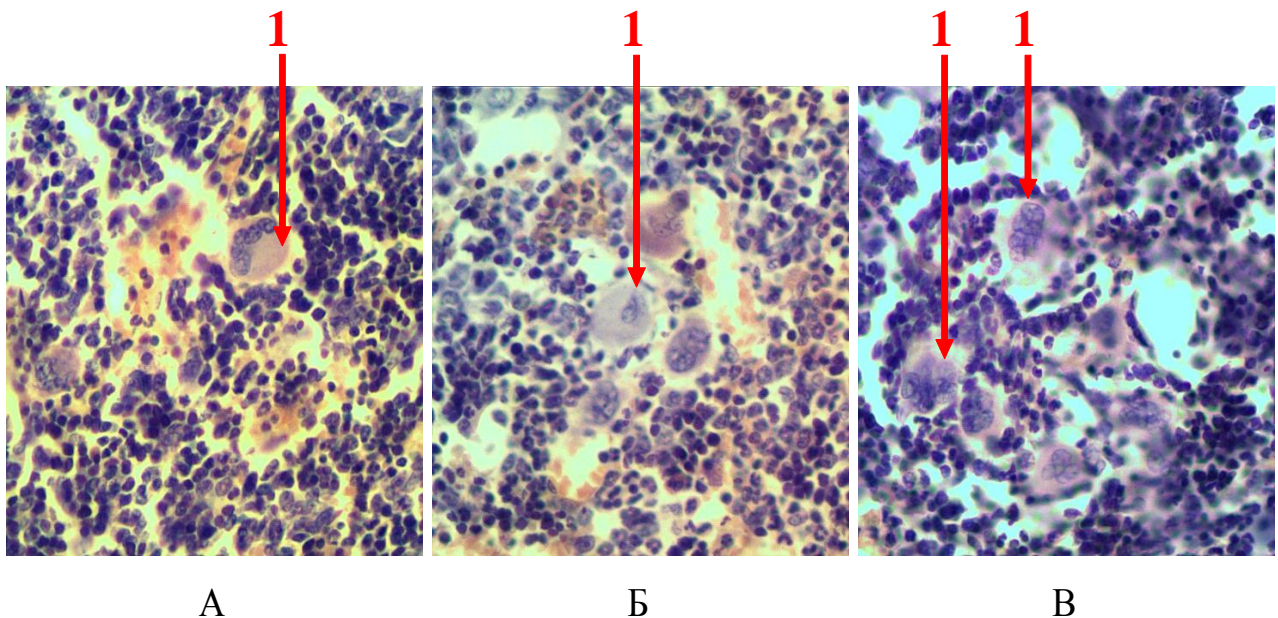


Рис. 3.11. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – мегакаріоцит. Подиноке (А), згруповане (Б) та кластерне (В) розташування мегакаріоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 400$.

Їх кількість коливається на рівні 0,1-0,3 % від загальної площі гемопоетичних клітин.

З метою виявлення попередників лімфопоезу нами проведено ІГХ дослідження з визначенням рецепторів до CD3 (маркер попередників Т-лімфоцитів) та до CD79 α (маркер попередників В-лімфоцитів), у зв'язку з відсутністю можливості ідентифікувати їх при гістологічному дослідженні (рис. 3.12). Серед лімфоїдних клітин зустрічаються як клітини-попередники, так і зрілі клітини.

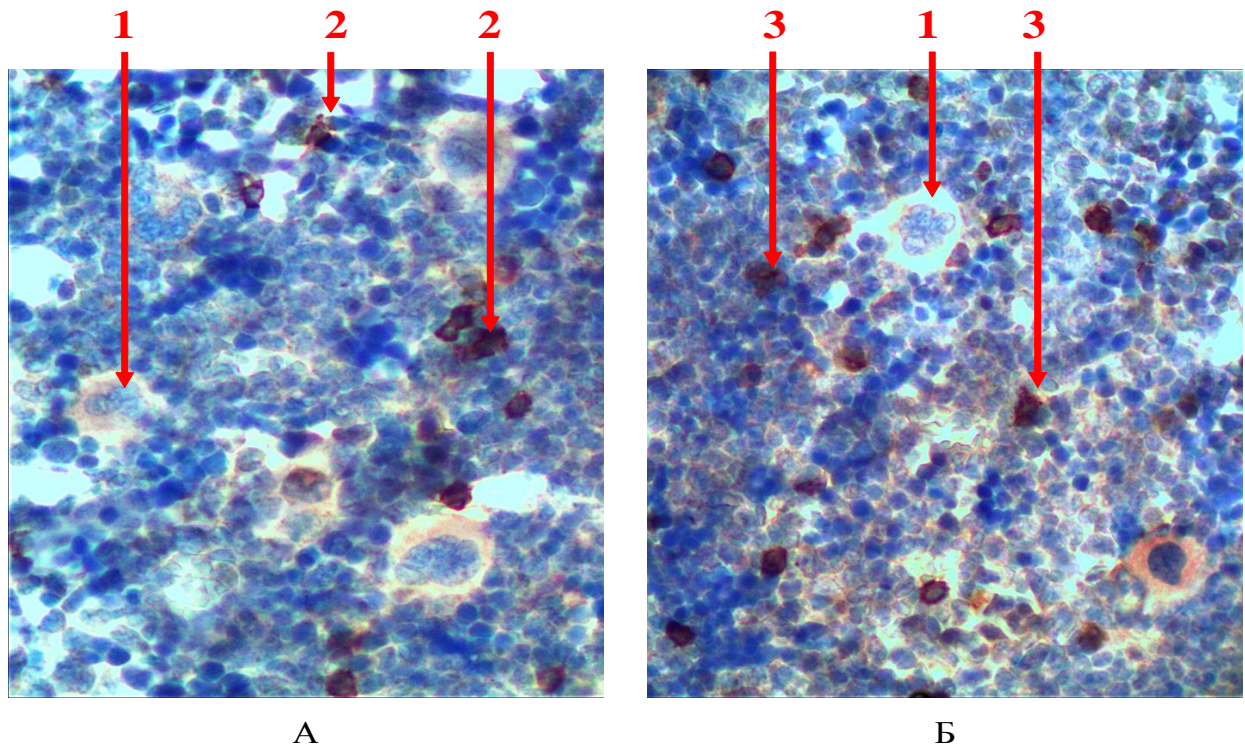


Рис. 3.12. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – мегакаріоцит; 2 – Т-лімфоцити; 3 – В-лімфоцити.

А – ІГХ дослідження рецепторів CD3, Б – ІГХ дослідження рецепторів CD79 α .

Збільшення $\times 400$.

Серед клітинних попередників (лімфобласти, пролімфоцити) частіше зустрічається паросток В-лімфоцитів, серед зрілих клітин – Т-лімфоцити. Вони розташовані серед гемопоетичної тканини розрізнено та у вигляді невеликих скупчень (фолікулів). Зі зростанням диференціювання клітин відбувається поступове зменшення розмірів клітин, конденсація хроматину, зменшення

кількості цитоплазми, яка оточує ядро у зрілих формах клітин у вигляді тонкого обідка. У випадку виявлення зрілих форм В-лімфоцитів зустрічаються поодинокі плазмоцити, що представлені доволі великими клітинами зі значним вмістом цитоплазми та колесоподібною структурою хроматину у ядрі, яке розташоване ексцентрично. Загальна кількість лімфоцитів не перевищує 5% серед всіх форм гемопоетичних клітин у червоному КМ стегнової кістки щурів.

Узагальнюючи вищезазначене, можна стверджувати, що на частку еритропоезу на рівні епіфізів стегнової кістки у статевозрілих щурів доводиться $5,25 \pm 1,42$ %, гранулоцитопоезу – $14,45 \pm 1,42$ %, лімфопоезу $1 \pm 0,13$ % від загальної площі КМ. На рівні діафізу ці показники наступні: еритропоез займає $17,83 \pm 3,27$ %, гранулоцитопоез – $51,17 \pm 3,27$ %, лімфопоез $1 \pm 0,15$ % (Додаток 2, табл. 2).

За допомогою використання ІГХ дослідження з виявленням рецепторів до S100 ми встановили, що серед гемопоетичної тканини присутні поодинокі розкидані макрофагальні клітини. Вони наявні як серед вогнищ еритроцитопоезу (у складі еритроїдних острівців), так і серед ділянок гранулоцитопоезу. У S100-позитивних клітинах виявлено різну форму та розміри. Часто макрофаги утворювали відростки, які огортали різні види клітин гемопоезу (рис. 3.13). Вони характеризувалися різним ступенем яскравості експресії білку S100, що залежить від виконуваних ними функцій у кожному конкретному випадку (фагоцитоз, презентування антигенів та інші).

Отже, аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що КМ статевозрілих щурів характеризується чітким розподілом стромально-паренхіматозного компоненту як у епіфізарній, так і діафізарній частині стегнової кістки. Більш того, виявлений чіткий топографічний взаємозв'язок між їх розташуванням. Виражена мережа кровоносних судин з тонкими стінками та щільне розташування всіх попередників кровотворення біля них у гемопоетичній тканині надає можливість легкому потраплянню речовин з кровоносного русла. Це може призводити до його морфологічних порушень при підвищеній кількості шкідливих речовин у крові.

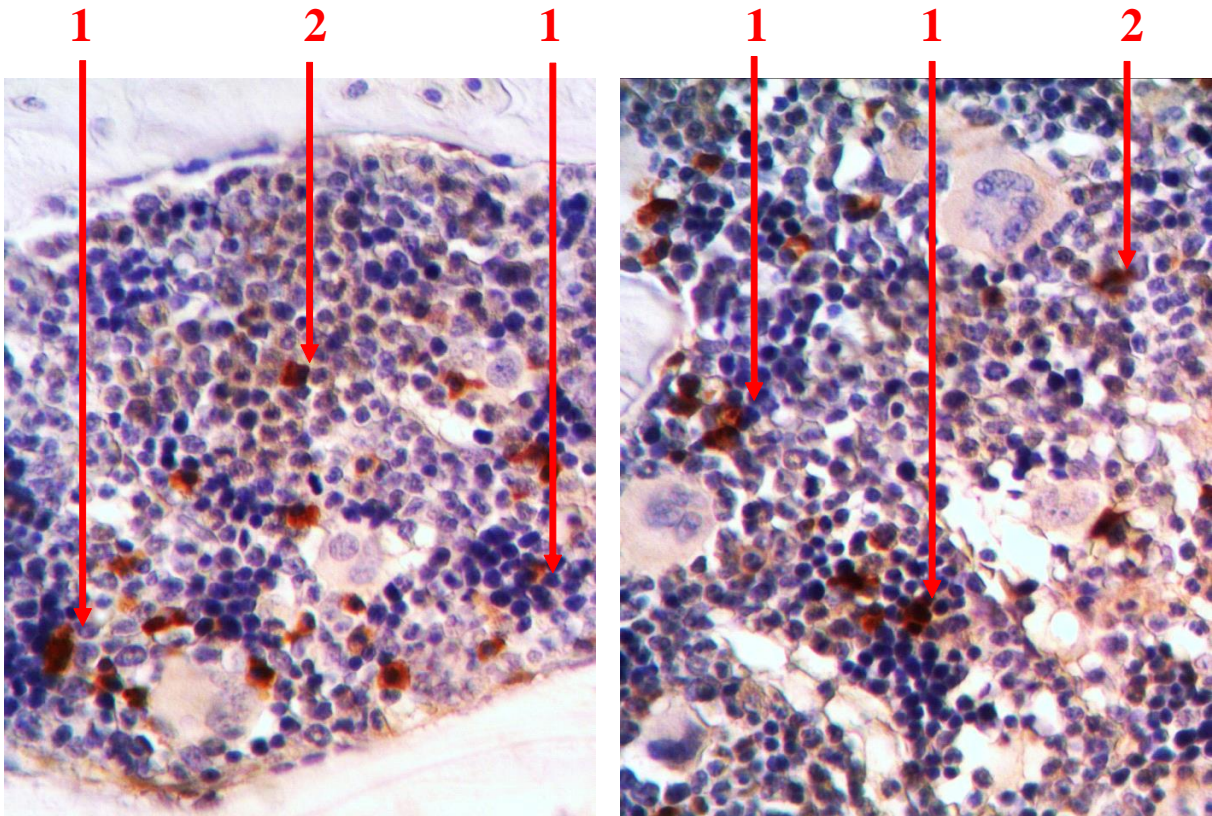


Рис. 3.13. Поздовжній зріз стегнової кістки щура.

1 – S100-позитивні клітини у складі еритробластичного острівця; 2 – S100-позитивні клітини у ділянках гранулоцитопоезу. ІГХ дослідження рецепторів S100. Збільшення $\times 400$.

3.2. Морфологічні особливості кісткового мозку щурів за умов мікроелементозу та відновлення.

3.2.1. Зміни у кістковому мозку за умов споживання солей важких металів у надлишкових концентраціях.

При вивченні морфологічних особливостей будови КМ піддослідних тварин встановлено, що у ході експерименту він, як на рівні епіфізів, так і діяфізу, зазнає кількісних та якісних змін. Відбувається поступове зменшення кількості клітин еритроцито- та лейкоцитопоезу з одночасним зростанням кількості мегакаріоцитів (Додаток 2, табл. 3).

Так, при вживанні СВМ у надфізіологічних концентраціях упродовж 30 діб (щури другої серії першої групи) у тварин на рівні епіфізів площа, зайнята під еритроцитопоез, зменшилася на 27 % ($p = 0,019$) і становила $3,83 \pm 0,75$ %

від загальної площі КМ, площа лейкоцитопоезу зросла на 4% ($p=0,22$) і складала $15,33 \pm 1,63$ %, тромбоцитопоез зріс на 5,2 % ($p = 0,77$) і дорівнював $0,17 \pm 0,05$ % (рис. 3.14).

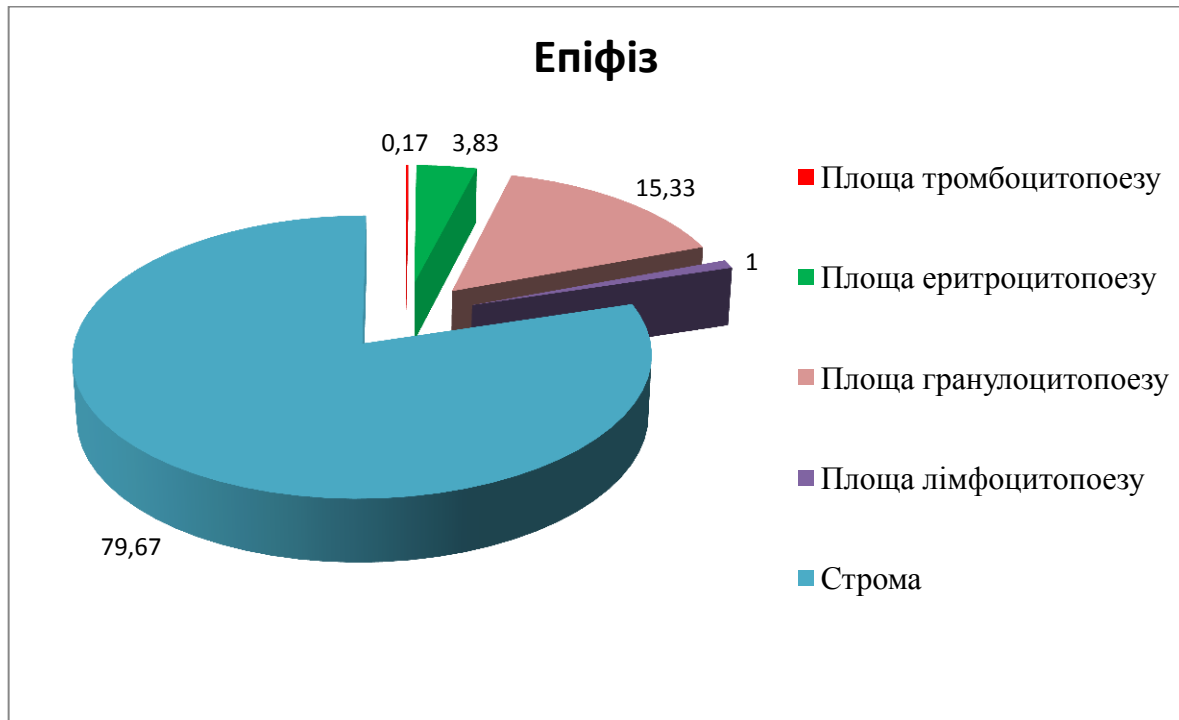


Рис. 3.14. Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні епіфізів у щурів, що упродовж 30 днів вживали СВМ.

На рівні діяфізу динаміка змін у КМ мала подібні закономірності (рис. 3.15). Площа еритроцитопоезу зменшилася на 15,9 % ($p = 0,029$), у середньому склавши $15 \pm 1,1$ %, спостерігалось незначне зростання площі лейкоцитопоезу (на 3,6 %) та зростання тромбоцитопоезу (5,2 %), хоча ці показники були статистично недостовірними ($p > 0,05$).

Значних відхилень М:Е співвідношення на рівні епіфізів (4:1) та діяфізу (3,5:1) не виявлено, за рахунок синхронності змін у гемопоетичній тканині для усіх його попередників.

Коливання з боку кількості предикторів та зрілих форм лімфоцитів уздовж усього кістково-мозкового каналу не виявлено ($p > 0,05$), що становило у середньому 1 % від загальної його площі.

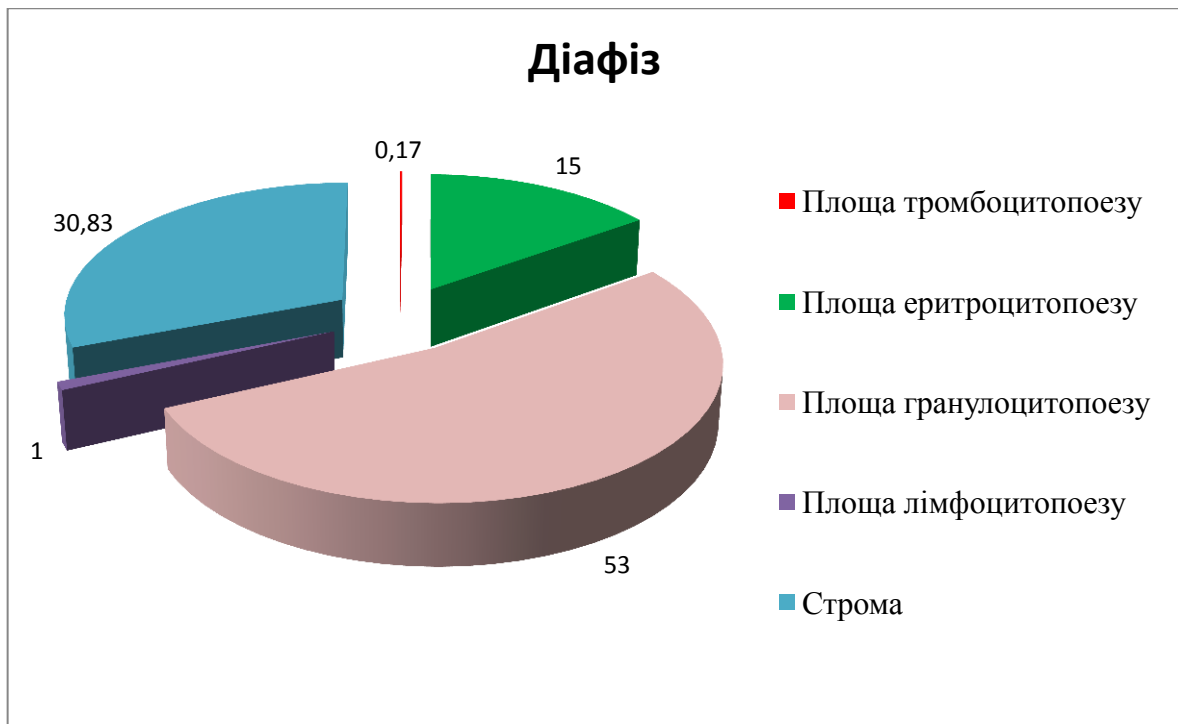


Рис. 3.15. Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні діафізу у щурів, що упродовж 30 діб вживали СВМ.

Ділянки, звільнені від гемопоетичної тканини упродовж експерименту, заміщувалася жировою тканиною та переповненими кров'ю синусоїдами.

У КМ щурів на 30 добу за умови інтоксикації виявлено виражені якісні зміни. На окремих ділянках спостерігалися явища загибелі (апоптоз, некроз) гемопоетичної тканини (у вигляді каріопікнозу та каріорексису ядер у кровотворних клітин) з наступним посиленням макрофагальної інфільтрації (рис. 3.16 – А). Вогнищево як серед кістково-мозкових комірок епіфізів, так і у складі гемопоетичної тканини діафізу, зустрічалися ділянки, позбавлені клітинних елементів мієлоїдної тканини та ліпоцитів, у вигляді блідо-рожевої ніжно-зернистої гомогенної субстанції (рис. 3.16 – Б). Ці ділянки желатинозної трансформації КМ (ослизнення, міксоматоз) інколи вміщували поодинокі розкидані гемопоетичні клітини.

За умови підгострого експерименту з'являлися значні осередки з крововиливами (відсутнє судинне оточення навколо скупчення еритроцитів), ектазованими судинами (еритроцити, оточені судинною стінкою),

простежувалося зростання кількості лейкоцитів (явища мастоцитозу), виникали явища інтерстиційного (позаклітинного) набряку, що на відміну від міксоматозу, характеризувалося появою ділянок просочування тканинною рідиною проміжків навколо жирових клітин. З боку кісткової тканини значних змін не виявлено – зберігалася трабекулярна будова КМ на рівні епіфізів.

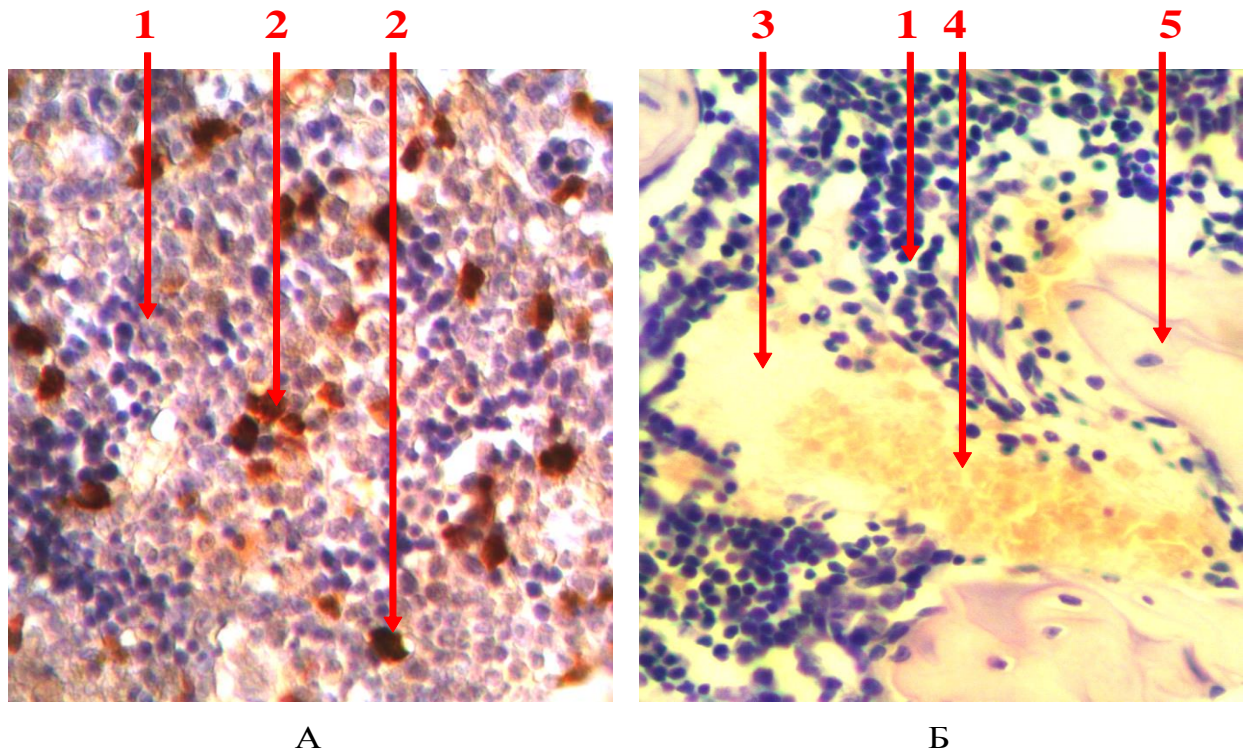


Рис. 3.16. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ої серії 1-ої групи. 1 – гемопоетична тканини; 2 – макрофаги (гістіоцити); 3 – ділянка міксоматозу; 4 – крововилив; 5 – кісткові трабекули. А – імуногістохімічне дослідження рецепторів S100. Б – забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 400$.

При хронічній інтоксикації СВМ (90 діб експерименту) у щурів спостерігалось подальше наростання кількісних та якісних змін, хоча інтенсивність їх була менш вираженою, у порівнянні з першими тижнями впливу екзогенними поллютантами. Так, площа еритроцитопоезу, у порівнянні з показниками контрольної групи тварин, знизилася на 36,6 % на рівні епіфізів (у середньому складала $3,33 \pm 0,52$ %, $p = 0,003$) та на 19,7 % на рівні діафізу ($14,33 \pm 1,63$ %, $p = 0,013$); площа гранулоцитопоезу знизилась на 13 % та 14,3 % відповідно ($12,8 \pm 0,98$ %, $p = 0,005$ та $43,8 \pm 1,94$ %, $p < 0,001$

відповідно), тромбоцитопоез зріс на 40 % ($p = 0,0015$) і займав $0,25 \pm 0,05$ % від загальної площі КМ (табл. 3.1). Варіабельності з боку лімфопоезу упродовж дослідження виявлено не було.

Таблиця 3.1

Показники площі (%) гемопоезу у щурів, які упродовж 90 діб вживали СВМ у надлишкових концентраціях

	Еритроцитопоез	Гранулоцитопоез	Тромбоцитопоез
Епіфіз	3,33**	13**	0,25**
Діафіз	14,33*	43,83**	0,25**

* – значення ступеню вірогідності (p) між двома незалежними вибірками згідно t -критерію Стьюдента * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Якісні зміни продовжували наростати і досягали свого максимуму саме на 90 добу дослідження (рис. 3.17). Поряд з вищезазначеними на 30 добу дослідження морфологічними змінами, які у міру пролонгації експерименту мали тенденцію до наростання (міксоматоз, загибель клітин, крововиливи, ектазія судин та інші), додатково з'являлися вогнища ліпоматозу, з'являлися предиктори всіх паростків крові з явищами початкової дисплазії (зміна тинкторіальних властивостей ядра та цитоплазми, явища клітинно-ядерного поліморфізму, підвищена сегментація ядер і т.д.). Поступово виникали зміни з боку кісткової тканини (ділянки пазушної резорбції, явища пограничної базофілії, зменшення вираженості ліній склеювання (зменшення їх базофілії), «роздиференціювання» остеонів, дистрофічні зміни остеоцитів у вигляді нечітких контурів та пікнотичних гіперхромних ядер).

Так, через 3 місяці експерименту виникали значні зміни серед попередників еритропоезу. Порушувався острівцевий тип розміщення його предикторів – вони розташовувалися як у вигляді розмитих скупчень клітин, так і поодинокі серед ділянок міксоматозу та набряку. Поступово

зменшувалися розміри збережених острівців та кількість клітин у їх складі (площа сягала у середньому $0,009 \text{ мм}^2$, кількість клітин – $18,9 \pm 1,7$).

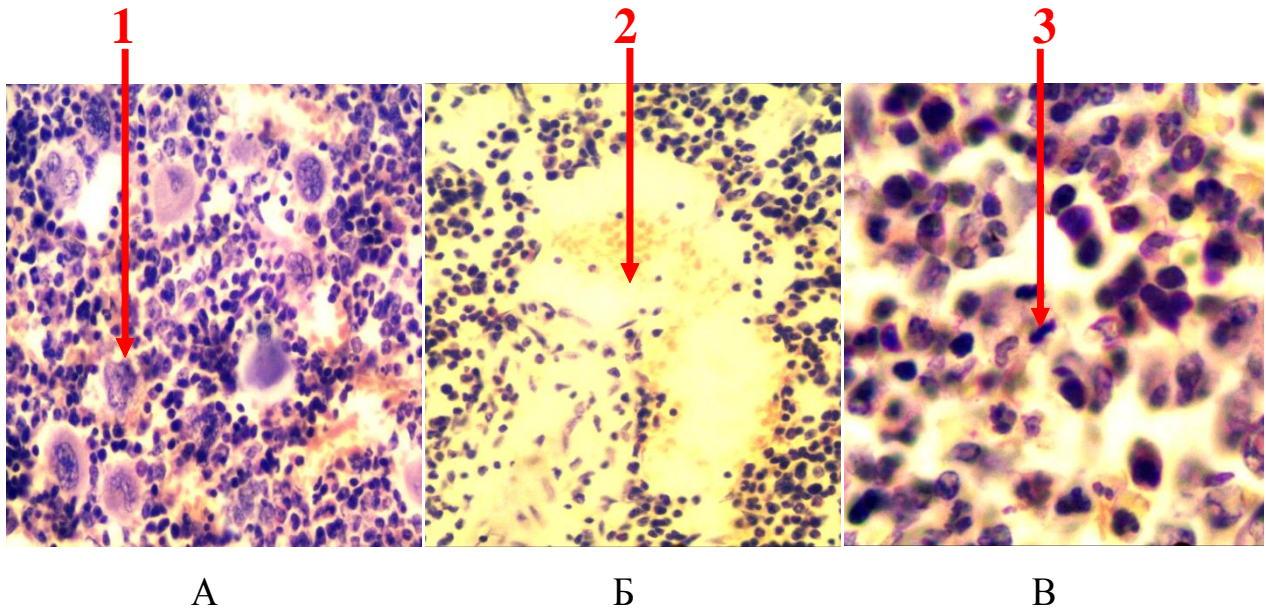


Рис. 3.17. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ої серії 1-ої групи.

А – скупчення мегакаріоцитів; Б – ектазія синусоїди; В – клітина в стадії апоптозу. 1 – мегакаріоцити; 2 – синусоїд; 3 – каріопікноз ядра.

Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 400$.

Серед них виникали поодинокі попередники еритроцитопоезу з явищами дисеритропоезу: ознаки каріорексису, неправильна форма ядер, міжядерні містки та інші (рис. 3.18). Більш виражені якісні та кількісні зміни спостерігалися у ділянці епіфізів з поширенням у бік діафізу.

При дослідженні змін гранулоцитарного паростку гемопоезу виявлено атипове розташування незрілих клітин (мієлобласти та промієлоцити) у центральній частині кістково-мозкових комірок епіфізів та поміж інших паростків кровотворення діафізу (у нормі вони розташовані паратрабекулярно та навколо синусоїдів). Таке атипове розташування мієлоїдних клітин-попередників може бути характерною ознакою початкового дисгранулоцитопоезу. Поряд з цим, серед предикторів виявлено ознаки порушення будови клітин: дисгранулярність цитоплазми, порушення сегментування ядер (гіперсегментованість), поліморфізм клітин (рис. 3.19).

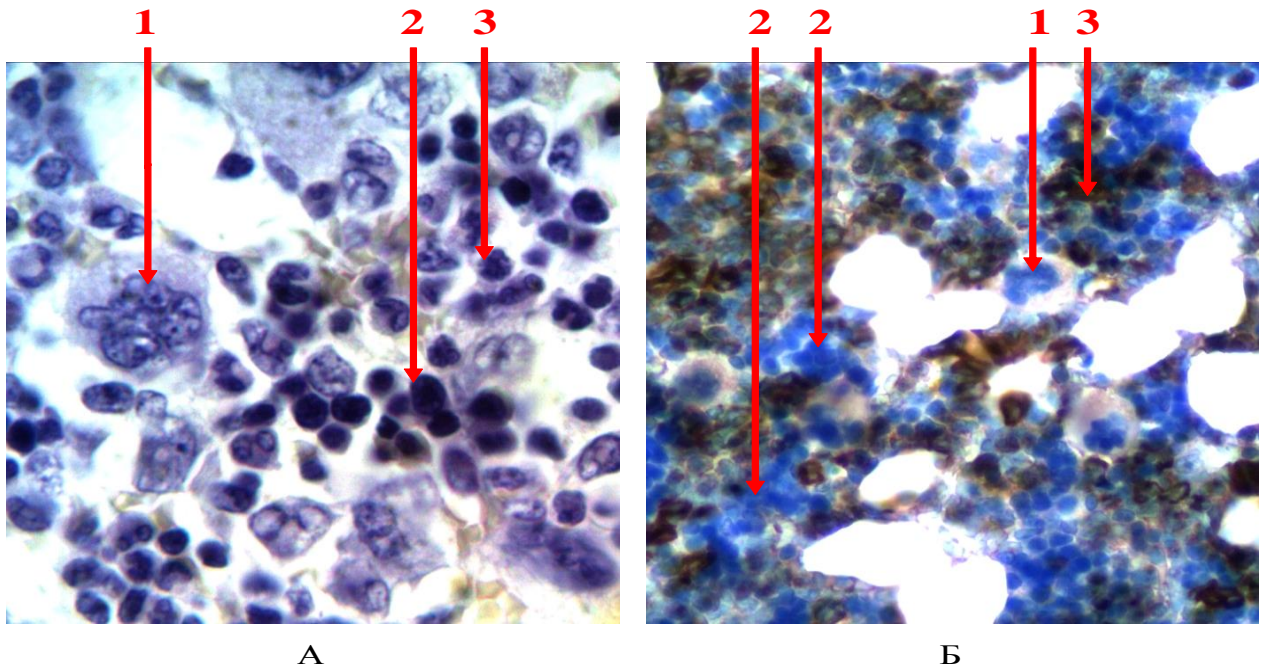


Рис. 3.18. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ої серії 1-ої групи.
 1 – мегакаріоцит; 2 – еритроїдні острівці; 3 – вогнища гранулоцитопоезу.
 А – забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 1000$. Б – ІГХ
 дослідження рецепторів до МПО, збільшення $\times 400$.

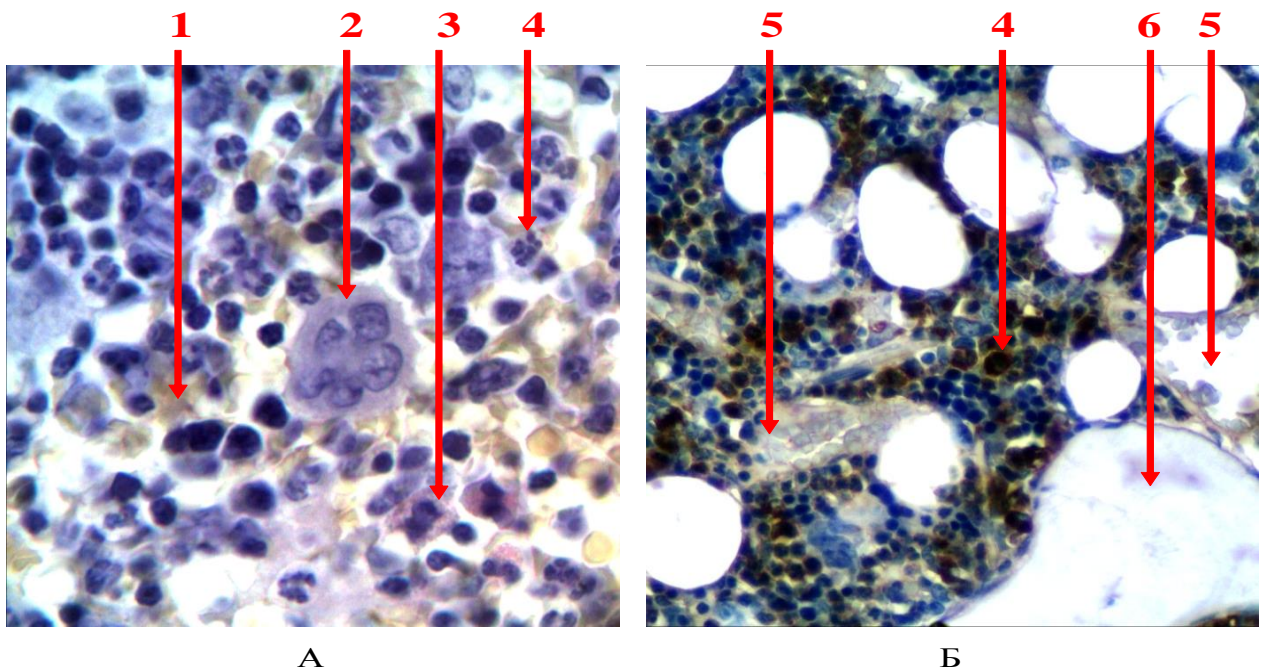


Рис. 3.19. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ої серії 1-ої групи.
 1 – зрілі еритроцити; 2 – мегакаріоцит; 3 – еозинофільний гранулоцит; 4 –
 нейтрофільний гранулоцит; 5 – синусоїд; 6 – кісткова трабекула. А –
 забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 1000$. Б – ІГХ
 дослідження рецепторів до МПО, збільшення $\times 400$.

В окремих випадках у КМ щурів на 90 добу експерименту виявлялися явища еозинофілії – різке зростання попередників та зрілих форм еозинофілів.

У зв'язку з синхронними змінами (зниженням) як площі еритроцитопоезу, так і гранулоцитопоезу, відхилень значень М:Е співвідношення у КМ щурів після 90 діб дії СВМ не спостерігалось і дорівнювало 2,7-3,6:1 на рівні діафізу та 3,5-4,6:1 на рівні епіфізів.

Вплив СВМ проявлявся і на якісних характеристиках мегакаріоцитів. Доволі часто спостерігалось скупчення попередників тромбоцитів у вигляді кластерів (рис. 3.17-А), іноді вони знаходились за умови відсутності контакту з синусоидами. Більш яскраво проявлялися значні відхилення у формі та розмірах, як самих клітин, так і їх ядер (дисмегакаріоцитопоез): серед гемопоетичної тканини можна помітити, як «карликові», так і гігантські мегакаріоцити, зі значною кількістю цитоплазми (по відношенню до ядра) та з майже повною її відсутністю, їх ядра мали різноманітні форми, з формуванням клубків, численних відростків, полісегментування, гіперхроматозу (рис. 3.18 – А, 3.19 – А, 3.20). Інколи вони були подібні на багатоядерні клітини за рахунок наявності дуже тонких з'єднань між сегментами їх ядер.

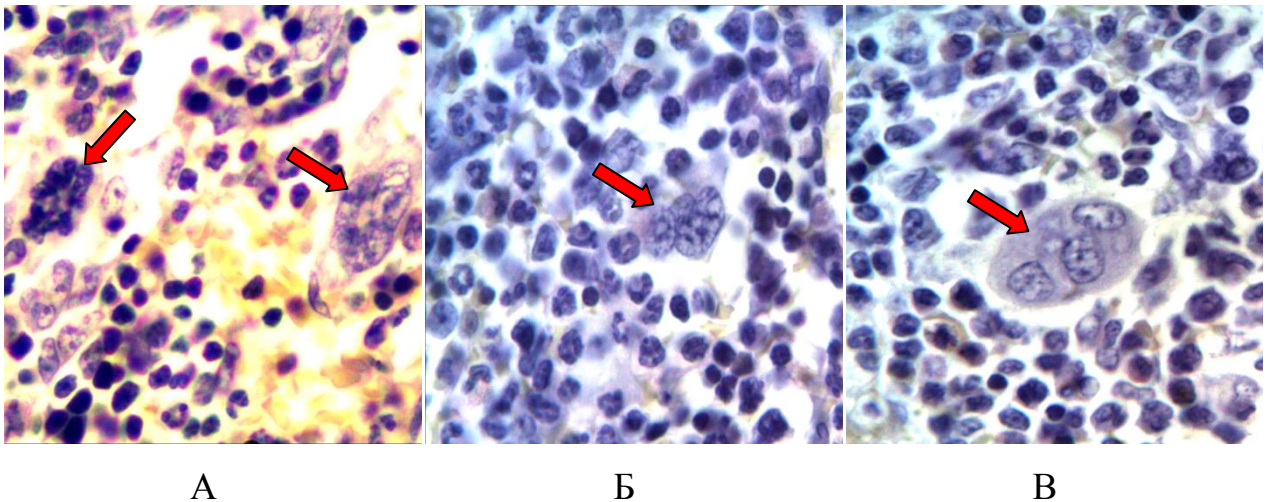


Рис. 3.20. Повздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ої серії 1-ої групи.

А – явища дисмегакаріоцитопоезу (гіперхроматоз); Б – мегакаріоцити зі спустошеною цитоплазмою; В – мегакаріоцити у вигляді багатоядерних клітин.

Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 400$.

Оцінюючи загальну площу гемопоезу, встановлено, що через три місяці експериментального дослідження вона зменшилася на 17,7 % ($p < 0,05$) на рівні епіфізів та на 15,3 % ($p < 0,05$) діафізів та становила відповідно $17,42 \pm 1,16$ % та $59,42 \pm 2,63$ % від загальної площі КМ.

Як і у випадку з щурами підгострого терміну експерименту, площа, звільнена від гемопоетичної тканини, заміщувалась розширеними судинами, жировою тканиною та ділянками міксоматозу (рис. 3.21). Вогнищево спостерігалось розростання фіброзної тканини різного ступеня зрілості.

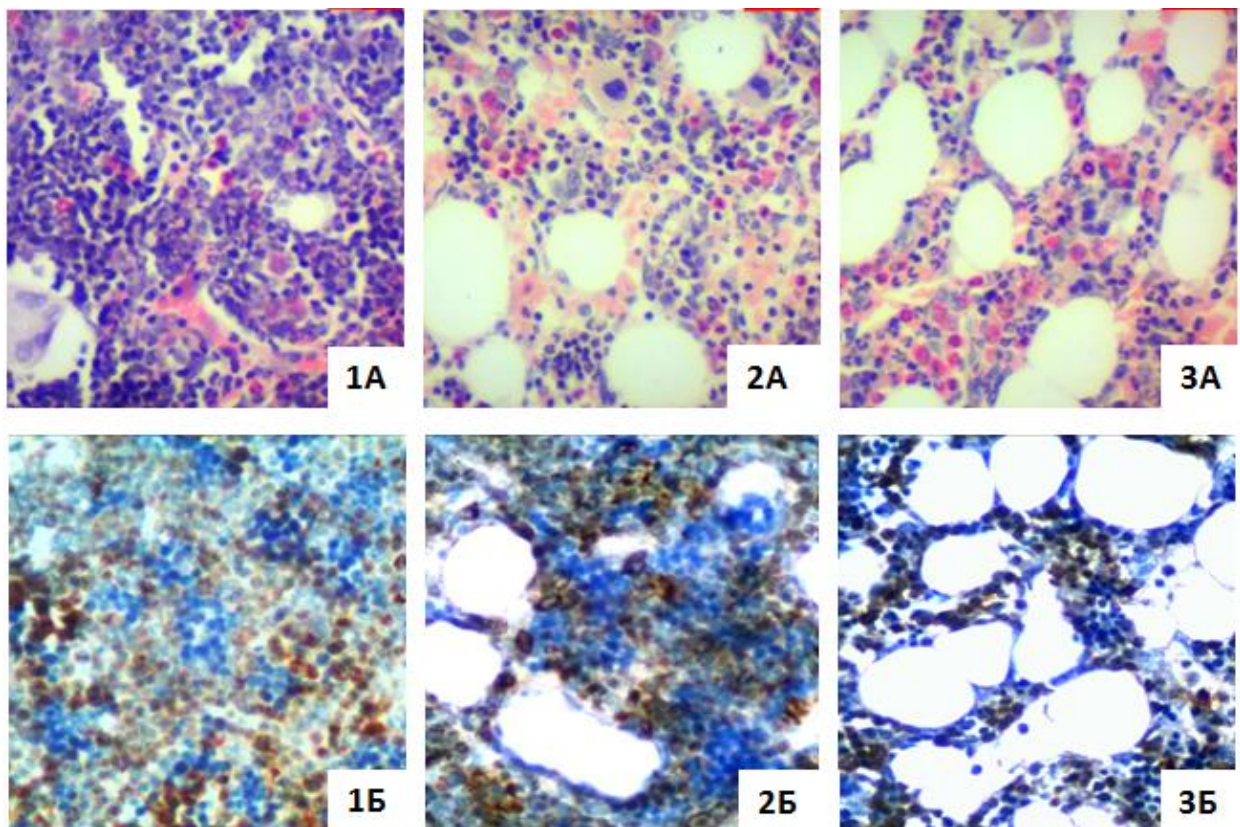


Рис. 3.21. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ої серії 1-ої групи.

1 – контрольна група щурів; 2 – щури на 30 добу споживання СВМ; 3 – щури на 90 добу споживання СВМ. А – забарвлення гематоксиліном та еозином. Б – ІГХ дослідження рецепторів до МПО. Збільшення $\times 400$.

Отже, у процесі підвищеного надходження СВМ до організму щурів упродовж 3 місяців поступово розвивається пригнічення процесу еритроцито- та гранулоцитопоезу у КМ, при одночасному зростанні кількості

мегакаріоцитів та інтактності лімфоцитопоезу. Зазначені зміни мають стрімкий розвиток у перший місяць дослідження з поступовим сповільненням динаміки до 90 доби дослідження. Спустошеність КМ більш яскраво виражена у ділянці епіфізів та найбільше спостерігається серед попередників еритроцитопоезу. Усі кількісні зміни супроводжувалися якісними змінами гемопоетичної тканини та строми.

3.2.2. Зміни у кістковому мозку за умов споживання солей важких металів та корекції змін вітаміном Е.

Досліджуючи протективні властивості вітаміну Е, нами встановлено, що упродовж експерименту із вживанням СВМ на фоні корекції порушень вітамінінотерапією спостерігалася подібна динаміка змін у гемопоетичній тканині – зменшувалася площа еритроцитопоезу, а після незначного зростання відбувалася супресія лейкоцитопоезу та зростання попередників тромбоцитів (Додаток 2, табл. 4).

При оцінюванні ділянок, зайнятих під різні паростки кровотворення (рис. 3.22,3.23), виявлено, що на 30 добу площа еритроцитопоезу знизилася на 14,8 % (складала $4,5 \pm 1,2$ %) на рівні епіфізів та на 10,3 % (складала $16 \pm 1,8$ %) на рівні діафізів.

Коливання з боку лейкоцитарного паростку були зовсім не суттєвими – як на рівні епіфізів так і на рівні діафізів. Зростання площі, зайнятої під гранулоцитопоез майже не відбувалося (збільшилась на 1,7 % та 1 % відповідно). Тромбоцитопоез зріс на 5 %. Слід зазначити, що всі порушення у кількісній структурі кровотворення були статистично не достовірними ($p > 0,05$), але вже на цьому етапі демонстрували спрямованість змін, які у міру пролонгації експерименту мали тенденцію до наростання.

Ділянки, звільнені від кровотворення, заповнювалися переповненими кров'ю синусоїдами, набряковою рідиною на гіпертрофованими ліпоцитами.

Через 3 місяці споживання СВМ у надлишкових концентраціях разом з вітаміном Е відбувалося наростання змін з боку еритроцитопоезу та

тромбоцитопоезу, показники гранулоцитопоезу, після незначного зростання впродовж першого місяця, зазнавали різкого зниження (табл. 3.2).

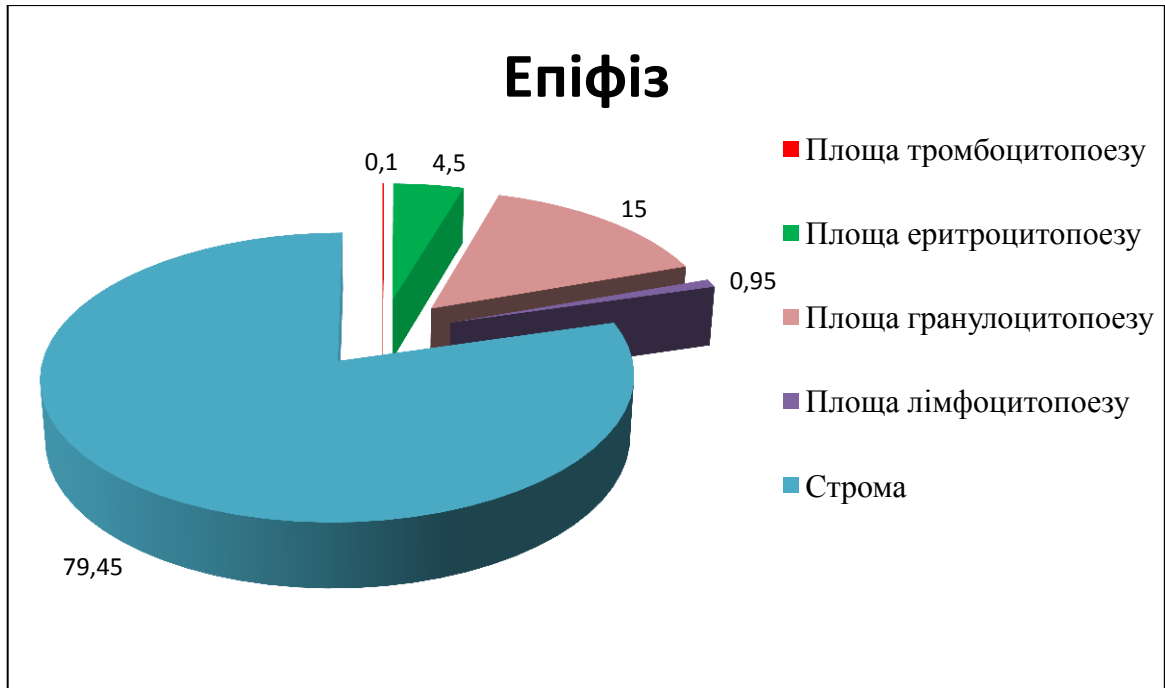


Рис. 3.22. Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні епіфізів у щурів, що впродовж 30 діб вживали СВМ та вітамін Е.

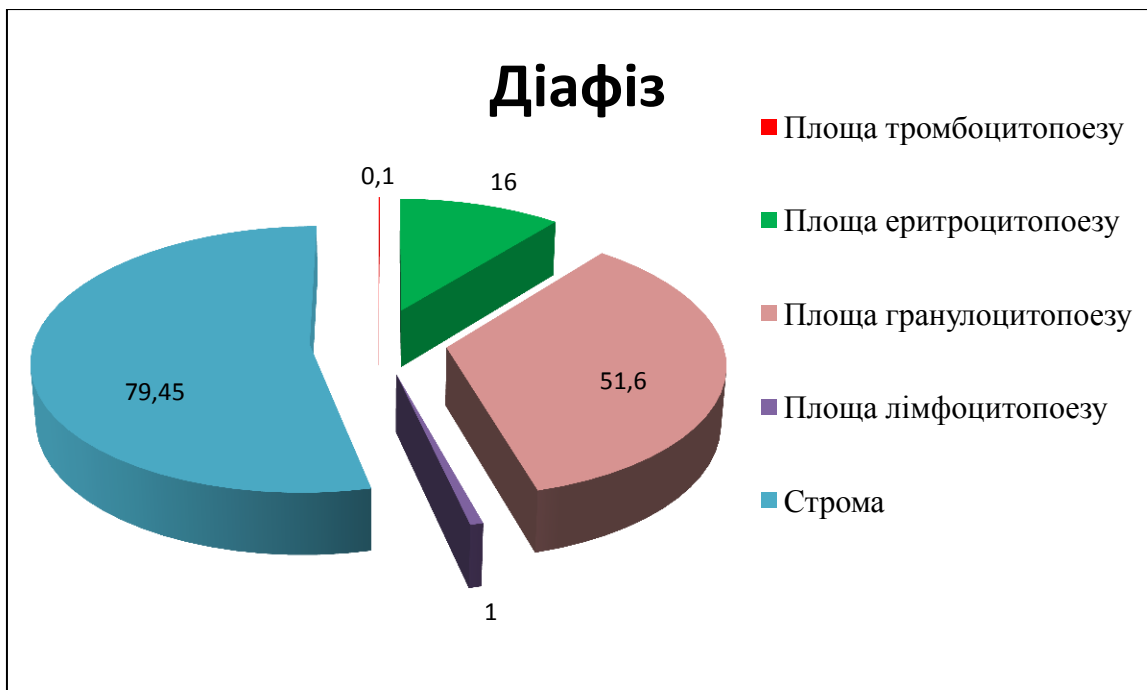


Рис. 3.23. Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні діафізів у щурів, що впродовж 30 діб вживали СВМ та вітамін Е.

Показники площі (%) гемопоезу у щурів, які впродовж 90 діб вживали СВМ у надлишкових концентраціях разом з вітаміном Е

	Еритроцитопоез	Гранулоцитопоез	Тромбоцитопоез
Епіфіз	3,67**	13,66*	0,22*
Діафіз	14,67*	44,16**	0,22*

* – значення ступеню вірогідності (p) між двома незалежними вибірками згідно t -критерію Стьюдента * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Так, площа, зайнята під еритроцитопоез, зменшилася на 30 % ($p = 0,095$) на рівні епіфізів та на 17,8 % ($p = 0,019$) на рівні діафізів, площа лейкоцитопоезу зменшилася на 6,1 % ($p = 0,047$) та 13,7 % ($p < 0,001$) відповідно. Кількість мегакаріоцитів зросла на 25 % ($p = 0,035$).

На відміну від тварин другої серії першої групи, у щурів, яким проводили корекцію змін вітаміном Е (третья серія першої групи), якісні порушення у КМ були виражені у меншій мірі (рис. 3.24).

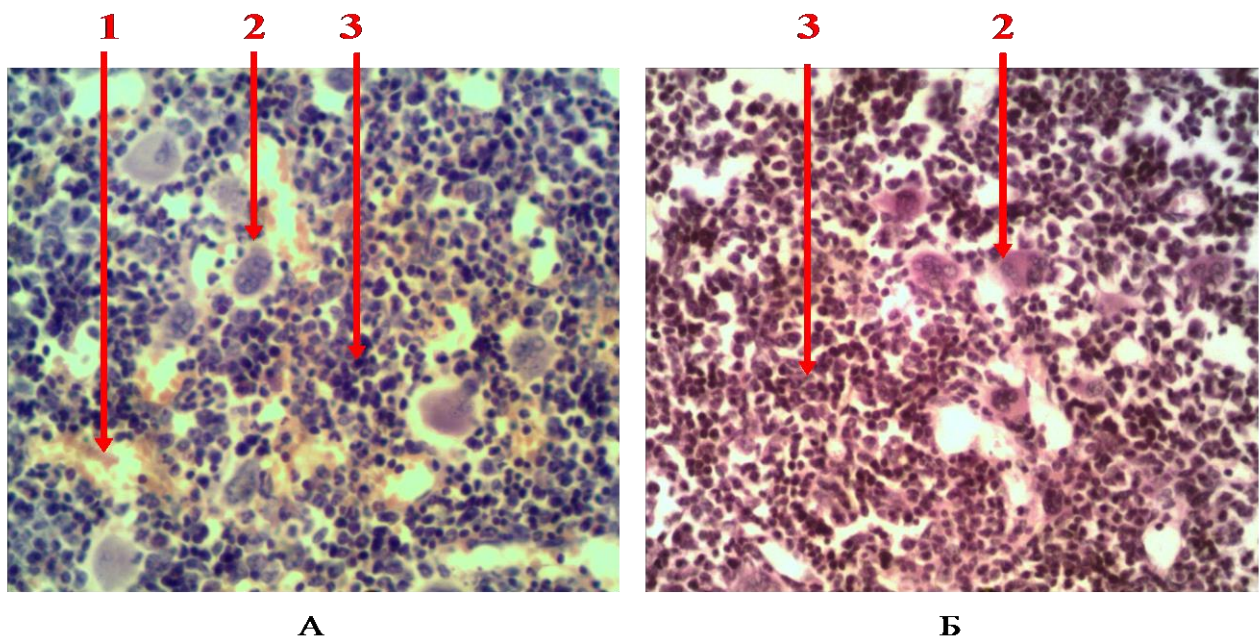


Рис. 3.24. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ої серії 1-ої групи. 1 – синусоїди; 2 – мегакаріоцит; 3 – еритроїдний острівець. А – забарвлення гематоксиліном та еозином. Б – ШИК забарвлення. Збільшення $\times 400$.

Більшість з них спостерігалася тільки через 3 місяці комбінованого впливу СВМ.

На 30 добу зберігалася компактність розташування різних попередників кровотворення – ендостальна локалізація гранулоцитарного паростку кровотворення та перисинусоїдальне розміщення попередників еритроцитів. Але вже на цьому етапі візуально зростала кількість мегакаріоцитів. Дистрофічно-некротичні зміни (некрози, ослизнення та інші) у структурі КМ майже не спостерігалися. Спустошена від кровотворення площа вакантно заміщувалася синусоїдами. Поодинокі зустрічалися випадки, як і у тварин другої серії першої групи, з явищами гіперплазії еозинофільного паростку гемопоезу, які проявлялися зростанням кількості різних предикторів лейкоцитів зі значною кількістю еозинофільної зернистості у клітинах (рис. 3.25).

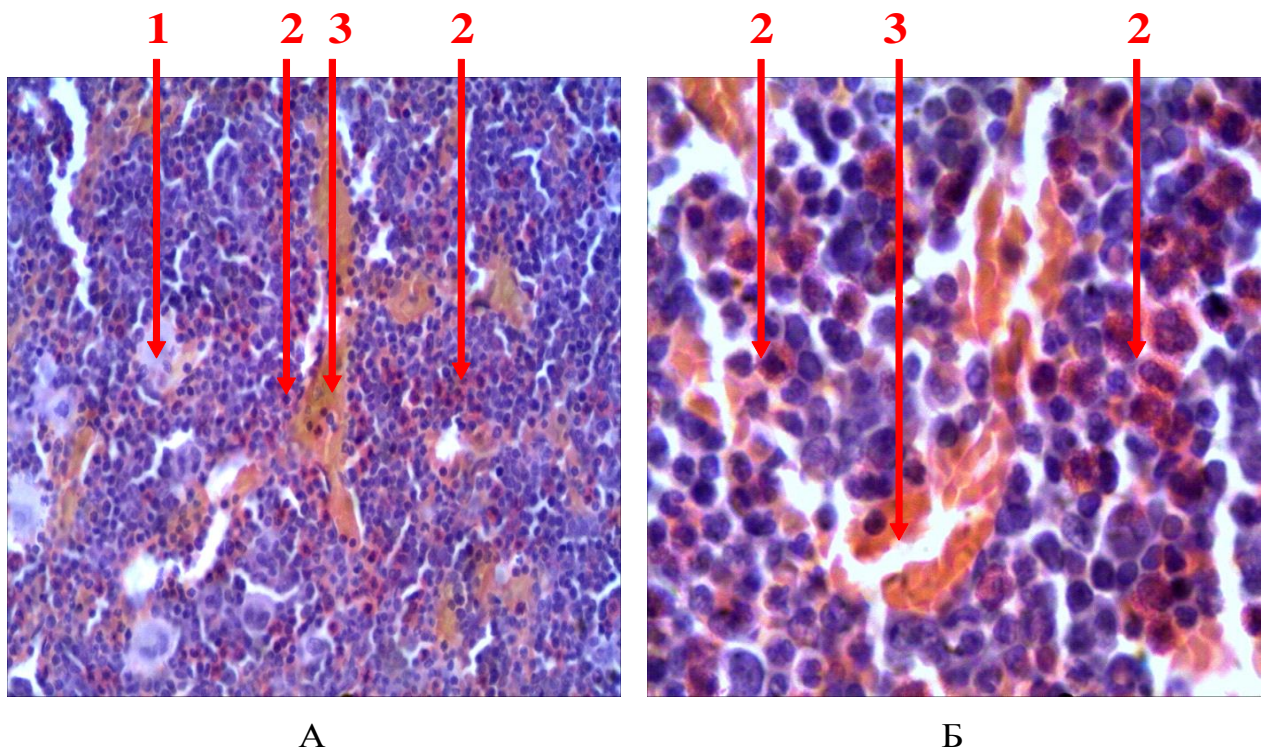


Рис. 3.25. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ої серії 1-ої групи. 1 – мегакаріоцит; 2 – попередники еозинофілів; 3 – синусоїди. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення А – $\times 100$; Б – $\times 400$.

Не зважаючи на протективні властивості вітаміну Е, на 90 добу споживання СВМ якісні зміни поступово наростали. На цьому етапі вже

спостерігалися значні відхилення від показників інтактних тварин, хоча вони і не досягали значень попередньої групи щурів. Відбувалося зменшення розмірів еритроїдних острівців та кількості їх клітинного складу. В окремих випадках вони були представлені групами з 5-10 клітин (рис. 3.26).

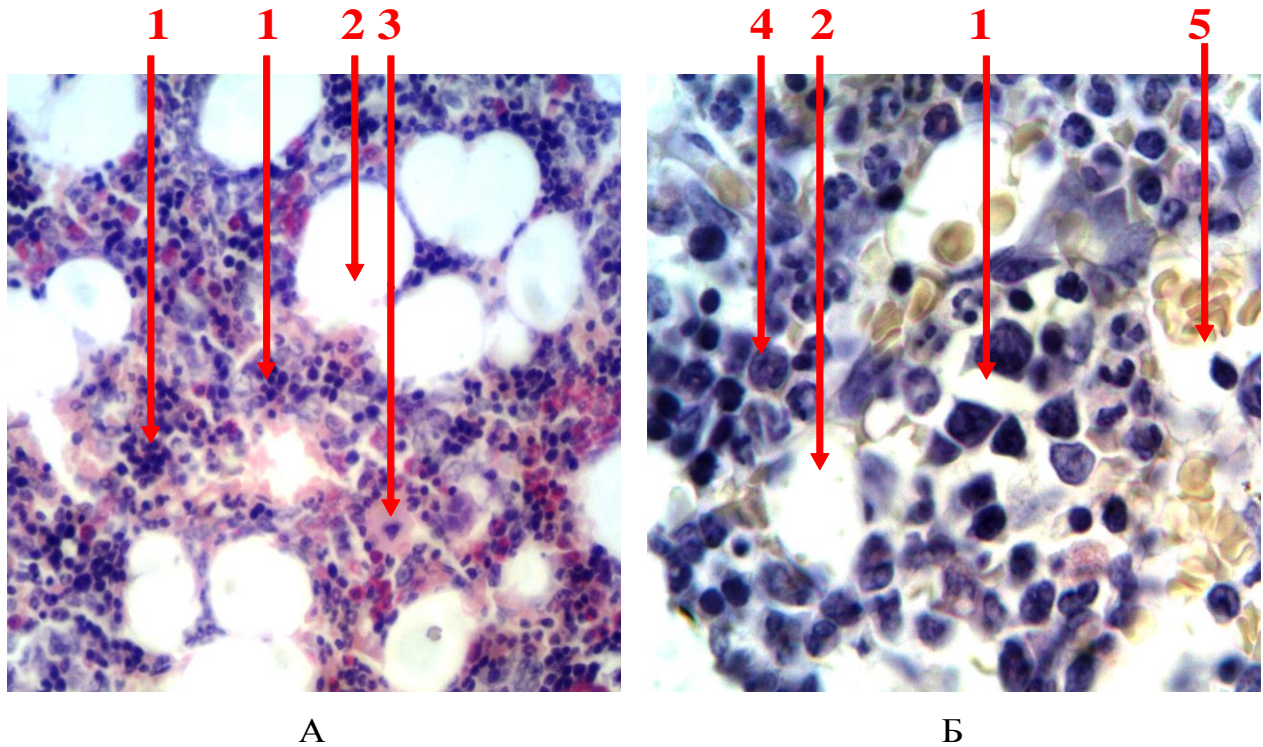


Рис. 3.26. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ої серії 1-ої групи. 1 – еритроїдний острівець; 2 – ліпоцити; 3 – мегакаріоцити; 4 – попередники гранулоцитів; 5 – синусоїди. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Збільшення А – $\times 400$, Б – $\times 1000$.

Диспластичні зміни у структурі еритрону майже не спостерігалися, хоча і були помітні незначні відхилення у формі і тинкторіальних властивостях деяких попередників. Більш яскраво вищезазначені зміни проявлялися на рівні епіфізів стегнових кісток щурів з пролонгацією змін ближче до центру кістково-мозкового каналу.

З боку гранулоцитарного паростку значних змін на 30 добу у тварин третьої серії не спостерігалось, але в окремих місцях відбувалося порушення періостального розміщення його паростків – вони зустрічалися у всіх ділянках

кістково-мозкового каналу діафізів та кістково-мозкових комірках епіфізів (рис. 3.27).

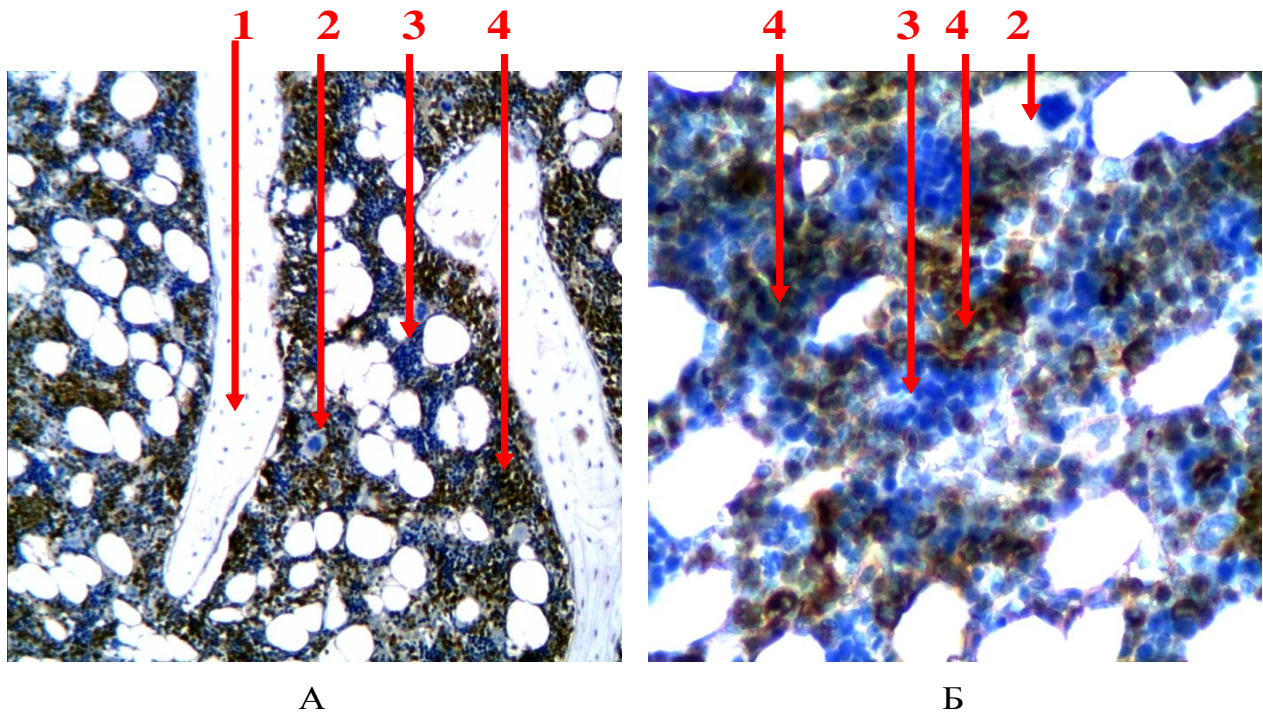


Рис. 3.27. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ої серії 1-ої групи.
1 – кісткова балка; 2 – мегакаріоцити; 3 – еритроїдний острівець; 4 – попередники гранулоцитів. ІГХ дослідження рецепторів до МПО. Збільшення А – $\times 100$; Б – $\times 400$.

У міру пролонгації експерименту, одночасно зі зменшенням площі гранулоцитопоезу, виникали і якісні зміни у складі його предикторів. Дискордантне їх розташування (наявність мієлобластів та промієлоцитів у центральній частині комірок) супроводжувалося змінами їх тинкторіальних властивостей та клітинного поліморфізму, окремі групи попередників лейкоцитів асинхронно сприймали ДАБ при ІГХ виявленні рецепторів до МПО (рис. 3.28).

В окремих ділянках виникали явища полісегментації, хоча ця ознака мала місце лише у поодиноких випадках, у зв'язку з кільцеподібним типом ядер гранулоцитів у щурів.

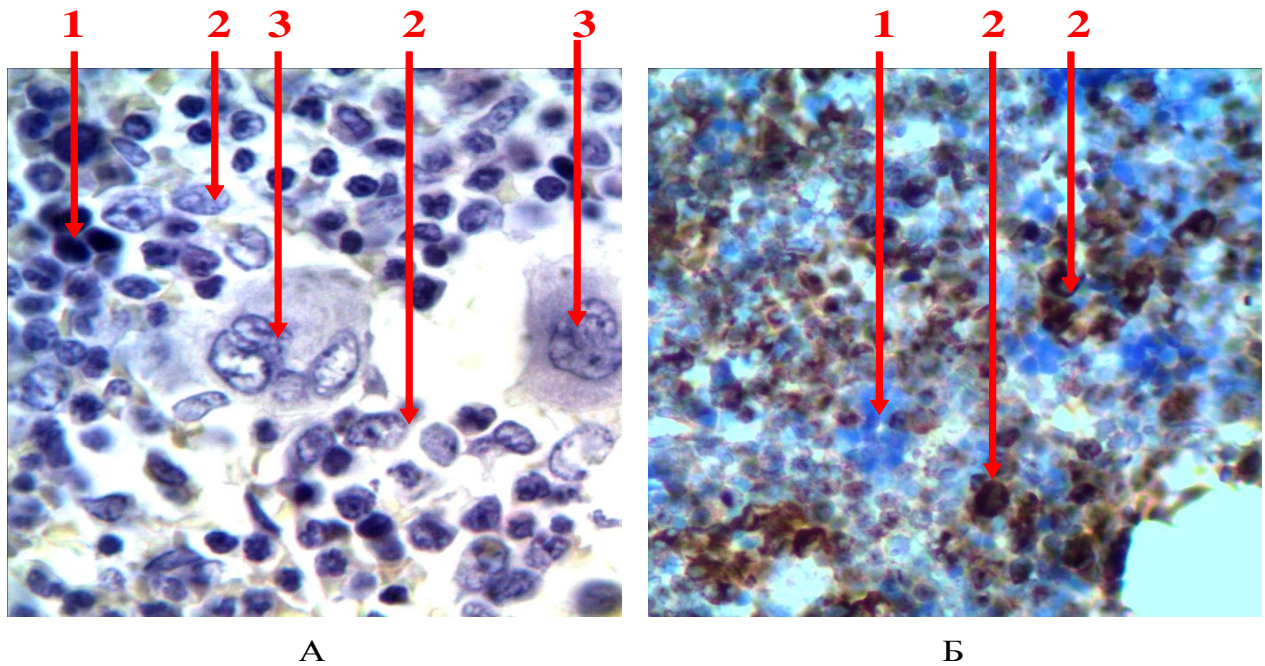


Рис. 3.28. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ої серії 1-ої групи. 1 – клітини еритрону; 2 – попередники гранулоцитів; 3 – мегакаріоцит. А – забарвлення гематоксилином та еозином, збільшення $\times 1000$. Б – ІГХ дослідження рецепторів до МПО, збільшення $\times 400$.

Також, як і у випадку з виключно вживанням СВМ, у щурів третьої серії спостерігалось зростання кількості макрофагів (S100-позитивних клітин) у структурі КМ, хоча і не досягало таких рівнів.

Вони були присутні, як у складі еритроїдних острівців, так і окремо (іноді формуючи скупчення з 3-4 клітин) серед збережених ділянок кровотворної тканини (рис. 2.29).

На 90 добу значні зміни виникали у тромбоцитарному паростку кровотворення, які проявлялися у збільшенні кількості мегакаріоцитів, зростанні сегментації їх ядер, явищ клітинно-ядерного поліморфізму (рис. 3.28 – А, 3.29). У більшості випадків вони скупчувалися у вигляді кластерів.

Щодо інших компонентів КМ (кісткова тканина, сполучнотканинний каркас), то упродовж експерименту з СВМ та корекції змін вітаміном Е значних

відхилень від норми не спостерігалось, окрім вакантного заміщення жировою тканиною (за рахунок гіпертрофії та гіперплазії) та синусоїдами спустошених від кровотворення ділянок КМ, подекуди зустрічалися вогнищеві крововиливи та набряк.

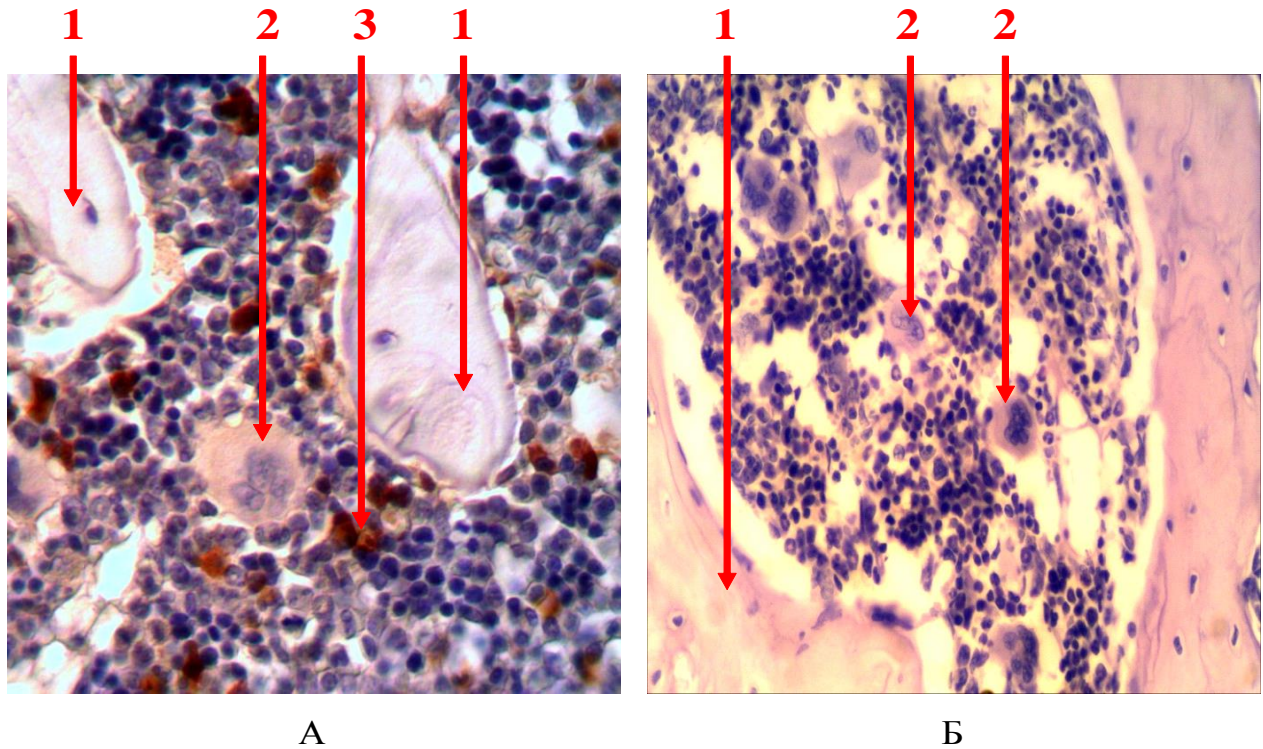


Рис. 3.29. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ої серії 1-ої групи.
 1 – кісткова балка; 2 – мегакаріоцит; 3 – S100-позитивні макрофаги.
 А – ІГХ дослідження рецепторів до білку S100, збільшення $\times 200$. Б –
 забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 400$.

Суттєвих коливань з боку М:Е співвідношення не виявлено ($p > 0,05$) – на рівні епіфізу воно склало 3,3:1 та на рівні діафізу дорівнювало 3,2:1, у зв'язку з одночасністю змін двох паростків гемопоезу. Не зазнав суттєвих коливань і процес лімфоцитопоезу, демонструючи постійність у складі всіх частин кістково-мозкового каналу.

Оцінюючи результати комплексного дослідження КМ щурів, що впродовж 30 та 90 діб вживали СВМ разом з вітаміном Е, можна стверджувати про виникнення та посилення змін у кровотворній тканині при вживанні полютантів. Гіпопластично-деструктивні зміни, які виникали у тварин цієї

групи, посилювалися при пролонгації експерименту, хоча і не досягали показників другої серії тварин, які виключно вживали СВМ без корекції. Найбільш стрімко відхилення виникали у перші 30 діб дослідження з поступовим зменшенням інтенсивності (але не зі зниженням їх) у наступні періоди. Еритроїдний паросток зазнавав найбільших відхилень, які спочатку виникали у ділянці епіфізів з наступним поширенням у бік кістково-мозкового каналу стегнових кісток статевозрілих щурів.

3.2.3. Зміни у кістковому мозку щурів за умов відновлення.

При відміні з раціону щурів СВМ у їх КМ поступово виникали зміни у зворотному напрямку. Темпи відновлення залежали від терміну ре адаптаційного періоду та умов їх вигодовування.

Так, у тварин, яким упродовж 90 діб додавали до раціону вигодовування воду з надлишком СВМ, після відміни полютантів (2-га серія 2-ої групи) спостерігалася поступове зростання площі гемопоетичної тканини (Додаток 2, табл. 5). Темпи відновлення прямопропорційно залежали від термінів спостереження (рис. 3.30).

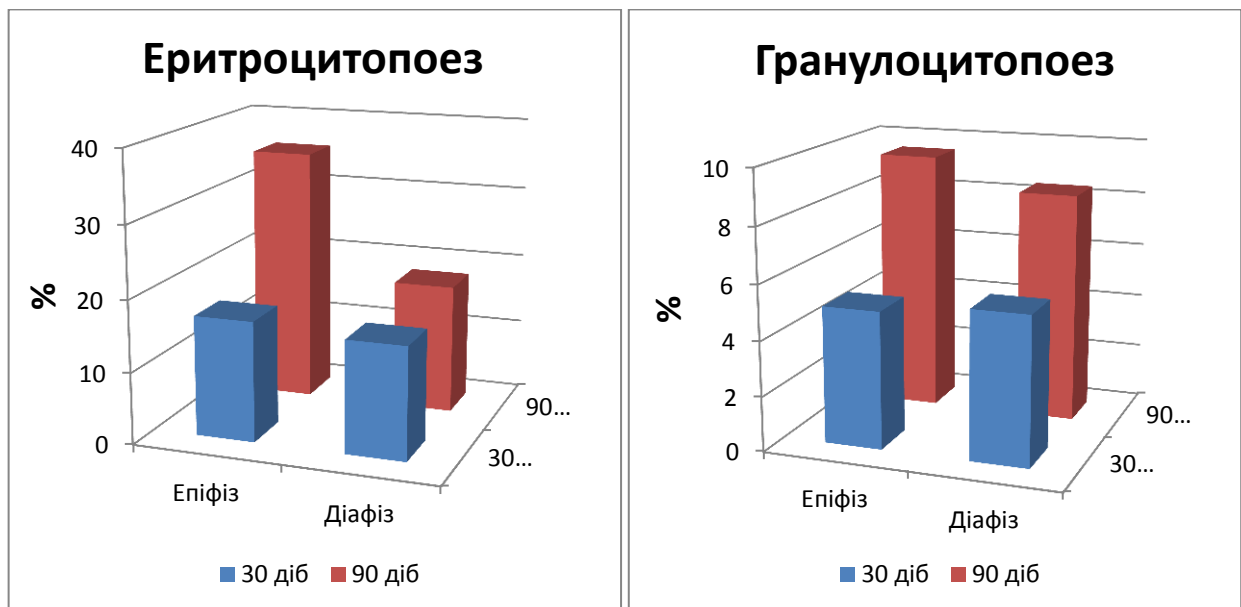


Рис. 3.30. Показники зростання площі кровотворення у тварин 2-ої серії 2-ої групи на 30 та 90 добу відновлення (120 та 180 доба спостереження) по відношенню до показників тварин 2-ої серії 1-ої групи.

Через 30 діб після відміни СВМ площа еритропоезу зросла до $4 \pm 0,63$ % ($p = 0,002$) на рівні епіфізів та до $17 \pm 1,26$ % ($p = 0,005$) на рівні діафізу. При пролонгації спостереження (через 3 місяці відновлення) вищезазначені параметри зросли до $5,2 \pm 0,98$ % ($p = 0,001$) та $17,5 \pm 1,38$ % ($p = 0,002$) відповідно. Показники гранулоцитопоезу відновлювалися за тим же сценарієм – через 30 діб на рівні епіфізів їх площа зросла на 5,0 % ($p = 0,22$), на рівні діафізу – на 5,4 % ($p = 0,012$). Через 90 діб ці показники перевищували значення щурів 2-ї серії 1-ї групи на 9,5 % ($p = 0,012$) та 8,4 % ($p = 0,002$) відповідно, становлячи $14,17 \pm 0,75$ % та $47,83 \pm 1,72$ % від загальної площі КМ. На відміну від еритро- та гранулоцитопоезу, показники тромбоцитопоезу поступово зменшувалися. Так, через 30 діб відновлення кількість мегакаріоцитів знизилася на 12,0 % (у середньому складала $0,22 \pm 0,07$ % ($p = 0,2$)). На 180 добу спостереження (3 місяці відновлення) площа тромбоцитопоезу зменшилася на 28,0 % (у середньому складала $0,18 \pm 0,04$ % ($p = 0,019$)). Хоча і спостерігалось значне покращення показників усіх паростків кровотворення, їх значення, навіть на 90 добу відновлення, відрізнялися від показників інтактної групи тварин.

З метою встановлення протективних властивостей вітаміну Е у щурів, які упродовж 3 місяців вживали СВМ, ми після відміни полютантів у періоді відновлення додали до їх раціону коректор (щури 3-ої серії 2-ої групи). Динаміка відновлення кровотворної функції була значно стрімкішою з досягненням кращих показників, починаючи з 30 доби відновлення (Додаток 2, табл. 6).

Так, площа еритроцитопоезу досягла $4,2 \pm 0,98$ % ($p = 0,048$) на рівні епіфізів та $17,3 \pm 1,5$ % ($p = 0,004$) на рівні діафізів на 30 добу відновлення, показники гранулоцитопоезу відповідно складала $14 \pm 1,5$ % ($p = 0,075$) та $47,5 \pm 1,9$ % ($p = 0,004$). При пролонгації спостереження (180 доба) динаміка змін була подібною, майже досягаючи показників контрольної групи тварин. Площа еритроцитопоезу на 3 місяць відновлення становила $5,17 \pm 0,98$ % ($p = 0,001$) на рівні епіфізів та $17,7 \pm 1,63$ % ($p = 0,003$) на рівні діафізів. Щодо

гранулоцитопоезу, то вищезазначені параметри на 180 добу спостереження у щурів 3-ої серії 2-ої групи становили $14,3 \pm 0,82$ % ($p = 0,008$) та $48,3 \pm 2,25$ % ($p = 0,002$) відповідно. Найбільш яскраві зміни відбувалися у КМ саме у перші 30 діб відновного періоду з поступовим сповільненням їх показників та одночасним наближенням до значень контрольної серії тварин (1-ша серія 2-ої групи) на 90 добу відновлення (рис. 3.31).

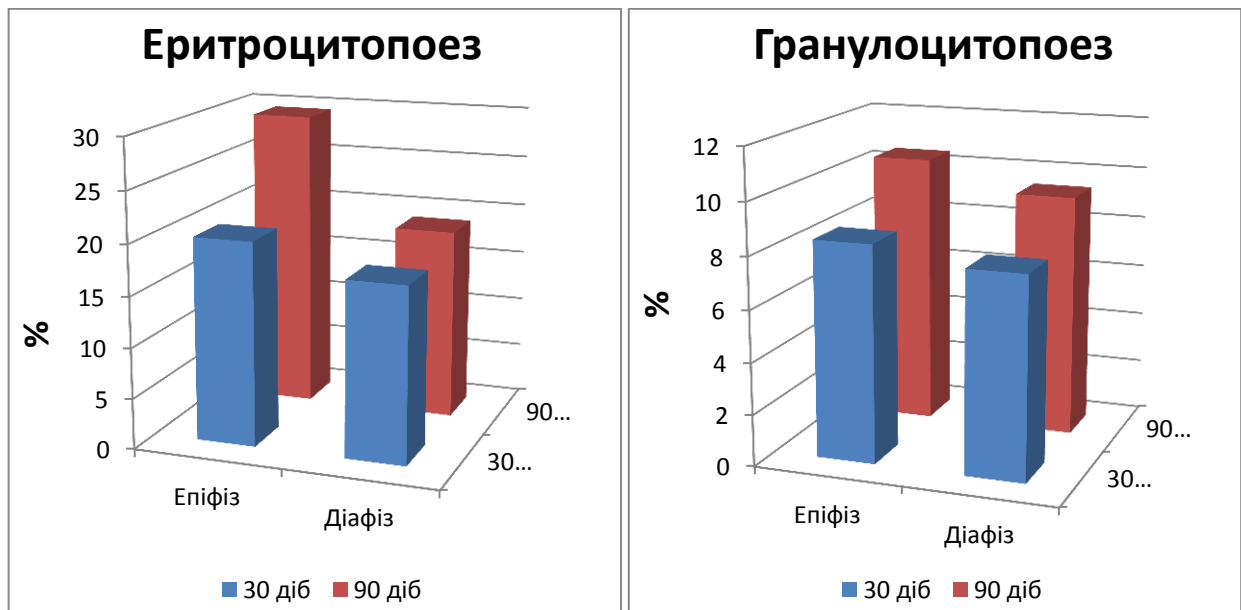


Рис. 3.31. Показники зростання площі кровотворення у тварин 3-ої серії 2-ої групи на 30 та 90 добу відновлення (120 та 180 доба спостереження) по відношенню до показників тварин 2-ої серії 1-ої групи.

Щодо характеристики тромбоцитопоезу, то динаміка була подібною з попередньою серією тварин, але спостерігалось більш яскраве зменшення кількості мегакаріоцитів. Так, на 30 добу їх кількість зменшилася на 20 % (у середньому складала $0,2 \pm 0,06$ %) з поступовим наростанням змін на 90 добу відновлення – знизилася на 36 % (у середньому складала $0,17 \pm 0,05$). Всі показники суттєво наближалися до контрольних параметрів, але вони були дещо зміненими навіть на 180 добу спостереження.

Тваринам, які впродовж 90 діб споживали СВМ разом з вітаміном Е, на 90 добу було також припинено додавання політантів до раціону випоювання за умови продовження додавання коректора (4-а серія 2-ої групи). Зміни, які

виникали при цьому у КМ, також були спрямовані на відновлення параметрів усіх паростків кровотворення (Додаток 2, табл. 7).

На 30 добу відновлення показники еритроцитопоезу зросли до $4,5 \pm 1,0$ % ($p = 0,055$) на рівні епіфізів та до $15,8 \pm 1,2$ % ($p = 0,06$) на рівні діафізів. Упродовж пролонгації дослідження гемопоезу ці ж параметри на 180 добу (90 діб відновлення) становили $5,7 \pm 1,0$ % ($p < 0,001$) та $18 \pm 1,6$ % ($p < 0,001$) відповідно. За умови продовження корекції порушень гемопоезу вітаміном Е площа гранулоцитопоезу на 30 добу відновлення досягла $14,2 \pm 1,2$ % ($p = 0,18$) на рівні епіфізів та $47,8 \pm 2,6$ % ($p = 0,013$) на рівні діафізів. Через 3 місяці відновного періоду відповідні показники змінилися менш помітно, але значно наблизилися до значень контрольної серії тварин (рис. 3.32). Так, гранулоцитопоез на рівні епіфізів у середньому був $14,7 \pm 0,52$ % ($p = 0,004$) та на рівні діафізів – $49,8 \pm 2$ % ($p < 0,001$).

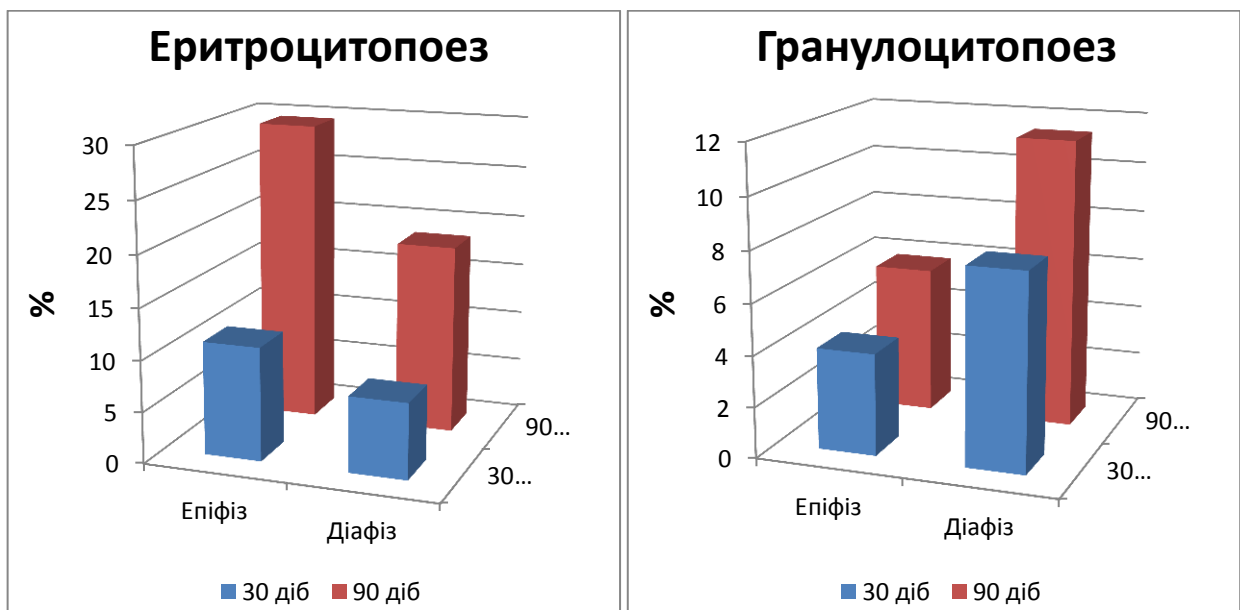


Рис. 3.32. Показники зростання площі кровотворення у тварин 4-ої серії 2-ої групи на 30 та 90 добу відновлення (120 та 180 доба спостереження) по відношенню до показників тварин 3-ої серії 1-ої групи.

Щодо тромбоцитопоезу, зміни проходили у зворотньому напрямку, що відображалося у зменшенні кількості мегакаріоцитів. Через 30 діб відновного періоду при одночасному вживанні коректора площа тромбоцитопоезу

зменшилася на 18 % (у середньому складала $0,18 \pm 0,04$ %), досягаючи свого максимуму на 90 добу – зменшення на 23,0 % (у середньому складала $0,17 \pm 0,05$ %).

Слід зазначити, що більшість параметрів у щурів 4-ої серії 2-ої групи зазнавали яскравих змін саме через 1 місяць відновлення, з поступовим зменшенням їх темпів на 180 добу спостереження (3 місяці відновлення). Деякі з них наближалися до показників контрольної серії тварин (еритроцитопоез), але більшість з них (тромбоцитопоез, гранулоцитопоез), хоча і статистично не достовірно, не досягали значень інтактної серії щурів (1-ша серія 2-ої групи).

Упродовж усього періоду відновлення коливання М:Е співвідношення знаходилися у межах норми, що пов'язано із синхронністю та односпрямованістю (зростання показників еритроцито- та гранулоцитопоезу) змін площі обох паростків кровотворення. Так, у тварин 2-ої серії 2-ої групи на 120 день спостереження (1 місяць відновлення) воно дорівнювало 2,2-4:1 на рівні епіфізів та 2,5-3:1 на рівні діафізів. Через 3 місяці відновного періоду цей показник складав 2,1-3,8:1 та 2,5-3,1 відповідно. У тварин, що після відміни СВМ почали вживати вітамін Е (3-тя серія 2-ої групи), М:Е співвідношення на 30 добу складало 3-4,3:1 (епіфізи) та 2,6-2,9:1 (діафіз). Через 3 місяці відновного періоду воно було на рівні 2,1-3,8:1 та 2,4-3,2:1 відповідно. У щурів, які весь час приймали вітамін Е (4-та серія 2-ої групи), після відміни СВМ зазначений показник на 30 добу складав 2,2-5:1 та 2,7-3,6:1, а на 90 добу – 2-3,8:1 та 2,4-3,1:1 відповідно.

Серед усіх паростків кровотворення в усіх серіях тварин 2-ої групи спостерігалось стрімке відновлення показників гемопоезу саме на 30 добу відновлення зі сповільненням темпів на 180 добу спостереження. Більш інтенсивно відновні зміни візуалізувалися на рівні епіфізів стегнових кісток щурів з подальшим поширенням на діафіз.

За рахунок зростання площі гемопоезу першочергово зменшувалися ділянки, які були зайняті під синусоїди, з поступовим зниженням площі, зайнятої під жовтий КМ. Але у деяких випадках спостерігалось вогнищеве

накопичення ліпоцитів у вигляді ліпоматозу.

Щодо лімфоцитопоезу, то показники його коливання, як для В-лімфоцитів, так і для Т-лімфоцитів, були статистично не достовірними і коливалися в межах 0,4 %, у середньому складаючи 1,0 % від загальної площі кровотворення КМ (рис. 3.33). Спостерігалось незначне переважання Т-лімфоцитів над В-лімфоцитами, іноді з формуванням вогнищевих скупчень імуноцитів.

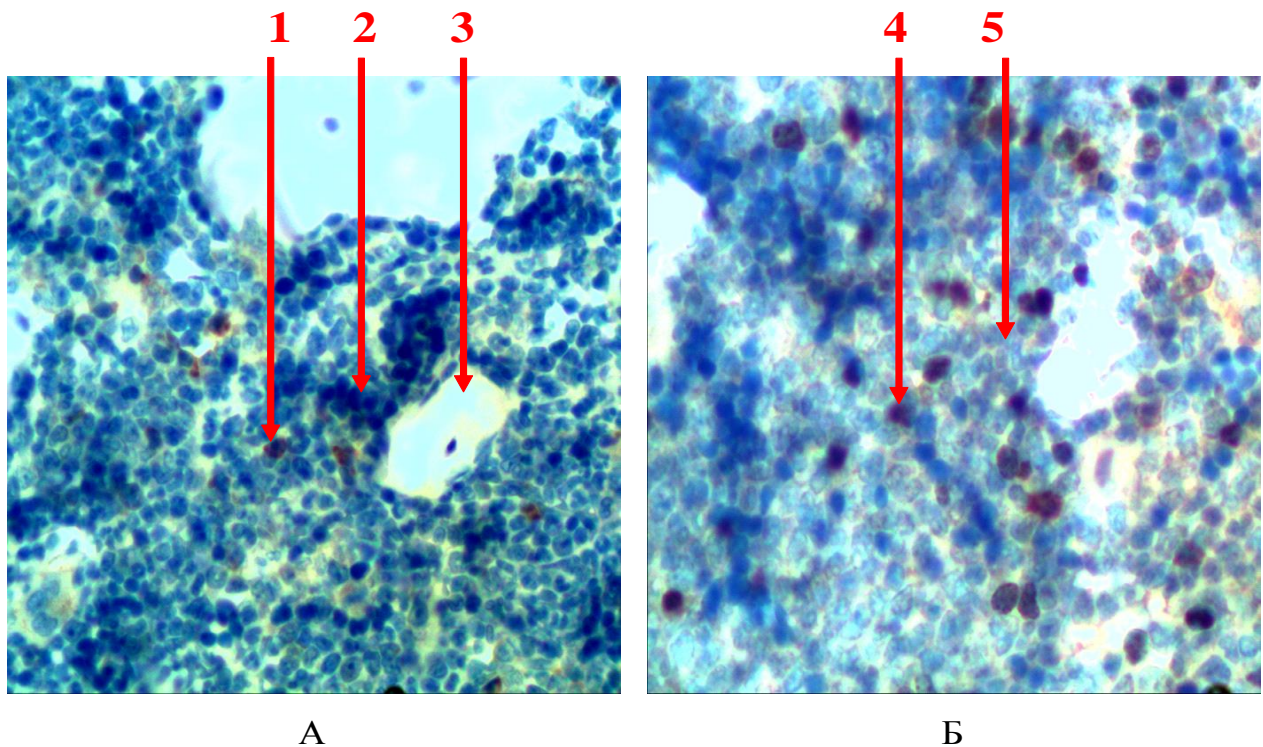


Рис. 3.33. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ої серії 2-ої групи на 90 добу відновлення. 1 – В-лімфоцит; 2 – еритроїдний острівцець; 3 – кісткова балка; 4 – Т-лімфоцит; 5 – вогнище гранулоцитопоезу. А – ІГХ дослідження рецепторів CD79 α . Б – ІГХ дослідження рецепторів CD3. Збільшення $\times 400$.

Відміна СВМ з раціону тварин усіх серій щурів 2-ої групи знайшло своє відображення і на якісних показниках КМ. Поступово відновлювалася типова будова кровотворної тканини, зникали деструктивні явища (рис. 3.34). Так, ділянки міксоматозу та крововиливи виявлялися у поодиноких випадках лише на 30 добу відновлення у щурів 2-ої серії 2-ої групи (у дуже рідких випадках і на 90 добу можна було знайти залишкові ділянки ослизнення). Значно

знизилися імовірність виявлення клітин з ознаками апоптозу або некрозу. За рахунок зменшення імуногенного впливу полютантів макрофаги виявлялися у значній мірі лише у складі еритроїдних острівців та у значно меншій кількості. набряк у КМ щурів в усіх серіях майже не спостерігався.

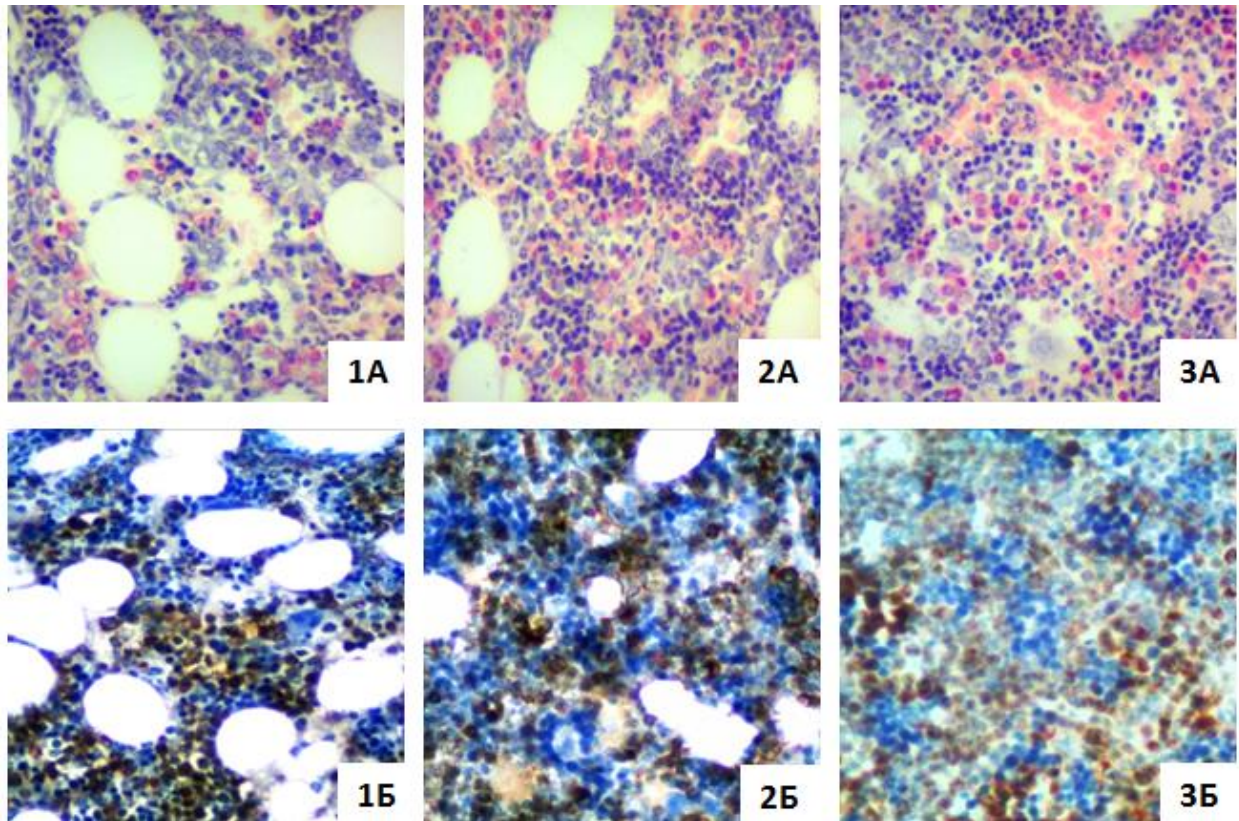


Рис. 3.34. Поздовжній зріз стегнової кістки щура. 30 доба (1) та 90 доба (2) відновлення у щура 2-ої серії 2-ої групи. 3 – КМ тварини контрольної серії. А – забарвлення гематоксилином та еозином. Б – імуногістохімічне дослідження рецепторів до мієлопероксидази. Збільшення $\times 400$.

Поступово відновлювався склад і вогнищевий тип розміщення еритроїдних острівців. Вони у значній мірі склалися з усіх попередників еритроциту за умови відсутності будь-яких диспластичних явищ (рис. 3.35). Як і у щурів контрольної серії, вони розташовувалися прицентрово до кістково-мозкових комірок та кістково-мозкового каналу в оточенні синусоїдів. У їх складі майже завжди можна було знайти макрофага. Вищезазначені зміни виникали раніше у тварин, яким поряд з відміною СВМ починали або

продовжували давати вітамін Е. У деяких тварин 4-ої серії 2-ої групи кількісний склад, хоча і статистично не достовірно, але перевищував показники інтактних тварин – дещо більші показники площі еритроїдних острівців та кількість клітин еритрону у їх складі.

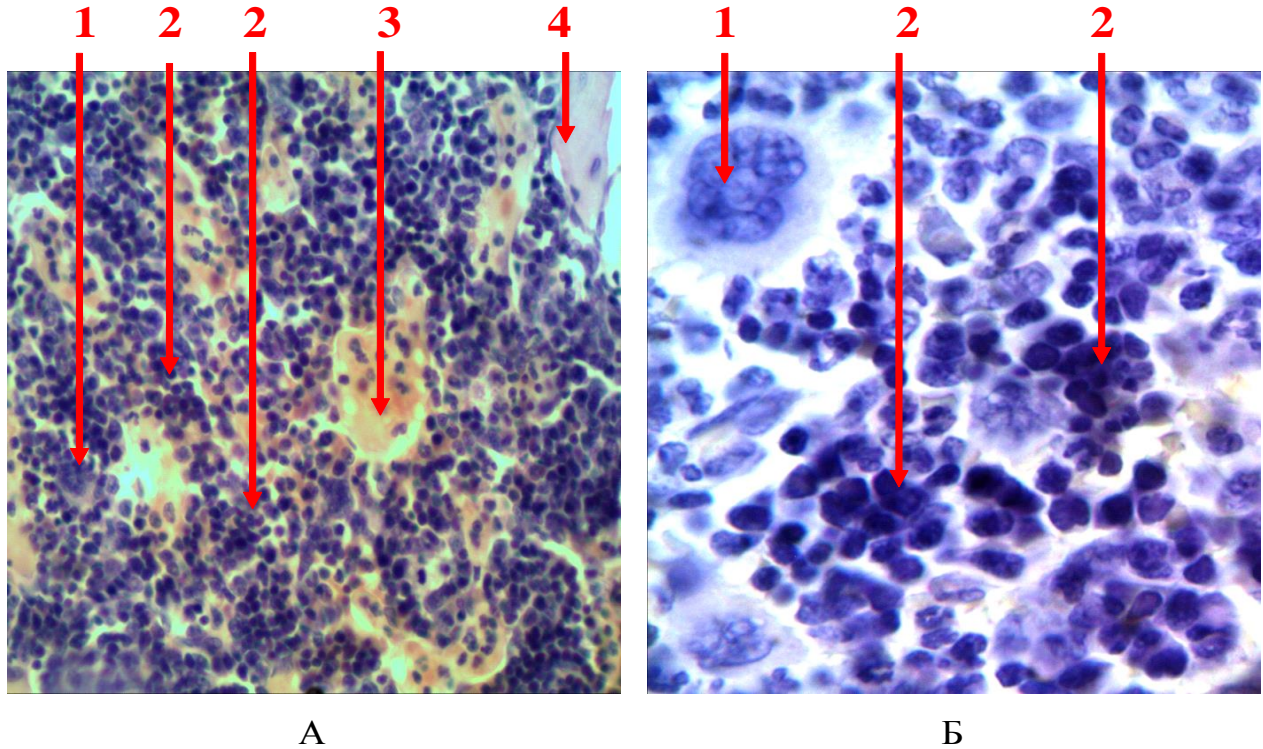


Рис. 3.35. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ої серії 2-ої групи на 90 добу відновлення. 1 – мегакаріоцит; 2 – еритроїдний острівець; 3 – ділянка залишкового міксоматозу; 4 – кісткова балка. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 200$ (А) та $\times 1000$ (Б).

При відновлення якісні зміни спостерігалися й у гранулоцитарному паростку кровотворення. Поверталась структурованість лейкоцитопоезу, яка характеризувалася ендостальним розташуванням його попередників. Починаючи з 30 доби, поступово зникали диспластичні явища та порушення тинкторіальних властивостей клітин. При ІГХ дослідженні виявлено відновлення закономірностей насичення різних попередників мієлопероксидазою – більш інтенсивне забарвлення ранніх форм гранулоцитопоезу (рис. 3.36). У дозріваючих формах нейтрофільного та еозинофільного паростків кровотворення виявлялася кільцеподібна форма ядра

у більшості клітин. За умови сегментації на 90 добу не спостерігалось їх гіперсегментованості, так само як і порушень гранулярності цитоплазми. Виявлені впродовж споживання СВМ явища еозинофілії повністю зникали у період відновлення.

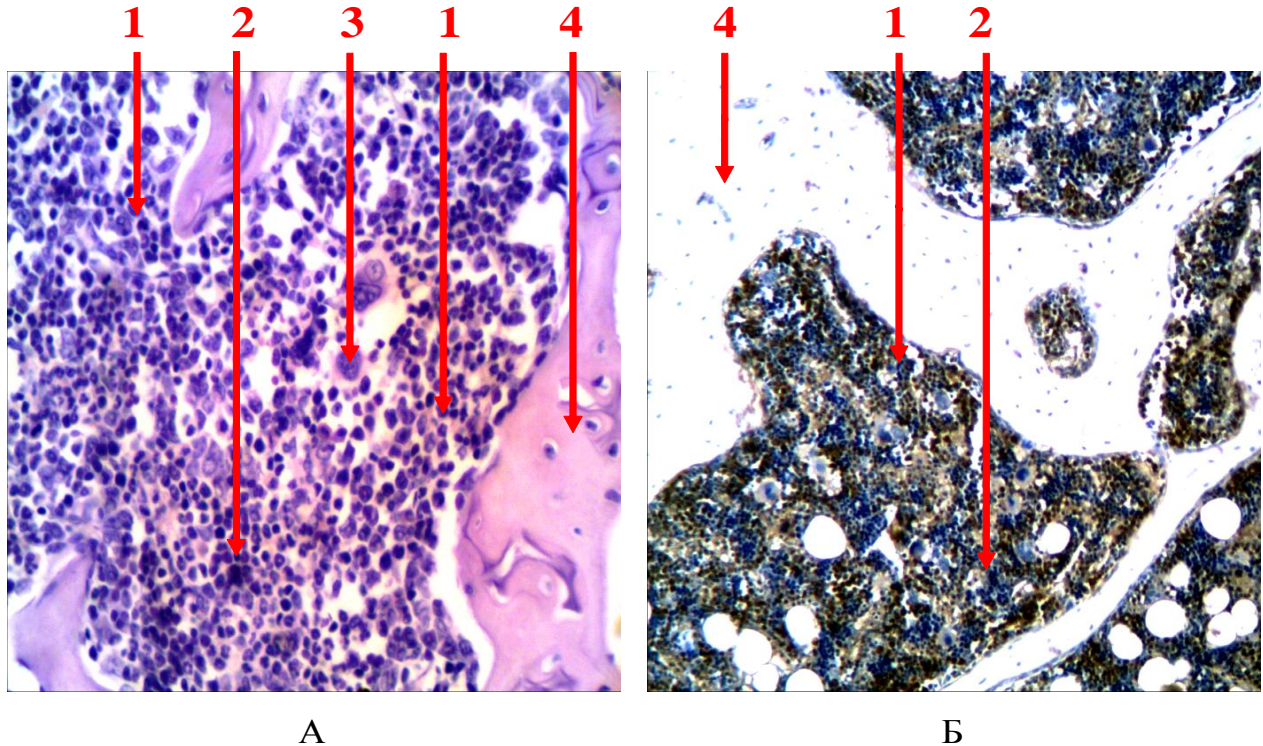


Рис. 3.36. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ої серії 2-ої групи на 90 добу відновлення. 1 – ділянка гранулоцитопоезу; 2 – еритроїдний острівцев; 3 – мегакаріоцит; 4 – кісткова балка. А – забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 200$. Б – ІГХ дослідження рецепторів до МПО, збільшення $\times 100$.

При пролонгації спостереження за тваринами поступово відновлювалася як кількість мегакаріоцитів, так і їх якісні характеристики. Зникали явища підвищеної сегментації ядер, нормалізувалася їх форма. Не зважаючи на це, в окремих ділянках виникали явища емперіполезу – наявність цілих клітин (гранулоцитів) у цитоплазмі мегакаріоцитів без порушення цілісності жодної з клітин (рис. 3.37). Зменшувалися випадки виявлення попередників тромбоцитів у вигляді груп (до 5 клітин) та кластерів (більше 5 клітин).

Упродовж відновлювального періоду, хоча і доволі повільно, але

відновлювалася нормальна структура кісткової тканини (рис. 3.38) – поступово зникали явища резорбції кісткових балок, відновлювалася чітка посмугованість кісткових трабекул (відновлення базофілії ліній склеювання), зникали явища «роздиференціювання» остеонів, майже не виявлялися дистрофічні зміни остеоцитів (нечіткі контури та пікноз ядер). Зміни з боку жирової тканини проявлялися у значній мірі лише її зменшенням та залишковими вогнищевими явищами ліпоматозу – вогнищевого скупчення ліпоцитів. На окремих ділянках виявлялися незначні ділянки розростання сполучної тканини.

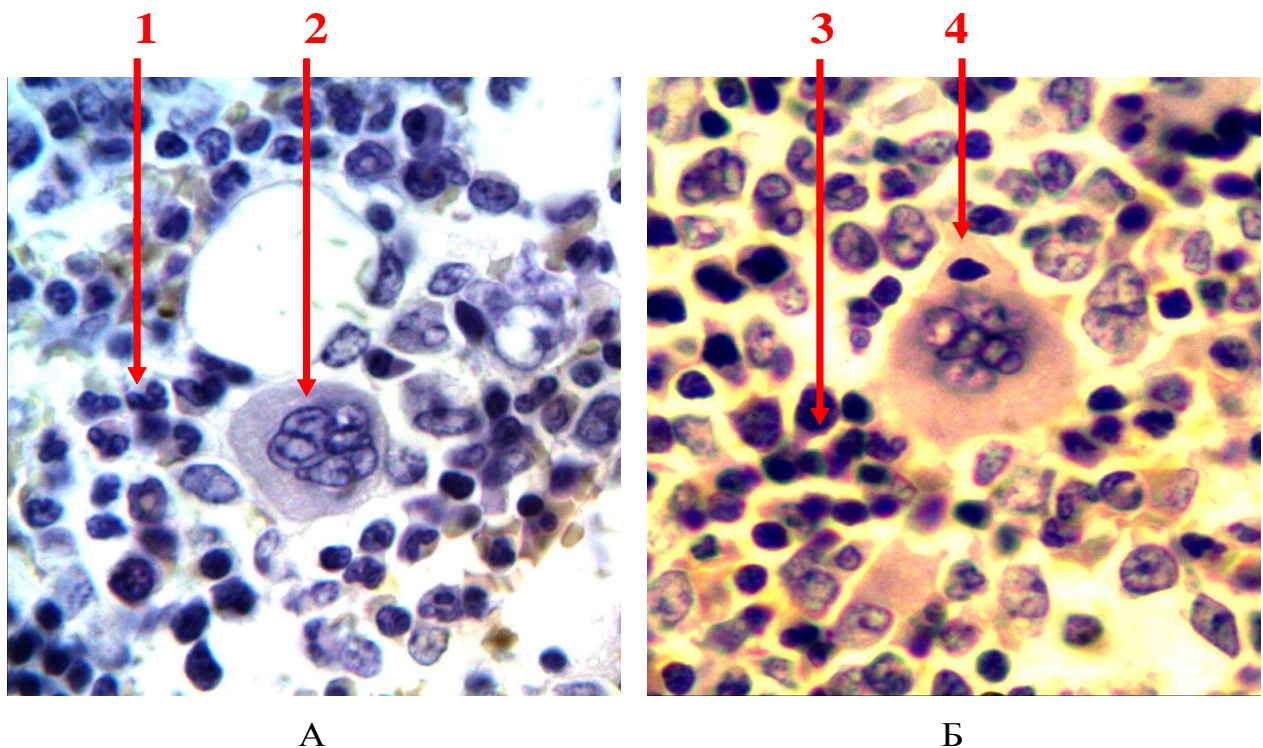


Рис. 3.37. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ої серії 2-ої групи на 90 добу відновлення. 1 – попередники гранулоцитів; 2 – нормальний мегакаріоцит; 3 – попередники еритроцитів; 4 – мегакаріоцит з явищами емперіполезу. Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 1000$.

Як і у випадку з кількісними характеристиками КМ, при відновленні спостерігалася чітка залежність між темпами відновлення у різних серій тварин – більш швидкі зміни за умови додавання до раціону тварин коректора (вітамін Е).

Оцінюючи одержані результати впродовж відновного періоду, можна

стверджувати, що додавання коректору до харчового раціону тварин посилює темпи нівелювання змін, які виникли після хронічного впливу СВМ. Ці відновні процеси прямо пропорційні тривалості спостереження. Хоча і спостерігається майже повне відновлення кількісно-якісних характеристик гемопоетичної тканини, вони у більшості своїх випадків не досягають показників контрольної серії тварин.

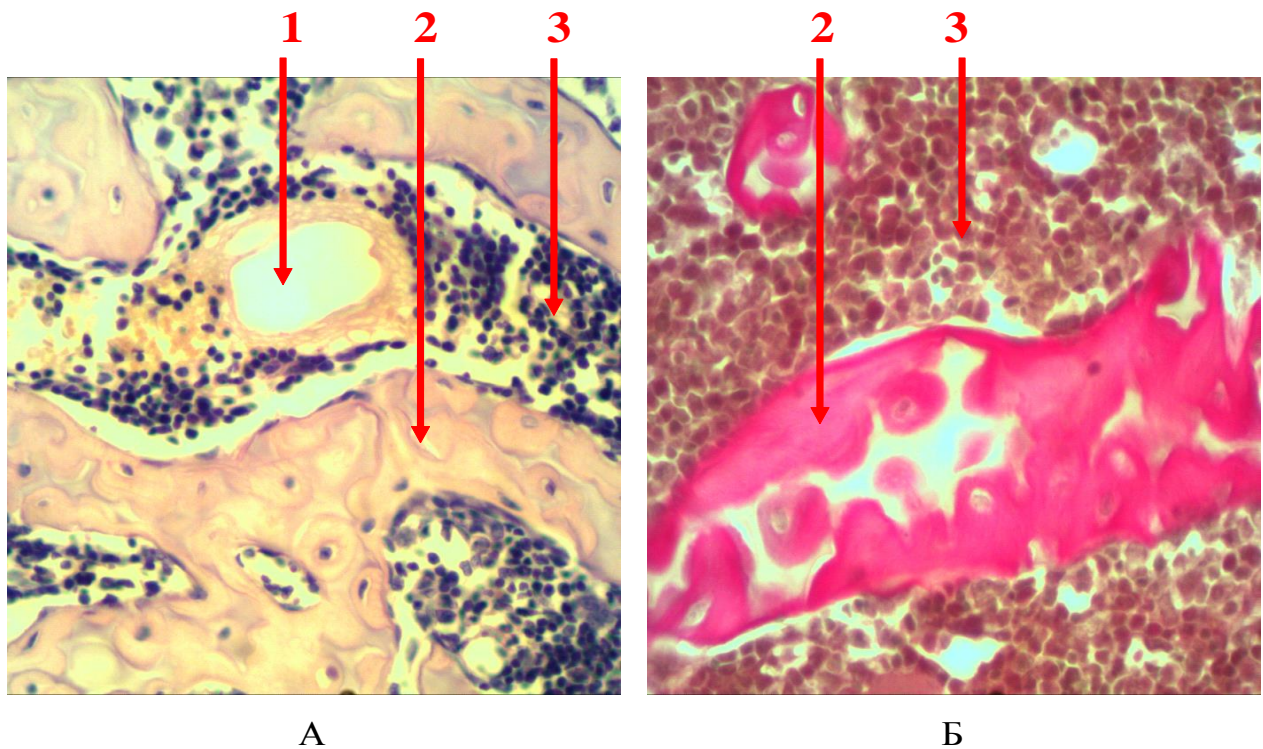


Рис. 3.38. Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ої серії 2-ої групи на 90 добу відновлення. 1 – кровоносна судина; 2 – кісткова тканина; 3 – гемопоетична тканина. А – забарвлення гематоксилином та еозином. Б – забарвлення за Ван-Гізоном. Збільшення $\times 400$.

Наближені до нормальних параметри КМ на 90 добу відновлення (180 доба спостереження) вказують на високі регенераторні можливості кровотворної тканини за умови припинення пагубного впливу екзогенних поллютантів на тварин.

3.3. Визначення мікроелементного складу кісткового мозку у щурів.

3.3.1. Елементний аналіз кісткового мозку інтактних щурів та піддослідних тварин у період вживання солей важких металів.

Шляхом проведення спектрофотометрії ми встановили вміст кожного з ВМ (Fe, Cu, Zn, Mn, Pl та Cr) у 1 мг КМ (Додаток 2, табл. 8,9), одержаного шляхом бужування кісткомозкової порожнини середньої частини стегнової кістки інтактних щурів. Для цього використали тканину від тварин (n=24) усіх контрольних серій – 12 щурів першої групи та 12 – другої (по 6 тварин, які виводилися з експерименту на 30 та 90 добу). Нами встановлено (табл. 3.3), що вміст заліза у кровотворній тканині коливався від 485,6 мкг/г до 565,17 мкг/г (у середньому $516,32 \pm 22,48$ мкг/г), міді – від 13,87 мкг/г до 17,1 мкг/г (у середньому $15,15 \pm 0,92$ мкг/г), цинку – від 50,13 мкг/г до 65,14 мкг/г (у середньому $58,72 \pm 3,96$ мкг/г), марганцю – від 2,42 мкг/г до 3,78 мкг/г (у середньому $3,3 \pm 0,32$ мкг/г), хрому – від 1,56 мкг/г до 2,3 мкг/г (у середньому $1,9 \pm 0,19$ мкг/г) та свинцю – від 0,5 мкг/г до 0,72 мкг/г (у середньому $0,63 \pm 0,06$ мкг/г). Загальна кількість ВМ у гемопоетичній тканині у середньому становила $596,1 \pm 21,895$ мкг/г (коливалась від 560,42 до 644,42 мкг/г).

Таблиця 3.3.

Середні показники вмісту ВМ (мкг/г) у КМ контрольної серії тварин

	Група 1, серія 1 (30 діб)	Група 1, серія 1 (90 діб)	Група 2, серія 1 (30 діб)	Група 2, серія 1 (90 діб)
Fe	517,96 $\pm 25,29$	512,82 $\pm 21,1$	519,92 $\pm 31,74$	515,45 $\pm 14,09$
Cu	15,02 $\pm 0,94$	14,43 $\pm 0,6$	15,16 $\pm 0,51$	16,3 $\pm 0,43$
Zn	57,99 $\pm 4,46$	59,34 $\pm 4,6$	58,77 $\pm 2,47$	57,36 $\pm 4,71$
Mn	3,25 $\pm 0,34$	3,34 $\pm 0,03$	3,26 $\pm 0,08$	3,29 $\pm 0,21$
Cr	1,86 $\pm 0,28$	1,93 $\pm 0,23$	1,91 $\pm 0,1$	1,87 $\pm 0,12$
Pl	0,64 $\pm 0,08$	0,61 $\pm 0,06$	0,63 $\pm 0,08$	0,64 $\pm 0,04$

Статистично достовірних відмінностей між показниками усіх контрольних серій тварин згідно критерію Стьюдента не виявлено ($p > 0,05$).

У тварин, яким додавали СВМ у воду, кількість ВМ у кровотворній тканині значно зростала (Додаток 2, табл. 10). Так, на 30 добу спостерігалось достовірне ($p < 0,05$) перевищення показників Fe на 87,5 % (у середньому – $971,05 \pm 36,84$ мкг/г), Cu – на 73,5 % (у середньому – $26,06 \pm 2,32$ мкг/г), Zn – на 37,6 % (у середньому – $79,78 \pm 4,37$ мкг/г), Mn – на 62,0 % (у середньому – $5,27 \pm 0,19$ мкг/г), Cr – на 78,6 % (у середньому – $3,34 \pm 0,28$ мкг/г) та Pb – на 84,7 % (у середньому – $1,18 \pm 0,1$ мкг/г). Загальна кількість ВМ зросла на 82,1 % та складала $1086,68 \pm 33,43$ мкг/г (Рис. 3.39).

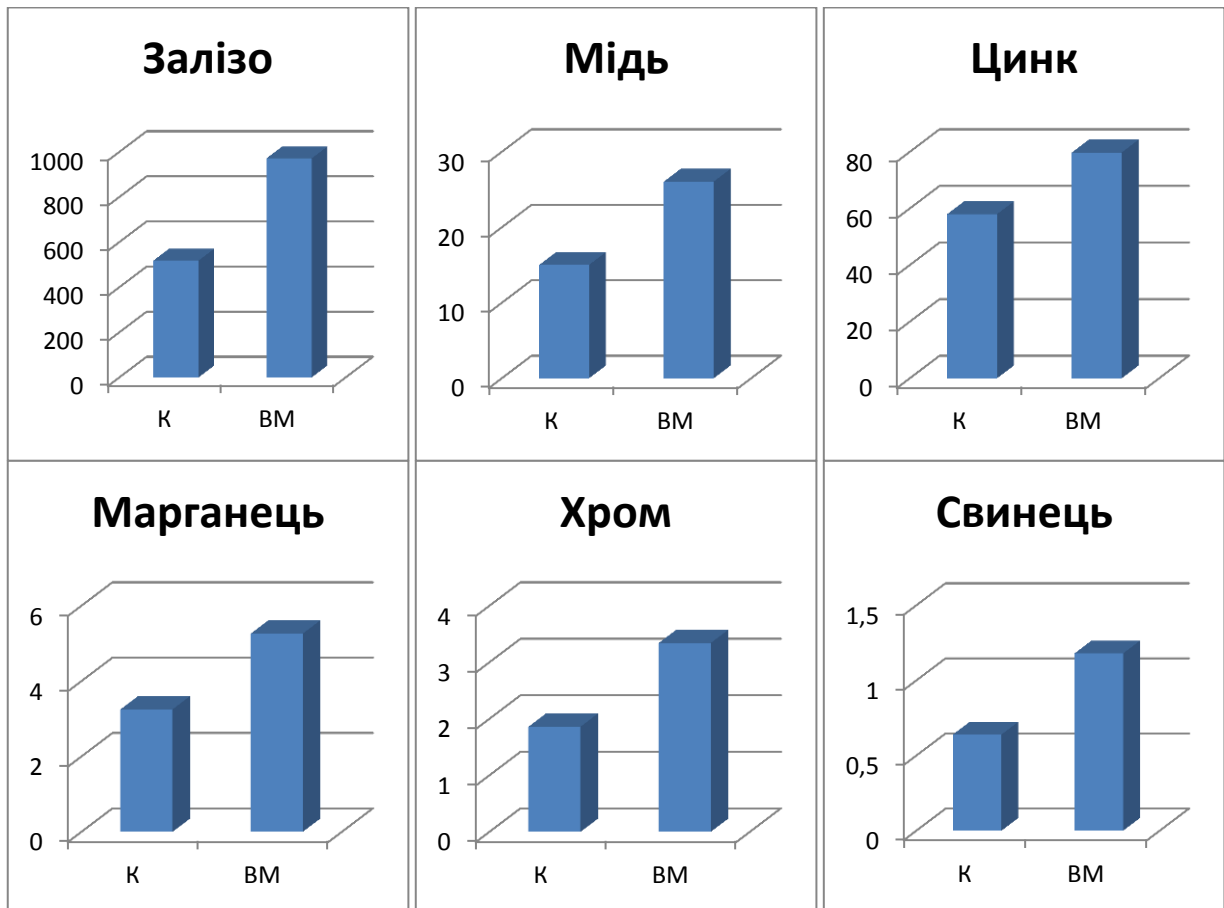


Рис. 3.39. Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) з показниками тварин, що впродовж 30 діб вживали СВМ (ВМ).

При пролонгації експерименту акумулювання ВМ у гемопоетичній тканині продовжувало наростати. Але, слід відмітити, що темпи цього

збільшення були менш стрімкими. Так, у порівнянні з результатами інтактних тварин ($p < 0,001$), на 90 добу кількість Fe перевищувала показники норми на 147,0 % (у середньому – $1266,03 \pm 52,13$ мкг/г), Cu – на 130,6 % (у середньому – $33,27 \pm 3,51$ мкг/г), Zn – на 59,4 % (у середньому – $94,56 \pm 4,49$ мкг/г), Mn – на 105,0 % (у середньому – $6,83 \pm 0,57$ мкг/г), Cr – на 134,7 % (у середньому – $4,53 \pm 0,51$ мкг/г) та P1 – на 182,0 % (у середньому – $1,71 \pm 0,11$ мкг/г). Загальна кількість ВМ зростає на 137,5 % та складала $1406,98 \pm 52,35$ мкг/г (Рис. 3.40).

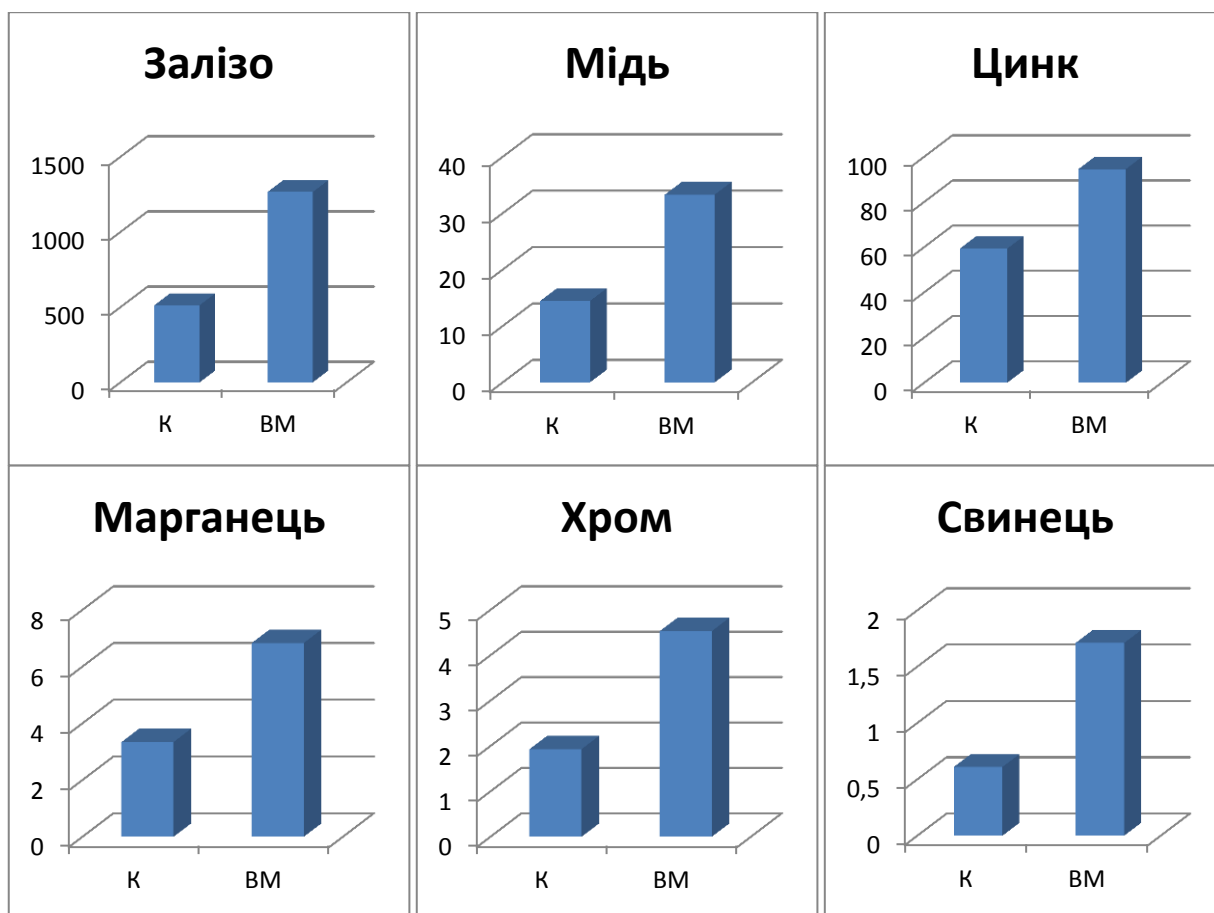


Рис. 3.40. Показники вмісту хімічних елементів у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 90 діб вживали СВМ.

Використання у якості коректора вітаміну Е сповільнювало накопичення ВМ у кровотворній тканині. Так, за умови додаткового споживання вітаміну поряд з СВМ на 30 та 90 добу дослідження показники вмісту ВМ у КМ були значно нижчими за ті, що виявлено у щурів попередньої серії (Додаток 2, табл. 11). Через 1 та 3 місяці експерименту виявлено відповідне зростання Fe на

41,03 % та 80,3 % (у середньому $730,47 \pm 22,6$ мкг/г та $907,63 \pm 41,74$ мкг/г), Cu – на 60,2 % та 91,8 % (у середньому $24,53 \pm 2,59$ мкг/г та $27,68 \pm 2,36$ мкг/г), Zn – на 31,2 % та 44,4 % (у середньому $76,03 \pm 3,97$ мкг/г та $85,67 \pm 2,91$ мкг/г), Mn – на 52,3 % та 79,9 % (у середньому $4,95 \pm 0,17$ мкг/г та $6,01 \pm 0,21$ мкг/г), Cr – на 63,2 % та 108,5 % (у середньому $3,04 \pm 0,25$ мкг/г та $4,03 \pm 0,25$ мкг/г) та Pb – на 57,5 % та 122,0 % (у середньому $0,99 \pm 0,13$ мкг/г та $1,34 \pm 0,09$ мкг/г). Загальна кількість ВМ зросла на 40,8 % та 74,3 % відповідно, у середньому складаючи $840,01 \pm 21,02$ мкг/г та $1032,36 \pm 44,81$ мкг/г (Рис. 3.41).

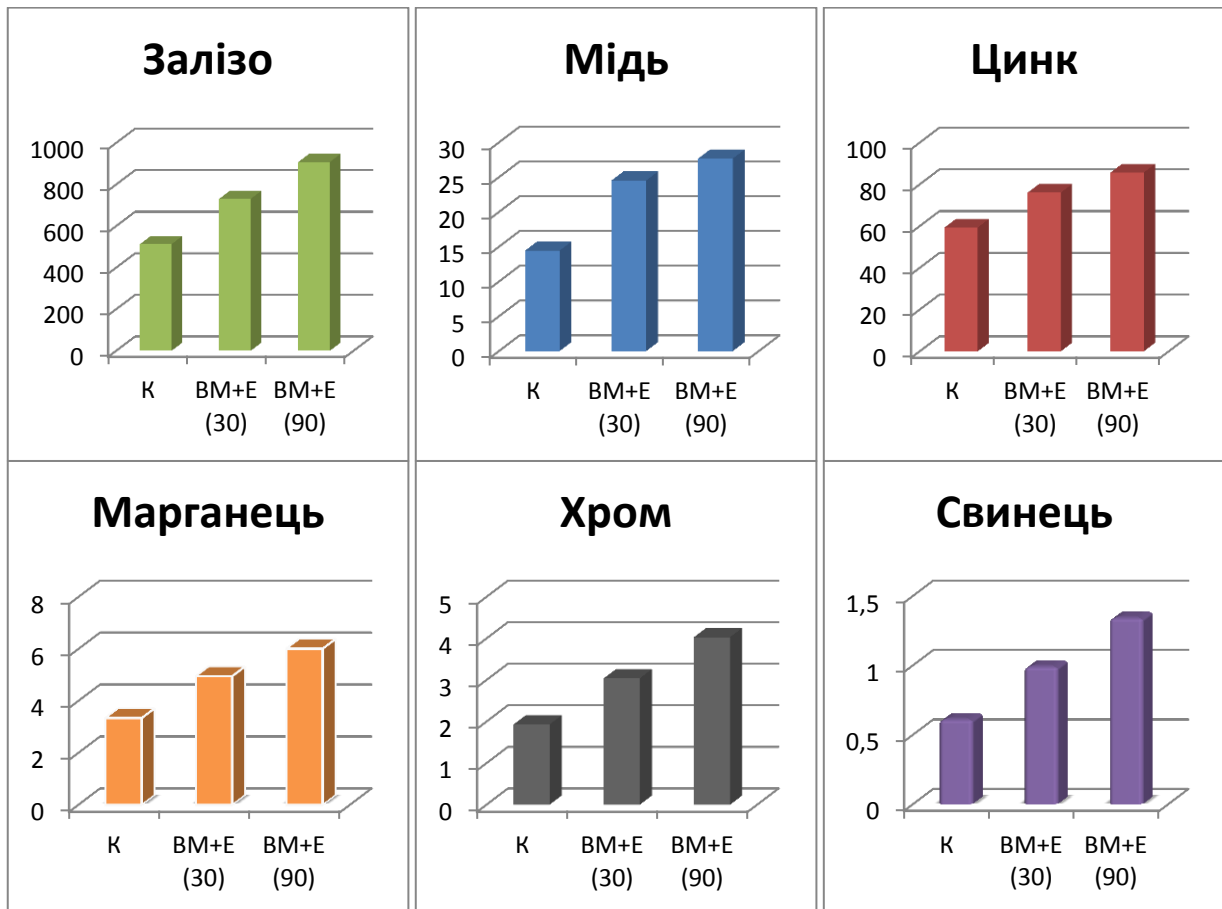


Рис. 3.41. Показники вмісту хімічних елементів у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 30 (ВМ+Е (30)) та 90 (ВМ+Е (90)) діб вживали СВМ з вітаміном Е.

В обох серіях тварин найбільше акумулювались у КМ мідь, хром та свинець, найнижчими були показники цинку.

3.3.2. Елементний аналіз кісткового мозку підслідних тварин у період відновлення.

Другою частиною нашого дослідження було встановлення особливостей виведення з організму тварин надлишку ВМ. Для цього серію 2 першої групи було розділено на 2 частини: перша (серія 2 другої групи) – щури, яким просто перестали давати СВМ, та друга (серія 3 другої групи) – тварини, яким одночасно з відміною ксенобіотиків почали додавати вітамін Е.

У першому випадку спостерігалось, хоча і не настільки стрімке, але зменшення кількості ВМ у гемопоетичній тканині (Додаток 2, табл. 12). Так, через тридцять днів кількість заліза зменшилася на 22,3 % ($p < 0,001$), міді – на 23,8 % ($p < 0,001$), цинку – на 19,5 % ($p < 0,001$), марганцю – на 15,1 % ($p < 0,001$), хрому – на 18,4 % ($p = 0,007$) та свинцю – на 12,8 % ($p < 0,001$). Загальна кількість ВМ знизилася на 22,1 % ($p < 0,001$). Але одержані показники через місяць після відміни СВМ все ще суттєво перевищували показники контрольної групи тварин: кількість Fe була більшою на 89,3 % (у середньому $984,23 \pm 57,68$ мкг/г), Cu – на 67,2 % (у середньому $25,34 \pm 5,23$ мкг/г), Zn – на 29,7 % (у середньому $76,2 \pm 8,77$ мкг/г), Mn – на 78 % (у середньому $5,8 \pm 0,67$ мкг/г), Cr – на 93,7 % (у середньому $3,7 \pm 0,99$ мкг/г) та P1 – на 135,7 % (у середньому $1,49 \pm 0,21$ мкг/г). Сумарно кількість ВМ була на 82,9 % більшою за показники контролю, у середньому складаючи $1096,76 \pm 59,6$ мкг/г (рис. 3.42).

Пролонгація спостереження за тваринами супроводжувалася подальшим зниженням ВМ у КМ (Додаток 2, табл. 12). Відбувалося поступове виведення ксенобіотиків з гемопоетичної тканини. Порівнюючи з кількістю ВМ на 90-ту добу експерименту, показники вмісту заліза через 90 діб відновлювального періоду зменшилися на 40,8 %, міді – на 33,5 %, цинку – на 29,9 %, марганцю – на 36,6 %, хрому – на 30,9 % та свинцю – на 27,5 % ($p < 0,001$). Загальна кількість ВМ знизилась на 40,8 %. Хоча і спостерігалось суттєве наближення цих показників до норми, але вони все ще значно відрізнялися від даних контрольної групи тварин (рис. 3.42): кількість Fe перевищувала на 45,4 % (у

середньому $749,5 \pm 67,98$ мкг/г), Cu – на 36,4 % (у середньому $22,24 \pm 3,21$ мкг/г), Zn – на 15,6 % (у середньому $66,32 \pm 6,22$ мкг/г), Mn – на 31,4 % (у середньому $4,33 \pm 0,83$ мкг/г), Cr – на 67,4 % (у середньому $3,13 \pm 0,46$ мкг/г) та Pb – на 92,9 % (у середньому $1,24 \pm 0,24$ мкг/г). Загальний показник вмісту ВМ у КМ перевищував на 42,3 %, у середньому складаючи $846,82 \pm 66,78$ мкг/г.

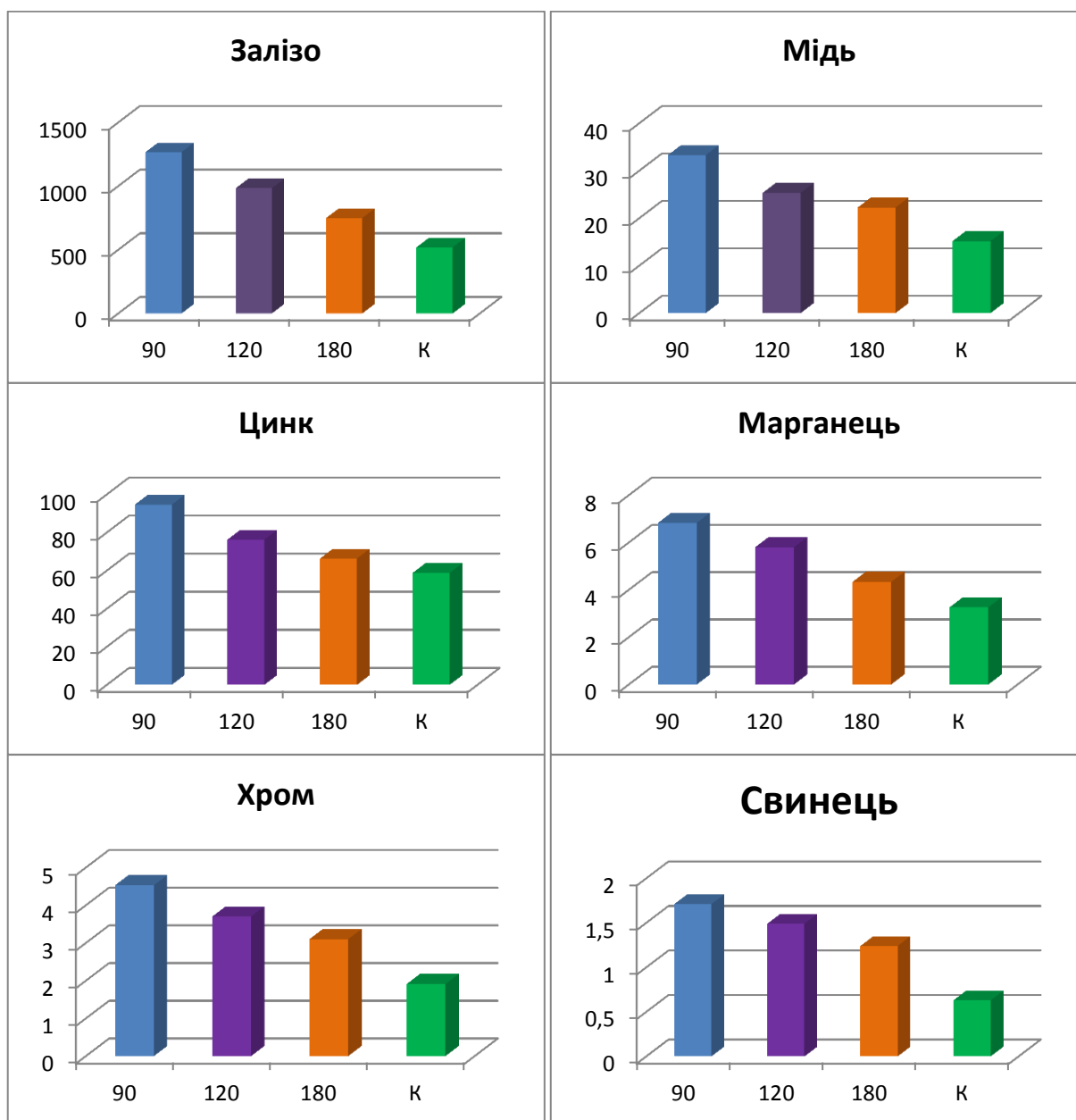


Рис. 3.42. Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 90 діб вживали СВМ (90), на 30 (120) та 90 (180) добу відновлення.

У тварин, яким поряд з відміною СВМ одночасно почали додавати вітамін Е (3-тя серія 2-ої групи), спостерігалось більш стрімке зниження ВМ у кровотворній тканині (Додаток 2, табл. 13). Через 1 та 3 місяця після припинення впливу ксенобіотиками кількість заліза все ще перевищувала показники контролю відповідно на 65,8 % та 26 % (у середньому складала $862,1 \pm 27,73$ мкг/г та $649,47 \pm 26$ мкг/г), міді – на 53,2 % та 21,2 % (у середньому $23,23 \pm 1,84$ мкг/г та $19,76 \pm 2,52$ мкг/г), цинку – на 24,1 % та 9,7 % (у середньому $72,96 \pm 3,46$ мкг/г та $62,92 \pm 3,8$ мкг/г), марганцю – на 61,4 % та 23,7 % (у середньому $5,26 \pm 0,28$ мкг/г та $4,07 \pm 0,25$ мкг/г), хрому – на 78,1 % та 49,2 % (у середньому $6,59 \pm 0,27$ мкг/г та $2,79 \pm 0,12$ мкг/г) та свинцю – 108 % та 69,8 % (у середньому $1,33 \pm 0,11$ мкг/г та $1,09 \pm 0,15$ мкг/г). Сумарно кількість ВМ знизилася на 31,0 % та 47,4 % у порівнянні з показниками 90 доби експерименту. Вміст досліджуваних елементів наближався до значень контрольної групи тварин, але все ще був на 62,0 % та 24,4 % (у середньому $971,46 \pm 28,52$ мкг/г та $740,09 \pm 27,71$ мкг/г) вищим за дані інтактних щурів (рис. 3.43).

Дещо іншими виявилися результати у тварин, які впродовж 90 діб вживали СВМ разом з вітаміном Е та у відновлювальний період продовжили отримувати корегуючу вітамінну профілактику (Додаток, табл. 14). У цих щурів (4-а серія 2-ої групи) і до цього найнижчі показники відхилення більше наближалися до норми, хоча у всіх випадках не досягали рівня інтактних тварин. Вони на 30 та 90 добу періоду відновлення перевищували відповідно показники норми для Fe на 35,0 % та 16,0 % (у середньому склавши $701,63 \pm 23,54$ мкг/г та $598,12 \pm 16,45$ мкг/г), Cu – на 39,2 % та 17,4 % (у середньому $21,11 \pm 1,72$ мкг/г та $19,13 \pm 2,4$ мкг/г), Zn – на 19,3 % та 6,5 % (у середньому $70,11 \pm 3,45$ мкг/г та $61,09 \pm 4,39$ мкг/г), Mn – на 41,7 % та 21 % (у середньому $4,62 \pm 0,16$ мкг/г та $3,98 \pm 0,14$ мкг/г), Cr – на 67,7 % та 35,8 % (у середньому $3,2 \pm 0,17$ мкг/г та $2,54 \pm 0,297$ мкг/г) та P1 – на 71 % та 37,2 % (у середньому $1,07 \pm 0,1$ мкг/г та $0,88 \pm 0,12$ мкг/г). Загальні показник вмісту ВМ

перевищував на 33,7 % та 15,7 % відповідно, у середньому складаючи $801,74 \pm 22,44$ мкг/г та $685,74 \pm 19,17$ мкг/г (рис. 3.44).

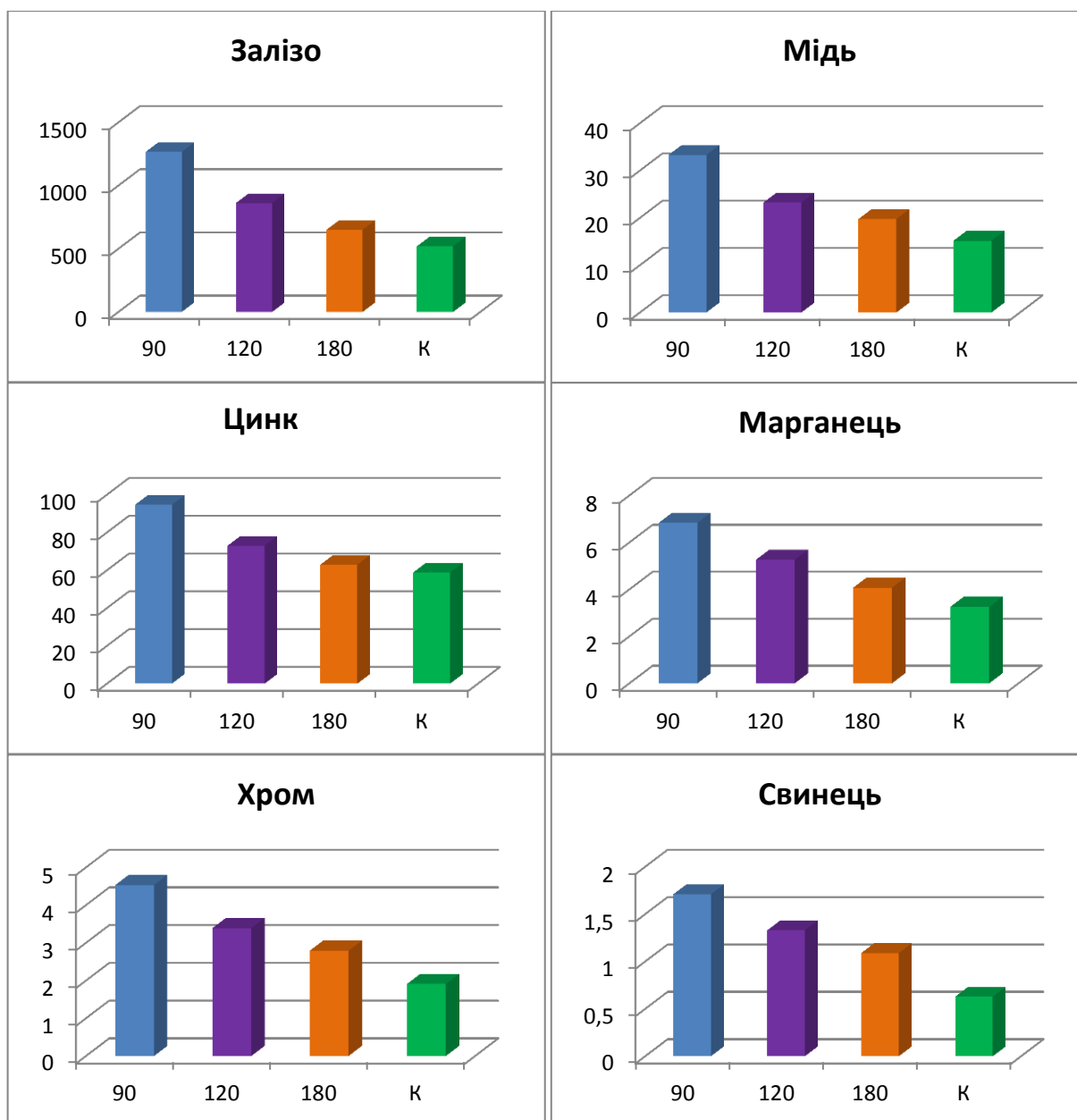


Рис. 3.43. Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 90 днів вживали СВМ (90), на 30 (120) та 90 (180) добу відновлення з додаванням вітаміну Е.

Аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що на протязі відновлювального періоду відбувається поступове виведення ВМ з кровотворної тканини. Темпи цього виведення напряму залежать від додавання вітаміну Е – за умови його споживання ВМ видаляються швидше та у більшій кількості.

Не зважаючи на використання протектора, рівні металів не досягають показників контролю навіть на 90 добу після припинення споживання СВМ, хоча у разі постійного одержання вітаміну Е впродовж експерименту та відновного періоду вони максимально наближалися до значень контрольної серії тварин. Найгірше виводилися з гемопоетичної тканини такі мікроелементи як хром та свинець, не зважаючи на більш стрімке виведення надлишку міді, заліза та марганцю (рис. 3.44).

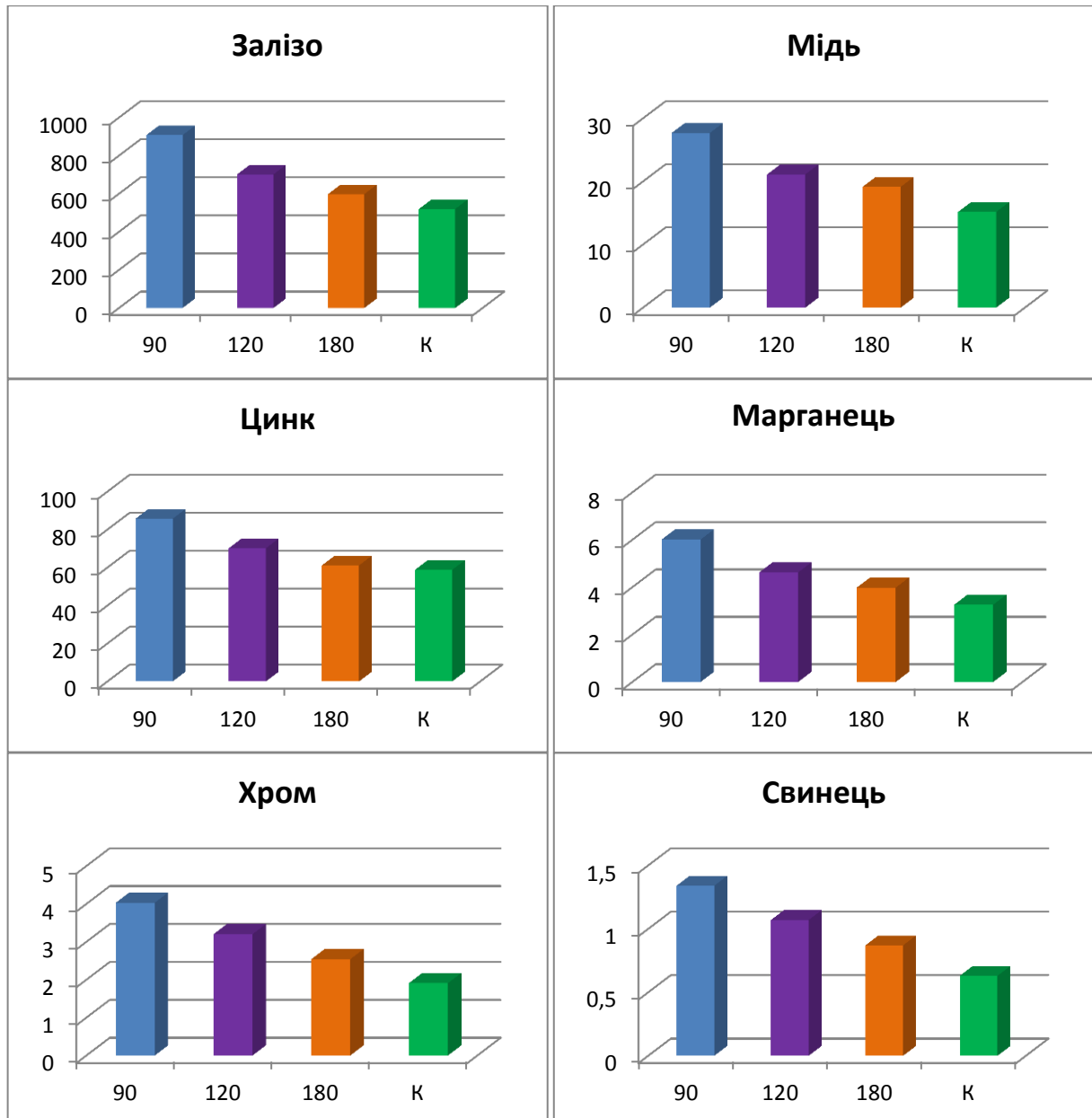


Рис. 3.44. Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 90 діб вживали СВМ з вітаміном Е (90), на 30 (120) та 90 (180) добу відновлення з продовженням отримувати вітаміну Е.

3.4. Дослідження показників крові у щурів.

З метою визначення функціонального стану КМ у статевозрілих щурів-самців ми дослідили кількісні показники крові – Нб, еритроцити, лейкоцити, тромбоцити та ШОЕ. Коливання ФЕК було індикатором кровотворної спроможності гемопоетичної тканини. Додатково нами проведено визначення деяких біохімічних параметрів крові – кальцію (Ca), натрію (Na), калію (K), креатиніну та сечовини. Вони вказували на загальний вплив ВМ на організм тварин, що опосередковано могло знайти відображення на гемопоезі.

Першим етапом дослідження стало визначення рівнів вищезазначених параметрів в інтактних тварин (тварини контрольних серій обох груп (табл. 3.4) – n=24). Так, кількість Нб була в межах від 138 г/л до 146 г/л (у середньому $142,08 \pm 2,13$ г/л), еритроцитів – від $4,12 \times 10^{12}/л$ до $4,78 \times 10^{12}/л$ (у середньому $4,42 \pm 0,21 \times 10^{12}/л$), лейкоцитів – від $7,6 \times 10^9/л$ до $8,6 \times 10^9/л$ (у середньому $8,16 \pm 0,29 \times 10^9/л$) та тромбоцитів від $246,4 \times 10^9/л$ до $266,4 \times 10^9/л$ (у середньому $256,8 \pm 4,52 \times 10^9/л$). ШОЕ коливалося від 1 до 3 мм/годину (Додаток 2, табл. 15).

Таблиця 3.4.

Середні показники загального аналізу крові в інтактних щурів

	Група 1, серія 1 (30 діб)	Група 1, серія 1(90 діб)	Група 2, серія 1 (30 діб)	Група 2, серія 1 (90 діб)
Нб (г/л)	142,33 ±3,01	141,83 ±2,32	142,33 ±2,16	141,83 ±1,17
Еритроцити ($\times 10^{12}/л$)	4,44 ±0,24	4,37 ±0,2	4,43 ±0,23	4,43 ±0,21
Лейкоцити ($\times 10^9/л$)	8,15 ±0,27	8,18 ±0,33	8,17 ±0,31	8,15 ±0,34
Тромбоцити ($\times 10^9/л$)	256,5 ±7,08	257,07 ±3,97	256,41 ±4,22	257,3 ±3,11
ШОЕ (мм/годину)	1-3	1-3	1-2	1-2

Статистично достовірних коливань між показниками загального аналізу крові у різних групах контрольної серії тварин не виявлено ($p > 0,05$).

Аналізуючи показники біохімічного аналізу крові (Додаток 0, табл. 16), виявлено, що рівень Са у середньому склав $3,02 \pm 0,07$ ммоль/л (від 2,89 ммоль/л до 3,14 ммоль/л), Na – $135,23 \pm 2,75$ ммоль/л (від 130,7 ммоль/л до 140,2 ммоль/л), К – $4,68 \pm 0,26$ ммоль/л (від 4,2 ммоль/л до 5,2 ммоль/л), креатинін – $78,79 \pm 3,87$ мкмоль/л (від 72,5 мкмоль/л до 88,2 мкмоль/л) та сечовина – $4,86 \pm 0,25$ ммоль/л (від 4,4 ммоль/л до 5,3 ммоль/л). Як і у випадку з ФЕК, статистично достовірних коливань між різними контрольними серіями тварин (табл. 3.5) нами не виявлено ($p > 0,05$).

Таблиця 3.5.

Середні показники біохімічного аналізу крові в інтактних щурів

	Група 1, серія 1, 30 діб	Група 1, серія 1, 90 діб	Група 2, серія 1, 30 діб	Група 2, серія 1, 90 діб
Са (ммоль/л)	3,03 $\pm 0,06$	3,0 $\pm 0,07$	3,03 $\pm 0,09$	3,01 $\pm 0,09$
Na (ммоль/л)	134,9 $\pm 4,08$	135,3 $\pm 2,96$	135,1 $\pm 1,65$	135,6 $\pm 2,53$
К (ммоль/л)	4,68 $\pm 0,32$	4,7 $\pm 0,33$	4,65 $\pm 0,27$	4,68 $\pm 0,17$
Креатинін (мкмоль/л)	78,65 $\pm 4,96$	79,1 $\pm 5,55$	78,45 $\pm 2,73$	79,97 $\pm 2,35$
Сечовина (ммоль/л)	4,88 $\pm 0,35$	4,87 $\pm 0,21$	4,85 $\pm 0,19$	4,83 $\pm 0,28$

Через 30 діб експерименту у щурів другої серії першої групи (Додаток 2, табл. 17), які вживали СВМ, кількість Нв зменшилась на 11,0 % ($p < 0,001$), еритроцитів – на 23,3 % ($p < 0,001$), кількість тромбоцитів зросла на 2,5 % ($p = 0,046$). Зміни лейкоцитів (зростання на 4,6 % ($p = 0,053$)) були не достовірними. При зростанні терміну одержання тваринами екзогенних полютантів (на 90 добу) рівень Нв зменшився на 18,4 %, еритроцитів – на 32,5 %, лейкоцитів – на 15,3 %, показники вмісту тромбоцитів зросли на 11,0 % ($p < 0,001$). Зазначені коливання параметрів ФЕК напряду залежали від терміну експерименту (рис. 3.45).

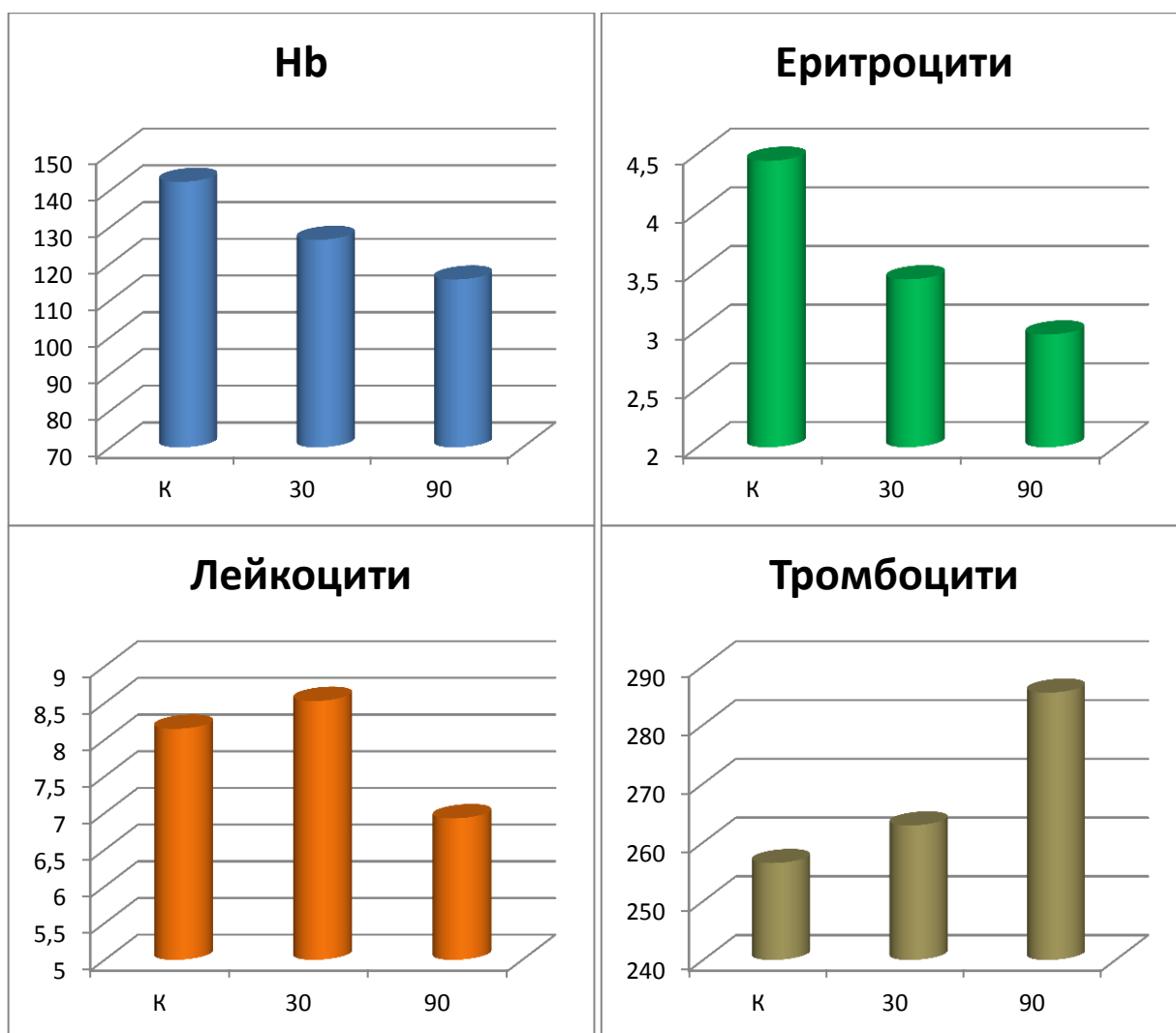


Рис. 3.45. Показники Hb (г/л), еритроцитів ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитів ($\times 10^9/л$) та тромбоцитів ($\times 10^9/л$) у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 30 (30) та 90 (90) діб вживали СВМ.

У крові щурів третьої серії першої групи (Додаток 2, табл. 18), які вживали СВМ разом з вітаміном Е, динаміка змін є не такою вираженою. Через місяць експерименту значення не дуже відрізнялися від показників контролю (рис. 3.46). Але на 90 добу спостерігалось зменшення показників Hb на 6,6 %, еритроцитів – на 23,3 %, лейкоцитів – на 13,2 %, а тромбоцити навпаки зросли на 8,2 % ($p < 0,001$).

У щурів обох експериментальних серій першої групи відбувалося поступове зростання ШОЕ, яке досягало статистично достовірної різниці ($p < 0,05$) лише на 90 добу спостереження.

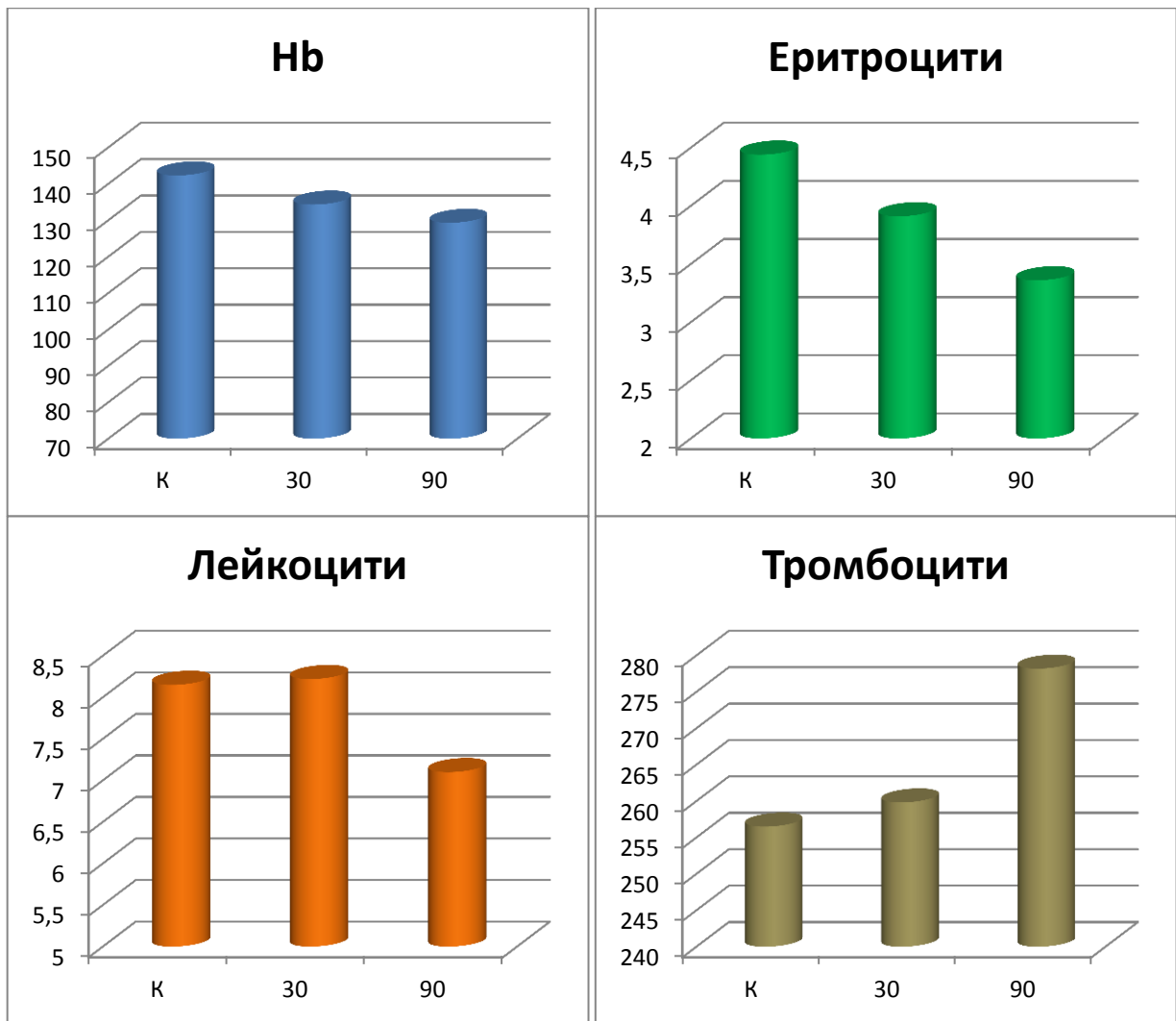


Рис. 3.46. Показники Hb (г/л), еритроцитів ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитів ($\times 10^9/л$) та тромбоцитів ($\times 10^9/л$) у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 30 (30) та 90 (90) днів вживали СВМ та вітамін Е.

У процесі відновлення у щурів показники крові поступово покращувалися, але не досягали рівня тварин контрольної групи (рис. 3.47). Темпи цієї динаміки також залежали від умов відновлення (Додаток 2, табл.19-21). Так, у щурів другої серії другої групи (до цього вживали СВМ) на 90 добу рівень Hb зріс на 12,6 %, еритроцитів – на 35,9 %, лейкоцитів – на 8,4 %, а кількість тромбоцитів зменшилася на 5,3 % ($p < 0,01$). У тварин третьої серії другої групи (після відміни СВМ почали давати вітамін Е) Hb підвищився на 17,5 %, еритроцити – на 39,3 %, лейкоцити – на 11,5 %, а показники тромбоцитів зменшилися на 6,8 % ($p < 0,001$). У тварин четвертої серії другої

групи (постійно отримували вітамін Е) кількість Нв зросла на 8,9 %, еритроцитів – на 26,3 %, лейкоцитів на 11,3 %, а тромбоцити зменшилися на 5,6 % ($p < 0,01$). Відбувалося поступова стабілізація показників ШОЕ.

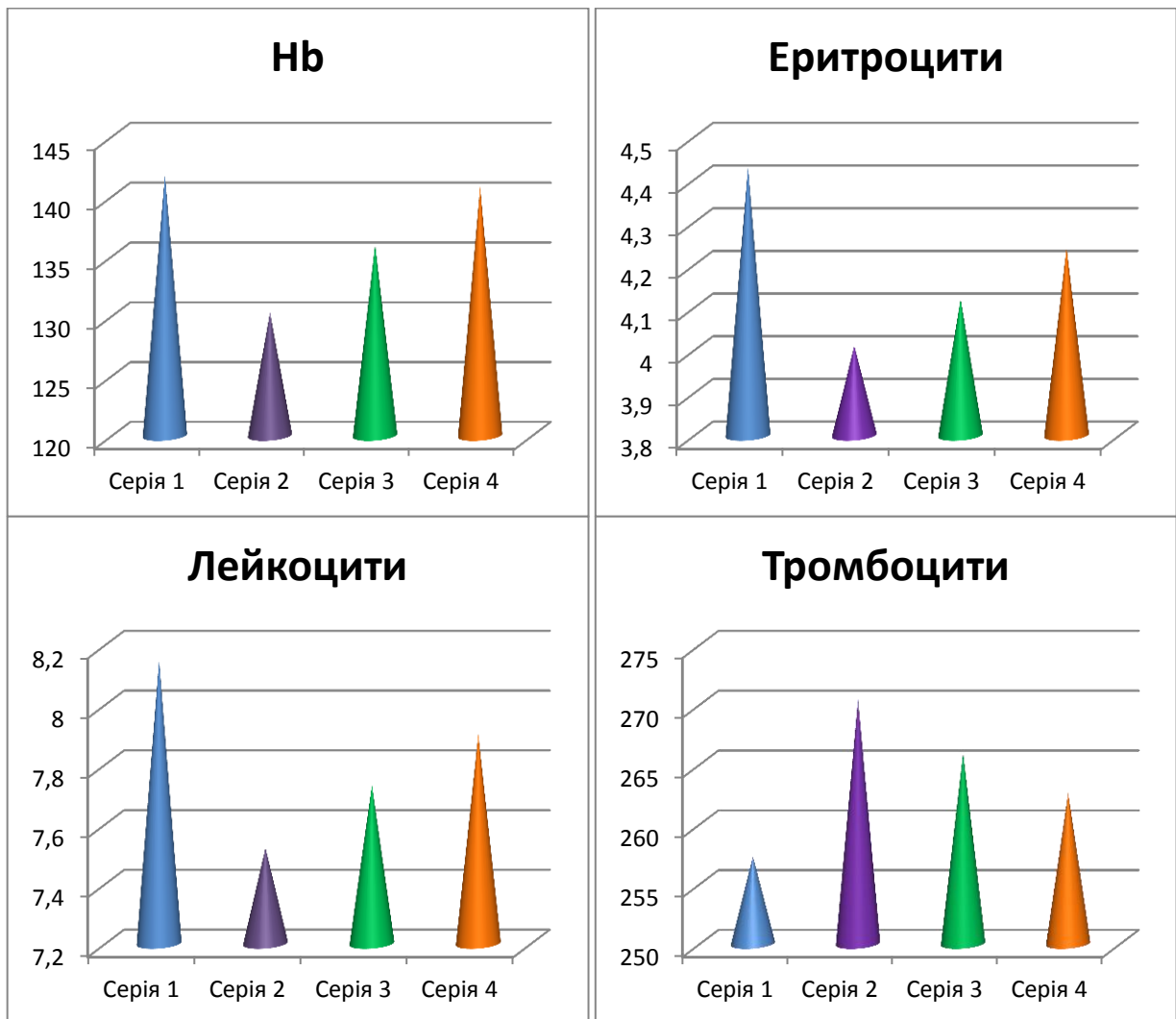


Рис. 3.47. Показники Нв (г/л), еритроцитів ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитів ($\times 10^9/л$) та тромбоцитів ($\times 10^9/л$) у щурів різних серій другої групи.

Зміни біохімічних показників крові у щурів другої та третьої серій першої групи мали подібну динаміку (табл. 3.6). При додаванні екзогенних поллютантів на 90 добу відбувалося зменшення кількості Са ($p = 0,003$), К ($p < 0,001$) та зростання рівня Na, креатиніну та сечовини ($p < 0,001$). За умови додавання коректора вищезазначені зміни були менш вираженими. Динаміка цих коливань напряму залежала від пролонгації експерименту (Додаток 2, табл. 22,23).

Показники біохімічного аналізу крові тварин першої групи.

	1 серія		2 серія		3 серія	
	30 діб	90 діб	30 діб	90 діб	30 діб	90 діб
Са (ммоль/л)	3,03 ±0,06	3,0 ±0,07	2,75** ±0,05	2,81* ±0,11	2,87* ±0,12	2,81** ±0,05
Na (ммоль/л)	134,9 ±4,1	135,3 ±3	144,6** ±2,6	155** ±3,6	140,1* ±1,1	147,5** ±3,1
К (ммоль/л)	4,68 ±0,32	4,7 ±0,33	4,3* ±0,14	3,98** ±0,15	4,5 ±0,23	4,2* ±0,1
Креатинін (мкмоль/л)	78,7 ±4,9	79,1 ±5,6	88,3** ±2,3	90,4** ±1,2	84,8* ±3,3	87,1* ±1,7
Сечовина (ммоль/л)	4,89 ±0,35	4,87 ±0,21	5,73** ±0,52	6,12** ±0,46	5,38* ±0,29	5,73** ±0,19

* – значення ступеню вірогідності (р) між двома незалежними вибірками за критерієм Стьюдента $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

У процесі відновлення ці показники поступово покращувалися (Додаток 2, табл. 24-26), але у більшості випадків не досягали значень тварин контрольної групи (табл. 3.7). Швидкість відновлення змін залежала від умов відновлення (наявна чи відсутня корекція вітаміном Е) та її терміну ($p < 0,05$).

Отже, проведені дослідження крові виявили поступове наростання змін у загальному та біохімічному аналізах крові. Коливання результатів залежали від умов проведення експерименту (вживання СВМ слугувало стимулятором відхилень, а споживання вітаміну Е – його інгібітором) та його терміну (продлонгація експерименту провокувала більш виражені коливання). У процесі відновлення, за рахунок зниження ВМ в організмі, відбувалася покращення параметрів крові, які, знову ж, знаходилися під впливом часу та споживання вітаміну Е. Хоча деякі показники через 90 діб були близькими до норми, вони у жодному разі не досягали значень крові тварин інтактної групи.

Таблиця 3.7.

Показники біохімічного аналізу крові тварин другої групи.

	1 серія		2 серія		3 серія		4 серія	
	30 діб	90 діб	30 діб	90 діб	30 діб	90 діб	30 діб	90 діб
Са (ммоль/л)	3,03 ±0,08	3,01 ±0,09	2,88 ±0,05	2,94 ±0,13	2,84 ±0,12	2,98** ±0,05	2,87 ±0,07	2,96* ±0,08
Na (ммоль/л)	135,1 ±1,6	135,6 ±2,5	149,6* ±2,3	143,8** ±4,4	142,3 ±1,5	137** ±2,6	146,3** ±2,6	139,9** ±2,5
K (ммоль/л)	4,65 ±0,27	4,68 ±0,17	4,17* ±0,1	4,37** ±0,12	4,3 ±0,14	4,55** ±0,16	4,2 ±0,18	4,45** ±0,23
Креатинін (мкмоль/л)	78,5 ±2,7	78,9 ±2,4	86,8** ±1,9	82,4** ±1,8	83,1* ±3,1	80,1** ±1,3	84,5** ±1,9	81,7** ±1,6
Сечовина (ммоль/л)	4,85 ±0,19	4,83 ±0,28	5,63 ±0,26	5,15* ±0,38	5,28** ±0,15	4,95** ±0,22	5,47* ±0,45	5,28* ±0,4

* – значення ступеню вірогідності (р) між двома незалежними вибірками за критерієм Стьюдента $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

3.5. Визначення взаємозв'язків між досліджуваними параметрами.

При порівнянні показників, одержаних при атомно-абсорбційній спектрофотометрії, з результатами гістологічного та ІГХ дослідження (визначення площі кожного з паростків кровотворення) встановлено, що при зростанні кількості ВМ у тканині КМ статевозрілих щурів відбувалося (на рівні епіфізів та діафізу) пригнічення еритроцитопоезу ($r = -0,54$ та $r = -0,46$, $p < 0,001$), гранулоцитопоезу ($r = -0,33$, $p = 0,004$ та $r = -0,48$, $p < 0,001$) та зростання площі тромбоцитопоезу ($r = 0,4$, $p < 0,001$). При чому найбільший вплив на варіабельність зазначених показників (при вивченні впливу кожного з досліджених елементів) має хром (для гранулоцитопоезу $r = -0,57$, еритроцитопоезу – $r = -0,57$, тромбоцитопоезу – $r = 0,47$, $p < 0,001$), а

найменший – цинк ($r = -0,44$, $p < 0,001$, $r = -0,51$, $p < 0,001$, $r = 0,37$, $p = 0,001$, відповідно). Інші метали також мали значний вплив на гемопоез, хоча їх кореляційні зв'язки мали менш виражений характер, у порівнянні із зазначеними ВМ (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Факторний аналіз між показниками вмісту ВМ у тканині КМ щурів та площею, зайнятою під різні паростки гемопоезу, враховуючи коефіцієнт кореляції Пірсона (r)

	Гранулоцитопоез	Еритроцитопоез	Тромбоцитопоез
Цинк	-0,44	-0,51	0,37
Мідь	-0,43	-0,58	0,44
Хром	-0,57	-0,57	0,47
Марганець	-0,54	-0,53	0,46
Свинець	-0,59	-0,52	0,48
Залізо	-0,48	-0,45	0,4

Показник (критичний) коефіцієнта кореляції Пірсона (r) для вибірки $n=72$ при рівні значимості $p \leq 0,05$ дорівнює 0,24, $p \leq 0,01$ – 0,31, $p \leq 0,001$ – 0,39.

Слід зазначити, що для кожної ланки кровотворення виявлено більш або менш значимий вплив окремих ВМ. Так, для процесу еритроцитопоезу другим найбільш інгібуючим металом стала мідь ($r = -0,58$, $p < 0,001$), для грануло- та тромбоцитопоезу – свинець ($r = -0,59$ та $r = 0,48$, $p < 0,001$ відповідно). Найменший вплив на еритро- та тромбоцитопоез виявлено для заліза ($r = -0,45$ та $r = 0,4$, $p < 0,001$), на гранулоцитопоез – для міді ($r = -0,43$, $p < 0,001$). Статистично достовірних коливань між вмістом ВМ у КМ та кількістю виявлених попередників лімфоцитів (Т та В популяцій) нами виявлено не було ($p > 0,05$).

Зростання рівнів усіх виявлених металів знайшло своє відображення й у показниках ЗАК. Так, у міру їх збільшення у КМ відбувалося зниження кількості Нв ($r = -0,93$, $p < 0,001$), еритроцитів ($r = -0,9$, $p < 0,001$), лейкоцитів

($r = -0,53$, $p < 0,001$) та зростання кількості тромбоцитів ($r = 0,71$, $p < 0,001$). Проведений аналіз між кожним елементом та показниками ЗАК установив, що найбільший вплив мали свинець та марганець, а найменший – цинк та мідь (табл. 3.9). Зниження рівня Hb більш яскраво проявлялося при накопиченні у КМ свинцю та заліза ($r = -0,85$ та $r = -0,93$, $p < 0,001$), зниження кількості еритроцитів – свинцю та марганцю ($r = -0,86$ та $r = -0,92$, $p < 0,001$), зменшення кількості лейкоцитів – свинцю та хрому ($r = -0,638$ та $r = -0,61$, $p < 0,001$), показники тромбоцитів зростали при накопиченні свинцю та хрому ($r = 0,81$ та $r = 0,77$, $p < 0,001$).

Таблиця 3.9.

Факторний аналіз між вмістом ВМ у тканині КМ щурів та показниками ЗАК, враховуючи коефіцієнт кореляції Пірсона (r)

	Hb	Еритроцити	Лейкоцити	Тромбоцити
Цинк	-0,8	-0,86	-0,47	0,61
Мідь	-0,81	-0,88	-0,48	0,63
Хром	-0,81	-0,92	-0,61	0,77
Марганець	-0,85	-0,92	-0,58	0,75
Свинець	-0,86	-0,88	-0,63	0,81
Залізо	-0,93	-0,89	-0,53	0,71

Показник (критичний) коефіцієнта кореляції Пірсона (r) для вибірки $n=84$ при рівні значимості $p \leq 0,05$ дорівнює 0,22, $p \leq 0,01$ – 0,29, $p \leq 0,001$ – 0,36.

Більш того, аналізуючи червоний паросток кровотворення, встановлено чіткий сильний кореляційний зв'язок між кількістю еритроцитів та Hb у периферичної крові статевозрілих щурів – $r = 0,81$, $p < 0,001$.

Дослідження спільних рис у накопиченні ВМ у гемопоетичній тканині і показниками БАК продемонструвало наявність чітких кореляційних зв'язків між цими параметрами. Виявлено негативні кореляційні зв'язки між накопиченням металів та показниками кальцію ($r = -0,61$, $p < 0,001$) та калію ($r = -0,71$, $p < 0,001$). Натомість, пролонговане акумулювання ксенобіотиків

призводило до зростання показників натрію ($r = 0,88$, $p < 0,001$), сечовини ($r = 0,76$, $p < 0,001$) та креатиніну ($r = 0,8$, $p < 0,001$) у периферичній крові.

Перевірка на наявність кореляційних зв'язків між окремими ВМ та кожним з показників БАК стала індикатором для виявлення значно більшого негативно впливу на мікроелементний склад крові та показники функціонування нирок (креатиніну та сечовини) саме для марганцю, при найменшому залученні до варіабельності вищезазначених даних міді. Незважаючи на це, зміна кількості всіх інших металів також прямо пропорційно (для натрію, сечовини та креатиніну) та обернено пропорційно (для кальцію та калію) відображалася на показниках БАК (табл. 3.10).

Таблиця 3.10.

Факторний аналіз між вмістом ВМ у тканині КМ щурів та показниками ЗАК, враховуючи коефіцієнт кореляції Пірсона (r)

	Са	Na	К	Креатинін	Сечовина
Цинк	-0,66	0,79	-0,67	0,78	0,74
Мідь	-0,62	0,82	-0,66	0,78	0,72
Хром	-0,61	0,84	-0,73	0,77	0,73
Марганець	-0,6	0,85	-0,72	0,77	0,75
Свинець	-0,56	0,87	-0,7	0,71	0,7
Залізо	-0,6	0,88	-0,73	0,79	0,76

Показник (критичний) коефіцієнта кореляції Пірсона (r) для вибірки $n=84$ при рівні значимості $p \leq 0,05$ дорівнює 0,22, $p \leq 0,01$ – 0,29, $p \leq 0,001$ – 0,36.

Враховуючи той факт, що показники периферичної крові, а саме ЗАК, на пряму залежать від функціонування КМ (кров є індикатором порушення кровотворної функції КМ), ми провели визначення зв'язків між варіабельністю площі гемопоезу та рівнями показників ЗАК. Нами виявлені сильні прямі кореляційні зв'язки між пригніченням еритроцитопоезу та даними еритроцитів та Нь у крові – $r = 0,75$ та $r = 0,5$, $p < 0,001$ на рівні епіфізів та $r = 0,68$, $p < 0,001$ та $r = 0,38$, $p = 0,001$ на рівні діафізу.

При порівнянні показників площі лейкоцитопоезу з кількістю лейкоцитів у периферичній крові також виявили сильні позитивні кореляційні зв'язки. Так, на противагу до показників червоного паростку кровотворення, більш сильні кореляційні зв'язки виявлено на рівні діафізу ($r = 0,87$, $p < 0,001$), у порівнянні з епіфізами ($r = 0,74$, $p < 0,001$).

Хоча динаміка змін показників тромбоцитів та тромбоцитопоезу спостерігалася у зворотньому напрямку (зростання обох показників), у порівнянні з іншими паростками гемопоезу, також виявлено їх односпрямованість. При зростанні кількості мегакаріоцитів у КМ щурів спостерігалася прямопропорційне підвищення тромбоцитів у ЗАК ($r = 0,58$, $p < 0,001$).

Аналізуючи результати проведеного статистичного дослідження вищезазначених параметрів, можна стверджувати, що накопичення ВМ у гемопоетичній тканині призводить до прямопропорційного зменшення грануло- та еритроцитопоезу, при одночасному зростанні кількості мегакаріоцитів. Це, відповідно, проявляється у порушенні однієї з основних функцій КМ – утворення ФЕК. Це яскраво продемонстровано на наявності кореляційних зв'язків між показниками гемопоезу та даними ЗАК. Окремо виявлено прямопропорційну динаміку між акумулюванням ВМ у КМ та змінами БАК та ЗАК. Це свідчить про можливість постійного впливу полютантів на інші органи в організмі щурів (за рахунок порушення їх функції відбувається збільшення або зменшення різних показників крові), що можуть, по-перше, бути індикатором їх ураження, по-друге, – мати додатковий вплив на пригнічення кровотворної функції КМ, по-третє, надавати інформацію не тільки про ураження паренхіматозної частини КМ, а й окремих складових стромі (кісткової тканини), що може виступати джерелом мікроелементів (кальцію).

Матеріали з даного розділу висвітлені у наступних публікаціях:

1. Романюк АМ, Гринцова НБ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковій системі та внутрішніх органах за умови

впливу на організм солей важких металів. Актуальні питання медичної науки і практики. 2015;82(2);155–160.

2. Romaniuk A, Lyndina Yu, Sikora V, Lyndin M, Karpenko L, Gladchenko O, Masalitin I. Structural features of bone marrow. *Interv Med Appl Sci.* 2016;9(2):105–11. DOI: 10.1556/1646.8.2016.3.3

3. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. *Turk Patoloji Derg.* 2018;34(1):73–81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412.

4. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гусак ЄВ, Сумцова НГ. Визначення важких металів у кістковому мозку щурів в умовах модельованого мікроелементозу. *Вісник проблем і медицини.* 2018;1(142):171–7.

5. Гринцова НБ, Романюк АМ, Линдін МС, Линдіна ЮМ. Вплив забруднювачів водного середовища (солей важких металів) на неспецифічні механізми регуляції гемопоезу за умов підгострої дії та корекції антиоксидантами (І-токоферол). *Екологічні науки.* 2018;1(20): 126–30.

6. Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гирявенко НІ, Линідн МС, Романюк АМ. Дослідження протективних властивостей вітаміну Е на кістковий мозок щурів в умовах підвищеного споживання солей важких металів. *Вісник Вінницького національного медичного університету.* 2019;23(1):59–64.

7. Романюк АН, Гринцова НБ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Лындина ЮН. Морфологические изменения в костной системе и внутренних органах в условиях влияния на организм солей тяжелых металлов. В: *Збірник тез VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії; 2015 Верес 16-18; Запоріжжя. Запоріжжя: Запорізький державний медичний університет; 2015, с. 77.*

8. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Дослідження гістологічних особливостей червоного кісткового мозку у статевозрілих щурів. В: *Деміхова НВ, редактор. Збірник тез доповідей III Міжнародної науково-практичної*

конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2015 Квіт 23-24; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2015, с. 222–23.

9. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковому мозку щурів за умов впливу на організм солей важких металів. В: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. Перспективні напрями наукових досліджень – 2015; 2015 Жовт 17-22; Братислава. Київ: Вид-во «Центр навчальної літератури»; 2015. Том 2; с. 116–17.

10. Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ, Фесюра ГМ. Гістологічні особливості стромального компоненту кісткового мозку статевозрілих щурів. В: Деміхова НВ, редактор. Збірник тез доповідей IV Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2016 Квіт 21-22; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2016. Том 1; с. 135.

11. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Линдін МС, Будко ГЮ. Особливості будови кісткового мозку у щурів. В: Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції. Природничі читання 2016; 2016 Трав 19-22; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2016, с. 69–70.

12. Vambizzle D, Lyndina Yu, Romaniuk A, Sikora V. Features of histological and immunohistochemical structure of rat's bone marrow. In: Third global students' conference of biomedical sciences: abstract book; 2016 Oct 20–23; Belgrade. Belgrade: Faculty of Medicine, University of Belgrade; 2016, p. 75.

13. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Гістоморфологічні зміни кісткового мозку за умов впливу солей важких металів. В: Марковський ВД, Сорокіна ІВ та ін, ред. кол. Збірник матеріалів заочної науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведенкова. Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи; 2016 Груд 24; Харків. Харків: ХНМУ; 2016, с. 103–5.

14. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Особливості процесу реадaptaції у кістковому мозку щурів після вживання солей важких металів. В: Погорелов МВ, редактор. Збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2017 Квіт 20-21; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 195-6.

15. Romaniuk AM, Sikora VV, Lyndina YM, Unawunwa F. Protector properties of the vitamin E in the urinary bladder and bone marrow under conditions of simulated effect of heavy metals in high concentrations. In: Cibakova V, Boychuk TM, editors. Natural Science Readings: abstract book; 2017 May 18-21; Bratislava; 2017, p. 53-4.

16. Линдіна ЮМ. Особливості елементного складу кісткового мозку щурів за умов споживання солей важких металів. В: Погорелов МВ, редактор. Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету. Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 Лист 16-17; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 28.

17. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Особливості гематологічних показників за умови впливу солей важких металів на статевозрілих щурів-самців. В: Вадзюк СН, редактор. Збірник матеріалів науково-практичної конференції. Довкілля і здоров'я; 2017 Квіт 27-28, Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017, с. 205-6.

18. Линдіна ЮМ. Порівняльний аналіз морфологічної будови кісткового мозку щурів та людини. В: Корда ММ, редактор. Матеріали XXII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2018 Квіт 23–25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 265-6.

19. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ. Вивчення мієлопротективних властивостей вітаміну Е при надходженні підвищеної кількості солей важких металів у статевозрілих щурів. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 60-річчю від дня

народження професора Ю.Т. Ахтемійчука. Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі; 2018 Верес 13-15; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет, 2018, с. 116–7.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.

В умовах сучасного прогресу та розвитку промисловості значної актуальності набули питання впливу екзогенних поллютантів на організм людини. Одними з таких ксенобіотиків є СВМ, які згідно з епідеміологічним дослідженням, у деяких регіонах значно перевищують фізіологічні концентрації у навколишньому середовищі [6,7,119,122]. Щодо Сумської області, то такими екологічно-несприятливими регіонами є Середино-Будський, Шосткинський та Ямпільський райони, де кількість СВМ у довкіллі (солі Fe, Cu, Zn, Mn, Pl та Cr) більша за гранично допустимі концентрації [6,202].

Без сумніву, ВМ (метали з атомною масою більше 50) це життєво необхідні елементи, які потенціюють значну кількість реакції у всіх живих організмах [7-10]. За рахунок впливу на активність ферментів (входять до їх складу) вони беруть участь у підтриманні кислотно-лужного гомеостазу [10], утворенні АТФ [13], окисно-відновних реакціях [7,10], гемопоезі [7,8], стабілізації структури нуклеїнових кислот та інші [13,126]. Але за умови їх надлишкового надходження до організму або порушенні їх метаболізму вони проявляють свої токсичні властивості, хоча більшість з них є есенційними мікроелементами [11,12]. Вони активують ПОЛ та утворення АФК [15,128], змінюють структуру нуклеїнових кислот [130], впливають на якісний і кількісний склад крові [24] та інші. Цікавим є факт синергічного та конкуруючого впливу ВМ один відносно іншого, з можливістю впливати на прояв їх функціональної активності [12,16,117].

Упродовж останнього десятиліття проведено значну кількість досліджень з вивчення впливу поллютантів (у тому числі і ВМ) на різні органи піддослідних тварин [21,22,136]. Гемопоетична тканина також не залишилася без уваги [3,69,73,86]. Було виявлено значну кількість порушень у КМ (зміна якісного та кількісного складу, диспластичні явища) при захворюванні інших органів та

екзогенних впливах ксенобіотиків [79-82]. Проведені експериментальні дослідження з виявлення пагубної дії ВМ у більшості випадків стосувалися або визначення їх токсичної дії на кров [25], або вивчення впливу окремих МЕ на гемопоез [24,135]. Нами не виявлено даних щодо комплексного впливу солей заліза, міді, хрому, марганцю, свинцю та цинку на морфофункціональні особливості КМ та показники крові, що й стало метою подальших наших досліджень.

Останнім часом все більше уваги приділяється вивченню змін у кровотворній тканині шляхом комплексного дослідження морфологічних особливостей КМ, у зв'язку з неможливістю одержання достатньої інформації при цитологічному вивченні кровотворної тканини [26]. Завдяки виконанню трепанобіопсії клубової кістки та виготовленню гістологічних препаратів стало можливо оцінювати не тільки паренхіматозний компонент КМ (різні попередники гемопоезу), але і зміни з боку стромы, яка відіграє регулюючу роль у проліферації та дозріванні усіх ФЕК [27].

Окремою складовою проведених експериментів став пошук коректора. Враховуючи значну прооксидантну дію ВМ у клітинах та поза ними, ми вирішили використати вітамін Е. Цей препарат має значну антиоксидантну [29,30,156,157] та ангіопротекторну дію [28], попереджає мутагенну активацію ДНК [32], стабілізує клітинні мембрани [31] та інше, що гіпотетично мало протидіяти токсичному впливу ксенобіотиків. Кількість протектора визначали, враховуючи терапевтичну дозу для людини та видову приналежність тварин, у зв'язку з доведеною антагоністичною дією вітаміну Е при його надлишковому надходженні до організму [33,34].

З метою визначення впливу СВМ на кровотворення нами проведене дослідження на 84 білих щура-самця статевозрілого віку (4 місяці), враховуючи відсутність варіабельності у будові гемопоетичної тканини у даного виду тварин в цей період життя [4]. Дизайн експерименту побудували, враховуючи різні варіанти впливу СВМ та умов відновлення. Тварини першої групи відповідали умовам отруєння СВМ (серія 2) та можливості корекції вітаміном Е

(серія 3). Щури другої групи були індикатором періоду відновлення при вилученні з раціону СВМ (серія 2), додаванні вітаміну Е після припинення споживання ксенобіотиків (моделювання прискорення регенераторних властивостей КМ) – серія 3 та продовження споживання коректора у відновний період – серія 4. Вивчення процесу кровотворення проводили на стегнових кістках щурів, які, згідно літературних даних, є найкращими органами для комплексного аналізу гемопоезу [1,4,51]. Функціональну спроможність КМ оцінювали за показниками периферичної крові – дослідження кількості Нв, еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів. Атомна спектрофотометрія виконана з метою вивчення кількісного складу ВМ (Fe, Cu, Zn, Mn, Pl та Cr) у КМ та порівняння варіабельності його кількості з гематологічними показниками та якісним і кількісним складом КМ.

Першочергово нами було проведено дослідження гістологічних особливостей КМ в інтактних щурів на всіх термінах спостереження (серія 1 першої та другої групи). Ми не виявили статистично достовірної різниці у коливанні кількісного складу КМ та крові впродовж усього терміну спостереження, що ще раз підтвердило необхідність вивчення КМ у статевозрілих щурів, починаючи з 4 місяця їх існування [1,4,51].

Оцінюючи результати проведених досліджень, можна стверджувати, що для КМ піддослідних тварин, як і для будь-якого іншого органа, характерна наявність стромально-паренхіматозної будови. Гемопоетична тканина наявна в усіх відділах стегнової кістки – кістково-мозковому каналі діафіза та міжтрабекулярному просторі губчастої кістки епіфізів. У залежності від відділу стегнової кістки співвідношення між цими компонентами різне – для епіфізів характерне переважання строми (в середньому 79,1 %), для діафіза – гемопоетичної тканини (69,6 %). Так, стромальний компонент КМ представлений кістковою тканиною ($48,8 \pm 3,3$ % на рівні епіфізів), сіткою кровоносних судин ($18,7 \pm 2,1$ %), жировою ($11,0 \pm 2$ %) та фіброзною ($0,7 \pm 0,2$ %) тканинами, в яких дифузно розсіяні макрофаги і мастоцити, сіткою ретикулярних волокон. Значна васкуляризація кровотворної тканини та

наявність фенестрування у будові капілярів є передумовою до легкого потрапляння токсичних речовин до гемопоетичної тканини при зростанні їх кількості у крові. Гістологічне дослідження (зabarвлення гематоксиліном та еозином) із залученням додаткових гістохімічних методик забарвлення (за Ван-Гізоном та ШИК-реакція) дозволили виявити впорядкованість розміщення всіх компонентів строми – складну тривимірну структуру кісткових балок у ділянці епіфізів, відцентрованість спрямування кровоносних судин у напрямку до ендоста на рівні діафіза, прицентровість локалізації ліпоцитів з тенденцією до згрупування в епіфізах та розміщення одним безперервним шаром на поверхні трабекул.

Гемопоетична тканина (паренхіма КМ) займає $20,9 \pm 3,7$ % на рівні епіфізів стегнової кістки та $69,6 \pm 2,2$ % – на рівні діафіза. Серед них на гранулоцитопоез відводиться $74,2 \pm 4,7$ %, на еритроцитопоез – $24,3 \pm 4,7$ %, на лімфоцитопоез – не більше ніж $5,0$ %. Мегакаріоцити займають $0,1-0,3$ % площі кровотворення. Спостерігається чітка зональність розташування у різних паростках кровотворення. Попередники гранулоцитів (на рівні епіфізів вони займають у середньому $14,8 \pm 1,4$ %, на рівні діафіза – у середньому $51,2 \pm 3,3$ %) здебільшого розміщуються в ендостальних ділянках епіфізів та навколо синусоїдів діафіза. У клітин, що перебувають на нижчій сходинці диференціювання (мієлобласти, промієлоцити), спостерігається більш інтенсивна реакція при ІГХ виявленні рецепторів МПО (незважаючи на зростання її кількості у цитоплазмі більш диференційованих попередників гранулоцитопоезу).

Еритроцитарний паросток представлений у вигляді острівців, розміщеними більш центрально та біля капілярів (займає в середньому $5,3 \pm 1,4$ % на рівні епіфізів та $17,8 \pm 3,3$ % – на рівні діафіза). Усі представники еритроїдного диферона знаходяться навколо центрально-розміщеного макрофага (S100-позитивні клітини). Наявна тенденція до більш наближеної локалізації менш диференційованих форм еритроцитопоезу щодо макрофага. Із зростанням диференціювання клітин, як для еритроцитопоезу, так і для

гранулоцитопоезу характерні поступове зменшення їх розмірів, конденсація хроматину у ядрі, зміна форми ядра, накопичення гемоглобіну (для попередників еритроцитів) та гранулярної зернистості (для попередників гранулоцитів) на завершальних стадіях диференціювання.

Коливання кількості вищезазначених ліній гемопоезу знайшло своє відображення на показниках М:Е співвідношення, яке знаходилося на рівні 2:1-5:1. При переважанні гранулоцитопоезу воно зростало, при збільшенні площі еритроцитопоезу – знижувалося.

Попередники лімфоцитів (CD3 та CD79 α) характеризувалися розсіяним типом розміщення з поодинокими випадками згруповування і відносно сталою їх кількістю (не перевищували 5,0 %). Мегакаріоцити (вони займають приблизно 1-3 %) виявляються поодинокі, групами та кластерами чітко біля синусоїдів з явищами клазматозу в просвіт кровоносних судин. Наявна зернистість у середині цих клітин, яка містить глікоген, дозволяє дуже легко візуалізувати їх при забарвленні гістологічних препаратів на вуглеводи (ШИК-реакція) – вони мають яскраву рожеву цитоплазму, яка виокремлює ці клітини поміж інших гемопоетичних клітин (останні мають у більшості випадків прозору цитоплазму).

Враховуючи можливість впливу екзогенних чинників (СВМ) на процес гемопоезу (наявність умов для гематотоксичного впливу ксенобіотиків), важливим було отримати дані про особливості будови КМ щурів та порівняти їх з даними будови КМ людини для подальшого біомоделювання цих впливів.

Порівнюючи кількісні та якісні показники червоного КМ щурів та людини, значних відмінностей не було виявлено [1,5], хоча клітинам гемопоезу щурів були властиві певні особливості. У більшості еозинофілів, юних та паличкоядерних нейтрофілів наявні кільцеподібні ядра тому, що у щурів розвиток гранулоцитів проходить за кільчастим типом [1]. Зернистість нейтрофільних гранулоцитів дуже дрібна, їх ядра більш сегментовані (5–8 сегментів). Базофільні гранулоцити (мастоцити) великих розмірів, зустрічаються у вигляді поодиноких клітин. Серед паренхіматозного

компоненту в дещо меншій кількості, у порівнянні з КМ людини, спостерігаються лімфоцити (до 5,0 % проти 10-15 % у людини). На відміну від людей, мегакаріоцити у щурів часто мають згрупований тип розміщення, утворюючи групи (до 5 клітин) і кластери (більше 5 клітин).

Отже, одержані результати дозволяють у майбутніх дослідженнях моделювати різні впливи на щурах, враховуючи велику тотожність морфологічної будови КМ, який є центральним органом гемопоезу у ссавців, та «інтерполювати» результати про їх можливий вплив на людей.

З метою визначення функціонального стану КМ у статевозрілих щурів-самців ми дослідили кількісні показники крові – коливання ФЕК могло бути індикатором кровотворної спроможності гемопоетичної тканини. Додатково ми провели визначення деяких біохімічних параметрів крові – Са, Na, К, креатиніну та сечовини. Вони побічно свідчили про загальний вплив ВМ на організм тварин, що опосередковано могло відбитися на гемопоезі. Так, нами виявлено, що в інтактних тварин (тварини першої серії обох груп) кількість Нв в середньому становила $142,08 \pm 2,13$ г/л, еритроцитів – $4,42 \pm 0,21 \times 10^{12}$ /л, лейкоцитів – $8,16 \pm 0,29 \times 10^9$ /л і тромбоцитів $256,8 \pm 4,52 \times 10^9$ /л. ШОЕ коливалася від 1 до 3 мм/годину. Аналізуючи показники біохімічного аналізу крові, виявлено відносно стабільні показники Са (в середньому становив 3,02 ммоль/л) Na (135,23 ммоль/л), К (4,68 ммоль/л), креатиніну (78,79 мкмоль/л) та сечовини (4,86 ммоль/л).

Атомно-абсорбційна спектрофотометрія дозволила встановити вміст Fe, Cu, Zn, Mn, P1 та Cr у КМ, який був одержаний зі стегового сегменту (у його середній частині) шляхом виштовхування вмісту кістково-мозкової порожнини за допомогою бужуючих засобів. КМ характеризувався варіабельним умістом різних ВМ зі значним переважанням заліза (в середньому 516,32 мкг/г), міді (в середньому 15,15 мкг/г) та цинку (в середньому 58,72 мкг/г) при відносно низьких показниках вмісту марганцю (в середньому 3,3 мкг/г), хрому (в середньому 1,9 мкг/г) та свинцю (в середньому 0,63 мкг/г). Загальна кількість ВМ у гемопоетичній тканині у середньому становила 596,1 мкг/г.

Статистично достовірних відмінностей між показниками загального та біохімічного аналізу крові і вмістом ВМ у всіх тварин контрольних серій згідно критерію Стьюдента нами не виявлено ($p > 0,05$).

КМ у процесі життєдіяльності зазнає значних змін, що пов'язано з його віковими особливостями та впливом на нього навколишнього середовища [4,24]. Під дією екзогенних полютантів виникають значні зміни у всьому організмі, у тому числі і гемопоетичній тканині. Вони, потрапляючи до організму, надходять до всіх органів та акумулюються у них. Проведене експериментальне дослідження з додаванням до водного раціону щурів СВМ (тварини 2-ї серії 1-ї групи) виявило значні коливання кількості ВМ у КМ (рис. 4.1 – А). Спостерігалось стрімке накопичення Fe, Cu, Zn, Cr, Mn та Pb з пролонгацією дослідження.

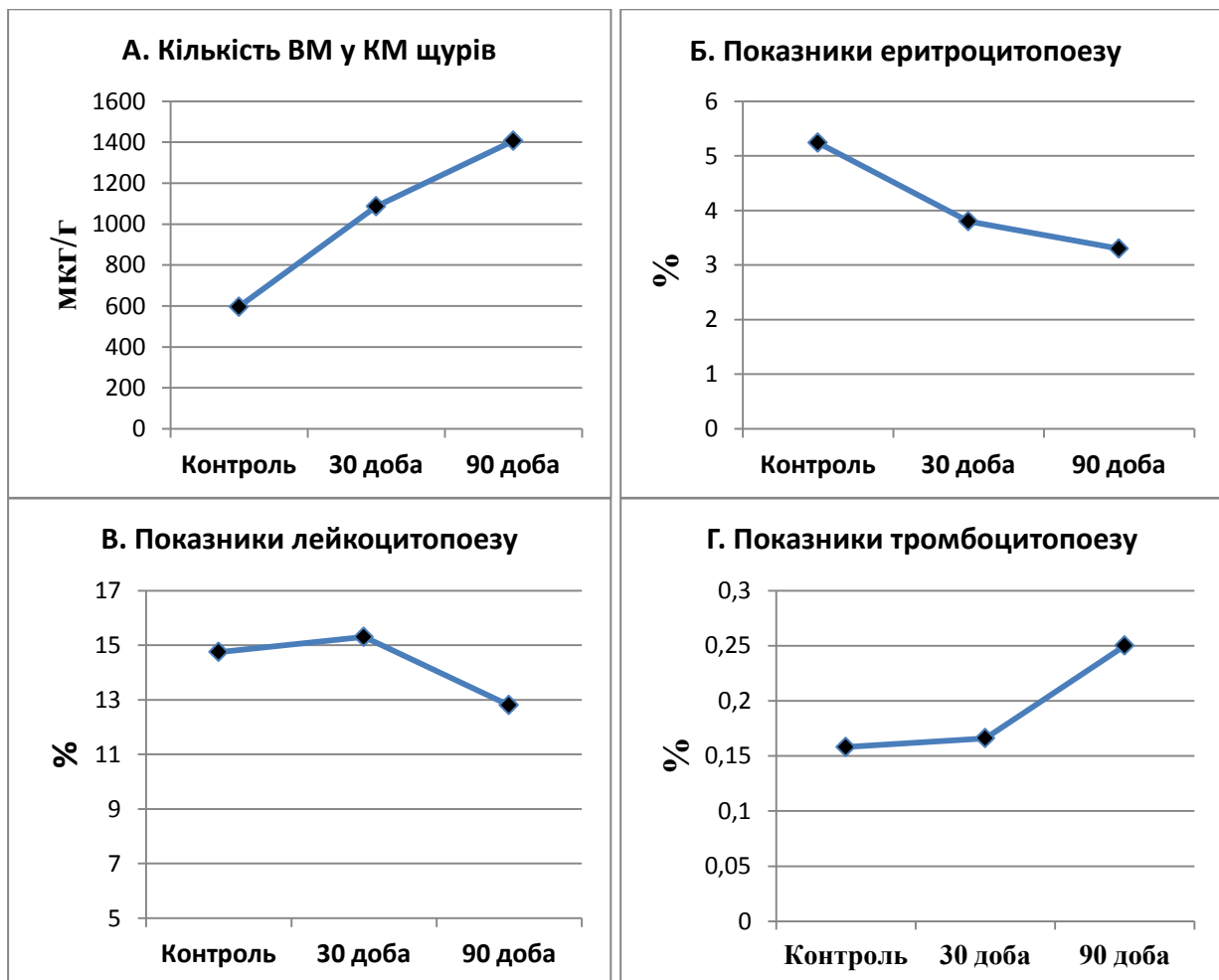


Рис. 4.1. Зміни щодо накопичення ВМ (А) у КМ щурів 2-ї серії 1-ї групи та особливості коливання при цьому різних паростків гемопоезу (Б, В, Г)

Нами виявлено різну інтенсивність акумулювання вищезазначених ВМ – найбільше зростала кількість заліза, хрому та свинцю, при умові найнижчого накопичення цинку. Це пояснюється підвищеною чутливістю КМ до заліза (інтенсивне його використання в еритроцитопоезі), порушенням захисних механізмів до надлишкових доз токсичних елементів (хром та свинець), наявністю антагоністичних відносин між різними мікроелементами (цинк, конкуруючи з іншими ВМ, призводить до їх виведення), зростанням проникності судинної стінки [8,12,13]. При пролонгації експерименту відбувалося зростання накопичення поллютантів, але темпи цього акумулювання ставали менш вираженими у зв'язку з можливою активацією компенсаторних механізмів. Так, упродовж 90 діб відбулося зростання кількості Fe 147,0 %, Cu – на 130,6 %, Zn – на 59,4 %, Mn – на 105,0 %, Cr – на 134,7 % та Pb – на 182,0 %. Загальна кількість ВМ зросла на 137,5 % щодо контролю.

Накопичення ВМ у гемопоетичній тканині відобразилося на кровотворенні (рис. 4.1 – Б, В, Г). У КМ спостерігався стрімкий розвиток мікроелементозу (зміна якісних та кількісних показників усіх паростків гемопоезу й оточуючих тканин). Нами виявлено, що при пролонгації впливу екзогенних поллютантів відбувалося пригнічення еритроцито- та лейкоцитопоезу, синхронне зростання кількості мегакаріоцитів. Такі зміни мали тенденцію до наростання за пролонгації експерименту і досягали значних рівнів відхилення на 90-ту добу спостереження – площа еритроцитопоезу знизилася на 36,6 % на рівні епіфізів та на 19,7 % на рівні діафізу, площа гранулоцитопоезу зменшилася на 13,0 % та 14,3 % відповідно, тромбоцитопоез зріс на 40,0 %. Короткочасне зростання гранулоцитопоезу (30-та доба) пояснюється активацією прозапальних механізмів як у КМ, так і в інших органах, що є одним з проявів пагубної дії ВМ (рис. 4.1 – В).

Як виявилось, найбільш чутливою складовою КМ є еритропоетична тканина (рис. 4.1 – Б), пригнічення якої досягає 36,6 %, що проявляється стрімко виникаючою анемією, яка потім може як стимулювати, так і посилювати, спровокований важкими металами тромбоцитоз. Також ми

виявили певну особливість пригнічення кровотворення – зменшення кровотворної тканини більш виражене в ділянці епіфізів, хоча в людей гематотоксичний ефект більш виражений у діафізі з тенденцією до поширення в напрямку епіфізів. У зв'язку із синхронними змінами (зниженням) як площі еритроцитопоезу, так і гранулоцитопоезу відхилень значень М:Е співвідношення у КМ щурів в усіх термінах дії СВМ не спостерігалось.

Поряд із кількісними змінами у КМ щурів виникали та в міру пролонгації експерименту наростали й якісні зміни – явища апоптозу та некрозу клітин, макрофагальна інфільтрація, міксоматоз, крововиливи, ектазія судин, набряк, ліпоматоз, диспластичні зміни в усіх паростках гемопоєзу, порушення стратифікації розміщення клітин еритрона та попередників гранулоцитів, зміни архітектоніки кісткових балок та інші.

Зміни в системі лімфоцитопоезу не мали статистично-достовірних відмінностей, що може бути пов'язано з відсутністю впливу ВМ на їх утворення в КМ.

Оскільки КМ є основним органом кровотворення, то коливання в його показниках повинно відобразитися на рівнях ФЕК, що і було виявлено під час оцінки ЗАК (рис. 4.2-А).

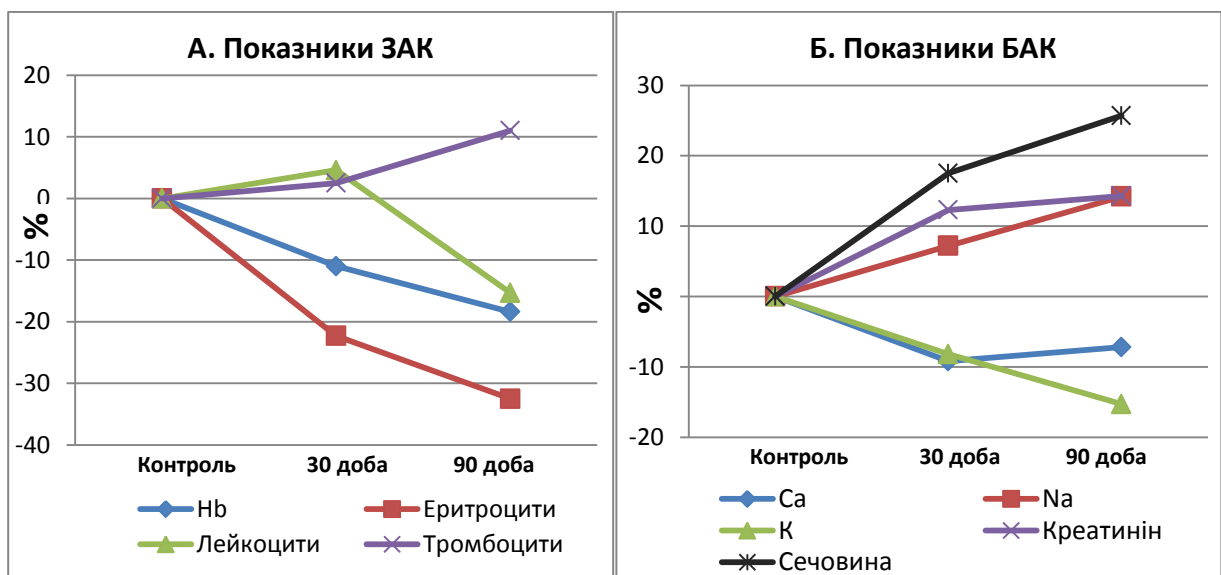


Рис. 4.2. Показники ЗАК (А) та БАК (Б) у щурів 2-ої серії 1-ої групи.

Так, гематотоксичний ефект ВМ призвів до зниження кількості еритроцитів через 3 місяці на 32,5 %, Hb – на 18,4 %, лейкоцитів – на 15,3 %, а кількість тромбоцитів зросла на 11,0 %. Наявність сильного кореляційного зв'язку ($p < 0,001$) вказує на синхронність порушень у системі гемопоез-кров.

Як видно з результатів дослідження, у процесі надходження СВМ до організму відбуваються значні зміни і в БАК (рис. 4.2 – Б), що виявляються зростанням кількості Na, креатиніну та сечовини з одночасним зменшенням кількості Ca і K.

Після припинення додавання СВМ до води (тварини 2-ї серії другої групи) у щурів поступово зменшувалися зміни в досліджуваних показниках гемопоетичної тканини (рис. 4.3).

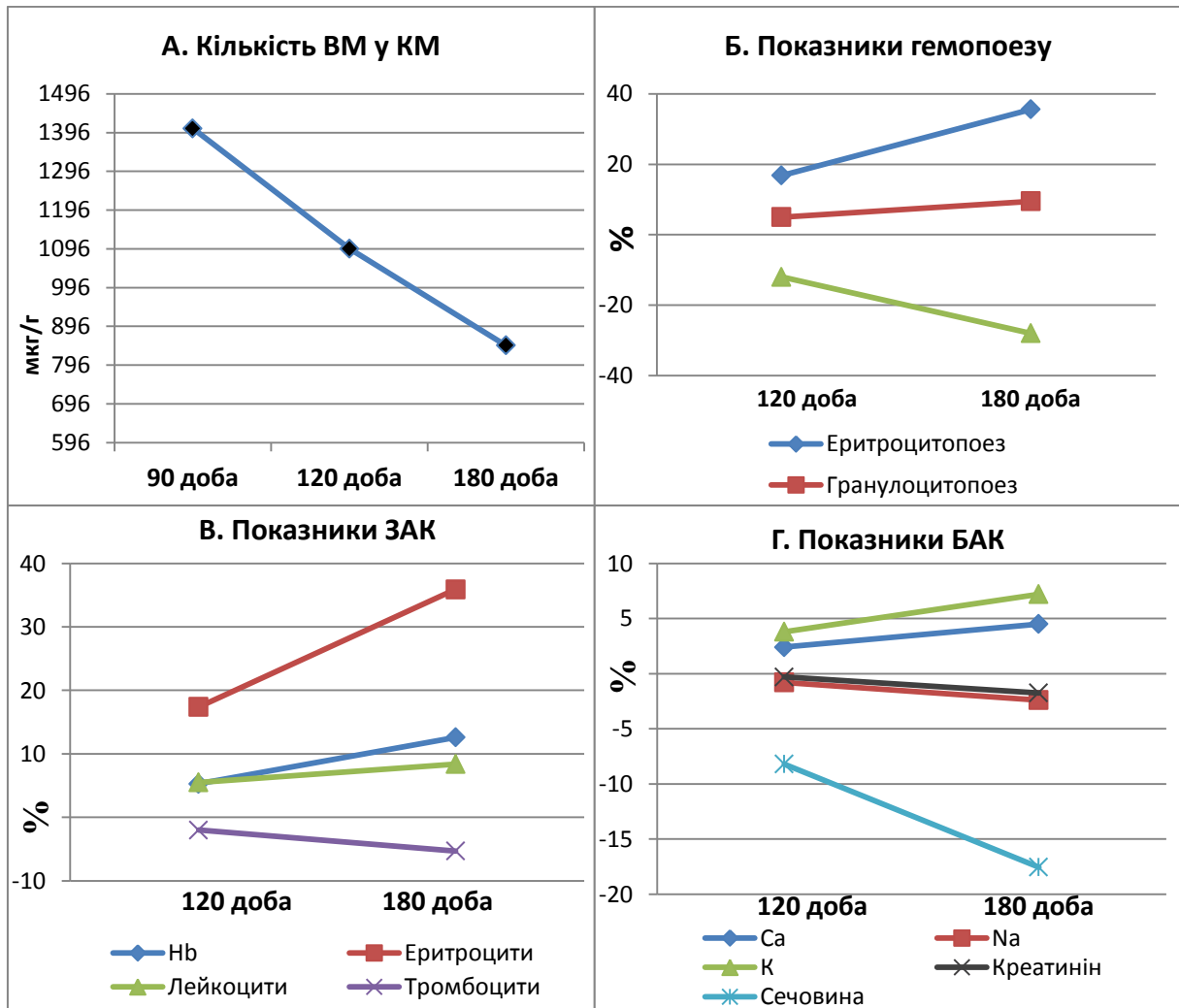


Рис. 4.3. Показники КМ (А,Б) та крові (В,Г) у тварин щурів 2-ої серії 2-ої групи.

А – показники вмісту ВМ у КМ, Б – динаміка коливання (%) площі різних паростків кровотворення, В,Г – динаміка коливання (%) показників крові.

У процесі відновлення спостерігалися виведення ВМ із КМ (найбільш повільно виводилися свинець і хром), зростання площі еритроцито- та лейкоцитопоезу, зменшення кількості мегакаріоцитів, зникали дистрофічні та диспластичні зміни в складі паренхіми і строми, поступово відновлювалися показники ЗАК та БАК.

Синхронність вищезазначених змін, супроводжуваних сильними кореляційними зв'язками між цими параметрами ($p < 0,001$), дозволяє з високою ймовірністю стверджувати про тісні взаємозв'язки між накопиченням ВМ, гематотоксичним ефектом цих полютантів та пригніченням функції КМ (зниження ФЕК). Хоча й спостерігалось значне покращання всіх показників, їх значення навіть на 90 добу відновлення значно відрізнялися від результатів інтактної групи тварин.

Зазначені зміни пов'язані з прямою та опосередкованою гематотоксичною дією ВМ (рис. 4.4). Безпосередньо впливаючи на функціонування гемопоетичних клітин (посилення ПОЛ та утворення АФК) [13,151], пригнічення антиоксидантних систем [128], дестабілізація ДНК [117,130], деактивація ферментних систем [128], ВМ пригнічують проліферативну активність клітин та блокують їх дозрівання [14,117], підвищують проникність судинної стінки [134]. Накопичуючись у складі стромального компонента КМ [16,132,137], вони попереджають повне виведення їх з організму, за умови відміни додавання СВМ до води, та пролонгують свій хронічний гематотоксичний ефект.

Значне місце в пригніченні гемопоезу відіграє й естрогеноподібна активність ВМ [131,203], що знаходить своє відображення у нормальному аналізі крові (показники еритроцитів та Нв чоловіків вищі, а тромбоцитів нижчі у порівнянні з жінками). Тому, при зростанні кількості ВМ у крові посилюється їх естрогеноподібна дія на КМ, враховуючи наявність рецепторів до естрогену у клітинах гемопоезу [204]. Ми не виключаємо пряму цитотоксичну дію металів і на самі ФЕК [23,25]. Реактивний тромбоцитоз також пов'язаний із

поступово прогресуючою анемією, у результаті чого зростає швидкість дозрівання попередників тромбоцитів та знижується їх руйнування [13].

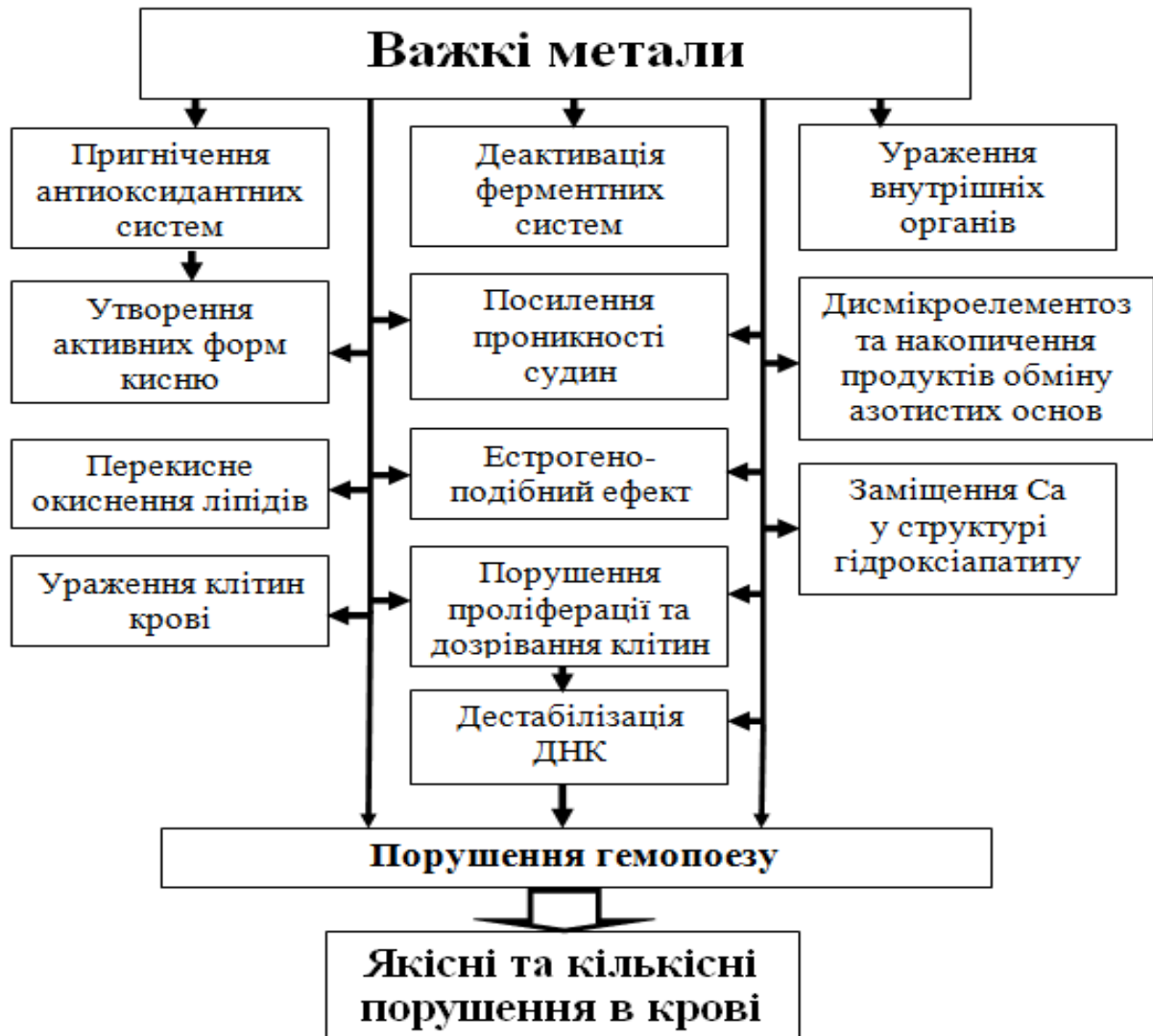


Рис. 4.4. Схема негативного впливу ВМ на гемопоєз.

Непрямий ефект ВМ на гемопоєз проявляється в ураженні інших органів і підвищенні рівня інших мікроелементів та продуктів обміну у крові. Це пов'язано з їх нефротоксичною дією (підвищення сечовини, креатиніну, дисмікроелементоз), впливом на кісткову тканину та прищитоподібну залозу (початкове зменшення Са внаслідок пригнічення синтезу паратгормону та його наступний ріст при вимиванні Са із структури гідроксиапатиту кісток) [205,206]. Саме завдяки підвищенню продуктів обміну азотистих основ та

дисмікроелементозу реалізується ця опосередкована дія ВМ на гемопоез у КМ (рис. 4.4).

Проведене дослідження демонструє більш виражені зміни в системі гемопоез – кров саме під час підгострого терміну експерименту (30 діб) з поступовим їх сповільненням на 90-ту добу, що пов'язано з активацією ендогенних адаптаційно-компенсаторних процесів у щурів за зміни умов існування.

Як виявилось, за умови використання коректора (вітаміну Е) у КМ та крові зміни мали менш виражений характер. Так, у тварин (щури 3-ї серії 1-ї групи), що впродовж 90 діб споживали СВМ разом з терапевтичною дозою коректора (9,1 мг/кг), спостерігалось менш стрімке накопичення ВМ у гемопоетичній тканині (рис. 4.5).

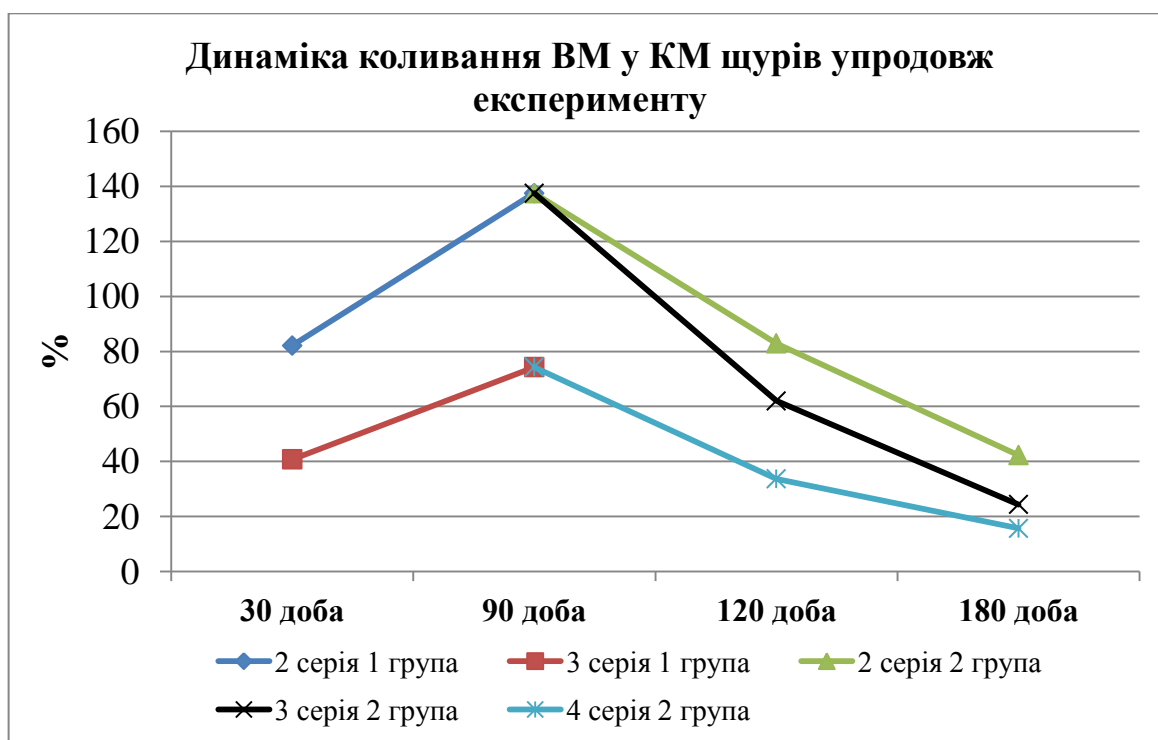


Рис. 4.5. Показники переважання (%) кількості ВМ у КМ усіх серій тварин, у порівнянні з показниками інтактної групи щурів. 0 – контрольні показники.

Через 90 діб загальна їх кількість перевищувала показники контролю на 74,3 %, при цьому кількість Fe зросла на 80,3 %, Cu – на 91,8 %, Zn – на 44,4 %, Mn – на 79,9 %, Cr – на 108,5 % та Pb – на 122 %. Як і у випадку з вживанням

СВМ, у тварин 3-ї серії 1-ї групи виявлена тенденція до більш стрімкого накопичення ВМ упродовж перших 30 діб із значно більшим зростанням кількості хрому та свинцю за умови найнижчого накопичення цинку.

У тварин, які після вживання СВМ почали отримувати вітамін Е (щури 3-ї серії 2-ї групи), спостерігалось більш стрімке виведення ВМ із КМ порівняно із щурами 2-ої серії 2-ої групи (рис. 4.5). На 90 добу відновлення їх сумарна кількість знизилася на 47,4 %, але не досягала показників контрольної групи тварин, на 24,4 % перевищуючи їх значення. Зовсім іншою була ситуація у щурів, які весь час отримували вітамін Е (4-та серія 2-ї групи). У них на фоні значно нижчих показників акумулювання ВМ у КМ упродовж відновного періоду спостерігалось майже повне виведення ксенобіотиків із гемопоетичної тканини. Але це стосувалося більшою мірою лише Fe та Zn. Щодо Cr та Pb, то навіть за умови їх зменшення у КМ показники тварин 4-ї серії 2-ї групи через 3 місяці спостереження після відмінення СВМ перевищували показники інтактних тварин на 35,8 та 37,2 % відповідно.

Аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що додавання вітаміну Е до раціону щурів сприяло меншому накопиченню та більш швидкому виведенню ВМ з гемопоетичної тканини. Незважаючи на використання додаткових засобів, рівні металів не досягають показників контролю, навіть на 90-ту добу після припинення споживання СВМ, хоча у разі постійного одержання вітаміну Е упродовж експерименту та відновного періоду максимально наближуються до значень контрольної серії тварин. Дещо нівелюється ефект коректора на 90-ту добу відновлення, що пов'язано з припиненням негативної дії екзогенних полютантів (майже повне виведення їх із гемопоетичної тканини).

Використання вітаміну Е як коректора відобразилося на кількісних та якісних показниках КМ. Так, у тварин 3-ї серії 1-ї групи спостерігалися значно нижчі показники пригнічення кровотворення, у порівнянні зі щурами, що виключно вживали СВМ (рис. 4.6).

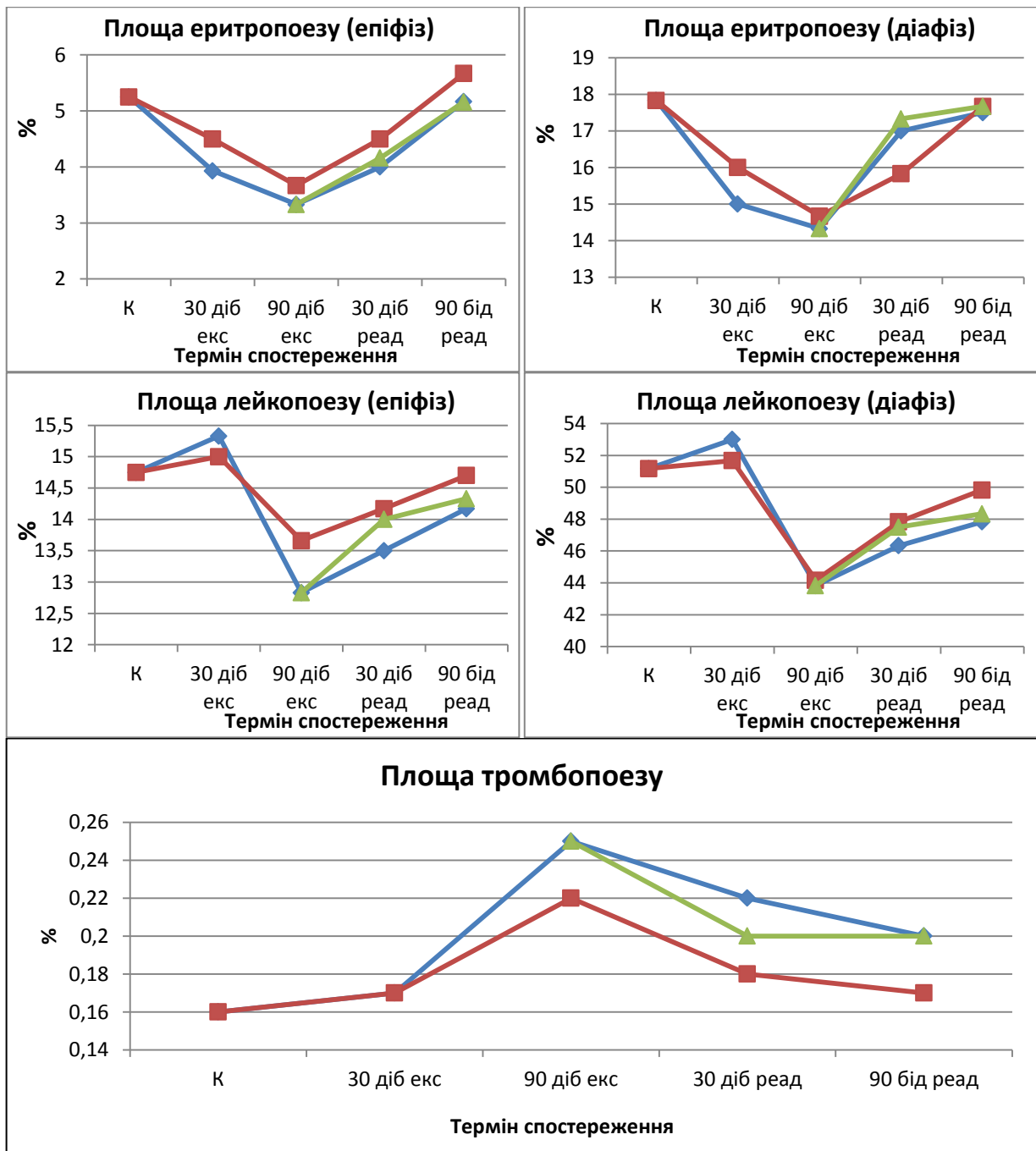


Рис 4.6. Показники площі КМ, які зайняті під різні напрямки гемопоезу у щурів. К – показники щурів контрольної серії, — щури, які отримували СВМ, — щури, які отримували СВМ з вітаміном Е, — щури, які у період відновлення після СВМ почали отримувати вітаміном Е.

На 90-ту добу експерименту відбувалося зниження еритроцитопоезу на 30,0 % на рівні епіфізів та на 17,8 % на рівні діафізу, гранулоцитопоез був пригнічений на 6,1 % та 13,7 % відповідно, кількість мегакаріоцитів зросла на 25 %. Серед якісних змін незначною мірою спостерігалися ектазія синусоїдів,

крововиливи, явища еозинофілії, зменшення розмірів еритроїдних острівців, порушення тинкторіальних (сприйняття гематоксиліну, еозину, інтенсивність забарвлення мієлопероксидазою) властивостей різних предикторів, порушення закономірностей розташування попередників гранулоцитів (їх ендостального розміщення) та еритроцитів (їх острівковість та компактність), незначна макрофагальна інфільтрація.

Упродовж відновного періоду використання вітаміну Е призводило до більш стрімкого та майже повного відновлення усіх паростків кровотворення (рис. 4.6). У щурів 4-ї серії 2-ї групи через 90 діб відновного періоду відбулося зростання площі еритроцитопоезу на рівні епіфізів на 29,5 та 18,5 % на рівні діафізу, гранулоцитопоезу – на 5,8 та 11,4 % відповідно. Кількість мегакаріоцитів зменшилася на 23,0 %.

У тварин, яким після споживання СВМ почали додавати до раціону вітамін Е у відновний період (3-тя серія 2-ї групи), динаміка покращання кровотворення порівняно зі щурами 2-ї серії 2-ї групи мала більш виражений характер. Площа еритроцитопоезу зросла на 8 % більше, ніж у тварин без додавання коректора. Більш стрімко зникали і якісні порушення у кровотворній тканині, які майже повністю були відсутні на 90-ту добу відновлення. Лише в окремих ділянках зберігалися явища ліпоматозу та переповнені кров'ю синусоїди. Наявність мегакаріоцитів з явищами емперіполезу свідчило про підвищення темпів регенераторного процесу, що неодноразово було помічено під час додаванні факторів росту до гемопоетичної тканини [89,90]. В окремих випадках нами виявлено навіть незначне переважання окремих паростків кровотворення у відновний період (незначне переважання площі еритроцитопоезу над показниками контрольної серії тварин), що вказувало на намагання якнайшвидше компенсувати нестачу клітинного складу крові, яка виникла при гематотоксичному впливі ВМ на КМ.

Використання коректора та зміна якісного й кількісного складу КМ прямопропорційно відобразилися на показниках периферичної крові (рис. 4.7).

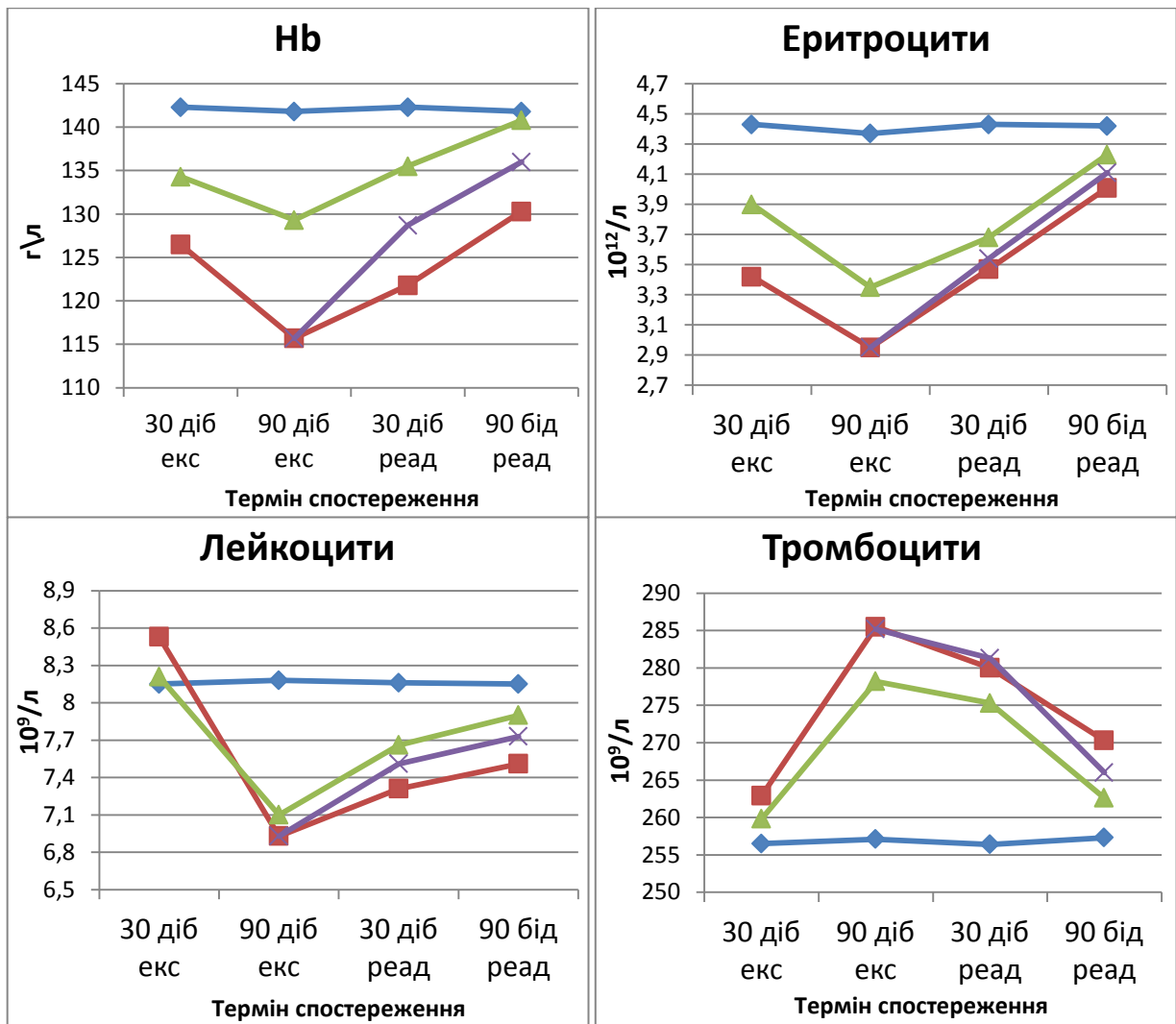


Рис 4.7. Показники ЗАК у щурів упродовж усього періоду спостереження.

— контрольна група, — шури, які отримували СВМ, — шури, які отримували СВМ з вітаміном Е, — шури, які у період відновлення після СВМ почали отримувати вітамін Е.

Упродовж експерименту коливання Hb, еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів при споживанні вітаміну Е були менш помітними (шури 2-ї серії 2-ї групи), що призвело до зниження Hb лише на 6,6 %, еритроцитів – 23,3 %, лейкоцитів – 13,2 %, зростання тромбоцитів – на 8,2 %. У відновний період використання вітаміну Е було підґрунтям для стрімкого відновлення показників ЗАК, які значно наблизилися до значень контрольної серії тварин.

Показники змін БАК мали подібну тенденцію до порушення з поступовим зменшенням негативних проявів у період відновлення. Відбувалося

поступове відновлення рівнів Са, Na, К, сечовини та креатиніну, які досягали найбільш оптимальних значень через 3 місяці відновного періоду. Швидкість та повнота їх відновлення також значно покращувалися за умови додавання коректора.

Отже, використання вітаміну Е призводить до зменшення накопичення ВМ у гемопоетичній тканині, більш стрімкого виведення та зменшення їх пагубного впливу на систему гемопоез – кров. Зазначені ефекти реалізуються через можливу підтримку цілісності клітинних мембран [30,31], перешкоджання взаємодії з вільними радикалами і пероксидами жирних кислот [29], які утворюються за надлишкових концентрацій ВМ у складі клітин [13,15,128]. Проявляючи свої виражені антигіпоксичні властивості за рахунок стабілізування мітохондріальних мембран та участі у синтезі убіхінону, він потенціює клітинні антиоксидантні механізми захисту [152]. Впливаючи на ДНК, він стабілізує цілісність генетичного матеріалу [32], що є доволі актуальним питанням у стрімко проліферуючій тканині, якою, без сумніву, є КМ. За рахунок своєї ангіопротекторної функції вітамін Е підтримує цілісність судинних стінок та їх проникність [155], що намагаються порушити підвищені концентрації ВМ у крові (рис. 4.8).

Використання вітаміну Е як коректора призводить до прямого конкуруючого ефекту з деякими ВМ – його окиснювальне руйнування під впливом міді та заліза [28], зміні їх валентності, попереджаючи утворення АФК при їх надлишку [157,158], пригніченні всмоктування ВМ у шлунково-кишковому тракті [149,150]. За рахунок прямого контакту з еритроцитами, які допомагають транспортувати його організмом [147], реалізується прямий протективний ефект вітаміну Е на ФЕК.

Неодноразово було виявлено значні протективні властивості вітаміну Е впродовж експериментальних досліджень, як на різних внутрішніх органах [170-173], так і на системі гемопоез-кров [176,177]. Але вони стосувалися або моделювання дослідження з використанням інших ефектів (радіація, хіміопрепарати), або впливу якогось окремого мікроелементу на якусь одну

складову гемопоезу (на КМ або на кров). Ми провели комплексну оцінку негативного комбінованого впливу різних ВМ на гемопоез з одночасним дослідженням порушень його функціональної активності, яке проявляється у коливаннях кількості різних ФЕК.

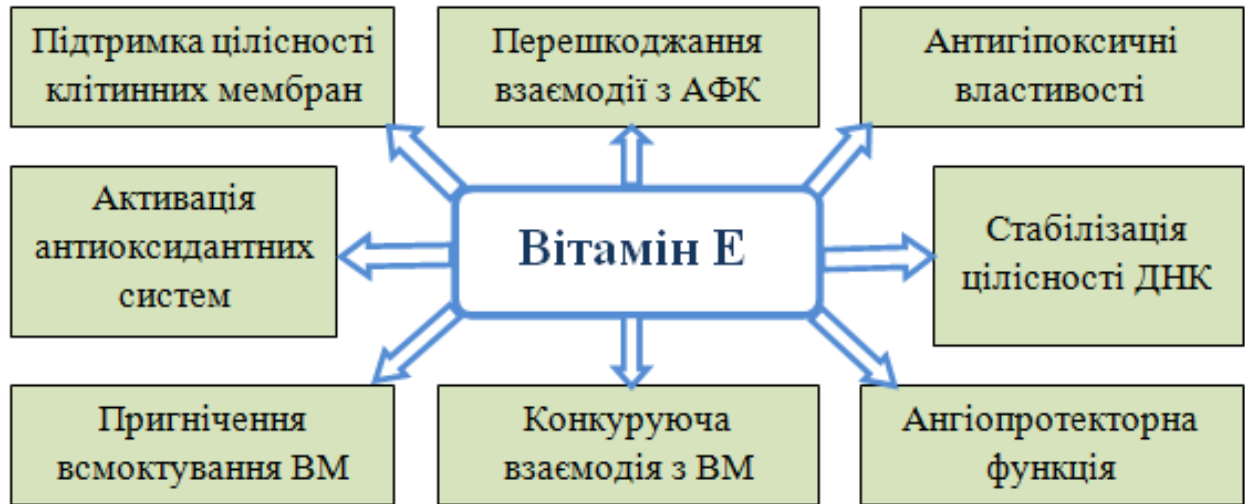


Рис. 4.8. Ефекти вітаміну Е, спрямовані на попередження негативного впливу надлишкового надходження ВМ до КМ.

Статистичний аналіз одержаних показників демонструє значне пригнічення гемопоезу та зниження кількості ФЕК у периферичній крові при накопиченні ВМ у КМ. При цьому ми виявили, що найбільше впливають на варіабельність зазначених показників хром та свинець, які мають виражені прооксидантні властивості за надлишкового надходження до організму [13,128]. Наявність кореляційних зв'язків між різними металами та показниками КМ і крові свідчить про можливість кожного окремого ВМ ізольовано впливати на різні паростки кровотворення.

Наявність прямих сильних взаємозв'язків між площею еритроцитопоезу і рівнем Нв та еритроцитів у крові, гранулоцитопоезом та кількістю лейкоцитів, тромбоцитопоезом і рівнем тромбоцитів у периферичній крові підтверджує дані про тісні зв'язки між зазначеними параметрами, а також пряму залежність функціональної спроможності КМ (проявляється коливанням ФЕК) від якісного та кількісного складу гемопоетичної тканини.

Аналізуючи всі одержані результати можна з високою ймовірністю стверджувати, що надходження СВМ у підвищеній кількості до організму статевозрілих щурів призводить до зростання їх вмісту в КМ, що проявляється різностороннім ураженням гемопоетичної тканини. Наслідки гематотоксичного ефекту полютантів прямо відображені в периферичній крові у виглядів варіабельності кількості Нб, еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів. За умов відмінення вживання ксенобіотиків відбувається оптимізація усіх параметрів упродовж 90 днів, хоча вони все ще залишаються відмінними від результатів контрольної групи тварин. Використання вітаміну Е як коректора частково нівелює негативний ефект ВМ за рахунок різностороннього конкуруючого ефекту з ними, призводячи до менш виражених ефектів при їх одночасному споживанні, більш повного та швидкого покращання у відновному періоді. Відхилення, що виникають упродовж експерименту, у жодному разі не досягають нормальних показників під час відновлення, підкреслюючи кумулятивні властивості екзогенних полютантів.

Позитивний профілактичний (під час періоду споживання СВМ) та терапевтичний (у відновлювальному періоді) ефект вітаміну Е на показниках гемопоезу дозволяє нам рекомендувати цей препарат під час проживання в умовах забруднення ВМ навколишнього середовища та після впливу підвищеної концентрації СВМ на організм з метою попередження накопичення ВМ у КМ з усіма подальшими негативними наслідками для гемопоезу та послідовними коливаннями кількості ФЕК.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, що стосується морфофункціональних особливостей кісткового мозку стегнових кісток статевозрілих щурів за умов підвищеного надходження до організму солей важких металів та корекції виявлених змін вітаміном Е, з'ясування патогенетичних особливостей їх гематотоксичного впливу як у період споживання екзогенних полютантів, так і впродовж відновлення, що дозволило зробити такі висновки:

1. Кістковий мозок статевозрілих щурів побудований із стромы, яка складається із кісткової, жирової, фіброзної тканин, кровоносних судин, мастоцитів, тощо, та паренхіми, що представлена різними попередниками еритроцито-, лейкоцито- та тромбоцитопоезу. Всі складові гемопоетичної тканини мають чіткі особливості розташування у середині стегнових кісток. Серед загального об'єму кровотворної тканини стромальний компонент на рівні епіфізів займає $79,1 \pm 3,7$ %, на рівні діафізів – $30,4 \pm 2,2$ %. Гемопоетична тканина на рівні епіфізів становить $20,9 \pm 3,7$ %, на рівні діафізів – $69,6 \pm 2,2$ %. Мієлоїдно:еритроїдне співвідношення перебуває на рівні 2:1–5:1. Загальна кількість важких металів у гемопоетичній тканині у середньому становить $596,1 \pm 21,9$ мкг/г.

2. За умови споживання солей важких металів спостерігалось стрімке накопичення важких металів у кістковому мозку (впродовж першого місяця). В міру пролонгації експерименту відбувалося зростання вмісту хімічних елементів, однак темпи цього акумулювання ставали менш вираженими. Упродовж 90 діб відбувалося зростання кількості Fe на 147,0 %, Cu – на 130,6 %, Zn – на 59,4 %, Mn – на 105,0 %, Cr – на 134,7 % та Pb – на 182,0 % ($p < 0,001$). Загальна кількість важких металів зростала на 137,5 % ($p < 0,001$).

3. За умов впливу важких металів відбувалося пригнічення еритроцито- та лейкоцитопоезу, синхронне зростання кількості мегакаріоцитів. Зміни мали тенденцію до наростання за пролонгації експерименту і досягали

максимальних рівнів відхилення на 90-ту добу спостереження – площа еритроцитопоезу знижувалася на 36,6 % на рівні епіфізів та на 19,7 % на рівні діафізу, площа гранулоцитопоезу зменшувалася на 13,0 та 14,3 % відповідно, тромбоцитопоез зростав на 40 % ($p < 0,001$). На фоні мікроелементозу виникали та прогресували якісні зміни: явища апоптозу та некрозу клітин, макрофагальна інфільтрація, міксоматоз, крововиливи, ектазія судин, набряк, ліпоматоз, диспластичні зміни в усіх паростках гемопоезу.

4. Гематотоксичний ефект важких металів у периферійній крові призводив до зниження кількості еритроцитів на 32,5 %, гемоглобіну – на 18,4 %, лейкоцитів – на 15,3 %, кількість тромбоцитів зростала на 11,0 % ($p < 0,01$). Наявність сильного кореляційного зв'язку ($p < 0,001$) у системі гемопоез – кров свідчить про синхронність порушень. Під час вживання полютантів відбувалося зростання кількості Na, креатиніну та сечовини з одночасним зменшенням Ca та K ($p < 0,05$).

5. За умов відновлення відбувалося поступове зменшення виразності усіх вищезазначених змін, які прямо залежали від терміну відновного періоду ($p < 0,05$). Спостерігалось виведення важких металів із кісткового мозку (зменшення на 40,8 %), зростання площі еритроцито- (на 32,8 % на рівні епіфізів та 18,3 % на рівні діафізу) та лейкоцитопоезу (на 9,7 % на рівні епіфізів та 8,4 % на рівні діафізу), зменшення кількості мегакаріоцитів (на 25 %), зникали дистрофічні та диспластичні зміни у складі паренхіми та строми, поступово відновлювалися показники крові.

6. Використання вітаміну E як коректора призводило до зменшення негативного впливу солей важких металів на гемопоез, що проявлялося меншим накопиченням та більш стрімким їх виведенням із кісткового мозку, попередженням значних відхилень у кількісному та якісному складі кровотворної тканини та прискоренням їх відновлення і, як наслідок, меншою варіабельністю показників периферичної крові.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У зв'язку з подібними структурними особливостями кісткового мозку статевозрілих щурів та людини (за умови незначних видових характеристик) пропонується використовувати вивчення впливу інших шкідливих факторів та фармакологічних препаратів на цих тваринах для визначення морфофункціональних змін у системі гемопоез – кров за умов змодельованого експериментального дослідження.

2. Ураховуючи виразні гематопротективні властивості вітаміну Е за умов мікроелементозу, пропонується його застосування у разі потрапляння організму в умови підвищеного забруднення довкілля солями важких металів та впродовж відновного періоду.

3. Особливості системи гемопоез – кров в інтактних та експериментальних щурів за умов впливу на організм солей важких металів та корекції цих змін, які ми виявили, можна використовувати під час вивчення відповідних розділів навчального матеріалу на кафедрах нормальної анатомії, гістології, патологічної анатомії, гігієни з екологією, з подальшим поширенням знань у практичну діяльність лікарів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Travlos GS. Normal structure, function, and histology of the bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006;34(5):548-65.
2. Tavian M, Péault B. Embryonic development of the human hematopoietic system. *Int J Dev Biol.* 2005;49(2-3):243-50.
3. Travlos GS. Histopathology of bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006;34(5):566-98.
4. Cline JM, Maronpot RR. Variations in the histologic distribution of rat bone marrow cells with respect to age and anatomic site. *Toxicol Pathol.* 1985;13(4):349-55.
5. Левицкий Э.О. Трепанобиопсия костного мозга. Справочник современной клинико-патоморфологической диагностики. Житомир, "Поллісся", 2012. – 496 с.
6. Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2009 році. — Суми : ПКП "Еллада S", 2010. — 84 с.
7. Погорелов МВ, Бумейстер ВІ, Ткач ГФ, Бончев СД, Сікора ВЗ, Суходуб ЛФ, Данильченко СМ. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення). – Суми: Вид-во СумДУ, 2010:147 с.
8. Колиева ДО, Неелова ОВ. Биологическая роль железа и его обнаружение в фармацевтических препаратах. *Успехи современного естествознания.* 2011;11:100-101.
9. Thirumoorthy N, Shyam Sunder A, Manisenthil Kumar K, Senthil Kumar M, Ganesh G, Chatterjee M. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology. *World J Surg Oncol.* 2011 May 20;9:54.
10. Sutherland DE, Stillman MJ. The "magic numbers" of metallothionein. *Metallomics.* 2011 May 1;3(5):444-63.
11. Жолнин АВ. Химические элементы в окружающей среде и в организме человека. Челябинск: ЧГМА, 2000. – 30 с.

12. Тронько М, Щербак О. Мікроелементи в ендокринології. Аспекти фармакології. 2002;10:24-27.
13. Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.* 2014 Jun;7(2):60-72.
14. Flora SJS, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res.* 2008;128: 501–523.
15. Трахтенберг ИМ. Очерки возрастной токсикологии. Киев, 2006:350с.
16. Taylor MP, Winder C, Lanphear BP. Eliminating childhood lead toxicity in Australia: a call to lower the intervention level. *MJA.* 2012;197(9):493.
17. Благой ЮП., Галкин ВЛ., Гладченко ГО. Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах. Киев:Наукова думка, 1991:78с.
18. Schlatter C, Kissling U. Acute fatal bichromate poisoning. *Beitrage zur Gerichtlichen Medizin.* 1973;30:382–388.
19. Москаленко РА. Морфогенез щитоподібної залози в умовах модельованого мікроелементозу та корекції його впливу глутаргіном. Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. 2010;1:27-36.
20. Романюк АМ, Гринцова НБ. Органометричні показники та макроскопічний стан головного мозку щурів за умов довготривалого впливу на організм сульфатів міді, цинку та заліза. *Мир медицины и биологии.* 2014;10:42-47.
21. Sikora V, Wojko V, Tkach G, Kuptenko L, Lyndin M. Structural changes in submandibular salivary gland, caused by heavy metal salts, and their correction with dialipon (experimental study). *Georgian medical news.* 2015;249:85-92.
22. Романюк АМ, Сауляк СВ, Москаленко ЮВ, Романюк ОК, Шкрюба АО. Морфологічні зміни у статевих органах (сім'яники, передміхурова залоза) в умовах впливу на організм солей важких металів. *Таврический медико-биологический вестник.* 2013;16(61):210-211.

23. Saljooghi A.S., Delavar-Mendi F. The effect of mercury in iron metabolism in rats. *J Clinic Toxicol.* 2012;3(1):1-5.
24. Hounkpatin, AY, Eдорh, PA, Guédénon P, Alimba CG, Ogunkanmi A, Dougnon TV, Boni G, Aissi KA, Montcho S, Loko F, Ouazzani N, Mandi L, Boko M, Creppy EE. Haematological evaluation of Wistar rats exposed to chronic doses of cadmium, mercury and combined cadmium and mercury. *African Journal of Biotechnology.* 2013;12(23):3731-3737.
25. Сікора ВЗ, Приходько ОО. Структурно–функціональна характеристика крові щурів старечого віку в умовах дії солей важких металів. *Український морфологічний альманах.* 2010;8(2):191-193.
26. Криволапов АЮ. Биопсии костного мозга: научно-практическое издание. М.: Практическая медицина, 2014: 528 с. :ил.
27. Frenkel' MA, Chigrinova EV, Kupryshina NA, Pavlovskaja AI. Diagnostic value of study of bone marrow trepanobiopsy imprints in patients with non-Hodgkin's lymphomas. *Klin Lab Diagn.* 2007 Nov;(11):44-7.
28. Brigelius-Flohé R1, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.* 1999 Jul;13(10):1145-55.
29. Traber MG. Vitamin E. In: Bowman, B.A. and Russell, R.M, (Editors) "Present Knowledge in Nutrition", ninth edition, ILSI, Washington D.C. Pp. 2006:211-219.
30. Chow CK. Vitamin E. In: Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB, Machlin LJ, Eds. *Handbook of Vitamins*, 3rd ed. New York: Marcel Dekker 2001;165-97.
31. Wang X, Quinn PJ. The location and function of vitamin E in membranes (Review). *Mol. Membr. Biol.* 2000;17:143–156.
32. Christen S, Woodall AA., Shigenaga MK, Southwell-Keely PT, Duncan MW, Ames B N. α -Tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO_x and complements α -tocopherol: physiological implications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997;94:3217–3222.

33. Eder K, Flader D, Hirche F, Brandsch C. Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. *J. Nutr.* 2002;132:3400–3404.
34. Weinberg RB, VanderWerken BS, Anderson RA, Stegner JE, Thomas MJ. Pro-oxidant effect of vitamin E in cigarette smokers consuming a high polyunsaturated fat diet. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001;21:1029–1033.
35. Луцик ОД, Іванова АЙ, Кабак КС, Чайковський ЮБ. Гістологія людини. Київ, «Книга плюс», 2003:592 с.
36. Sugiyama D, Inoue-Yokoo T., Fraser ST, Kulkeaw K, Mizuochi C, Horio Y. Embryonic Regulation of the Mouse Hematopoietic Niche. *TheScientificWorldJournal.* 2011;11:1770–1780.
37. Tavian M, Hallais MF, Peault B. Emergence of intraembryonic hematopoietic precursors in the pre-liver human embryo. *Development.* 1999;126:793-803.
38. Huyhn A, Dommergues M, Izac B, Croisille L, Katz A, Vainchenker W, Coulombel L. Characterization of hematopoietic progenitors from human yolk sacs and embryos. *Blood.* 1995;86:4474-85.
39. Fukuda T. Fetal hemopoiesis. I. Electron microscopic studies on human yolk sac hemopoiesis. *Virchows Arch B Cell Pathol.* 1973 14: 197-213.
40. Fleury M, Petit-Cocault L, Clay D, Souyri M. Mpl receptor defect leads to earlier appearance of hematopoietic cells/hematopoietic stem cells in the Aorta-Gonad-Mesonephros region, with increased apoptosis. *International Journal of Developmental Biology* 2010;54(6-7):1067–1074,.
41. Sasaki T, Mizuochi C, Horio Y, Nakao K, Akashi K, Sugiyama D. Regulation of hematopoietic cell clusters in the placenta niche through SCF/Kit signaling in embryonic mouse. *Development.* 2010;137(23):3941–3952.
42. Mikkola HKA., Gekas C, Orkin SH, Dieterlen-Lievre F. Placenta as a site for hematopoietic stem cell development. *Experimental Hematology.* 2005;33(9):1048–1054.

43. Ema H, Nakauchi H. Expansion of hematopoietic stem cells in the developing liver of a mouse embryo. *Blood*. 2000;95(7):2284–2288.
44. Bertrand JY, Desanti GE, Lo-Man R, Leclerc C, Cumano A, Golub R. Fetal spleen stroma drives macrophage commitment. *Development*. 2006;133(18):3619–3628.
45. Hirschi KK. Hemogenic endothelium during development and beyond. *Blood*. 2012;119:4823–4827.
46. Winkler IG, Barbier V., Nowlan B, Jacobsen RN, Forristal CE, Patton JT, Magnani JL, Levesque JP. Vascular niche E-selectin regulates hematopoietic stem cell dormancy, self renewal and chemoresistance. *Nat. Med*. 2012;18:1651–1657.
47. Nombela-Arrieta C, Pivarnik G, Winkel B, Canty KJ, Harley B, Mahoney JE, Park SY., Lu J, Protopopov A, Silberstein LE. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment. *Nat. Cell Biol*. 2013;15:533–543.
48. Coşkun S, Chao H, Vasavada H, Heydari K, Gonzales N, Zhou X, de Crombrughe B, Hirschi KK. Development of the fetal bone marrow niche and regulation of HSC quiescence and homing ability by emerging osteolineage cells. *Cell Rep*. 2014;9(2):581-90.
49. Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, Morrison SJ. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature*. 2012;481:457–462.
50. Christensen JL, Wright DE, Wagers AJ, Weissman IL. Circulation and chemotaxis of fetal hematopoietic stem cells. *PLoS Biol*. 2004;2(3):E75.
51. Білаш СМ, Борута НВ, Шепітько ВІ, Єрошенко ГА. Морфологія червоного кісткового мозку і еритроїдного паростка щурів у нормі Світ медицини та біології. 2015;3(52):78-82.
52. Грушко МП. Кроветворение у половозрелых крыс. *Вестн. Астрахан. Гос. Техн. Ун-та*. 2004;2(21):205-207.
53. Abboud CN, Lichtman MA. Structure of the marrow and the hematopoietic microenvironment. In *Williams' Hematology*, 6th edition (E. Beutler,

M. A. Lichtman, B. S. Collier, T. J. Kipps, and U. Seligsohn, eds.) 2001:29–58, McGraw-Hill, New York.

54. Artico M, Bosco S, Cavallotti C, Agostinelli E, Giuliani-Piccari G, Sciorio S, Cocco L, Vitale M. Noradrenergic and cholinergic innervation of the bone marrow. *Int J Mol Med*. 2002 Jul;10(1):77-80.

55. Payushina OV. Hematopoietic microenvironment and the role of mesenchymal stromal cells in its organization. *Biology Bulletin Reviews*. 2015;5(4):383–393.

56. Быков ВЛ. Частная гистология человека (краткий обзорный курс). 2-е изд. – СПб.: СОТИС, 1997:301с.

57. Shiozawa Y, Havens AM, Pienta KJ, Taichman RS. The bone marrow niche: habitat to hematopoietic and mesenchymal stem cells, and unwitting host to molecular parasites. *Leukemia*. 2008 May;22(5):941-50.

58. Кузнецов СЛ, Мушкамбаров НН. Гистология, цитология и эмбриология: Учебник для медицинских вузов. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 600 с.; ил., табл.

59. Muntadhur MCA, Noumaan SMA. Identification of granulopoiesis lineage in bone marrow of adult male albino rat “Rattus norvegicus”. *Kerbala Journal of Pharmaceutical Sciens*. 2014;7:1-11.

60. Panopoulos AD, Watowich SS. Granulocyte colony-stimulating factor: molecular mechanisms of action during steady state and ‘emergency’ hematopoiesis. *Cytokine* 2008;42:277–288.

61. Santangelo S, Gamelli RL, Shankar R. Myeloid commitment shifts toward monocytopoiesis after thermal injury and sepsis. *Ann Surg*. 2001 Jan;233(1):97-106.

62. Le Douarin NM, Dieterlin-Lievre F, Oliver P D. Ontogeny of primary lymphoid organs and lymphoid stem cells. *Am J Anat*. 1984;170:261–99.

63. Nemeth MJ, Bodine DM. Regulation of hematopoiesis and the hematopoietic stem cell niche by Wnt signaling pathways. *Cell Res*. 2007 Sep;17(9):746-58.

64. Fiedler K, Brunner C. Mechanisms controlling hematopoiesis. *Hematology science and practice*. 2012;3-46.
65. Vandekerckhove J, Courtois G, Coulon S, Ribeil J-A, Hermine O. Regulation of erythropoiesis. *Iron*. 2009;2:44-87.
66. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*. 2010;33(5):657-670.
67. Saran N, Lyszkiewicz M, Pommerencke J, Witzlau K, Vakilzadeh R, Ballmaier M, vonBoehmer H, Krueger A. Multiple extrathymic precursors contribute to Tcell development with different kinetics. *Blood*. 2010;115(6):1137-1144.
68. Bresnick EH, Lee HY, Fujiwar T, Johnson KD, Keles S. GATA switches as developmental drivers. *J Biol Chem*. 2010;285(41):31087-31093.
69. Elmore SA. Enhanced histopathology of the bone marrow. *Toxicol Pathol*. 2006;34(5):666-86.
70. Cora MC, Travlos G. Bone Marrow – Hypercellularity [Erythroid, Granulocytic, Megakaryocytic]. *Nonneoplastic lesion atlas*. P. 1-4.
71. Regan WJ, Irizarry-Rovira A, Poitout-Belissent F, Bollinger AP, Ramaiah SK, Travlos G, Walker D, Bounous D, Walter G. 2011. Best practices for evaluation of bone marrow in nonclinical toxicity studies. *Toxicol Pathol* 39:435–448.
72. Provencher-Bolliger A, Everds NE, Zimmerman KL, Moore DM, Smith SA, Barnhart KF. 2010. Hematology of laboratory animals. In: *Schalm's Veterinary Hematology*, 5th ed (Weiss DJ, Wardrop KJ, eds). Wiley-Blackwell, Ames, IA, 852–887.
73. Valli V E, McGrath JP, Chu I. Hematopoietic system, In *Handbook of Toxicologic Pathology*, 2nd edition (W. M. Haschek, C. G. Rousseaux, and M. A. Wallig, eds.) 2002:647–79. Academic Press, San Diego, CA.
74. Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol*. 2008 Oct;30(5):349-64.

75. Adamyan TI, Karapetyan HM, Gevorgyan ES, Hayrapetyan TA. Immobilization stress influence on leukopoiesis index and on activity changes of proline biosynthesis enzymes. *Chemistry and Biology*. 2015;1:39–44.
76. Ulich TR, Castillo J, Yin S, Swift S, Padilla D, Senaldi G, Bennett L, Shutter J, Bogenberger J, Sun D. Systemic hematological effects of PEG-rHuMGDF-induced megakaryocyte hyperplasia in mice. *Bloods*. 1996;87:5006–15.
77. Weiss DJ. Drug-induced blood cell disorders. In: Schalm's *Veterinary Hematology*, 5th ed (Weiss DJ, Wardrop KJ, eds). Wiley-Blackwell, Ames, IA, 2010:98-105.
78. Gossett KA. Anemias associated with drugs and chemicals. In Schalm's *Veterinary Hematology*, 5th edition (B. F. Feldman, J. G. Zinkl, and N. C. Jain, eds.), 2000:185–9, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.
79. Sokolic R, Maric I, Kesserwan C, Garabedian E, Hanson IC, Dodds M, Buckley R, Issekutz AC, Kamani N, Shaw K, Tan B, Bali P, Hershfield MS, Kohn DB, Wayne AS, Candotti F. Myeloid dysplasia and bone marrow hypocellularity in adenosine deaminase-deficient severe combined immune deficiency. *Blood*. 2011 Sep 8;118(10):2688-94.
80. Островська СС, Гарець ВГ. Кровотворення у щурів різного віку при впливі свинцю. *Таврический медико-биологический вестник*. 2014;2(66):103-106.
81. Weinzierl EP, Arber DA. The differential diagnosis and bone marrow evaluation of new-onset pancytopenia. *Am J Clin Pathol*. 2013 Jan;139(1):9-29.
82. Wane T, Harrus S. Anemia of inflammatory disease. In Schalm's *Veterinary Hematology*, 5th edition (B. F. Feldman, J. G. Zinkl, and N. C. Jain, eds.), 2000:205–9. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.
83. Lund JE. Toxicologic effects on blood and bone marrow. In Schalm's *Veterinary Hematology*, 5th edition (B. F. Feldman, J. G. Zinkl, and N. C. Jain, eds.), 2000:44–50, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.

84. George JN, Aster RH. Drug-induced thrombocytopenia: pathogenesis, evaluation, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:153-8.
85. Parmentier S, Schetelig J, Lorenz K, Kramer M, Ireland R, Schuler U, Ordemann R, Rall G, Schaich M, Bornhäuser M, Ehninger G, Kroschinsky F. Assessment of dysplastic hematopoiesis: lessons from healthy bone marrow donors. *Haematologica*. 2012 May;97(5):723-30.
86. Dawson MA, Davis A, Elliott P, Cole-Sinclair M (2005) Linezolid-induced dyserythropoiesis: chloramphenicol toxicity revisited. *Intern Med J* 35(10):626–8.
87. Wickramasinghe SN, Wood WG. Advances in the understanding of the congenital dyserythropoietic anaemias. *Br J Haematol*. 2005;131(4):431–46.
88. Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Iwanaga M, Misumi M, Kuendgen A, et al. Improvement of criteria for refractory cytopenia with multilineage dysplasia according to the WHO classification based on prognostic significance of morphological features in patients with refractory anemia according to the FAB classification. *Leukemia*. 2007;21(4):678–86.
89. Sable MN, Sehgal K, Gadage VS, et al. Megakaryocytic emperipolesis: A histological finding in myelodysplastic syndrome. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2009;52(4):599–600.
90. Rastogi V, Sharma R, Misra SR, Yadav L, Sharma V. Emperipolesis - a review. *J Clin Diagn Res*. 2014 Dec;8(12):ZM01-2.
91. Huff JD, Keung YK, Thakuri M, Beaty MW, Hurd DD, Owen J. Copper deficiency causes reversible myelodysplasia. *Am J Hematol*. 2007;82(7):625–30.
92. Carpenter SL, Zimmerman SA, Ware RE (2004) Acute parvovirus B19 infection mimicking congenital dyserythropoietic anemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 26(2):133–5.
93. Du Y, Fryzek J, Sekeres MA, Taioli E. Smoking and alcohol intake as risk factors for myelodysplastic syndromes (MDS) *Leuk Res*. 2010;34(1):1–5.

94. Ma X, Lim U, Park Y, Mayne ST, Wang R, Hartge P, et al. Obesity, lifestyle factors, and risk of myelodysplastic syndromes in a large US cohort. *Am J Epidemiol.* 2009;169(12):1492–9.
95. Valent P, Horny HP. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS and IDUS: update and open questions. *Eur J Clin Invest.* 2009;39(7):548–53.
96. Bain BJ, Clark DM, Wilkins B. *Bone marrow pathology.* 4th ed. Chichester, UK; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2010.
97. Fohlmeister I, Schaefer HE, Fischer R. On the pathogenesis of preleukemic myelodysplastic syndromes: development of a dysplastic hemopoietic proliferation in the rat after a single pulse dose of dimethylbenz(a)anthracene (DMBA). *J Cancer Res Clin Oncol.* 1982;104(3):249-61.
98. MacKenzie WF. Interpretation of paraffin sections of bone marrow, Society of Toxicologic Pathologists Great Lakes Region Discussion Group: Bone Marrow Toxicity. *Toxicol Pathol.* 1990;18:707.
99. MacKenzie WF, Eustis SL. Bone marrow. In *Pathology of the Fischer Rat* (G. A. Boorman, S. L. Eustis, M. R. Elwell, C. A. Montgomery, and W.F. MacKenzie, eds.), 1990:395–403. Academic Press, Inc., San Diego, CA.
100. Frith CH, Ward JM, Chandra M, Losco PE. Non-proliferative lesions of the hematopoietic system in rats, HL-1. In *Guides for Toxicologic Pathology*, 2000:1–22, STP/ARP/AFIP, Washington, DC.
101. Gervais F, Attia MA. Fibro-osseous proliferation in the sternums and femurs of female B6C3F1, C57black and CD-1 mice: A comparative study. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2005;112:323-326.
102. McAnulty PA, Skydsgaard M. Diethylstilbestrol (DES): Carcinogenic potential in Xpa^{-/-}, Xpa^{-/-} /p53^{+/-}, and wild-type mice during 9 months' dietary exposure. *Toxicol Pathol* 2005;33:609-620.

103. Weiss DJ. Chronic inflammation and secondary myelofibrosis. In: Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed (Weiss DJ, Wardrop KJ, eds). Wiley-Blackwell, Ames, IA, . 2010:112-117.
104. Rosenthal NS. Bone marrow findings in inflammatory, infectious and metabolic disorders. In: Hematopathology (Jaffe ES, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber DA, eds). Elsevier Saunders, St Louis 2011:194-207.
105. Horny H-P, Sotlar K, Valent P. Mastocytosis. In: Hematopathology (Jaffe ES, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber DA, eds). Elsevier Saunders, St Louis, 2011:757-776.
106. Ezov N, Levin-Harrus T, Mittelman M, Redlich M, Shabat S, Ward SM, Peddada S, Nyska M, Yedgar S, Nyska A. A chemically induced rat model of hemolysis with disseminated thrombosis. *Cardiovasc Toxicol.* 2002;2:181–94.
107. Weiss DJ. Myelonecrosis and acute inflammation. In: Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed (Weiss DJ, Wardrop KJ, eds). Wiley-Blackwell, Ames, IA, 2010:106-111.
108. Rosenthal NS. Bone marrow findings in inflammatory, infectious and metabolic disorders. In: Hematopathology (Jaffe ES, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber DA, eds). Elsevier Saunders, St Louis. 2011:194-207.
109. NTP. (2005a). Rat historic control data base <http://ntp.niehs.nih.gov/ntpweb/index.cfm?objectid=92E705C7-F1F6-975E-2D23026B1645EB9>.
110. NTP. (2005b). Mouse historic control data base <http://ntp.niehs.nih.gov/ntpweb/ind>
111. Harvey JW. Iron metabolism and its disorders. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, eds). Elsevier, Burlington, MA. 2008:259-285.
112. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganzand T, Kaplan J. 2004. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 306:2090-2093.

113. Khelifi R, Hamza-Chá ai A. Head and neck cancer due to heavy metal exposure via tobacco smoking and professional exposure: A review. *Toxicol Appl Pharmacol.* (2010);248:71–88.
114. Järup L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull.* 2003;68:167-82.
115. Кабата-Пендиас А. Микроэлементы в почвах и растениях. Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989:439 с.
116. Romaniuk A, Korobchanska A, Kuzenko Ye, Lyndin M. Mechanisms of morphogenetic disorders in the lower jaw under the influence of heavy metal salts on the body. *Interventional Medicine & Applied Science.* 2015;7(2):49-52.
117. Romaniuk A, Lyndin M, Moskalenko R, Kuzenko Y, Gladchenko O, Lyndina Y. Pathogenetic mechanisms of heavy metals effect on proapoptotic and proliferative potential of breast cancer. *Interventional Medicine and Applied Science.* 2015;7(2):63-69.
118. Наказ № 887 від 30.11.2009 Про затвердження медичних рекомендацій «Біопрофілактика розвитку екозалежної патології у критичних верст населення індустріальних міст» Міністерство охорони здоров'я України.
119. Рустембекова СА. Микроэлементозы и факторы экологического риска: для практикующих врачей. М.: Логос, 2006:512 с.
120. Jaishankar M, Mathew BB, Shah MS, Gowda KRS. Biosorption of Few Heavy Metal Ions Using Agricultural Wastes. *Journal of Environment Pollution and Human Health.* 2014;2(1):1–6.
121. Nagajyoti PC, Lee KD, Sreekanth TVM. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ Chem Lett.* 2010;8(3):199–216.
122. Grazuleviciene R, Nadisauskiene R, Buinauskiene J, Grazulevicius T. Effects of Elevated Levels of Manganese and Iron in Drinking Water on Birth Outcomes. *Polish J of Environ Stud.* 2009;18(5):819–825.
123. Valko MMHСM, Morris H, Cronin MTD. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005;12(10):1161–1208.

124. Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev.* 1993;73:79–118.
125. Оганян АА, Неелова ОВ. Биологическая роль хрома, применение дихромата калия в фармацевтическом анализе. *Успехи современного естествознания.* 2011;8;227-227.
126. Шахназарова АС, Ахматова АТ, Кадырова БК. Роль биологического мониторинга в изучении загрязнения окружающей среды. *Вестник КРСУ.* 2010;10(2):115-118.
127. Albretsen J. The toxicity of iron, an essential element. *Veterinary medicine.* 2006:82–90.
128. Wadhwa N, Mathew BB, Jatawa S, Tiwari A. Lipid peroxidation: mechanism, models and signiу cance. *Int J Curr Sci.* 2012;3:29–38.
129. Mathew BB, Tiwari A, Jatawa SK. Free radicals and antioxidants: A review. *Journal of Pharmacy Research.* 2011;4(12):4340–4343.
130. Grazuleviciene R, Nadisauskiene R, Buinauskiene J, Grazulevicius T. Effects of Elevated Levels of Manganese and Iron in Drinking Water on Birth Outcomes. *Polish J of Environ Stud.* 2009;18(5):819–825.
131. Jackson LW, Howards PP, Wactawski-Wende J. The association between cadmium, lead and mercury blood levels and reproductive hormones among healthy, premenopausal women. *Hum Reprod.* 2011;10:2887-2895.
132. Romanjuk A, Lyndin M, Moskalenko R, Gortinskaya O, Lyndina Yu. The role of heavy metal salts in pathological biomineralization of breast cancer tissue. *Adv Clin Exp Med.* 2016;25(5):907-910.
133. Brochin R, Leone S, Phillips D, Shepard N, Zisa D, Angerio A. The cellular effect of lead poisoning and its clinical picture. *GUJHS.* 2008;5(2):1–8.
134. Finney L. Copper and angiogenesis: unravelling a relationship key to cancer progression. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2009;1:88-94.
135. Crossgrove J, Zheng W. Manganese toxicity upon overexposure. *NMR Biomed.* 2004 Dec;17(8):544-53.

136. Сікора ВВ. Ультраструктура кіркової речовини нирок щурів при споживанні солей важких металів. Вісник наукових досліджень. 2006;3:143-145.
137. Сікора ВЗ, Романюк КА. Порушення будови та мінерального складу кісток скелета в умовах впливу солей важких металів та їх корекція помірними динамічними навантаженнями. Вісник морфології. 2009;15(1):29-30.
138. Ferner DJ. Toxicity, heavy metals. eMed J. 2001;2(5):1.
139. Chow CK, Chow-Johnson HS. Antioxidant Function and Health Implications of Vitamin E. The Open Nutrition Journal. 2013;7:1-6.
140. Järvinen R., Erkkilä A.T. Tocopherols: Physiology and Health Effects. Encyclopedia of Food and Health. 2016: 303–308.
141. Schaffer S, Müller WE, Eckert GP. Tocotrienols: constitutional effects in aging and disease J. Nutr. 2005;135:151-154.
142. Freiser H, Jiang Q. γ -tocotrienol and γ -tocopherol are primarily metabolized to conjugated 2-(β -carboxyethyl)-6-hydroxy-2,7,8-trimethylchroman and sulfated long-chain carboxychromanols in rats. J. Nutr. 2009;139:884-889.
143. Waller KP, Sandgren CH, Emanuelson U, Jensen SK. Supplementation of RRR- α -tocopheryl acetate to periparturient dairy cows in commercial herds with high mastitis incidence. J. Dairy Sci. 2007;90:3640-3646.
144. Ondarza D, Daniels K, Bunting D. Effects of naturally extracted vitamin E (RRR- α -tocopheryl acetate) vs. synthetic vitamin E on blood and milk levels of vitamin E in lactating dairy cows. J. Anim. Sci. 2011;89(E-Suppl.):373.
145. Weiss WPJS, Wyatt DJ. Relative bioavailability of all-rac and RRR vitamin E based on neutrophil function and total α -tocopherol and isomer concentrations in periparturient dairy cows and their calves. J. Dairy Sci. 2009;92:720-731.
146. Leeson S, Summers JD. Scott's Nutrition of the Chicken, fourth edition, University Books, Guelph, 2001.
147. Niki E, Traber MG. A history of vitamin E. Ann Nutr Metab. 2012;61(3):207-12.

148. McDowell LR, Ward NE. Optimum vitamin nutrition for poultry. *Inter. Poult. Prod.* 2008;16(4):27-34.
149. Kim E-S SK, Koo SI. Marginal zinc deficiency lowers the lymphatic absorption of alpha tocopherol in rats. *J. Nutr.* 1998;128:265-270.
150. Lu J, Combs GF. Excess dietary zinc decreases tissue alpha tocopherol in chicks. *J. Nutr.* 1988;118:1349-1359.
151. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to vitamin E and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage. *EFSA J.* 2010;8:1816.
152. Buettner GR. Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anticancer Agents Med Chem.* 2011;11:341-6.
153. Azzi A, Stocker A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog. Lipid Res.* 2000;39:231–255.
154. Khor HT, Ng TT. Effects of administration of alpha-tocopherol and tocotrienols on serum lipids and liver HMG CoA reductase activity. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2000;51:S3–S11.
155. Jiang Q, Elson Schwab I, Courtemanche C, Ames BN. Gamma-tocopherol and its major metabolite, in contrast to alpha-tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000;97:11494–11499.
156. Dunnett CE. Antioxidants in physiology and nutrition of exercising horses. In Lyons, T.P. and Jacques, K.P. (Editors) "Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries" Nottingham University Press, G.B. 2003:439-448.
157. Trumbo PR. The level of evidence for permitting a qualified health claim: FDA's review of the evidence for selenium and cancer and vitamin E and heart disease. *J Nutr* 2005; 135: 354-56.
158. Hatfield DL, Gladyshev VN. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Molecular and cell Biology.* 2002;22:3565-3576.
159. Fraga CG, Oteiza P. Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology.* 2002;180:23-32.

160. Ibrahim W, Chow CK. Dietary vitamin E reduces tissue labile iron. *J Biochem Mol Toxicol* 2005;19:298-303.
161. Raederstorff D, Wyss A, Calder PC, Weber P, Eggersdorfer M. Vitamin E function and requirements in relation to PUFA. *Br J Nutr.* 2015 Oct 28;114(8):1113-22.
162. Wells SR, Jennings MH, Rome C, Hadjivassiliou V, Papas KA, Alexander JS. Alpha-, gamma- and delta-tocopherols reduce inflammatory angiogenesis in human microvascular endothelial cells. *J Nutr Biochem.* 2010;21:589–97.
163. Takahashi S, Takeshita K, Seeni A, Sugiura S, Tang M, Sato SY, et al. Suppression of prostate cancer in a transgenic rat model via gamma-tocopherol activation of caspase signaling. *Prostate.* 2009;69:644–51.
164. Rizvi S, Raza ST, Ahmed F, Ahmad A, Abbas S, Mahdi F. The role of vitamin e in human health and some diseases. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2014 May;14(2):e157-65.
165. Meagher EA. Treatment of atherosclerosis in the new millennium: is there a role for vitamin E? *Prev. Cardiol.* 2003;6:85–90.
166. Manson JE, Bassuk SS, Stampfer MJ. Does vitamin E supplementation prevent cardiovascular events? *J. Women's Health.* 2003;12:123–136.
167. Mangialasche F, Westman E, Kivipelto M, Muehlboeck JS, Cecchetti R, Baglioni M, et al. Classification and prediction of clinical diagnosis of Alzheimer's disease based on MRI and plasma measures of α -/ γ -tocotrienols and γ -tocopherol. *J Intern Med.* 2013;273:602–21.
168. Radhakrishnan AK, Mahalingam D, Selvaduray KR, Nesaretnam K. Supplementation with natural forms of vitamin E augments antigen-specific TH1-type immune response to tetanus toxoid. *Biomed Res Int.* 2013;2013:782067.
169. Машковский МД. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. идоп.— М.: Новая волна, 2012:1216 с.
170. Górnicka M, Drywień M, Frąckiewicz J, Dębski B, Wawrzyniak A. Alpha-Tocopherol May Protect Hepatocytes Against Oxidative Damage Induced by

Endurance Training in Growing Organisms. *Adv Clin Exp Med*. 2016 Jul-Aug;25(4):673-9.

171. Hódi A, Földesi I, Ducza E, Hajagos-Tóth J, Seres AB, Klukovits A, Gáspár R. Tocopherol inhibits the relaxing effect of terbutaline in the respiratory and reproductive tracts of the rat: the role of the oxidative stress index. *Life Sci*. 2014 Jun 6;105(1-2):48-55.

172. Astiz M, Hurtado de Catalfo GE, García MN, Galletti SM, Errecalde AL, de Alaniz MJ, Marra CA. Pesticide-induced decrease in rat testicular steroidogenesis is differentially prevented by lipoate and tocopherol. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2013 May;91:129-38.

173. Mandil R, Rahal A, Prakash A, Garg SK, Gangwar NK, Swain DK. Ameliorative potential of α -tocopherol against flubendiamide and copper-induced testicular-insult in Wistar rats. *Chem Biol Interact*. 2016 Dec 25;260:91-101.

174. Hernandez ML, Wagner JG, Kala A, Mills K, Wells HB, Alexis NE, Lay JC, Jiang Q, Zhang H, Zhou H, Peden DB. Vitamin E, γ -tocopherol, reduces airway neutrophil recruitment after inhaled endotoxin challenge in rats and in healthy volunteers. *Free Radic Biol Med*. 2013 Jul;60:56-62.

175. Rao AR1, Quach H2, Smith E2, Vatassery GT2, Rao R3. Changes in ascorbate, glutathione and α -tocopherol concentrations in the brain regions during normal development and moderate hypoglycemia in rats. *Neurosci Lett*. 2014 May 7;568:67-71.

176. Rosińczuk J1, Całkosiński I2. Effect of tocopherol and acetylsalicylic acid on the biochemical indices of blood in dioxin-exposed rats. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015 Jul;40(1):1-11.

177. Anzai K, Ueno M, Ikota N, Takata J. γ -Tocopherol-N, N-dimethylglycine Ester as an Potent Postirradiation Radiation Mitigator Against Total Body X-irradiation-induced Bone Marrow Death of Mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 2010;49:S176.

178. Романюк АМ, Сікора ВВ, Линдіна ЮМ, Линдін МС. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму. Буковинський медичний вісник. 2017;21(82), ч.1:145-50.

179. Романюк АМ, Гринцова НБ, Коробчанська АБ., Сауляк СВ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковій системі та внутрішніх органах за умови впливу на організм солей важких металів. Актуальні питання медичної науки і практики. 2015;82(2);155-160.

180. Romaniuk A, Lyndina Yu, Sikora V, Lyndin M, Karpenko L, Gladchenko O, Masalitin I. Structural features of bone marrow. Interv Med Appl Sci. 2016;9(2):105-11.

181. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81.

182. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гусак СВ, Сумцова НГ. Визначення важких металів у кістковому мозку щурів в умовах модельованого мікроелементозу. Вісник проблем і медицини. 2018;1(142):171-7.

183. Гринцова НБ, Романюк АМ, Линдін МС, Линдіна ЮМ. Вплив забруднювачів водного середовища (солей важких металів) на неспецифічні механізми регуляції гемопоезу за умов підгострої дії та корекції антиоксидантами (І-токоферол). Екологічні науки. 2018;1(20): 126-30.

184. Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гирявенко НІ, Линдін МС, Романюк АМ. Дослідження протективних властивостей вітаміну Е на кістковий мозок щурів в умовах підвищеного споживання солей важких металів. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019;23(1):59-64.

185. Романюк АМ, Гринцова НБ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Линдіна ЮМ. Морфологические изменения в костной системе и внутренних органах в условиях влияния на организм солей тяжелых металлов. Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії: збірник тез VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України;

2015 16–18 вересень; Запоріжжя. Запоріжжя: Запорізький державний медичний університет; 2015, с. 77.

186. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Дослідження гістологічних особливостей червоного кісткового мозку у статевозрілих щурів. В: Деміхова НВ, редактор. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини: збірник тез доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених; 2015 квітень 23–24; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2015, с. 222-23.

187. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковому мозку щурів за умов впливу на організм солей важких металів. Перспективні напрями наукових досліджень – 2015: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, том 2; 2015 жовтень 17-22; Братислава. К.: Вид-во «Центр навчальної літератури»; 2015, с. 116-17.

188. Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ, Фесюра ГМ. Гістологічні особливості стромального компоненту кісткового мозку статевозрілих щурів. В: Деміхова НВ, редактор. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини: збірник тез доповідей IV Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, том 1; 2016 квітень 21–22; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2016, с. 135.

189. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Линдін МС, Будко ГЮ. Особливості будови кісткового мозку у щурів. Природничі читання 2016: Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції; 2016 травень 19-22; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2016, с. 69-70.

190. Vambizzle D, Lyndina Yu, Romaniuk A, Sikora V. Features of histological and immunohistochemical structure of rat's bone marrow. Third global students' conference of biomedical sciences: abstract book; 2016 October 20-23; Belgrade. Belgrade: Faculty of Medicine, University of Belgrade; 2016, p. 75.

191. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Гістоморфологічні зміни кісткового мозку за умов впливу солей важких металів. В: Марковський ВД, Сорокіна ІВ та ін, ред. кол. Збірник матеріалів заочної науково-практичної

конференції з міжнародною участю присвяченої 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведенкова: Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи; 2016 грудень 24; Харків. Харків: ХНМУ; 2016, с. 103-5.

192. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Особливості процесу реадaptaції у кістковому мозку щурів після вживання солей важких металів. В: Погорелов МВ, редактор. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини: збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених; 2017 квітень 20–21; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 195-6.

193. Romaniuk AM, Sikora VV, Lyndina YM, Unawunwa F. Protector properties of the vitamin E in the urinary bladder and bone marrow under conditions of simulated effect of heavy metals in high concentrations. In: Cibakova V, Boychuk TM, editor. Natural Science Readings: abstract book; 2017 May 18-21; Bratislava; 2017, p. 53-4.

194. Линдіна ЮМ. Особливості елементного складу кісткового мозку щурів за умов споживання солей важких металів. В: Погорелов МВ, редактор. Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-ти річчю Медичного інституту Сумського державного університету: Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 листопад 16-17; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 28.

195. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Особливості гематологічних показників за умови впливу солей важких металів на статевозрілих щурів-самців. В: Вадзюк СН, редактор. Збірник матеріалів науково-практичної конференції: Довкілля і здоров'я, 2017 квітень 27-28, Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017, с. 205-6.

196. Линдіна ЮМ. Порівняльний аналіз морфологічної будови кісткового мозку щурів та людини. Корда ММ, редактор. Матеріали XXII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2018 квітень 23–25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 265-6.

197. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ. Вивчення міелопротективних властивостей вітаміну Е при надходженні підвищеної кількості солей важких металів у статевозрілих щурів. Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 60-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука; 2018 вересень 13-15; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет, 2018, с. 116-7.

198. 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.

199. Кожемякін ЮМ, Хромов ОС, Філоненко МА, Сайфетдінова ГА. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. К.: Авіцена, 2002:319 с.

200. Гінч ОВ, Кук ЮВ. Радіаційна обстановка на Сумщині. Стан природного середовища та проблеми його охорони на Сумщині. – Суми: Джерело, 1997:44-52.

201. Рыболовлев ЮР, Рыболовлев РС. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. Доклады АН СССР. 1979;6:1513-16.

202. Програма моніторингу довкілля Сумської області на 2011 – 2015 роки.

203. Iavicoli I, Fontana L, Bergamaschi A. The effects of metals as endocrine disruptors. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2009 Mar;12(3):206-23.

204. Schulze H, Shivdasani RA. Mechanisms of thrombopoiesis. J Thromb Haemost. 2005 Aug;3(8):1717-24.

205. Kuzenko Y, Romanyuk A, Korobchanskaya A, Karpenko L. Periodontal bone response under the influence of Cr(VI). Osteologický bulletin. 2014;1(19):23-27.

206. Sabath E, Robles-Osorio ML. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity. Nefrologia. 2012 May 14;32(3):279-86.

ДОДАТКИ

Додаток 1

«Затверджую»
 Перший проректор
 ДВНЗ "Івано-Франківський національний
 медичний університет"
 професор " _____ Г.М. Ерстенюк
 " _____ 2019 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна**.
4. **Джерело інформації:**
 Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичних занять.
7. **Термін впровадження:** квітень 2019 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології, цитології та ембріології ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет"
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології (протокол № 326 від 12 квітня 2019 року).

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології
 ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний
 університет", д. мед.н., професор

С.Б. Герашенко

ЗАТВЕРДЖУЮ
Перший проректор з
науково-педагогічної
роботи «УМСА»
професор Дворник В. М.



« _____ 20 ____ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, **Lyndina Y**, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
5. **Впроваджено:** в учбово-педагогічний процес та наукову роботу кафедри анатомії людини «УМСА»
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:** квітень-травень 2019 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава).
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри анатомії людини (протокол № 28 від 27 березня 2019 року).

Завідувач кафедри анатомії
людини «УМСА» д. мед. н.,
професор

Шерстюк О. О.

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Проректор з науково-педагогічної
 роботи
 Вищого державного навчального
 закладу України
 «Буковинський державний
 медичний університет»
 доцент  Геруш І.В.
 0201097
 20__ р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник, автор:** Медичний інститут Сумського державного університету; аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.
3. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, **Lyndina Y**, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра морфології Медичного інституту Сумського державного університету.
5. **Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять, у наукову роботу кафедри.
6. **Термін впровадження:** квітень-травень 2019 року.
7. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології (протокол № 12 від 19.04.2019 року).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», д. мед. н., професор



Чигикало О.В.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного
медичного університету,
д. мед. н., професор

»  Візір В.А.
2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, **Lyndina Y**, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес, матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:** квітень-травень 2019 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету.
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету.

(протокол № ___ від _____ року).

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри
анатомії людини, оперативної
хірургії та топографічної анатомії
Запорізького державного
медичного університету,
доктор медичних наук, професор

 Григор'єва О.А.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Вінницького національного

медичного університету ім. М.І. Пирогова

д.мед.н., проф.  Власенко О.В.

2019 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Вплив вітаміну Е на зміни в кровоносній системі і крові, які виникли під дією солей важких металів».

2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.

3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.

4. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, **Lyndina Y**, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412

5. **Форма впровадження:** впроваджено в наукову роботу кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

6. **Термін впровадження:** січень - квітень 2019 року.

7. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри анатомії (протокол № 14 від 22 квітня 2019 року).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри анатомії людини

Вінницького національного

медичного університету ім. М.І. Пирогова

д.мед.н., професор



Тихолаз В.О.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова
проф. О.В. Власенко

« 4 » Квітня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
 2. **Установа-розробник:** медичний інститут Сумського державного університету.
 3. **Розроблювач:** аспірант кафедри морфології Ліндіна Юлія Миколаївна та співавтори.
- Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018; 34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра гістології.
4. **Результати застосування** пропозиції за період з квітня по травень 2019 р. Матеріали використовуються у навчальному процесі кафедри гістології на практичних заняттях.
 5. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо особливостей гемопоєзу, гістологічних змін кісткового мозку, які виникають під впливом солей тяжких металів та в умовах корекції вітаміном E.
 6. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.
 7. **Затверджено** на засіданні кафедри від 04.04. 2019 (протокол № 9).

Відповідальний за впровадження: ас. Т.О. Рекун

Завідувач кафедри гістології
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова,
доктор медичних наук, професор

С.В. Вернигородський

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор
з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного
медичного університету імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України
д.мед.н., проф. Шильгай А.Г.



« » 20 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, **Lyndina Y**, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. TurkPatolojiDerg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:** квітень-травень 2019 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра оперативної хірургії з топографічною анатомією Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри анатомії (протокол № 4 від 22.04.2019 року).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри оперативної хірургії
з топографічною анатомією Тернопільського національного
медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
Заслужений працівник освіти України,
д.мед.н., професор
Гнатюк М.С.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
член-кореспондент НАМН України Гжегоцький М.Р.

« ____ » _____ 2019 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, **Lyndina Y**, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:** квітень-травень 2019 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра оперативної хірургії з топографічною анатомією.
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри оперативної хірургії з топографічною анатомією. (№ 14 від «22» квітня 2019р).

Відповідальна за впровадження особа:
завідувач кафедри оперативної хірургії
з топографічною анатомією
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького,
доктор медичних наук, професор

З.З. Масна

Затверджую
Проректор з науково-педагогічної роботи
Вищого державного навчального
закладу України “Буковинський державний
медичний університет”
доц. І.В. Геруш
_____ 2019 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».

Установа-розробник: Медичний інститут Сумського державного університету, кафедра морфології, аспірант Линдіна Юлія Миколаївна.

Джерело інформації:

Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії Вищого державного навчального закладу України “Буковинський державний медичний університет”.

Термін впровадження: квітень-травень 2019 року.

Форми впровадження: введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії.
Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 17 від 27.03.2019 р.).

Завідувач кафедри анатомії,
топографічної анатомії та оперативної
хірургії Вищого державного
навчального закладу України
“Буковинський державний
медичний університет”,
доктор медичних наук, професор

О.М. Слободян

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
член-кореспондент НАМН України
доктор медичних наук, професор



M. P. Gzhegotskiy Гзегоцький М.Р.

20 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:** квітень-травень 2019 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 11 від 7 травня 2019 року).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
нормальної анатомії Львівського національного
медичного університету імені Данила Галицького
доктор медичних наук, професор

L. P. Matshuk-Vaceba - Л. Р. Матешук-Вацеба



ЗАТВЕРДЖУЮ
 Проректор наукової роботи
 Харківського національного
 медичного університету
 проф. В.В. М'ясоєдов
 «__» _____ 2019 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. Ким і коли запропонований: Медичний інститут Сумського державного університету, кафедра морфології, аспірант – Линдіна Юлія Миколаївна, 2018 р.
3. Джерела інформації: стаття у закордонному фаховому виданні:
 3.1 Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
4. Де і коли впроваджено: кафедра анатомії людини Харківського національного медичного університету, завідувач кафедри д. мед. н., доц. Вовк О.Ю., січень 2019 р. - квітень 2019 р.
5. Результати застосування методу за період з 1 січня 2019 р. по 26 квітня 2019 р. Впровадження у навчальний процес в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, аспірантами, а також у наукову-дослідну роботу кафедри.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): Поглиблення знань студентів, аспірантів про зміни у системі гемопоезу під впливом солей тяжких металів та методи їх корекції.
7. Зауваження, пропозиції – немає.

Відповідальний за впровадження
 Завідувач кафедри анатомії людини
 Харківського національного
 медичного університету,
 д. мед. н., доц. Вовк О.Ю.

2.05.19
 (дата)


 (підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Заступник директора з наукової роботи
Медичного інституту
Сумського державного університету
д. мед. наук, професор Погорелов М.В.
« 05 » _____ 2019 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Пропозиція для впровадження:** «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».
2. **Установа-розробник:** Медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Автор:** аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.
4. **Джерело інформації:** Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412
5. **Впроваджено:** у навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. **Результати впровадження:** введено у навчальний процес – матеріали лекцій та практичні заняття.
7. **Термін впровадження:** квітень-травень 2019 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра морфології Медичного інституту Сумського державного університету.
9. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Завідувач кафедри морфології
медичного інституту Сумського
державного університету.
д. біол. наук, професор

В. І. Бумейстер

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Вищого державного навчального закладу
 України «Буковинський державний
 медичний університет»
 доц. _____ І.В. Геруш
 «_____» _____ 2019 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: «Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E».

Установа-розробник: Медичний інститут Сумського державного університету.

Автор: аспірант кафедри морфології **Линдіна Юлія Миколаївна** та співавтори.

Джерело інформації: Romaniuk A, Lyndin M, **Lyndina Y**, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. Turk Patoloji Derg. 2018;34(1):73-81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412

Впровадження: у навчальний процес та наукову роботу кафедри.

Результати впровадження: введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичні заняття.

Термін впровадження: квітень-травень 2019 року.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини імені М.Г. Туркевича Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».

Зауваження на засіданні кафедри (протокол № 71 від 15.05.2019 р.).

Відповідальний за впровадження:
Професор кафедри анатомії людини
імені М.Г. Туркевича



Б.Г. Макар

Додаток 2

Таблиця 1

Параметри складових елементів (%) стромального компоненту КМ щурів контрольної групи

Показник	Кісткова тканина (епіфіз)	Кровоносні судини	Жирова тканина	Сполучно-тканинні волокна	Строма (епіфіз)	Строма (діафіз)
Максимальне значення	53	22	15	1,1	32,8	84,1
Мінімальне значення	42	15	8	0,4	25,7	73,7
М	48,8	18,7	11	0,73	30,4	79,1
SD	3,3	2,1	2	0,2	2,2	3,7

Таблиця 2

Параметри складових елементів (%) паренхіматозного компоненту КМ щурів контрольної групи

Показник	Еритроцитопоез (епіфіз)	Гранулоцитопоез (епіфіз)	Лімфоцитопоез (епіфіз)	Еритроцитопоез (діафіз)	Гранулоцитопоез (діафіз)	Лімфоцитопоез (діафіз)
Максимальне значення	7	17	1,2	23	58	1,2
Мінімальне значення	3	13	0,8	11	46	0,8
М	5,3	14,8	1	17,8	51,2	1
SD	1,42	1,42	0,14	3,27	3,27	0,15

Таблиця 3

Відсоткове співвідношення різних попередників гемопоезу на 30 та 90 добу вживання СВМ

Показник	Еритроцитопоез				Гранулоцитопоез				Тромбоцитопоез	
	Епіфіз		Діафіз		Епіфіз		Діафіз			
Доба спостереження	30	90	30	90	30	90	30	90	30	90
Максимальне значення	5	4	17	16	17	14	57	46	0,2	0,3
Мінімальне значення	3	3	14	12	13	12	49	41	0,1	0,2
М	3,9	3,4	15,1	14,3	15,3	12,9	53	43,8	0,16	0,25
SD	0,75	0,52	,1	1,6	1,6	0,98	2,9	1,9	0,05	0,055

Таблиця 4

Відсоткове співвідношення різних попередників гемопоезу на 30 та 90 добу
вживання СВМ на фоні корекції змін вітаміном Е

Показник	Еритроцитопоез				Гранулоцитопоез				Тромбоцитопоез	
	Епіфіз		Діафіз		Епіфіз		Діафіз			
Доба спостереження	30	90	30	90	30	90	30	90	30	90
Максимальне значення	6	4	19	16	17	14	54	47	0,2	0,3
Мінімальне значення	3	3	14	13	13	13	50	41	0,1	0,1
М	4,5	3,6	16,1	14,6	15	13,6	51,8	44,1	0,16	0,21
SD	1,23	0,52	1,79	1,2	1,4	0,52	1,6	2,23	0,05	0,08

Таблиця 5

Відсоткове співвідношення різних попередників гемопоезу на 30 та 90 добу
(120 та 180 доба спостереження) відновлення у щурів 2-ої серії 2-ої групи.

Показник	Еритроцитопоез				Гранулоцитопоез				Тромбоцитопоез	
	Епіфіз		Діафіз		Епіфіз		Діафіз			
Доба спостереження	30	90	30	90	30	90	30	90	30	90
Максимальне значення	5	6	18	19	16	15	48	50	0,3	0,2
Мінімальне значення	3	4	15	16	11	13	45	45	0,1	0,1
М	4	5,1	16,9	17,5	13,5	14,1	46,4	47,8	0,21	0,18
SD	0,63	0,98	1,27	1,38	1,87	0,75	1,21	1,72	0,08	0,04

Таблиця 6

Відсоткове співвідношення різних попередників гемопоезу на 30 та 90 добу (120 та 180 доба спостереження) відновлення у щурів 3-ої серії 2-ої групи.

Показник	Еритроцитопоез				Гранулоцитопоез				Тромбоцитопоез	
	Епіфіз		Діафіз		Епіфіз		Діафіз			
Доба спостереження	30	90	30	90	30	90	30	90	30	90
Максимальне значення	5	6	19	20	16	15	50	51	0,3	0,2
Мінімальне значення	3	4	16	16	12	13	45	46	0,1	0,1
M	4,1	5,1	17,4	17,8	14	14,3	47,5	48,4	0,2	0,16
SD	0,98	0,98	1,51	1,63	1,55	0,82	1,87	2,25	0,06	0,05

Таблиця 7

Відсоткове співвідношення різних попередників гемопоезу на 30 та 90 добу (120 та 180 доба спостереження) відновлення у щурів 4-ої серії 2-ої групи.

Показник	Еритроцитопоез				Гранулоцитопоез				Тромбоцитопоез	
	Епіфіз		Діафіз		Епіфіз		Діафіз			
Доба спостереження	30	90	30	90	30	90	30	90	30	90
Максимальне значення	6	7	17	20	16	15	52	52	0,2	0,2
Мінімальне значення	3	4	14	16	13	14	45	47	0,1	0,1
M	4,5	5,6	15,8	18	14,3	14,6	48	49,8	0,18	0,16
SD	1,05	1,03	1,17	1,55	1,17	0,52	2,64	2,04	0,04	0,05

Таблиця 8

Вміст ВМ (мкг/г) у КМ інтактних тварин 1-ої групи

	Цинк	Мідь	Хром	Марганець	Свинець	Залізо
Показник	<i>30 діб</i>					
Максимальне значення	65,14	16,13	2,3	3,78	0,72	565,17
Мінімальне значення	53,28	14,01	1,56	2,87	0,52	495,9
М	58,29	15,03	1,88	3,27	0,63	521,1
SD	4,46	0,94	0,28	0,34	0,077	25,29
	<i>90 діб</i>					
Максимальне значення	64,09	15,28	2,23	3,74	0,69	542,9
Мінімальне значення	51,22	13,87	1,68	2,98	0,51	489,7
М	58,92	14,47	1,94	3,35	0,6	513,67
SD	4,6	0,6	0,23	0,3	0,06	21,1

Таблиця 9

Вміст ВМ (мкг/г) у КМ інтактних тварин 2-ої групи

	Цинк	Мідь	Хром	Марганець	Свинець	Залізо
Показник	<i>30 діб</i>					
Максимальне значення	61,12	15,89	2,03	3,65	0,71	562,5
Мінімальне значення	54,13	14,44	1,77	2,42	0,5	485,6
М	58,48	15,16	1,9	3,2	0,62	520,95
SD	2,47	0,51	0,1	0,46	0,08	31,74
	<i>90 діб</i>					
Максимальне значення	63,58	17,1	2,06	3,57	0,7	534,2
Мінімальне значення	50,13	15,81	1,73	2,96	0,59	496,3
М	57,24	16,34	1,88	3,29	0,64	515,4
SD	4,71	0,43	0,13	0,22	0,042	14,01

Таблиця 10

Вміст ВМ (мкг/г) у КМ тварин 1-ої групи, які вживали СВМ

	Цинк	Мідь	Хром	Марганець	Свинець	Залізо
Показник	30 діб					
Максимальне значення	85,36	28,3	3,74	5,61	1,3	1023,1
Мінімальне значення	74,11	22,57	2,98	5,07	1,02	912,3
М	79,78	25,9	3,35	5,28	1,18	970,2
SD	4,37	2,32	0,28	0,19	0,096	36,84
	90 діб					
Максимальне значення	100,7	38,69	5,15	7,7	1,96	1352,1
Мінімальне значення	90,17	30,11	3,95	6,2	1,62	1200,6
М	94,78	33,55	4,54	6,86	1,76	1268,6
SD	4,49	3,51	0,51	0,57	0,14	52,13

Таблиця 11

Вміст ВМ (мкг/г) у КМ тварин 1-ої групи, які вживали СВМ та вітамін Е

	Цинк	Мідь	Хром	Марганець	Свинець	Залізо
Показник	30 діб					
Максимальне значення	80,92	28,67	3,28	5,15	1,13	762,2
Мінімальне значення	70,5	21,38	2,65	4,66	0,8	700,9
М	75,95	24,65	3,02	4,94	0,99	730,74
SD	3,97	2,59	0,25	0,17	0,13	22,6
	90 діб					
Максимальне значення	89,47	30,61	4,27	6,4	1,45	978,3
Мінімальне значення	82,66	24,61	3,71	5,84	1,23	870,2
М	85,77	27,66	4,02	6,04	1,34	911,79
SD	2,91	2,36	0,25	0,21	0,09	41,74

Таблиця 12

Вміст ВМ (мкг/г) у КМ тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ (серія 2 другої групи)

	Цинк	Мідь	Хром	Марганець	Свинець	Залізо
Показник	30 діб					
Максимальне значення	61,12	15,89	2,03	3,65	0,71	562,5
Мінімальне значення	54,13	14,44	1,77	2,42	0,5	485,6
М	58,48	15,16	1,9	3,2	0,62	520,95
SD	2,47	0,51	0,1	0,46	0,076	31,74
	90 діб					
Максимальне значення	63,58	17,1	2,06	3,57	0,7	534,2
Мінімальне значення	50,13	15,81	1,73	2,96	0,59	496,3
М	57,24	16,34	1,88	3,29	0,64	515,4
SD	4,71	0,43	0,13	0,22	0,042	14,09

Таблиця 13

Вміст ВМ (мкг/г) у КМ тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ та почали вживати вітамін Е (3-тя серія 2-ої групи)

	Цинк	Мідь	Хром	Марганець	Свинець	Залізо
Показник	30 діб					
Максимальне значення	77,2	25,69	6,9	5,74	1,43	901,3
Мінімальне значення	69,13	20,63	6,28	4,92	1,18	826,4
М	73,01	23,22	6,57	5,28	1,32	862,54
SD	3,46	1,84	0,26	0,28	0,11	27,73
	90 діб					
Максимальне значення	68,13	22,75	2,91	4,31	1,25	678,3
Мінімальне значення	58,75	17,25	2,61	3,73	0,87	606,1
М	63,05	19,82	2,78	4,09	1,08	647,65
SD	3,8	2,44	0,12	0,25	0,15	26,0

Таблиця 14

Вміст ВМ (мкг/г) у КМ тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ та продовжили вживати вітамін Е (4-а серія 2-ої групи)

	Цинк	Мідь	Хром	Марганець	Свинець	Залізо
Показник	30 діб					
Максимальне значення	74,12	22,81	3,41	4,85	1,21	735,2
Мінімальне значення	65,89	18,62	2,95	4,43	0,95	675,1
М	70,08	21,01	3,19	4,3	1,07	702,51
SD	3,45	1,73	0,17	0,16	0,1	23,54
	90 діб					
Максимальне значення	67,19	22,71	2,86	4,16	1,01	622,8
Мінімальне значення	55,29	17,1	2,13	3,8	0,71	577,9
М	61,13	19,33	2,53	3,98	0,87	598,68
SD	4,39	2,4	0,29	0,14	0,12	16,45

Таблиця 15

Показники загального аналізу крові у інтактних щурів

	Нь (г/л)	Еритроцити ($\times 10^{12}/\text{л}$)	Лейкоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	Тромбоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	ШОЕ (мм/год)
Максимальне значення	146	4,78	8,6	266,4	3
Мінімальне значення	138	4,12	7,6	246,4	1
М	142,08	4,42	8,16	256,82	1,5
SD	2,13	0,21	0,29	4,52	0,66

Таблиця 16

Показники біохімічного аналізу крові у інтактних щурів

	Са (ммоль/л)	На (ммоль/л)	К (ммоль/л)	Креатинін (мкмоль/л)	Сечовина (ммоль/л)
Максимальне значення	3,14	140,2	5,2	88,2	5,3
Мінімальне значення	2,89	130,7	4,2	72,5	4,4
М	3,02	135,23	4,68	78,79	4,86
SD	0,07	2,75	0,26	3,87	0,25

Таблиця 17

Показники загального аналізу крові у тварин 1-ої групи, які вживали СВМ (2-га серія)

	Нь (г/л)	Еритроцити ($\times 10^{12}/\text{л}$)	Лейкоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	Тромбоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	ШОЕ (мм/год)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	129	3,68	9,1	269,4	4
Мінімальне значення	123	3,13	7,9	257,7	2
М	126,4	3,42	8,5	263,08	2,88
SD	2,17	0,23	0,45	4,59	0,75
	90 діб				
Максимальне значення	118	3,11	7,4	294,6	6
Мінімальне значення	113	2,66	6,6	275,6	3
М	115,63	2,94	6,95	285,34	4,5
SD	1,97	0,18	0,29	6,65	1,05

Таблиця 18

Показники загального аналізу крові у тварин 1-ої групи, які вживали СВМ та вітамін Е (2-я серія)

	Нь (г/л)	Еритроцити ($\times 10^{12}/\text{л}$)	Лейкоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	Тромбоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	ШОЕ (мм/год)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	138	4,12	8,4	264,2	3
Мінімальне значення	130	3,72	7,8	255,5	1
М	134,25	3,91	8,19	259,83	1,88
SD	2,94	0,13	0,22	3,38	0,75
	90 діб				
Максимальне значення	132	3,8	7,4	281,5	4
Мінімальне значення	127	3,18	6,8	275,6	2
М	129,38	3,39	7,1	278,29	2,75
SD	1,86	0,23	0,22	2,33	0,82

Таблиця 19

Показники загального аналізу крові у тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ (2-га серія)

	Нв (г/л)	Еритроцити ($\times 10^{12}$ /л)	Лейкоцити ($\times 10^9$ /л)	Тромбоцити ($\times 10^9$ /л)	ШОЕ (мм/год)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	124	3,79	7,8	284,6	4
Мінімальне значення	119	3,22	7	275,6	2
М	121,75	3,48	7,34	279,95	3
SD	1,94	0,21	0,3	4,22	0,89
	90 діб				
Максимальне значення	137	4,26	7,9	274,6	3
Мінімальне значення	126	3,81	7	266,5	1
М	130,63	4,02	7,5	270,4	2,13
SD	3,83	0,15	0,32	2,8	0,75

Таблиця 20

Показники загального аналізу крові у тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ та почали вживати вітамін Е (3-я серія)

	Нв (г/л)	Еритроцити ($\times 10^{12}$ /л)	Лейкоцити ($\times 10^9$ /л)	Тромбоцити ($\times 10^9$ /л)	ШОЕ (мм/год)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	132	3,67	7,8	284,3	3
Мінімальне значення	125	3,43	7,3	278,9	2
М	128,63	3,55	7,53	281,34	2,38
SD	2,66	0,096	0,17	2,13	0,52
	90 діб				
Максимальне значення	139	4,25	8	270,1	2
Мінімальне значення	131	3,95	7,5	261,5	1
М	135,75	4,11	7,74	265,95	1,75
SD	2,83	0,11	0,189	3,61	0,41

Таблиця 21

Показники загального аналізу крові у тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ та продовжили вживати вітамін Е (4-та серія)

	Нв (г/л)	Еритроцити ($\times 10^{12}$ /л)	Лейкоцити ($\times 10^9$ /л)	Тромбоцити ($\times 10^9$ /л)	ШОЕ (мм/год)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	139	3,92	8	279,6	3
Мінімальне значення	131	3,42	7,5	269,9	1
М	135,38	3,68	7,69	275,18	1,88
SD	2,88	0,18	0,2	3,43	0,75
	90 діб				
Максимальне значення	144	4,36	8,1	267,3	2
Мінімальне значення	138	4,15	7,7	258,1	1
М	140,88	4,24	7,9	262,6	1,5
SD	2,32	0,09	0,14	3,86	0,55

Таблиця 22

Показники біохімічного аналізу крові у тварин 1-ої групи, які вживали СВМ (серія 2)

	Са (ммоль/л)	Na (ммоль/л)	К (ммоль/л)	Креатинін (мкмоль/л)	Сечовина (ммоль/л)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	2,81	147,3	4,5	91,6	6,6
Мінімальне значення	2,68	140,1	4,1	85,6	5,2
М	2,75	144,35	4,3	88,38	5,78
SD	0,05	2,57	0,14	2,3	0,52
	90 діб				
Максимальне значення	3,01	160,1	4,2	91,7	6,8
Мінімальне значення	2,71	150,8	3,8	88,6	5,6
М	2,83	154,74	3,99	90,36	6,14
SD	0,11	3,55	0,15	1,19	0,46

Таблиця 23

Показники біохімічного аналізу крові у тварин 1-ої групи, які вживали СВМ та вітамін Е (серія 3)

	Са (ммоль/л)	Na (ммоль/л)	К (ммоль/л)	Креатинін (мкмоль/л)	Сечовина (ммоль/л)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	3,07	141,8	4,9	88,9	5,7
Мінімальне значення	2,69	138,6	4,3	79,6	4,9
М	2,87	140,1	4,55	84,7	5,36
SD	0,13	1,09	0,23	3,29	0,29
	90 діб				
Максимальне значення	2,87	150,2	4,3	90,1	5,9
Мінімальне значення	2,76	142,6	4	85,4	5,4
М	2,81	147,19	4,15	87,25	5,71
SD	0,05	3,13	0,11	1,712	0,19

Таблиця 24

Показники біохімічного аналізу крові у тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ (серія 2)

	Са (ммоль/л)	Na (ммоль/л)	К (ммоль/л)	Креатинін (мкмоль/л)	Сечовина (ммоль/л)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	2,94	152,3	4,3	89,3	6
Мінімальне значення	2,81	146,8	4	84,7	5,3
М	2,88	149,58	4,16	86,83	5,64
SD	0,06	2,35	0,1	1,86	0,26
	90 діб				
Максимальне значення	3,1	148,6	4,5	84,6	5,6
Мінімальне значення	2,73	137,6	4,2	79,6	4,6
М	2,94	143,66	4,36	82,29	5,14
SD	0,14	4,44	0,12	1,75	0,38

Таблиця 25

Показники біохімічного аналізу крові у тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ та почали вживати вітамін Е (серія 3)

	Са (ммоль/л)	Na (ммоль/л)	К (ммоль/л)	Креатинін (мкмоль/л)	Сечовина (ммоль/л)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	3,01	150,1	4,4	87,6	6,2
Мінімальне значення	2,78	142,5	3,9	81,8	4,9
М	2,88	146,26	4,19	84,56	5,49
SD	0,08	2,56	0,18	1,99	0,45
	90 діб				
Максимальне значення	3,08	142,5	4,8	84,2	5,8
Мінімальне значення	2,86	135,6	4,1	79,6	4,8
М	2,96	139,66	4,45	81,74	5,29
SD	0,09	2,45	0,24	1,61	0,41

Таблиця 26

Показники біохімічного аналізу крові у тварин 2-ої групи, які припинили вживати СВМ та продовжили вживати вітамін Е (серія 4)

	Са (ммоль/л)	Na (ммоль/л)	К (ммоль/л)	Креатинін (мкмоль/л)	Сечовина (ммоль/л)
Показник	30 діб				
Максимальне значення	3,01	144,6	4,5	87,5	5,5
Мінімальне значення	2,7	140,2	4,1	79,5	5,1
М	2,84	142,33	4,3	83,23	5,29
SD	0,12	1,54	0,14	3,06	0,15
	90 діб				
Максимальне значення	3,07	139,6	4,7	82,4	5,3
Мінімальне значення	2,93	132,2	4,3	78,6	4,7
М	2,99	136,71	4,54	80,19	4,96
SD	0,06	2,59	0,16	1,28	0,22

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Романюк АМ, Гринцова НБ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковій системі та внутрішніх органах за умови впливу на організм солей важких металів. Актуальні питання медичної науки і практики. 2015;82(2);155–160.
2. Romaniuk A, Lyndina Yu, Sikora V, Lyndin M, Karpenko L, Gladchenko O, Masalitin I. Structural features of bone marrow. *Interv Med Appl Sci.* 2016;9(2):105–11. DOI: 10.1556/1646.8.2016.3.3
3. Романюк АМ, Сікора ВВ, Линдіна ЮМ, Линдін МС. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму. Буковинський медичний вісник. 2017;21(82),ч.1:145–50. DOI: 10.24061/2413-0737/XXI.2.82.1.2017.32.
4. Romaniuk A, Lyndin M, Lyndina Y, Sikora V, Hrintsova N, Timakova O, Gudymenko O, Gladchenko O. Changes in the hematopoietic system and blood under the influence of heavy metal salts can be reduced with vitamin E. *Turk Patoloji Derg.* 2018;34(1):73–81. DOI: 10.5146/tjpath.2017.01412.
5. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гусак ЄВ, Сумцова НГ. Визначення важких металів у кістковому мозку щурів в умовах модельованого мікроелементозу. Вісник проблем і медицини. 2018;1(142):171–7.
6. Гринцова НБ, Романюк АМ, Линдін МС, Линдіна ЮМ. Вплив забруднювачів водного середовища (солей важких металів) на неспецифічні механізми регуляції гемопоезу за умов підгострої дії та корекції антиоксидантами (І-токоферол). Екологічні науки. 2018;1(20): 126–30.
7. Линдіна ЮМ, Сікора ВВ, Гирявенко НІ, Линдін МС, Романюк АМ. Дослідження протективних властивостей вітаміну Е на кістковий мозок щурів в умовах підвищеного споживання солей важких металів. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019;23(1):59–64.
8. Романюк АН, Гринцова НБ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Линдіна ЮН. Морфологические изменения в костной системе и внутренних органах в условиях влияния на организм солей тяжелых металлов. В: Збірник

тез VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії; 2015 Верес 16-18; Запоріжжя. Запоріжжя: Запорізький державний медичний університет; 2015, с. 77.

9. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Дослідження гістологічних особливостей червоного кісткового мозку у статевозрілих щурів. В: Деміхова НВ, редактор. Збірник тез доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2015 Квіт 23-24; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2015, с. 222–23.

10. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Морфологічні зміни у кістковому мозку щурів за умов впливу на організм солей важких металів. В: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. Перспективні напрями наукових досліджень – 2015; 2015 Жовт 17-22; Братислава. Київ: Вид-во «Центр навчальної літератури»; 2015. Том 2; с. 116–17.

11. Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ, Фесюра ГМ. Гістологічні особливості стромального компоненту кісткового мозку статевозрілих щурів. В: Деміхова НВ, редактор. Збірник тез доповідей IV Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2016 Квіт 21-22; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2016. Том 1; с. 135.

12. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Линдін МС, Будко ГЮ. Особливості будови кісткового мозку у щурів. В: Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції. Природничі читання 2016; 2016 Трав 19-22; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2016, с. 69–70.

13. Vambizzle D, Lyndina Yu, Romaniuk A, Sikora V. Features of histological and immunohistochemical structure of rat's bone marrow. In: Third global students' conference of biomedical sciences: abstract book; 2016 Oct 20–23; Belgrade. Belgrade: Faculty of Medicine, University of Belgrade; 2016, p. 75.

14. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Гістоморфологічні зміни кісткового мозку за умов впливу солей важких металів. В: Марковський ВД, Сорокіна ІВ та ін, ред. кол. Збірник матеріалів заочної науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведенкова. Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи; 2016 Груд 24; Харків. Харків: ХНМУ; 2016, с. 103–5.

15. Линдіна ЮМ, Фесюра ГМ. Особливості процесу реадaptaції у кістковому мозку щурів після вживання солей важких металів. В: Погорелов МВ, редактор. Збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини; 2017 Квіт 20-21; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 195-6.

16. Romaniuk AM, Sikora VV, Lyndina YM, Unawunwa F. Protector properties of the vitamin E in the urinary bladder and bone marrow under conditions of simulated effect of heavy metals in high concentrations. In: Cibakova V, Boychuk TM, editors. Natural Science Readings: abstract book; 2017 May 18-21; Bratislava; 2017, p. 53-4.

17. Линдіна ЮМ. Особливості елементного складу кісткового мозку щурів за умов споживання солей важких металів. В: Погорелов МВ, редактор. Збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету. Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 Лист 16-17; Суми. Суми: Сумський державний університет; 2017, с. 28.

18. Романюк АМ, Линдіна ЮМ. Особливості гематологічних показників за умови впливу солей важких металів на статевозрілих щурів-самців. В: Вадзюк СН, редактор. Збірник матеріалів науково-практичної конференції. Довкілля і здоров'я; 2017 Квіт 27-28, Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017, с. 205-6.

19. Линдіна ЮМ. Порівняльний аналіз морфологічної будови кісткового мозку щурів та людини. В: Корда ММ, редактор. Матеріали XXII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2018 Квіт 23–25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 265-6.

20. Романюк АМ, Линдіна ЮМ, Карпенко ЛІ. Вивчення мієлопротективних властивостей вітаміну Е при надходженні підвищеної кількості солей важких металів у статевозрілих щурів. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 60-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука. Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі; 2018 Верес 13-15; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет, 2018, с. 116–7.

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Конгрес анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України «Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії» Запорізького державного медичного університету (Запоріжжя – 2015) - публікація тез.

2. Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини» Сумського державного університету (Суми – 2015, 2016, 2017) – усна доповідь, стендова доповідь, публікація тез.

3. Міжнародна науково-практична конференція «Перспективні напрями наукових досліджень – 2015» (Братислава – 2015) – публікація тез.

4. III міжнародна науково-практична конференція «Природничі читання 2016» Буковинського державного медичного університету (Чернівці – 2016) – публікація тез.

5. III-я Всесвітня студентська конференція з біомедичних наук (Third global students' conference of biomedical sciences) медичного факультету Белградського університету (Белград – 2016) – публікація тез.

6. Заочна науково-практична конференція з міжнародною участю присвячена 150-річчю з дня народження професора М. Ф. Мельникова-Разведенкова «Сучасні аспекти морфології людини: успіхи, проблеми та перспективи» Харківського національного медичного університету (Харків – 2016) – заочна форма участі, публікація тез.

7. Закордонний збірник «Natural Science Readings» (Братислава – 2017) – публікація тез.

8. Всеукраїнська науково-методична конференція, присвячена 25-ти річчю Медичного інституту Сумського державного університету «Перспективи розвитку медичної науки і освіти» (Суми – 2017) – усна доповідь, публікація тез.

9. Науково-практична конференція «Довкілля і здоров'я» ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (Тернопіль – 2017) – усна доповідь, публікація тез.

10. XXI Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвяченому 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (Тернопіль – 2017) – публікація тез.

11. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 60-річчю від дня народження професора Ю.Т. Ахтемійчука Буковинського державного медичного університету (Чернівці – 2018) – публікація тез.

12. Дисертаційну роботу заслухано на міжкафедральному семінарі Медичного інституту Сумського державного університету 19 червня 2019 року (протокол № 7).