

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет

**Патоморфологічні та функціональні діагностичні
критерії порушення гемопоезу
за умов мікроелементозу**

Монографія

За загальною редакцією доктора медичних наук,
професора А. М. Романюка
та кандидата медичних наук, доцента М. С. Линдіна

Рекомендовано вченою радою Сумського державного університету



Суми
Сумський державний університет
2023

УДК 611.018.46/.5:616-092.9:613.63

П 20

Авторський колектив:

Романюк А. М. – доктор медичних наук, професор;

Линдіна Ю. М. – кандидатка медичних наук;

Сікора К. О. – аспірантка;

Гирявенко Н. І. – кандидатка медичних наук, доцентка;

Сікора В. В. – кандидат медичних наук, доцент;

Линдін М. С. – кандидат медичних наук, доцент

Рецензенти:

В. І. Бумейстер – докторка біологічних наук, професорка, завідувачка кафедри морфології Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету;

І. І. Старченко – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патологічної анатомії з секційним курсом Полтавського державного медичного університету

Рекомендовано до видання

вченою радою Сумського державного університету

(протокол № 3 від 19 жовтня 2023 року)

Патоморфологічні та функціональні діагностичні

П 20 критерії порушення гемопоезу за умов мікроелементозу : монографія / А. М. Романюк та ін. ; за заг. ред. А. М. Романюка та М. С. Линдіна. – Суми : Сумський державний університет, 2023. – 161 с.

ISBN 978-966-657-955-6

Монографія присвячена характеристиці кісткового мозку статевозрілих щурів, яким у надлишкових дозах давали солі важких металів із водою, провокуючи розвиток мікроелементозу. Окремими розділами описано гістологічні та імуногістохімічні особливості кісткового мозку, його мікроелементний склад та якісні характеристики крові в умовах інтоксикації й корекції змін вітаміном Е.

УДК 611.018.46/.5:616-092.9:613.63

© Сумський державний університет, 2023

ISBN 978-966-657-955-6

© Романюк А. М. та ін., 2023

Зміст

	С.
Передмова.....	5
Перелік умовних позначень і скорочень.....	7
Вступ.....	8
Розділ 1	
Загальні відомості про гістогенез, будову та функціонування кісткового мозку.....	11
Розділ 2	
Морфологічні особливості кісткового мозку за умов впливу патологічних факторів.....	19
Розділ 3	
Участь важких металів у функціонуванні живих організмів.....	27
Розділ 4	
Біологічна роль, метаболізм і функції вітаміну Е в живому організмі.....	33
Розділ 5	
Дизайн експериментального дослідження.....	38
Розділ 6	
Морфологічні особливості кісткового мозку щурів контрольної групи.....	42
Розділ 7	
Зміни в кістковому мозку за умов споживання солей важких металів у надлишкових концентраціях.....	58
Розділ 8	
Зміни в кістковому мозку за умов споживання солей важких металів та корекції змін вітаміном Е.....	68
Розділ 9	
Зміни в кістковому мозку щурів за умов відновлення.....	76

Розділ 10	
Мікроелементний склад кісткового мозку в щурів.....	88
Розділ 11	
Дослідження показників крові у щурів.....	98
Розділ 12	
Аналіз та узагальнення результатів досліджень.....	110
Висновки та практичні рекомендації.....	133
Список літератури.....	136

Передмова

Наше сьогодення характеризується зростанням забруднення довкілля різними поллютантами, серед яких солі важких металів займають провідне місце. Потрапляючи до організму, вони накопичуються в тканинах, призводячи до виражених патологічних змін. Глибоке аналізування опублікованих даних засвідчило, що вони можуть спричиняти не лише запальні, дистрофічно-некротичні й дисциркуляторні перетворення в різних внутрішніх органах, а й бути провокуючим фактором розвитку та прогресування злоякісних пухлин.

Незважаючи на досить переконливі результати щодо впливу важких металів на організм, на жаль, дуже обмежена кількість праць присвячена дослідженню впливу мікроелементозу кісткового мозку на гемопоез. Це може бути пов'язано з труднощами роботи з кістковою тканиною та отриманням якісних гістологічних та, особливо, імуногістохімічних препаратів, на яких можна визначити морфологічні й рецепторні варіації в системі гемопоезу.

Ця наукова праця є багаторічним результатом роботи групи науковців кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету. Значна частина наведених даних на сьогодні вже опублікована у високореєтингових відчизняних та закордонних виданнях. Крім того, одержані результати стали основою для захисту дисертаційної роботи, яку під моїм керівництвом та в тісній співпраці з науковцями різних науково-дослідних лабораторій Сумського державного університету підготувала аспірантка нашої кафедри Линдіна Юлія Миколаївна.

Викладений у монографії матеріал наведений у чітко структурованому вигляді з окремим розділом обговорення одержаних результатів та порівнянням їх із раніше отриманими даними. Сподіваємося, що наші зусилля слугуватимуть покращанню розуміння впливу важких металів на гемопоез і дозволять попередити негативний їх вплив у разі потрапляння людей в екологічно-забруднені регіони.

Усі результати, одержані впродовж реалізації проєкту, є частиною планової наукової теми кафедри патологічної анатомії № 0119U100887 і науково-дослідних робіт Міністерства освіти і науки України: № 0121U100472, № 0122U000773, № 0123U101850 та № 0123U100111 кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету.

Наприкінці хочу висловити щирі слова подяки всьому колективу кафедри патологічної анатомії за незамінний внесок у виконання цього проєкту. Без їх допомоги ми не змогли б одержати такі переконливі результати, оскільки їх ретельна праця з виготовлення гістологічних та імуногістохімічних препаратів була безцінною.

Завідувач кафедри
патологічної анатомії
Навчально-наукового
медичного інституту СумДУ
д-р мед. наук, проф. *А. М. Романюк*

Перелік умовних позначень і скорочень

АФК-----	активні форми кисню.
БАК-----	біохімічний аналіз крові.
ВМ-----	важкі метали.
Нв -----	гемоглобін.
ДАБ -----	діамінобензидин.
ЗАК-----	загальний аналіз крові.
ІГХ-дослідження ----	імуногістохімічне дослідження.
КМ-----	кістковий мозок.
КУО-----	колонієутворювальна одиниця.
МЕ-----	мікроелементи.
МПО -----	мієлопероксидаза.
М:Е-співвідношення-	мієлоїдно-еритроїдне співвідношення
ПОЛ-----	перекисне окиснення ліпідів.
СВМ-----	солі важких металів.
СКК-----	стовбурові клітини крові.
ФЕК-----	формені 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 й триває впродовж онтогенезу [2], тому як ендогенні, так і екзогенні чинники можуть постійно впливати на якість процесу кровотворення, що відображається порушенням гістоархітекτονіки КМ [3].

За останні десятиріччя одержано значну кількість даних про кількісний та якісний склад КМ, які враховують топографію його розміщення та вік тварин [1; 4]. Проте існує постійна потреба в уточненні одержаних результатів, зважаючи на стрімкий розвиток науки. Рутинні гістологічні методи дослідження не дозволяють повною мірою ідентифікувати всіх складових 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 полютантів 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 метаболізму вони виявляють свої токсичні властивості, хоча більшість із них є есенційними мікроелементами (МЕ) [11; 12]. Вплив патогенних чинників, якими є й СВМ, на процес кровотворення може відбуватися за допомогою

їх прямої дії на КМ або опосередковано, через ушкодження інших внутрішніх органів [13; 14]. Свій негативний ефект вони реалізують за допомогою індукції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та утворення активних форм кисню (АФК) [13; 15], конкуруючого заміщення есенційних 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 політантів [24].

Якісні й 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 гемопоез – 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 за допомогою комплексного дослідження морфологічних особливостей КМ з огляду на можливість одержання недостатньої інформації під час цитологічного вивчення 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 гемопоєзу), 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]. Під час використання цього коректора обов'язково ураховують його терапевтичну дозу для людини та видову належність тварин з огляду на доведений протилежний ефект вітаміну Е в разі його надлишкового надходження до організму [33; 34].

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

Розділ 1

Загальні відомості про гістогенез, будову та функціонування кісткового мозку

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

З шостого дня гестації перші осередки гемопоезу з'являються в 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 й маркери ендотеліальних клітин, у той час як внутрішні клітини починають зникати, утворюючи просвіти перших судин. Частина центральних клітин заокруглюється, втрачає відростки та перетворюється на стовбурові клітини крові (СКК). Ко-експресія рецепторів CD34 та MB1 двома групами клітин свідчить про спільне походження попередників ангіо- та гемопоезу [37]. Під час гістологічних досліджень встановлено, що людський жовтковий мішок виробляє переважно еритроїдні клітини, хоча в деяких випадках спостерігалася наявність макрофагів, примітивних мегакаріоцитів та гранулоцитів [38; 39]. Цей етап кровотворення має короткочасне значення для ембріонів та

повністю зникає після виникнення процесу гемопоезу в інших органах [38].

З настанням серцебиття та поступовим розвитком судинної мережі відбувається розселення СКК в інші ембріональні тканини. Одним із таких місць є аортогонадо-мезонефральна ділянка ембріона, розміщена навколо спинної частини аорти, пупково-мезентеріальної та пуповинної артерії [40; 41]. Іншою такою ділянкою є плацента, в якій, починаючи з 8–12-го днів гестації, також відбувається процес кровотворення [42]. Першим найбільшим органом для колонізації є печінка, яка заселяється СКК у щурів до середини вагітності й залишається основним місцем гемопоезу до початку кістково-мозкового кровотворення. Тут, поряд із процесом еритропоезу, відбувається утворення попередників гранулоцитів і тромбоцитів [43]. Після того як кількість СКК значно підвищиться в печінці ембріона, вони починають поступово заселяти інші органи. На 13–14-ту доби ембріонального розвитку формується тимус, куди поступово з кровотоком надходять СКК [35], першими з яких утворюються лімфоцити. На 14-ту добу кровотворення виникає й у селезінці, де після диференціювання СКК у макрофаги починають утворюватися всі формені елементи крові [44].

КМ є основним кровотворним органом у ссавців у постнатальному періоді. У щурів сюди СКК потрапляють наприкінці вагітності (16–17-та доби гестації) та залишаються впродовж життя. Однією з основних особливостей будови гемопоетичної тканини є те, що всі попередники розміщені близько біля кровоносних судин як у фетальних органах гемопоезу, так і в КМ [45]. Саме синусоїдальні ендотеліальні клітини мають найвагоміший 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, що є унікальними для їх мікрооточення [48].

Формування КМ розпочинається на 15-ту добу гестації, коли відбувається проростання судин у діафізі хрящової моделі кістки через кісткову манжетку. На 16-ту добу те саме відбувається і в епіфізах майбутньої кістки. З уростанням судинної мережі відбуваються вихід остеогенних клітин (16–17-та доби) і формування кістково-мозкової порожнини (резорбція тканини остеокластами) [49]. Повна васкуляризація кістково-мозкової порожнини завершується на 17–18-ту доби внутрішньоутробного розвитку щурів. Установлено, що перші частково детерміновані мультипотентні попередники гемопоетичних клітин (колонієутворювальні одиниці гранулоцитів, еритроцитів, моноцитів та мегакаріоцитів) знаходяться на 16-ту добу в ділянці діафіза стегнової кістки з поступовим поширенням у напрямку епіфізів, які вони заселяють на 17-ту добу [48; 50]. Саме з цього часу починається процес кровотворення в КМ з утворенням усіх ФЕК.

На підставі дослідження, проведеного J. Mark Cline та Robert R. Maronpot у 1985 році, встановлено, що клітинний склад КМ у щурів змінюється як із 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 в центральних порожнинах плоских і довгих трубчастих кісток. Він складається з кровотворних клітин та острівців жирової тканини, оточених судинними синусоидами, які чергуються із сіткою кісткових трабекул. На його частку припадає

близько 3 % від маси тіла дорослого щура [1; 52]. Внутрішня поверхня кістково-мозкової порожнини й зовнішня поверхня кісткових трабекул вкриті ендостом, що складається з одного шару плоских остеогенних клітин. Джерелом кровопостачання КМ є живильна артерія, яка під кутом через компактну кісткову тканину на рівні діафіза проходить у кістково-мозкову порожнину й розгалужується у двох напрямках – дистальному та 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 компактної кістки, поряд із якою відкриваються й анастомозують зі сплетеннями венозних синусів. Завдяки наявності переривчастої базальної мембрани в 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 й макрофаги. Клітини гемопоетичної тканини розміщені не хаотично, а демонструють особливу організацію [1]. Кровотворення відбувається за підтримки мікрооточення (макрофаги, пограничні, ендотеліальні, кісткові та інші клітини й позаклітинний матрикс), що здатне розпізнавати та зберігати гемопоетичні СКК, забезпечувати їх факторами росту (наприклад, цитокінами), необхідними для підтримання проліферації, диференціювання й дозрівання вздовж комітованих ліній [53; 55].

Гемопоез являє собою безперервний процес, проте в ньому виділяють окремі стадії. Перша стадія вміщує некомпітовані (плюрипотентні) СКК, що розміщені на ендостальній межі КМ та мають такі особливості: зберігають свою кількість за допомогою процесу самооновлення, дають початок усім кровотворним клітинам, мають низький рівень проліферативної активності (перебувають на G0-стадії клітинного циклу), який легко змінюється під впливом зовнішніх подразників, перебувають у стані постійної репопуляції, в результаті цього їх можна знайти у великій кількості у периферичній крові [56; 57]. Залежно від умов мікрооточення та впливу факторів росту СКК диференціюються в 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 й мегакаріоцити (колонієутворювальні 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 в КМ з утворенням еритробластичних острівців, клітинний склад яких представлений попередниками червоних кров'яних клітин крові (проеритробластами, базофільними, поліхроматофільними та оксифільними еритробластами, нормоцитами й ретикулоцитами) [51]. Ці острівці тісно контактують із макрофагами, які накопичують та передають їм зерна феритину, необхідні для синтезу гемоглобіну (Hb) [56]. Проеритробласти мають досить великі розміри ($14,28 \pm 0,08$) мкм, великі ядра й тонкий обідок базофільної

цитоплазми. В їх цитоплазмі міститься значна кількість вільних рибосом. У ядрі помітно від 1 до 3 ядерця [51]. Під час диференціювання 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 усі органели [35; 51].

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

Мегакаріоцитопоз відбувається в менш відокремлених ділянках і поряд з ендотелієм синусоїдів. Найпершою морфологічно розпізнаваною клітиною тромбоцитопозу є мегакаріобласт (розмір 25–40 мкм). У процесі диференціювання розмір таких 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 за допомогою клазматозу (відокремлення) дають початок зрілим тромбоцитам [35; 58].

Моноцити та їх наступники також беруть свій початок у КМ. Тут моноцитопоез координується через низку тісно зав'язаних сигналів, що спонукають СКК до дозрівання в моноцити. КУО-М, утворювані під час дозрівання КУО-ГЕММ та КУО-ГнМ, є уніпотентними попередниками моноцитів, що виникають під впливом макрофагального колонієстимулювального фактору [61]. У процесі подальшого диференціювання (моноцитобласт (до 22 мкм), промоноцит, моноцит) відбувається збільшення кількості цитоплазми, ядро стає бобоподібним, зменшується базофілія цитоплазми [35; 56; 61].

Початок лімфопоезу в дорослих ссавців відбувається також усередині КМ. Завдяки експресії специфічних білків (CD3, CD79) попередники Т- і В-лімфоцитів можуть бути 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 антигеннезалежний лімфопоез відбувається в тимусі, куди КУО-Л мігрували з КМ [62]. Антигеннезалежний лімфопоез В-лімфоцитів відбувається в КМ. У процесі диференціювання лімфоцити не лише змінюють свої морфологічні особливості (зменшуються за розміром, змінюється форма ядра і та ін.), а й набувають специфічних антигенних властивостей [58]. Під впливом антигенів виникає антигензалежний процес диференціювання лімфоцитів, що відбувається за межами КМ (селезінка, лімфатичні вузли) [35].

Утворення, диференціювання і дозрівання клітин крові регулюються значною кількістю гуморальних

факторів. Деякі фактори (фактор стовбурових клітин, інтерлейкін (ІЛ) 6) діють на більш ранні стадії клітин і виявляють загальну дію [63; 64]. У той час інші діють на більш пізні попередники конкретної клітинної лінії [64 – 68]. Факторами, що регулюють процес еритропоезу, є еритропоетин, різні біологічно активні речовини, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулювальний 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 колонієстимулювальний фактор та інші [64; 66]. Макрофагальний колонієстимулювальний фактор, моноцитопоетин, ІЛ-3 та гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулювальний фактор відповідають за дозрівання моноцитів [64]. Регулювання процесу лімфопоезу є найбільш складним, у якому бере участь найбільша кількість ендогенних факторів (інтерлейкіни, фактори росту та диференціювання Т- та В-лімфоцитів, цитокіни, гормони та інші) [64; 67]. На процес тромбоцитоутворення найбільш вагомо впливають концентрація тромбопоетину та макрофагального колонієстимулювального фактору [64; 68].

Узагальнюючи вищезазначене, стає зрозумілим, що КМ є найголовнішим органом гемопоезу в щурів, починаючи з внутрішньоутробного періоду. Він має досить складну гістологічну будову, представлену строкатим паренхіматозним і стромальним компонентами, співвідношення між якими може змінюватись як із віком, так і під впливом різних нейрогуморальних факторів. Для різних предикторів гемопоезу характерна чітка зональність, що пов'язано з їх функціонуванням та стимулами, які надходять із мікрооточення.

Розділ 2

Морфологічні особливості кісткового мозку за умов впливу патологічних факторів

Морфологічне оцінювання КМ як основного кровотворного органу є важливою складовою визначення токсичності різних екзогенних речовин. Незважаючи на повноту відповіді під час цитологічного дослідження аспіратів або мазків, оцінювання гістологічних зрізів КМ надає інформацію про структуру тканини і стан гемопоезу, що є відображенням прямої або непрямой 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 в КМ проявляються підвищенням або зниженням його клітинності (целюлярності), встановлюваної зіставленням площі, зайнятої кровотворними клітинами, з площею, відведеною на стромальну тканину. Зростання кількості ядеровмісних клітин (гіперклітинність, гіперплазія) у гістологічних зрізах КМ зазвичай 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 зазвичай не змінюється, й

послідовність дозрівання залишається синхронною, хоча розсіяні атипові клітини (двоядерні попередники еритроцитів, гігантські паличкоядерні нейтрофіли, тільця Хауелл-Джоллі) можна спостерігати, що пов'язано зі збільшенням потреби щодо їх вироблення [73].

Залежно від ураження тієї чи іншої клітинної лінії може змінюватися мієлоїдно-еритроїдне співвідношення (М:Е), яке в нормі у тварин становить від 0,8 до 4,0. Тому збільшення еритроїдних попередників буде зумовлювати зменшення М:Е-співвідношення, а зростання предикторів гранулоцитів – його збільшення [74]. Здебільшого 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 й стресом [75]. Під час гострої запальної реакції кількість сегментоядерних нейтрофілів у КМ може знижуватися завдяки збільшенню виходу їх у кров'яне русло. Зростання кількості в 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 ядеровмісних клітин у зрізах КМ (гіпоцелюлярність, гіпоклітинність, гіпоплазія та атрофія) може включати всі клітини (пангіпоплазія) або окремі клітинні лінії, які заміщуються жировою тканиною. У разі монолінійної гіпоплазії, як і у випадку з гіперплазією, може змінюватися М:Е-співвідношення: зменшуватися в разі пригнічення лейкопоезу та зростати в разі зменшення 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]. У разі анемії, пов'язаної з хронічним запаленням, клітинний малюнок та морфологія еритроцитів не змінюються, але вміст заліза й гемосидерину збільшується [82]. Пригнічення мієлопоезу виникає найчастіше в разі застосування хіміотерапевтичних препаратів, антибіотиків (хлорамфенікол, цефалоспорини), гіпотензивних засобів, фенілбутазону, фенобарбіталу та гризеофульвіну [83]. Набуті тромбоцитопенії, 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'-дезокситимідин, 2', 3'-дидезоксицитидин) і нестачею поживних речовин (вітаміну В12, фолієвої кислоти). Вони можуть включати окремі клітини (дисеритроцитопоез, дисгранулоцитопоез чи дистромбоцитопоез) або комбінації клітинних ліній [73; 83; 85; 86]. Дисеритроцитопоез може бути виявлений за наявності мультинуклеарних еритропоетичних клітин або клітин із фрагментацією ядер, каріорексисом чи мегалобластозом. Диспластичні зміни еритропоезу спостерігаються в багатьох первинних (уроджених) та вторинних (набутих) станах: уроджена дисеритроцитопоетична анемія й порфірія, таласемія та ін. [87]. Ознаками дисгранулоцитопоезу є утворення гігантської форми клітин, гіпосегментація або гіперсегментація ядер, химерні форми ядер, їх аномальна

кількість, зміни розмірів або тинкторіальних властивостей первинних гранул. Дистромбоцитопоз може проявлятися утворенням малих або великих мегакаріоцитів, багатоядерністю, підвищенням їх плоідності, наявністю дрібних, розсіяних чи фрагментованих ядер [88]. Емпериопоз нейтрофілів усередину мегакаріоцитів спостерігається в щурів і мишей під час уведення фактору росту або в разі гіперплазії гемопоетичних клітин, що пов'язано з хронічною крововтратою, запаленням, радіаційним ушкодженням [89; 90].

Вторинні мієлодиспластичні зміни виявляють за значної кількості хвороб на пізніх стадіях, уживанні наркотиків та алкоголю, інтоксикаціях, автоімунних захворюваннях, дефіциті вітаміну В₁₂, фолієвої кислоти й 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 характерними ознаками мієлодиспластичного синдрому в зрізах КМ є гіпо- чи гіперплазія з підвищеним М:Е - співвідношенням, диспластичні зміни в усіх клітинних лініях, які легко визначаються в кістково-мозкових аспіратах. Вони включають такі зміни, як збільшення кількості ранніх еритроїдних і/або мієлоїдних попередників, багатоядерних еритропоетичних клітин або фрагментація їх ядер, еритроїдні мегалобластні зміни, поява сидеробластів, гіпофрагментація ядер мегакаріоцитів, гіпо- або гіперсегментація попередників гранулоцитів і зменшення кількості, розміру та/або тинкторіальних властивостей гранул еозинофілів [97]. Деякі хімічні речовини (ВМ та інші) «втручаються» в метаболізм заліза (Fe) та синтез Нв. У цьому разі Fe накопичується в мітохондріях і може бути

виявлений у вигляді «залізних» плям. Попередників еритроцитів, які містять ці залізовмісні мітохондрії, розміщені у вигляді кільця навколо ядра, називаються «кільцеподібними 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 зазвичай 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. В деяких випадках ці пошкодження мають більш виражений характер, містять клітини з блідою вакуолізованою цитоплазмою і круглим везикулярним ядром та одним ядерцем, що й відрізняє їх від вогнищевої атрофії КМ [99].

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

Вогнищевий ліпоматоз – це ураження жирової тканини. W. F. MacKenzie та S. L. Eustis описали його в щурів F344 як достатньо добре окреслене вогнище зрілих адипоцитів усередині порожнини КМ [99]. Вогнище

адипоцитів зазвичай міститься в центрі мозкової порожнини з кровотворною тканиною на периферії (поряд із кортикальним шаром кістки або біля епіфіза). Гемопоетичні клітини можуть бути розсіяні серед адипоцитів.

Фіброз КМ характеризується збільшенням колагенових волокон та фібробластів, що активно проліферують зі зниженням кровотворних клітин. Вогнищевий фіброз спостерігають у молодих щурів, він може бути пов'язаний із запаленням, травмою або некрозом [100–102]. У лабораторних тварин був використаний термін мієлофіброз для опису фіброзно-проліферативного ушкодження КМ в разі ураження 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, що 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, що спричиняють некроз КМ [104].

Інфільтрація КМ мастоцитами є реактивним процесом, що проявляється збільшенням кількості вільно розсіяних, морфологічно нормальних опасистих клітин, що в нормі в щурів становлять приблизно 1–3 % від усіх ядерних клітин. На сьогодні немає чітких даних про причини

збільшення мастоцитів у системі гемопоезу в гризунів, хоча є свідчення про можливість їх зростання в разі запалення, за наявності паразитарних уражень, уремії, апластичної анемії, остеопорозу та гематологічних захворювань [105].

Дегенеративні зміни

Дегенерація (некроз) КМ пов'язана з надлишковим уведенням токсичних сполук до живого організму й повинна бути диференційована від посмертних змін (автоліз тканини ферментами дегранульованих лейкоцитів) та артефактів під час приготування препаратів (недостатнє проникнення фіксатора). Мегакаріоцити перші демонструють посмертні зміни у вигляді конденсації (пікнозу) ядра [99]. Інфаркти КМ можуть спричинятися 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 каріолізисом [99; 100]. Навколо них скупчуються макрофаги. Ділянки некрозу іноді заповнюються еритроцитами (крововилив – унаслідок пошкодження судин) або запальним інфільтратом [100; 107]. У зонах старих крововиливів у складі КМ наявні макрофаги з гемосидерином (сидерофаги). Серед жирової й гемопоетичної тканини окремо виявляються свіжі крововиливи. Унаслідок токсичної дії речовин у кровотворній тканині щурів виявлено ознаки екстазії (дилатації) судин та синусоїдів через значну й гостру втрату гемопоетичної тканини [73].

Запальні ураження КМ у гризунів трапляються 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 в КМ щурів, які брали участь у токсикологічних дослідженнях. Запалення завжди супроводжується розширенням синусоїдів, інтерстиційним набряком або крововиливами. У разі гострого запалення у складі інфільтрату переважають нейтрофіли, хронічного – лімфоцити [3; 103; 107–110].

Збільшення гемосидерину в КМ пов'язане зі старими чи хронічними кровотечами або гемолітичною анемією, через уведення надмірної кількості перорального чи парентерального заліза (перевантаження залізом) [111]. Анемія в разі хронічних інтоксикацій та захворювань також може призвести до гемосидерозу КМ. Це пов'язано зі збільшенням вироблення гепсидину, що бере участь у підтриманні нормального гомеостазу заліза за допомогою пригнічення абсорбції харчового заліза із шлунково-кишкового епітелію і запобігання експорту заліза з макрофагів. Запальні й пухлинні розлади призводять до збільшення вироблення гепсидину, що з часом призводить до збільшення заліза в КМ, але вони недоступні для еритропоезу [112].

Отже, досліджуючи гістологічні особливості КМ, можна одержати важливу інформацію про систему кровотворення та її зміни, пов'язані з використанням екзогенних речовин. Ці зміни можуть проявлятися кількісними та якісними варіаціями, що стосується як паренхіматозного, так і стромального компонента КМ.

Розділ 3

Участь важких металів у функціонуванні живих організмів

Метали – це речовини з високою електричною провідністю, щільністю та блиском, що 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 терміна (їх відомо близько сорока) «важкі метали», на сьогодні існують певні розбіжності щодо його трактування. Зазвичай важкими називають ті метали, які мають питому вагу більше ніж 5 г/см^3 і негативно впливають на довкілля й живих організмів [114]. В інших випадках до них відносять усі метали, починаючи з ванадію (атомна маса яких понад 50), незалежно від щільності. В окремих випадках точкою відрахунку є щільність заліза (8 г/см^3). Деякі класифікації роблять винятки для благородних і рідкісних металів, не відносячи їх до важких, інші виключають некольорові метали (залізо, марганець) [115].

Залежно від впливу на організм усі їх можна поділити на дві великі підгрупи: есенційні (Fe, Cu, I, Zn, Se, Mn, Co, Mo, Ni, V, Br, Cr), за нестачі яких виникають хвороби недостатності, й 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 у разі виснаження 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].

З огляду на постійний розвиток промислового виробництва, зростання екзогенного впливу людини на довкілля останнім часом особливої актуальності набули проблеми гематоекології, безпосередньо пов'язані зі зростанням кількості СВМ у воді, повітрі та ґрунті [7; 118; 119]. Це питання найбільш гостро постало в тих регіонах, де їх кількість значно перевищує гранично допустимі концентрації [6; 120–122].

Незважаючи на негативний вплив на функціонування живих організмів у разі надходження ВМ у надмірних кількостях, вони є життєвонеобхідними МЕ. ВМ залучені до всіх життєвоважливих процесів макроорганізму: підтримання електролітного гомеостазу та кислотно-лужної рівноваги, перенесення електронів та активних груп (-CH₃, -O, -S) [10]. За їх участі відбувається активація ферментативних реакцій за наявності нуклеїнових кислот. У цьому разі оптимальна швидкість таких реакцій відповідає певним для кожного іона середнім значенням концентрації й зменшується як у разі зниження, так і в разі підвищення їх умісту.

Залізо входить до складу багатьох ферментів: у складі каталази та пероксидази бере участь у знешкодженні пероксиду водню; як складова частина Нb бере участь у транспорті кисню й вуглекислого газу; будучи складовою міо-глобіну, дає можливість м'язам скорочуватись; у складі кінцевого ферменту мітохондріального транспорту електронів (цитохромоксидази) залучене до утворення АТФ та ін. [7; 8; 13; 123].

Цинк у складі більше ніж 100 протеїнів міститься в дегідрогеназах, альдолазах, ДНК- і РНК-полімеразах, пептидазах, фосфатазах, циклічній фосфодіестеразі, що беруть участь у процесі функціонування та поділу клітин. У складі металотіоніодів він бере участь в окисно-відновних реакціях [9], завдяки антагоністичній дії щодо

перехідних металів (Cu та Fe) знижує утворення •ОН радикалів [7], бере участь у механізмах сульфогідрильної 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 окиснення глюкози та ін. Важливу фізіологічну функцію виконує купрумовмісний фермент супероксиддисмутаза, яка прискорює реакцію розкладання супероксидіону, що виникає за вільно радикального окиснення речовин у клітині [7].

Встановлено, що в біохімічних процесах бере участь лише тривалентний хром, концентрація якого в організмі з віком знижується [125]. Найважливіша його біологічна роль полягає в регуляції синтетичних процесів, 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 вітамінів С, Е, групи В, холіну й міді [7].

Зовсім протилежних властивостей набувають ВМ за їх підвищеного надходження до живих організмів у складі СВМ і проявляють здебільшого спільні механізми токсичного впливу. Так, підвищена кількість Fe, Cu, Cr та Pb у клітині каталізує окиснювальні реакції, що призводять

до ПОЛ та утворення АФК [13; 15; 127; 128]. Попередні дослідження продемонстрували, що насамперед виникає окисне пошкодження біологічних макромолекул завдяки зв'язуванню ВМ із ДНК та ядерними білками [14]. Активація ПОЛ відбувається також за допомогою зв'язування іонами металів сульфгідрильних груп глутатіону та ліпоєвої кислоти, завдяки яким відбуваються регенерація й відновлення інших антиоксидантів в організмі (цикл вітамінів Е і С) [128]. За дуже високих концентрацій АФК можуть спричиняти 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 передавання генетичної інформації (реплікацію, транскрипцію й трансляцію), призводити до одно- та дwonиткових розривів у ДНК, блокувати синтез білка й 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].

Завдяки антагоністичним відношенням Cu та Zn можуть витіснитися 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 значній кількості ВМ виявлено естрогеноподібну активність, що формує «новий клас ендокринної системи». Завдяки цим властивостям МЕ можуть впливати на стероїдоочутливі клітини [131].

Певні ВМ можуть проявляти й вибірккові токсичні властивості на різні органи. Так, Pb здатний замінювати

інші двовалентні катіони, такі як Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} та одновалентні катіони, такі як Na^+ [16]. Вступаючи в конкуруючі відношення із солями кальцію, він призводить до вимивання останніх із кісток та заміщення звільнених позицій у структурі гідроксапатиту [132]. Це є джерелом хронічного токсичного впливу на КМ навіть за умови, коли немає підвищеного надходження Pb до організму. У разі поступового отруєння 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 також знижує здатність до перетворення метгемоглобіну на Hb [18].

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

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

У численних дослідженнях продемонстровано негативну дію ВМ на різні органи лабораторних тварин. Так, за їх надмірного надходження 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]. Крім того, вони завдяки

конкуруючому механізму призводять до накопичення в кістковій тканині, спричиняючи 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. Більше того, наявні дослідження щодо цієї тематики здебільшого присвячені окремо або крові, або системі гемопоезу [23 – 25].

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

Аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що ВМ є життєво необхідними МЕ, проте за їх надмірного надходження до живого організму вони виявляють токсичні властивості, які в разі довготривалого впливу мають незворотний характер. Основними місцями їх негативної дії є антиоксидантні системи, активність ферментів, цілісність та стабільність ДНК. Завдяки конкуруючим відношенням між собою та іншими МЕ вони призводять до морфофункціональних розладів у більшості органів та виникнення в них мікроелементозів.

Розділ 4

Біологічна роль, метаболізм і функції вітаміну Е в живому організмі

На сьогодні не викликає сумнівів той факт, що процеси вільнорадикального окиснення 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 – з можливістю підвищення його інтенсивності, що може призводити до патологічних змін у клітинах і тканинах. Порушення регуляції ПОЛ вважають пусковим патогенетичним механізмом значної кількості захворювань. Саме тому вивченню біологічних властивостей біоантиоксидантів як чинників, здатних регулювати інтенсивність ПОЛ, приділяють особливу увагу [29; 139].

Вітамін Е трапляється в природі у вигляді двох речовин – токоферолу й токотрієнолу, що складаються з ядра гідрохінону та ізопренового бічного ланцюга [140]. Характерною особливістю токоферолів є наявність насиченого бічного ланцюга, в той час як токотрієноли мають ненасичений його аналог. Існує по чотири основних ізоформи кожної з цих двох речовин (альфа, бета, гамма та дельта), що відрізняються одна від одної положенням метильної групи (-CH₃) у структурі бензодегідропіранового кільця. Альфа-токоферол є найбільш біологічно активною формою вітаміну Е [141; 142].

Молекула токоферолу має три асиметричних атоми вуглецю, розміщені в 2-й, 4-й і 8-й позиціях. У d-формі альфа-токоферолу метильні групи на трьох асиметричних

атомах вуглецю мають ідентичне просторове розміщення. Це позначається як RRR- форма альфа-токоферолу, що має природне походження (міститься в рослинах) [143; 144]. Синтетичні форми називають all-гас-альфа-токоферолі, які є рацемічною сумішшю з 8 стереоізомерів, із яких 7 навіть не виявлено в природі [145].

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

Всмоктування вітаміну Е відбувається в 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 в разі зростання 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 й поглинаються тканинами (передусім печінкою). У печінці він зв'язується з токоферолозв'язувальними білками, причому найбільшу спорідненість має 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 в крові [29]. До екстрапечінкових тканин вітамін надходить у складі ліпопротеїнів через відповідні рецептори та ферментативно-опосередкованим шляхом (за допомогою пасивної дифузії). Саме останній шлях призводить до

зростання концентрації RRR- α -токоферолу в мембранах клітин, забезпечуючи захист від оксидативного стресу [30].

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

Поглинання вітаміну Е знижується за різних захворювань, пов'язаних із порушенням мальабсорбції жирів, а також за зміни кількості ВМ (наприклад, цинку) у складі їжі [149,150].

Потрапивши в тканини, альфа-токоферол бере участь у значній кількості процесів [29; 32; 151 – 155]. Він є універсальним протектором у разі ушкодження клітинних мембран продуктами ПОЛ: перешкоджає контакту кисню з ненасиченими ліпідами [156]; безпосередньо взаємодіє з вільними радикалами кисню (O_2^{\cdot} , HO^{\cdot} , HO_2^{\cdot}), вільними радикалами ненасичених жирних кислот (RO^{\cdot} , RO_2^{\cdot}) і пероксидами жирних кислот [29]; оберігає від окиснення SH-групи мембранних білків [139; 151]; захищає від окиснення подвійні зв'язки в молекулах каротину й вітаміну А [157]; спільно з аскорбіною кислотою сприяє включенню селену до складу активного центру глутатіонпероксидази, водночас активізує ферментативний антиоксидантний захист [157; 158]; змінюючи валентність лабільного заліза та міді, попереджає утворення активних форм кисню за їх надлишкового вмісту [159; 160]. Натомість встановлено, що надходження альфа-токоферолу в надфізіологічних кількостях до організму може бути передумовою прояву його прооксигеназних властивостей завдяки промоції утворення активних форм вільних радикалів (зокрема й металів) [34; 153].

Альфа-токоферол у клітинах виявляє виражені антигіпоксанти властивості, стабілізуючи мітохондріальну мембрану та беручи участь у синтезі убіхінону (компонента дихального ланцюга та основного

антиоксиданта мітохондрій) [152]. Він підвищує активність мікосомального цитохрому Р-450.

Відома також значна кількість функцій вітаміну Е, не пов'язаних із впливом на утворення АФК, – позаоксидантні функції. Завдяки 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 в підтриманні нормального перебігу репродуктивних процесів (запліднення, розвиток плода, формування та функціонування статевої системи) [28; 139; 161], протипухлинному захисті організму [162; 163], попередженні розвитку й прогресування катаракти [164] та серцево-судинних захворювань [165; 166], хвороби Альцгеймера [167], зниженні рівня імуносупресії у разі СНІДу [168].

У разі дефіциту вітаміну Е виникають порушення зору, м'язова слабкість, імунодефіцити, атаксія, міопатія, дизартрія, анемічні стани (внаслідок оксидантного пошкодження еритроцитів та попередників еритропоезу), кардіоміопатії, безплідність та інші [164]. З огляду на це альфа-токоферол набув широкого використання в повсякденній медичній практиці як у разі вищезазначених станів, так і за інших патологічних процесів (захворювань сполучної тканини з аутоімунізацією, атеросклерозу, порушень менструального циклу, дерматитів) [169].

Низка експериментальних досліджень на лабораторних тваринах показала значні антиоксидантні протективні властивості вітаміну Е за токсичного впливу

різних препаратів на гепатоцити [170], дихальну й 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) й у червоному КМ тварин [177].

Аналізуючи вищезазначені дані, можна стверджувати, що альфа-токоферол є багатофункціональним природним жиророзчинним вітаміном, що виявляє виражені антиоксидантні, мембранопротекторні та інші властивості в тканинах ссавців. Завдяки його антагоністичним властивостям з екзогенними пошкоджувальними агентами він може бути використаний у медичній практичній діяльності, проте очікуваний протективний ефект попередньо повинен бути підтверджений експериментальними дослідженнями на тваринах.

Підсумовуючи дані літературного огляду, можна стверджувати, що КМ щурів є високоеволюційно розвиненим гемопоетичним органом у ссавців, який може реагувати зміною якісних та кількісних характеристик на різні як ендogenous, так і екзогенні впливи. Серед останніх значної актуальності в сучасному світі набули СВМ, які під час досліджень довели свій негативний вплив на більшість органів за їх надлишкового потрапляння в організм. Залишаються відкритими питання проявів комбінованого впливу різних ВМ на процес кровотворення як у щурів, так і в людини та пошук мієлопротективних засобів. Ураховуючи виражені цитотоксичні ефекти екзогенних полютантів (СВМ), перспективним коригувальним препаратом може бути альфа-токоферол з усіма його протективними властивостями.

Розділ 5

Дизайн експериментального дослідження

Вивчення особливостей будови КМ та показників крові проводили на 84 білих статевозрілих (4 місяці) щурах-самцях, урахувавши відсутність значної варіабельності щодо будови гемопоетичної тканини в цього виду тварин у періоді життя від 4 до 16 місяців [4]. Щури як об'єкт дослідження були вибрані з огляду на подібність морфології й функціонування їх КМ та людини.

Піддослідні тварини перебували на стандартному раціоні харчування (сухий гранульований корм, що містить усі необхідні для нормальної життєдіяльності речовини) в приміщенні віварію Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету за температури повітря 20–25 °С, вологості – не більше ніж 50 %, світлового режиму день / ніч. Доступ до води був вільним. Комісією з питань додержання біоетики на час проведення експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 1/5 від 4 травня 2019 р.) встановлено, що наукове дослідження відповідає вимогам Європейської конвенції із 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, ухваленим Першим національним конгресом із 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 (за постійного вживання) 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].

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

Таблиця 1 – Розподіл щурів під час експериментального дослідження

		I група тварин	
		30 діб	90 діб
Серія 1	Контроль	6	6
Серія 2	СВМ	6	6
Серія 3	СВМ + віт. Е	6	6
		II 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
Разом:			84

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

$$x = r \cdot \frac{\text{Доза для людини}}{R \cdot 70}$$

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 ($R = 0,57$). Ураховуючи середню терапевтичну дозу для людини 100 мг/кг, кількість вітаміну Е для щурів була такою:

$$x = r \cdot \frac{\text{доза для людини}}{R} = 3,62 \cdot \frac{100 \text{ мг}}{0,57 \cdot 70 \text{ кг}} = 9,1 \text{ мг/кг}$$

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

Для корекції порушень, спричинених СВМ, використовували вітамін Е у вигляді 10 % олійного розчину, що має високу антиоксидантну, ангіо- та радіопротекторну дію, бере участь у біосинтезі гемму й білків, покращує споживання тканинами кисню, проліферацію клітин та інших найважливіших процесів клітинного метаболізму.

У першій групі з метою вивчення підгострого та хронічного впливів СВМ на процес гемопоезу й кров тварин виводили з експерименту (за допомогою 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 за допомогою 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.

Розділ 6

Морфологічні особливості кісткового мозку щурів контрольної

Під час комплексного дослідження морфологічних особливостей будови КМ встановлено, що гемопоетична тканина наявна в усіх відділах стегнової кістки – кістково-мозковому каналі діяфіза та міжтрабекулярному просторі губчастої кістки епіфізів. У складі КМ розрізняють паренхіму (вогнища гемопоетичних клітин) та строму. Стромальний компонент представлений кістковою й жировою тканинами, поодинокими колагеновими волокнами, кровососними судинами, ретикулярними волокнами та клітинами, макрофагами, мастоцитами й адвентиційними клітинами (рис. 1).

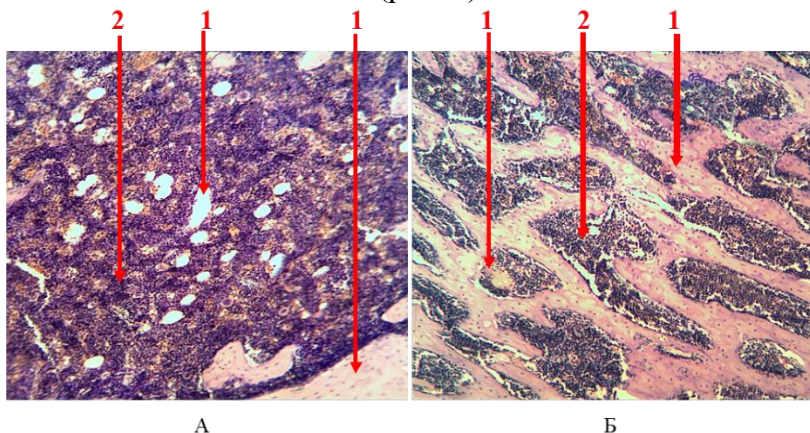


Рисунок 1 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
А – ділянка діяфіза; Б – ділянка епіфіза; 1 – строма;
2 – паренхіма. Забарвлення гематоксиліном
та еозином. Збільшення $\times 100$

Компактна кісткова тканина є зовнішньою межею як медулярної порожнини, так і губчастої кістки. Вона має типову гаверсову систему будови за наявності впорядкованого розміщення кісткових пластинок та остеоцитів у лакунах. Губчаста кістка епіфізів представлена у вигляді балок (трабекул, спікул), що являють собою складну тривимірну структуру. Трабекули з'єднуються між собою під кутом у різних напрямках та мають пластинчасту будову. Вони обмежують з усіх боків кістково-мозкові комірочки, в яких локалізована гемопоетична тканина. В інтактних щурів товщина спікул більше ніж утричі перевищує середній розмір ліпоцита КМ (рис. 2). Внутрішня поверхня компактної кісткової тканини та кісткові трабекули вкриті одним шаром остеогенних клітин – ендостом, представленим остеобластами (клітини з ексцентричними ядрами й базofilною цитоплазмою) та остеокластами (гігантські багатоядерні клітини).

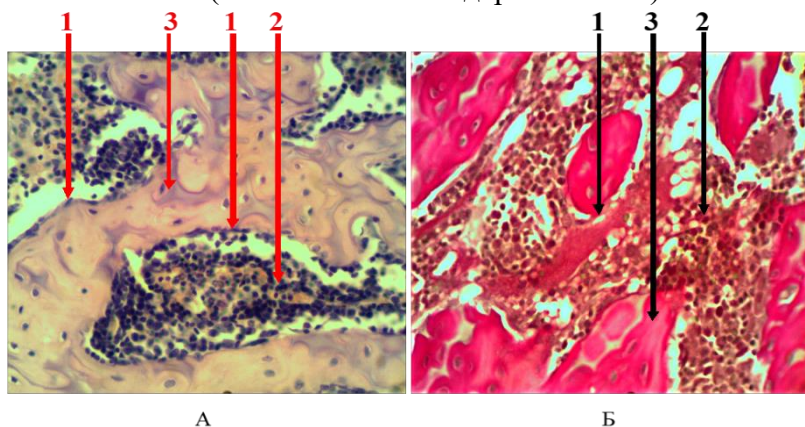


Рисунок 2 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
 1 – ендост (остеогенні клітини – остеобласти);
 2 – гемопоетична тканина; 3 – кісткова тканина.
 А – забарвлення гематоксиліном та еозином;
 Б – забарвлення за Ван-Гізоном. Збільшення $\times 400$

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

Гемопоетична тканина на всіх ділянках КМ пронизана значною кількістю кровоносних судин, представлених висхідною та низхідною гілками живильної артерії та вени. Від артерій відходить розгалужена мережа артеріол із подальшим їх впаданням у венозні синуси. У ці самі синуси впадає й наскрізь пронизуюча кісткову тканину мережа радіальних артерій, що відходять від періостальної артерії. Більш товстостінні судини легко помітні під час гістологічного дослідження препаратів, але значну кількість синусоїдів, представлених одним шаром ендотелію з майже повною відсутністю базальної мембрани, можна помітити лише в разі використання додаткових методів забарвлення тканини (рис. 3).

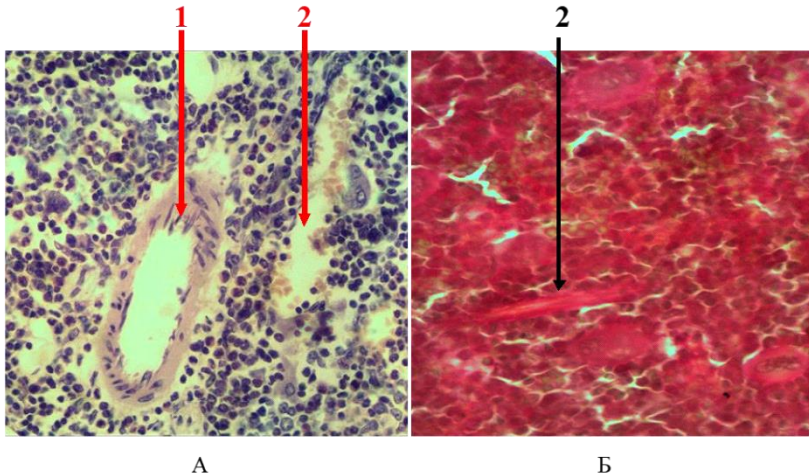


Рисунок 3 – Поперечний зріз стегнової кістки щура:
1 – артеріола; 2 – синусоїд. А – забарвлення гемато-
ксиліном та еозином; Б – забарвлення за Ван-Гізоном.
Збільшення $\times 400$

Зовні стінка синусів представлена фенестрованим шаром адвентиційних клітин, що є камбіальним пулом для адипоцитів, фіброblastів, капілярів, макрофагів. Загальна площа, зайнята мережею кровоносних судин у КМ щурів, становить $(18,7 \pm 2,1) \%$ (від 15 % до 22 %).

Серед паренхіми КМ наявні поодинокорозкидані та згруповані ліпоцити (жовтий кістковий мозок), представлені на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином, у вигляді пустот із периферично розміщеними ядрами (у вигляді каблучки) (рис. 4 А). На рівні діафіза стегнової кістки вони локалізовані центральніше, мають тенденцію до згруповування. В епіфізах стегнових кісток щурів здебільшого жирові клітини розміщені одним безперервним шаром на поверхні трабекул. На частку жирової тканини припадає $(11 \pm 2) \%$ (від 8 % до 15 %) від загальної кількості КМ.

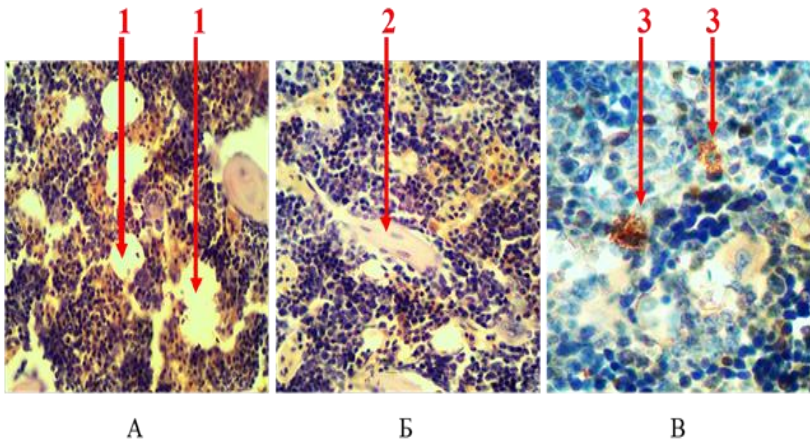


Рисунок 4 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
1 – ліпоцити; 2 – кісткова балка; 3 – мастоцити.

А, Б – забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 100$; В – ПХ-дослідження. Збільшення $\times 400$

Вся гемопоетична тканина пронизана сполучнотканинними волокнами (еластичними, ретикулярними та колагеновими), що є для неї своєрідним каркасом. Вони майже не помітні під час рутинних гістологічних досліджень, але чітко проявляються в разі зростання їх кількості чи залучення гістохімічних та імуногістохімічних досліджень.

У тканині КМ завжди наявні 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 й виділяти біологічноактивні речовини (гепарин, серотонін, гістамін та ін.), що впливає на морфофункціональний стан гемопоетичної тканини. Під час проведення імуногістохімічного дослідження встановлено, що внутрішньоклітинні гранули мастоцитів неспецифічно зв'язуються з ДАБом (рис. 4 В), що значно полегшує їх ідентифікацію та підрахунок. На їх частку припадає не більше ніж 0,1 % від загальної кількості клітин.

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

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

Для гранулоцитопоезу в КМ характерна 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. 5 А).

Початкові форми лейкоцитопоезу (мієлобласти й промієлоцити), значною мірою розміщені біля кісткової тканини та судин, дуже важко розрізнити на гістологічних препаратах через наявність подібних морфологічних ознак: розмір клітин від 10 мкм до 20 мкм, відносно велике ядро з одним ядерцем, нерівність контурів клітин, незначна кількість гранул (рис. 5 Б).

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

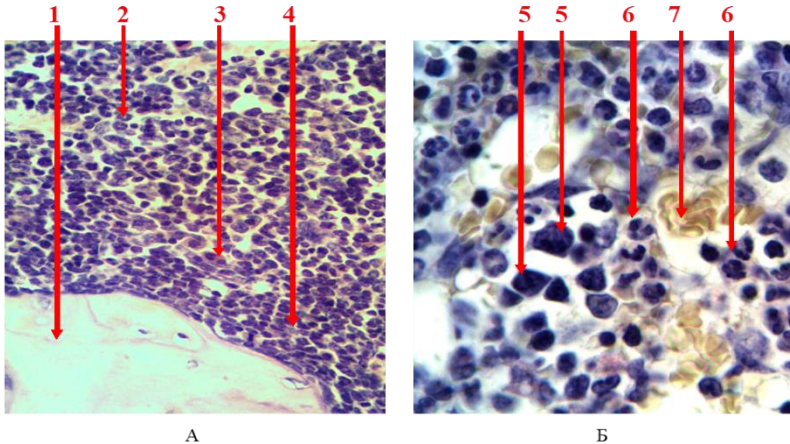


Рисунок 5 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
 1 – кісткова тканина; 2 – кільцеподібні нейтрофіли;
 3 – еозинофіли; 4 – періостальний ріст попередників
 гранулоцитів; 5 – початкові предиктори мієлопоезу;
 6 – дозріваючі форми гранулоцитів; 7 – синусоїди
 зі зрілими еритроцитами. Забарвлення гематоксиліном
 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 та нейтрофільний паростки гранулоцитопоезу (рис. 6 А).

Для дозріваючих попередників лейкоцитів (паличко ядерні гранулоцити) характерне подальше зменшення розмірів та форми ядра (у вигляді підкови). У більшості еозинофілів, юних та паличкоядерних нейтрофілів наявне кільцеподібне ядро тому, що в щурів розвиток гранулоцитів відбувається за кільчастим типом. Більшість площі, зайнятої під лейкоцитопоез, представлена зрілими сегментоядерними гранулоцитами, що локалізуються ближче до центра кістково-мозкової порожнини діяфіза та центральної зони кістково-мозкових комірок епіфіза. Зернистість нейтрофільних гранулоцитів дуже дрібна, їх ядра мають 5–8 сегментів (рис. 6 Б).

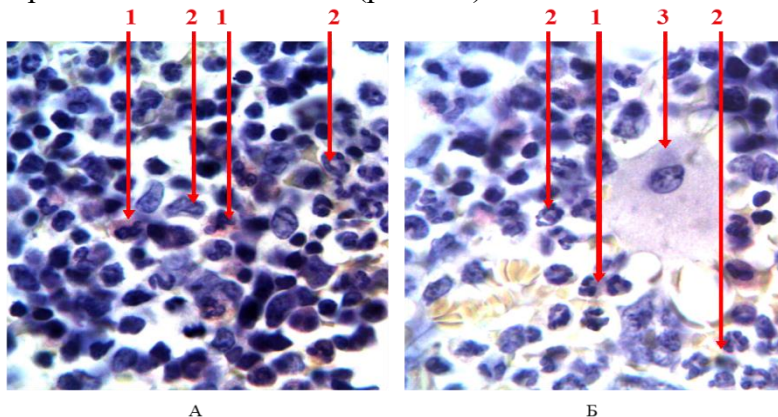


Рисунок 6 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура;
 1 – попередники еозинофільних гранулоцитів;
 2 – попередники нейтрофільних гранулоцитів;
 3 – мегакаріоцит. Забарвлення гематоксиліном та еозином.
 Збільшення $\times 1000$

Під час використання ІГХ-дослідження з метою виявлення рецепторів МПО, які є індикаторами гранулоцитарного паростка, встановлено, що предиктори гранулоцитопоезу серед гемопоетичної тканини розміщені як розрізнено, так і у вигляді скупчень (рис. 7). У клітин, розміщених на нижчій сходинці диференціювання (мієлобласти, промієлоцити), спостерігається більш інтенсивна реакція під час імуногістохімічного виявлення рецепторів до МПО (незважаючи на зростання її кількості в цитоплазмі більш диференційованих попередників гранулоцитопоезу).

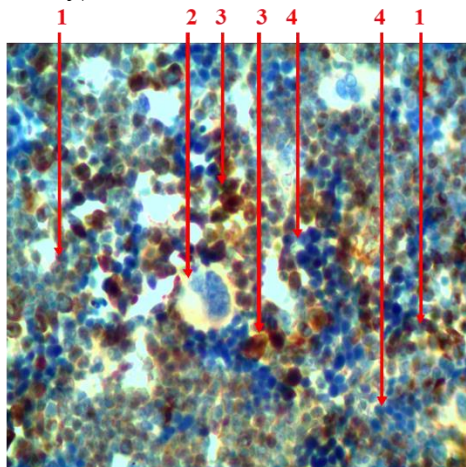


Рисунок 7 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:

1 – зрілі предиктори гранулоцитопоезу;

2 – мегакаріоцит; 3 – незрілі предиктори

гранулоцитопоезу; 4 – еритро їдний острівцевь.

ІГХ-дослідження рецепторів до МПО. Збільшення $\times 400$

Серед загальної кількості гемопоетичних клітин на рівні епіфіза стегнової кістки на частку гранулоцитарного паростка припадає 62–81 % (у середньому – $70,6 \pm 2,3$) %, що становить 13–17 % (у середньому – $(14,8 \pm 1,4)$ %) від

загальної площі КМ. На рівні діафіза площа, зайнята під гранулоцитопоез, становить 46–58 % (у середньому – $(51,2 \pm 3,3)$ %). Серед паренхіми цей показник становить 67–84 % (у середньому – $(74,2 \pm 4,7)$ %).

Для процесу еритроцитопоезу характерне переважно групове розміщення предикторів у КМ безпосередньо біля синусоїдів у вигляді так званих еритроїдних острівців (рис. 8). Ядромісні клітини, які були рецептор-негативними (CD3, CD79 α , МПО) під час ІГХ-дослідження, ми вважали попередниками еритроцитів. Вони представлені як початковими предикторами еритроцитопоезу (еритробластами, пронормобластами, нормобластами), які важко віддиференціювати на гістологічних препаратах, так і дозріваючими (ретикулоцити) та зрілими (еритроцити) формами.

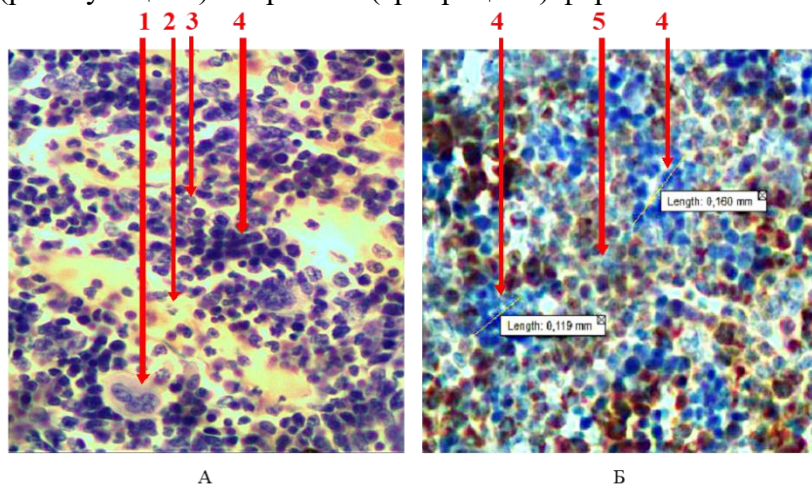


Рисунок 8 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
 1 – мегакаріоцит; 2 – синусоїд; 3 – кільцеподібний нейтрофіл; 4 – еритроїдний острівець; 5 – ділянка гранулоцитопоезу. А – забарвлення гематоксиліном та еозином; Б – ІГХ-дослідження рецепторів до МПО.
 Збільшення $\times 400$

Еритроїдні острівці, які мають більш центральне розміщення стосовно кістково-мозкового каналу, представлені всіма представниками еритроїдного диферону, які знаходяться навколо центрально-розміщеного макрофага (рис. 9). Ці S100-позитивні клітини (маркер макрофагальних клітин) мають здебільшого нечіткі межі з поодинокими цитоплазматичними відростками (псевдоподіями), відносно великі розміри (у 4–6 разів більші, ніж еритроцит), світло-блакитну цитоплазму. Інколи в середині цих клітин помітні уламки клітинних ядер попередників еритропоезу, які виштовхують нормобласти, перетворюючись на еритроцити.

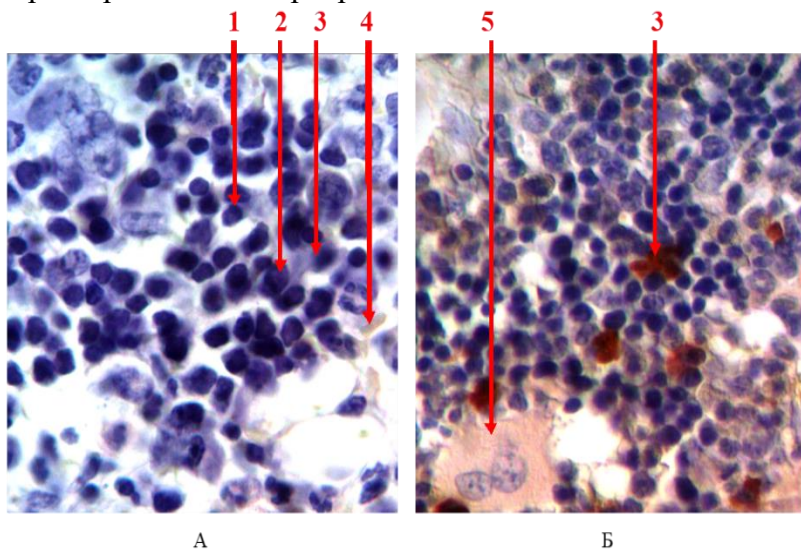


Рисунок 9 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
 1 – пізні форми еритроїдного диферону; 2 – ранні форми еритроїдного диферону; 3 – макрофаг; 4 – зрілий еритроцит; 5 – мегакаріоцит. А – забарвлення гематоксилином та еозином; Б – ІГХ-дослідження рецепторів до S100. Збільшення $\times 1000$

Найбільш наближено до макрофагів у складі острівців розміщені ранні форми еритроїдного диферону (еритробласти та пронормобласти), що мають великі розміри ($15\text{--}20 \times 10^{-6}\text{м}$), велике центрально-розміщене ядро з перинуклеарним просвітленням, базофільну цитоплазму.

Зі зростанням диференціювання клітин (перехід у нормобласт) відбуваються поступове зменшення їх розмірів, конденсація хроматину в ядрі, зміна форми ядра, перехід базофілії цитоплазми через поліхроматофілію в її оксифілію (базофільний, поліхроматофільний та оксифільний нормобласти), накопичення Нв. На завершальних стадіях диференціювання відбуваються набрання клітинами подвійно-ввігнутої 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 утворів – $0,014 \text{мм}^2$ (рис. 8).

Серед загальної кількості гемопоетичних клітин еритропоетичний паросток на рівні епіфіза стегнової кістки становить $14\text{--}33 \%$ (у середньому – $(24,4 \pm 6,3) \%$) та займає $3\text{--}7 \%$ (у середньому – $(5,3 \pm 1,4) \%$) від загальної площі КМ. На рівні діафіза площа, зайнята попередниками еритроцитів, становить $11\text{--}23 \%$ (у середньому – $(17,8 \pm 3,3) \%$). Серед паренхіми цей показник був $15\text{--}31 \%$ (у середньому – $(24,3 \pm 4,7) \%$).

Співвідношення між попередниками гранулоцитопоезу та еритроцитопоезу становить $2:1\text{--}5:1$. Його коливання залежить як від відділу стегнової кістки (епіфіз чи діафіз), так і від ділянки розміщення в межах одного анатомічного відділу (центральна чи периферична ділянка кістково-мозкового каналу).

Попередники тромбоцитопоезу в КМ щурів представлені у вигляді гігантських клітин – мегакаріоцитів (рис. 10 А).

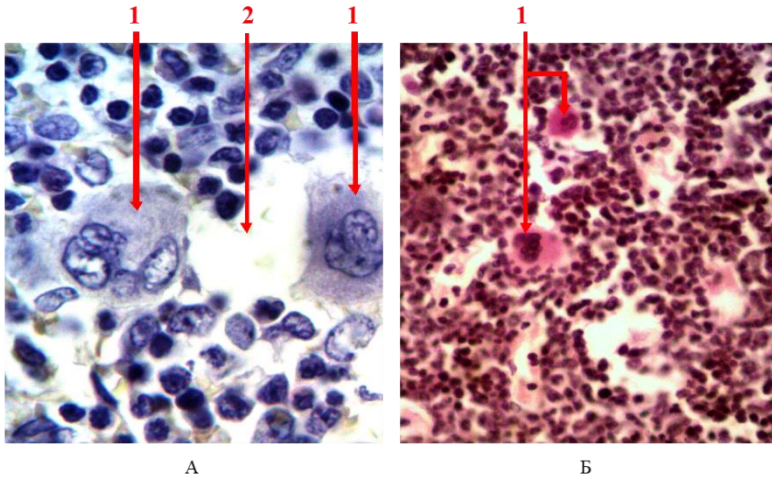


Рисунок 10 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
1 – мегакаріоцити з явищами клазматозу; 2 – синусоїд.

А – забарвлення гематоксилином та еозином.

Збільшення $\times 1\ 000$. Б – PAS-реакція. Збільшення $\times 400$

Більш ранні форми тромбоцитопоезу (мегакаріобласти та промегакаріоцити) виявити, на жаль, не вдалося внаслідок відсутності специфічних маркерів. Мегакаріоцити являють собою великі (їх розміри коливаються в межах $70\text{--}110 \times 10^{-6}\ \mu\text{m}$) одноядерні клітини. Їх ядро складається з багатьох фрагментів різної химерної форми (у вигляді хмарок, оленьчих рогів та інші). Цитоплазма попередників тромбоцитів великих розмірів з еозинофільною зернистістю, на її периферії наявні відокремлені частини (клазматоз), що є зрілими тромбоцитами. Завдяки значним розмірам 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 усередині цих клітин, що містить глікоген, дозволяє дуже легко їх візуалізувати у разі забарвлення гістологічних препаратів на вуглеводи (рис. 10 Б). Вони мають яскраву рожеву цитоплазму, що виокремлює ці клітини серед інших гемопоетичних клітин (останні мають здебільшого прозору цитоплазму).

Мегакаріоцити нерівномірно розсіяні в мережі ретикулума (у центральних відділах кістковомозкових комірок та біля кровоносних судин), розміщуючись серед гемопоетичних клітин поодинокі або утворюючи групи (до 5 клітин) та кластери (більше ніж 5 клітин) поблизу синусоїдів (рис. 11).

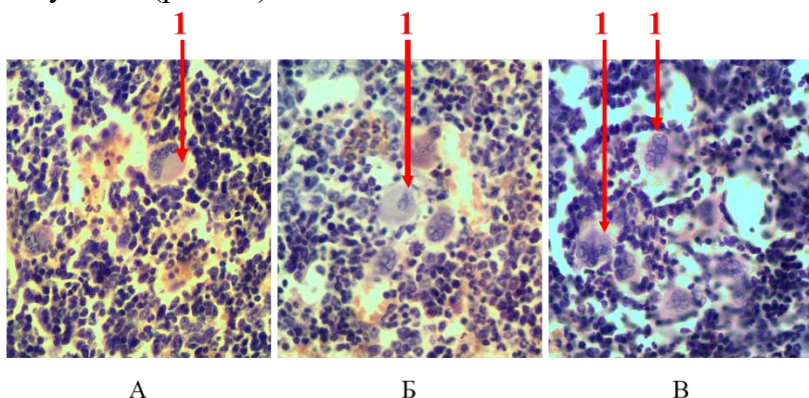


Рисунок 11 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
1 – мегакаріоцит. Подиноке (А), згруповане (Б)
та кластерне (В) розміщення мегакаріоцитів.

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 ми провели ІГХ-дослідження з визначенням рецепторів до CD3 (маркер попередників Т-лімфоцитів) та CD79 α

(маркер попередників В-лімфоцитів), з огляду на відсутність можливості ідентифікувати їх під час гістологічного дослідження (рис. 12). Серед лімфоїдних клітин трапляються як клітини-попередники, так і зрілі клітини.

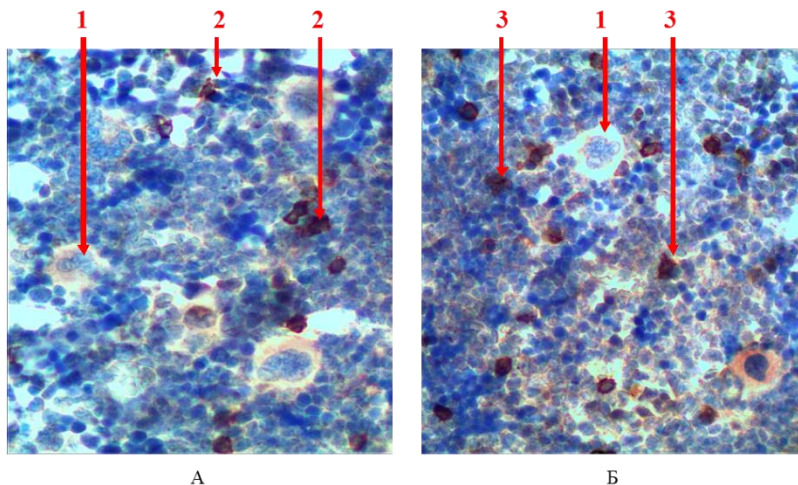


Рисунок 12 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
1 – мегакаріоцит; 2 – Т-лімфоцити; 3 – В-лімфоцити.

А – ІГХ- дослідження рецепторів CD3,

Б – ІГХ-дослідження рецепторів CD79 α . Збільшення $\times 400$

Серед клітинних попередників (лімфобласти, пролімфоцити) частіше трапляється паросток В-лімфоцитів, серед зрілих клітин – Т-лімфоцити. Вони розміщені серед гемопоетичної тканини розрізнено та у вигляді невеликих скупчень (фолікулів). Зі зростанням диференціювання клітин відбуваються поступове зменшення розмірів клітин, конденсація хроматину, зменшення кількості цитоплазми, яка оточує ядро в зрілих формах клітин у вигляді тонкого обідка. У разі виявлення зрілих форм В-лімфоцитів спостерігаються поодинокі плазмоцити, представлені великими клітинами зі значним

умістом цитоплазми та колесоподібною структурою хроматину в ядрі, розміщеному ексцентрично. Загальна кількість лімфоцитів не перевищує 5 % серед усіх 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 припадає $(5,25 \pm 1,42) \%$, гранулоцитопоезу – $(14,45 \pm 1,42) \%$, лімфопоезу – $(1 \pm 0,13) \%$ від загальної площі КМ. На рівні діафіза ці показники такі: еритропоез займає $(17,83 \pm 3,27) \%$, гранулоцитопоез – $(51,17 \pm 3,27) \%$, лімфопоез – $(1 \pm 0,15) \%$.

За допомогою використання ІГХ - дослідження з виявленням рецепторів до S100 ми встановили, що серед гемопоетичної тканини наявні поодинокі розкидані макрофагальні клітини. Вони наявні як серед вогнищ еритроцитопоезу (у складі еритроїдних острівців), так і серед ділянок гранулоцитопоезу. У S100-позитивних клітинах виявлено різні форми та розміри. Часто макрофаги утворювали відростки, що огортали різні види клітин гемопоезу (рис. 13). Вони характеризувалися різним ступенем яскравості експресії білка S100, що залежить від функцій, які вони виконують у кожному конкретному випадку (фагоцитоз, презентування антигенів та інші).

Отже, аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що КМ статевозрілих щурів характеризується чітким розподілом стромально-паренхіматозного компонента як у епіфізарній, так і діафізарній частині стегнової кістки. Більше того, виявлений чіткий топографічний взаємозв'язок між їх розміщенням. Виражена мережа кровеносних судин із тонкими стінками та щільне розміщення всіх попередників кровотворення біля них у гемопоетичній тканині дають

можливість легкого потрапляння речовин із кровоносного руслу. Це може призводити до його морфологічних порушень за підвищеної кількості шкідливих речовин у крові.

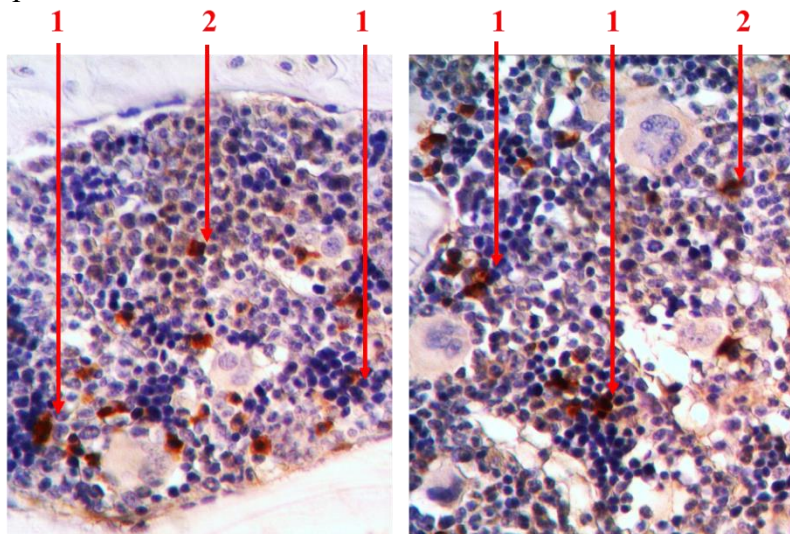


Рисунок 13 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
1 – S100-позитивні клітини у складі еритробластичного острівця; 2 – S100-позитивні клітини в ділянках гранулоцитопоезу. ІГХ-дослідження рецепторів S100. Збільшення $\times 400$

Розділ 7

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

Під час вивчення морфологічних особливостей будови КМ піддослідних тварин встановлено, що в процесі експерименту він як на рівні епіфізів, так і на рівні діафіза зазнає кількісних та якісних змін. Відбувається поступове зменшення кількості клітин еритроцито- та лейкоцитопоезу з одночасним зростанням кількості мегакаріоцитів.

Так, у разі вживання 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 становила ($15,33 \pm 1,63$) %, тромбоцитопоез зріс на 5,2 % ($p = 0,77$) і дорівнював ($0,17 \pm 0,05$) % (рис. 14).

На рівні діафіза динаміка змін у КМ мала подібні закономірності (рис. 15). Площа еритроцитопоезу зменшилася на 15,9 % ($p = 0,029$), у середньому становивши ($15 \pm 1,1$ %), спостерігалось незначне збільшення 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 діафіза (3,5:1) не виявлено внаслідок синхронності змін у гемопоетичній тканині для всіх його попередників.

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

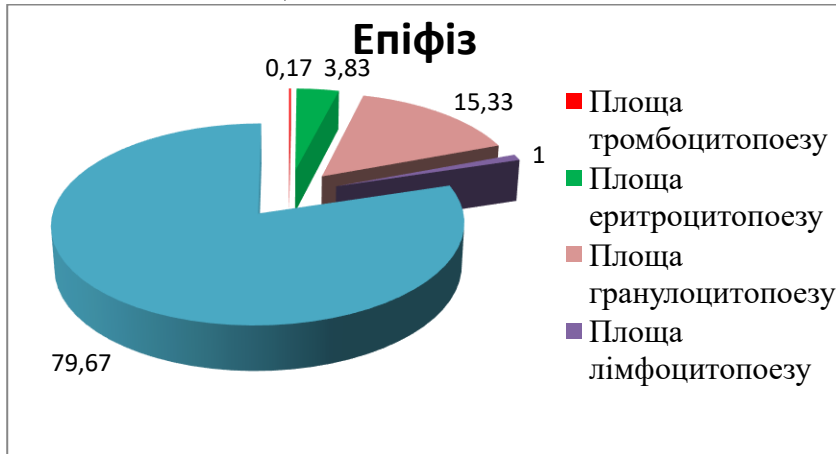


Рисунок 14 – Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні епіфізів у щурів, які впродовж 30 діб вживали СВМ

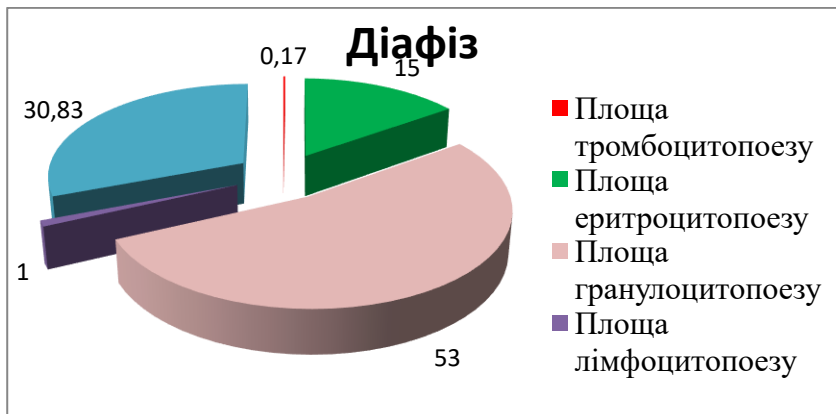


Рисунок 15 – Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні діафіза в щурів, які впродовж 30 діб вживали СВМ

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

У КМ щурів на 30-ту 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 подальшим посиленням макрофагальної інфільтрації (рис. 16 А). Вогнищево як серед кістково-мозкових комірок епіфізів, так і у складі гемопоетичної тканини діяфіза спостерігали ділянки, позбавлені клітинних елементів мієлоїдної тканини та ліпоцитів, у вигляді блідо-рожевої ніжно-зернистої гомогенної субстанції (рис. 16 Б). Ці ділянки желатинозної трансформації КМ (ослизнення, міксоматоз) інколи вміщували поодинокі розкидані гемопоетичні клітини.

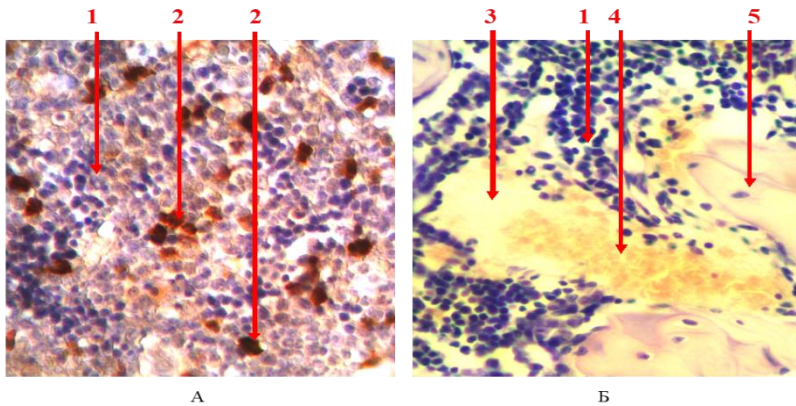


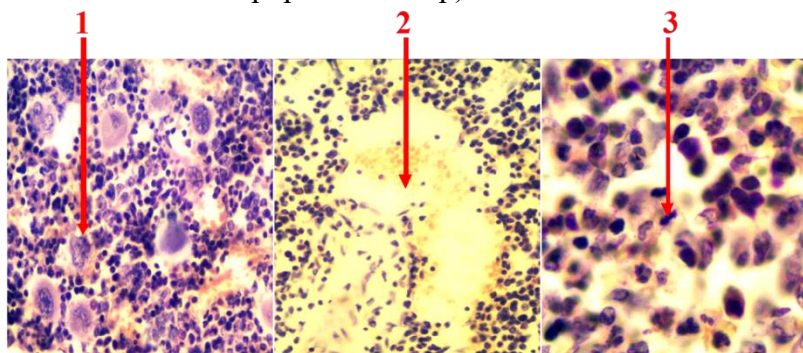
Рисунок 16 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ї серії 1-ї групи: 1 – гемопоетична тканина; 2 – макрофаги (гістіоцити); 3 – ділянка міксоматозу; 4 – крововилив; 5 – кісткові трабекули. А – імуногістохімічне дослідження рецепторів S100. Б – забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 400$

За умови підгострого експерименту з'являлися значні осередки з крововиливами (немає судинного оточення навколо скупчення еритроцитів), ектазованими судинами (еритроцити, оточені судинною стінкою), простежували зростання кількості лейкоцитів (явища мастоцитозу), виникали явища інтерстиціального (позаклітинного) набряку, що на відміну від міксоматозу характеризували появою ділянок просочування тканинною рідиною проміжків навколо жирових клітин. Із боку кісткової тканини значних змін не виявлено – зберігалася трабекулярна будова КМ на рівні епіфізів.

За хронічної інтоксикації СВМ (90 діб експерименту) у щурів спостерігалася подальше наростання кількісних та якісних змін, хоча інтенсивність їх була менш вираженою порівняно з першими тижнями впливу екзогенними поллютантами. Так, площа еритроцитопоезу порівняно з показниками контрольної групи тварин знизилася на 36,6 % на рівні епіфізів (у середньому становила $(3,33 \pm 0,52)$ %, $p = 0,003$) і на 19,7 % – на рівні діафіза ($(14,33 \pm 1,63)$ %, $p = 0,013$), площа гранулоцитопоезу знизилася 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. Варіабельності з боку лімфопоезу впродовж дослідження виявлено не було.

Якісні зміни продовжували наростати й досягали свого максимуму саме на 90-ту добу дослідження (рис. 17). Поряд із вищезазначеними на 30-ту добу дослідження морфологічними змінами, що в міру пролонгації експерименту мали тенденцію до наростання (міксоматоз, загибель клітин, крововиливи, ектазія судин та інші), додатково з'являлися вогнища ліпоматозу, предиктори всіх паростків крові з явищами початкової дисплазії (зміна тинкторіальних властивостей ядра та цитоплазми, явища

клітинно-ядерного поліморфізму, підвищена сегментація ядер і т. ін.). 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).



А

Б

В

Рисунок 17 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ї серії 1-ї групи: А – скупчення мегакаріоцитів; Б – ектазія синусоїдів; В – клітина на стадії апоптозу; 1 – мегакаріоцити; 2 – синусоїд; 3 – каріопікноз ядра. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 400$

Так, через три місяці експерименту виникали значні зміни серед попередників еритропоезу. Порушувався острівцевий тип розміщення його предикторів – вони були розміщені як у вигляді розмитих скупчень клітин, так і поодинокі серед ділянок міксоматозу та набряку. Поступово зменшувалися розміри збережених острівців і кількість клітин у їх складі (площа досягала в середньому $0,009 \text{ мм}^2$, кількість клітин – $(18,9 \pm 1,7)$).

Серед них виникали поодинокі попередники еритроцитопоезу з явищами дисеритропоезу: ознаки

каріорексису, неправильна форма ядер, міжядерні містки та інші (рис. 18). Більш виражені якісні й кількісні зміни спостерігали в ділянці епіфізів із поширенням у бік діафіза.

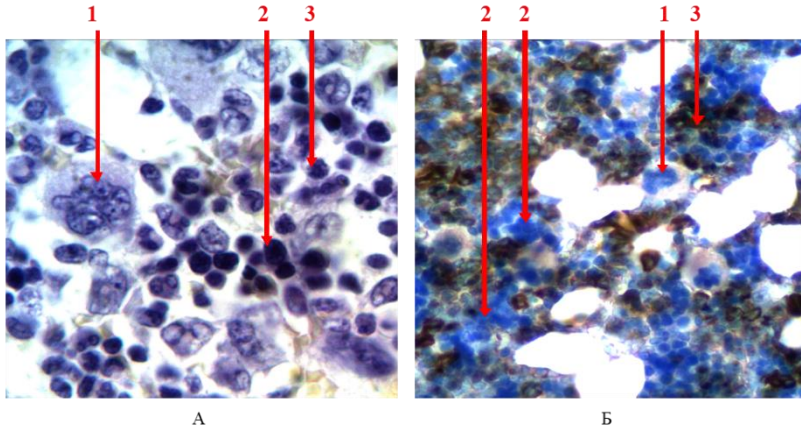


Рисунок 18 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ї серії 1-ї групи: 1 – мегакаріоцит; 2 – еритроїдні острівці; 3 – вогнища гранулоцитопоезу. А – забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 1\ 000$.

Б – ІГХ-дослідження рецепторів до МПО.
Збільшення $\times 400$

Під час дослідження змін гранулоцитарного паростка гемопоезу виявлено атипове розміщення незрілих клітин (мієлобласти та промієлоцити) у центральній частині кістково-мозкових комірок епіфізів та серед інших паростків кровотворення діафіза (в нормі вони розміщені паратрабекулярно та навколо синусоїдів). Таке атипове розміщення мієлоїдних клітин-попередників може бути характерною ознакою початкового дисгранулоцитопоезу. Поряд із цим серед предикторів виявлено ознаки порушення будови клітин: дисгранулярність цитоплазми, порушення сегментування ядер (гіперсегментованість), поліморфізм клітин (рис. 19).

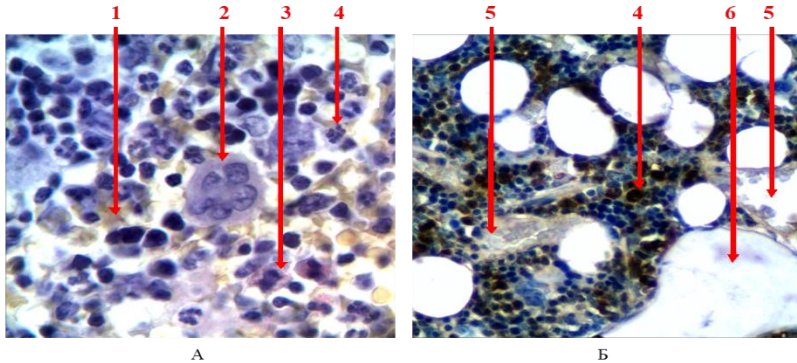


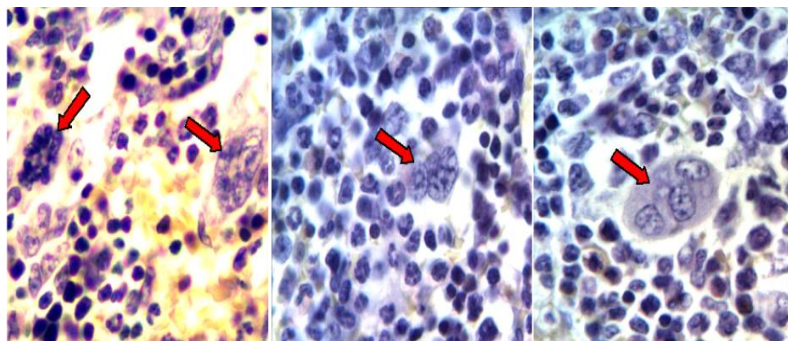
Рисунок 19 – Поздовжній зріз стегової кістки щура 2-ї серії 1-ї групи: 1 – зрілі еритроцити; 2 – мегакаріоцит; 3 – еозинофільний гранулоцит; 4 – нейтрофільний гранулоцит; 5 – синусоїд; 6 – кісткова трабекула. А – забарвлення гематоксиліном та еозином, Збільшення $\times 1\,000$. Б – ІГХ-дослідження рецепторів до МПО. Збільшення $\times 400$

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

З огляду на синхронні зміни (зниження) як площі еритроцитопоезу, так і гранулоцитопоезу відхилень значень М:Е-співвідношення в КМ щурів після 90 діб дії СВМ не спостерігалось й дорівнювало 2,7–3,6:1 на рівні діафізів та 3,5–4,6:1 – на рівні епіфізів.

Вплив СВМ виявляли й на якісних характеристиках мегакаріоцитів. Досить часто спостерігали скупчення попередників тромбоцитів у вигляді кластерів (рис. 17 А), іноді вони траплялися за умови відсутності контакту із синусоїдами. Більш яскраво проявлялися значні відхилення щодо форм та розмірів як самих клітин, так і їх ядер (дисмегакаріоцитопоез): серед гемопоетичної тканини можна були помітними як «карликові», так і гігантські

мегакаріоцити зі значною кількістю цитоплазми (стосовно ядра) та за майже повної її відсутності, їх ядра мали різноманітні форми з формуванням клубків, численних відростків, полісегментування, гіперхроматозу (рис. 18 А, 19 А, 20). Інколи вони були подібними до багатоядерних клітин через наявність дуже тонких з'єднань між сегментами їх ядер.



А

Б

В

Рисунок 20 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ї серії 1-ї 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, було 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 і 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, заміщувалася розширеними судинами, жировою

тканиною та ділянками міксоматозу (рис. 21). Вогнищево спостерігали розростання фіброзної тканини різного ступеня зрілості.

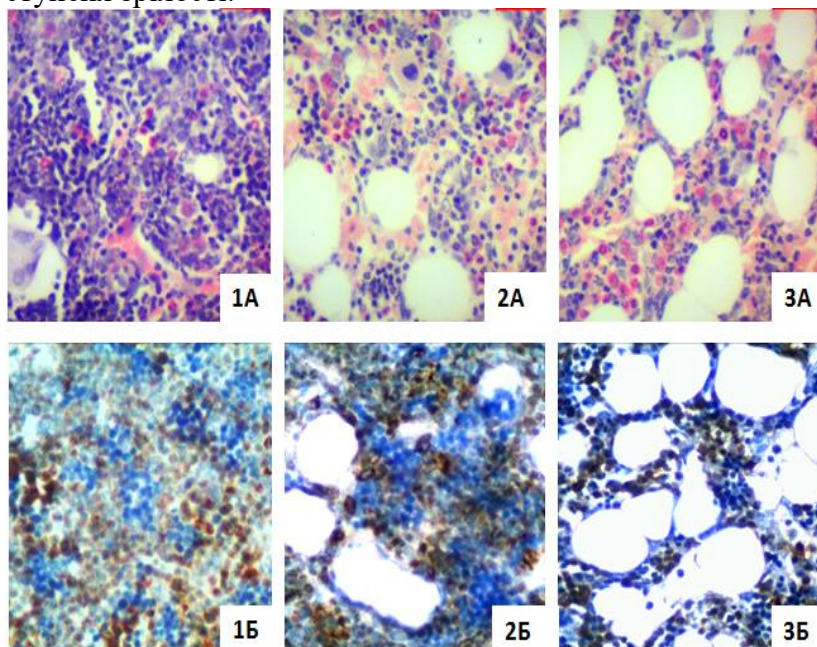


Рисунок 21 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 2-ї серії 1-ї групи: 1 – контрольна група щурів; 2 – щури на 30-ту добу споживання СВМ; 3 – щури на 90-ту добу споживання СВМ. А – забарвлення гематоксилином та еозином. Б – ІГХ-дослідження рецепторів до МПО. Збільшення $\times 400$

Отже, в процесі підвищеного надходження СВМ до організму щурів упродовж трьох місяців поступово розвивається пригнічення процесу еритроцито- та гранулоцитопоезу в КМ за одночасного зростання кількості мегакаріоцитів та інтактності лімфоцитопоезу. Зазначені зміни мають стрімкий розвиток у перший місяць

дослідження з поступовим сповільненням динаміки до 90-ї доби дослідження. Спущошеність КМ більш яскраво виражена в ділянці епіфізів та найбільше спостерігається серед попередників еритроцитопоезу. Всі кількісні зміни супроводжувалися якісними змінами гемопоетичної тканини та строми.

Розділ 8

Зміни в кістковому мозку за умов споживання солей важких металів та корекції змін вітаміном E

Досліджуючи протективні властивості вітаміну E, ми встановили, що впродовж експерименту з уживанням СВМ на фоні корекції порушень вітамінотерапією спостерігали подібну динаміку змін у гемопоетичній тканині – зменшувалася площа еритроцитопоезу, а після незначного зростання відбувалися супресія лейкоцитопоезу та зростання попередників тромбоцитів.

Під час оцінювання ділянок, зайнятих під різні паростки кровотворення (рис. 22,23), виявлено, що на 30-ту добу площа еритропоезу знизилася на 14,8 % (становила $(4,5 \pm 1,2)$ % на рівні епіфізів та на 10,3 % (становила $(16 \pm 1,8)$ % – на рівні діафізів.

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

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

Через три місяці споживання СВМ у надлишкових концентраціях разом із вітаміном E відбувалося

наростання змін із боку еритроцитопоезу та тромбоцитопоезу, показники гранулоцитопоезу після незначного зростання впродовж першого місяця зазнавали різкого зниження.

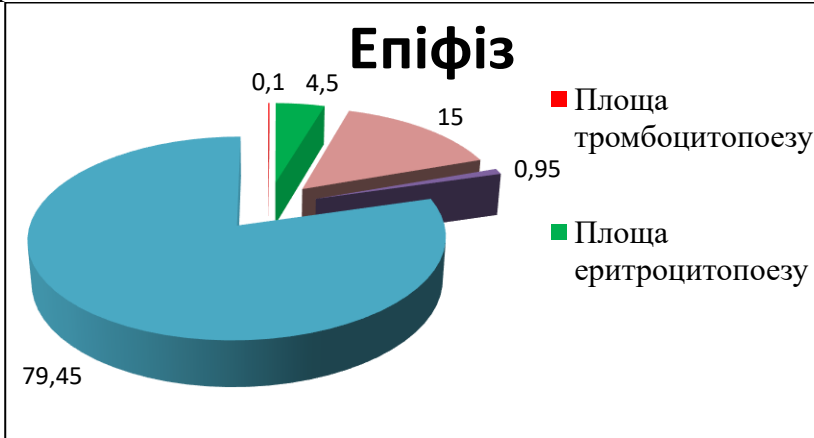


Рисунок 22 – Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні епіфізів у щурів, які впродовж 30 діб вживали СВМ та вітамін Е

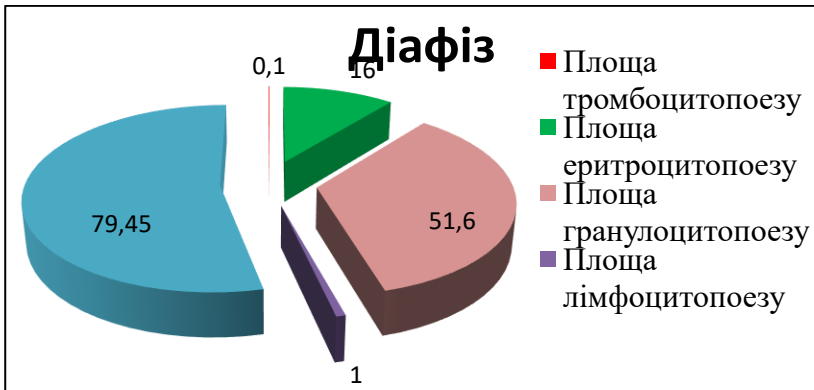


Рисунок 23 – Відсоткове співвідношення компонентів КМ на рівні діафізів у щурів, які впродовж 30 діб вживали СВМ та вітамін Е

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 в щурів, яким проводили корекцію змін вітаміном Е (третья серія першої групи), якісні порушення в КМ були виражені меншою мірою (рис. 24).

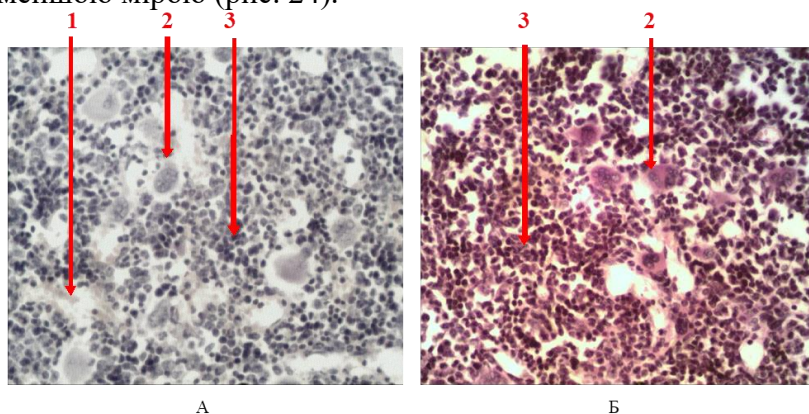


Рисунок 24 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ї серії 1-ї групи: 1 – синусоїди; 2 – мегакаріоцит; 3 – еритроїдний острівець. А – забарвлення гематоксиліном та еозином. Б – ШИК забарвлення. Збільшення $\times 400$

Більшість із них спостерігали лише через три місяці комбінованого впливу СВМ.

На 30-ту добу зберігалася компактність розміщення різних попередників кровотворення – ендостальна локалізація гранулоцитарного паростка кровотворення та перисинусоїдалне розміщення попередників еритроцитів. Але вже на цьому етапі візуально зростала кількість мегакаріоцитів. Дистрофічно-некротичних змін (некрозів,

ослизнень та ін.) у структурі КМ майже не спостерігали. Спустошена від кровотворення площа вакантно заміщувалася синусоїдами. Поодинокі траплялися випадки, як і у тварин другої серії першої групи, з явищами гіперплазії еозинофільного паростка гемопоезу, що проявлялися зростанням кількості різних предикторів лейкоцитів із значною кількістю еозинофільної зернистості в клітинах (рис. 25).

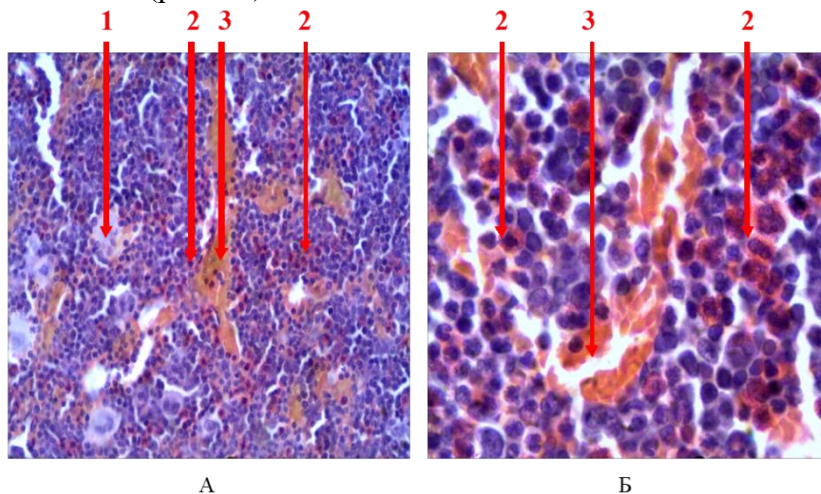


Рисунок 25 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ї серії 1-ї групи: 1 – мегакаріоцит; 2 – попередники еозинофілів; 3 – синусоїди. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення А – $\times 100$; Б – $\times 400$

Незважаючи на протективні властивості вітаміну Е, на 90-ту добу споживання СВМ якісні зміни поступово наростали. На цьому етапі вже спостерігали значні відхилення від показників інтактних тварин, хоча вони й 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. 26).

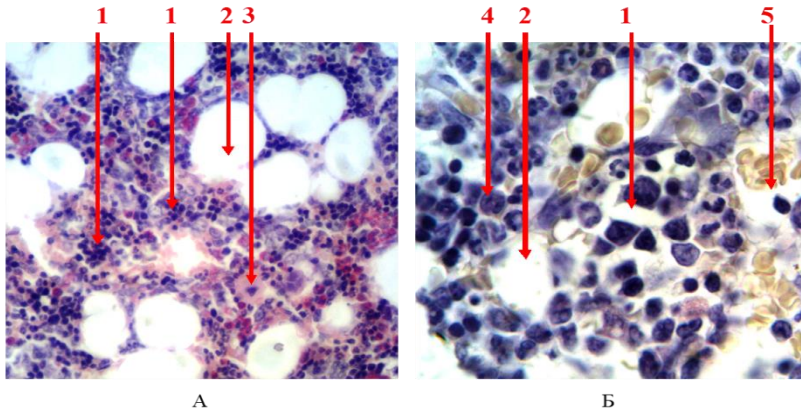


Рисунок 26 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ї серії 1-ї групи: 1 – еритроїдний острівцев; 2 – ліпоцити; 3 – мегакаріоцити; 4 – попередники гранулоцитів; 5 – синусоїди. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення А – $\times 400$, Б – $\times 1000$

Диспластичних змін у структурі еритрона майже не спостерігали, хоча й були помітні незначні відхилення щодо форм і тинкторіальних властивостей деяких попередників. Більш яскраво вищезазначені зміни проявлялися на рівні епіфізів стегнових кісток щурів із пролонгацією змін ближче до центра кістково-мозкового каналу.

З боку гранулоцитарного паростка значних змін на 30-ту добу у тварин третьої серії не спостерігали, але в окремих місцях відбувалося порушення періостального розміщення його паростків – вони траплялися в усіх ділянках кістково-мозкового каналу діафізів та кістково-мозкових комірках епіфізів (рис. 27).

У міру пролонгації експерименту одночасно зі зменшенням площі гранулоцитопоезу виникали й якісні зміни у складі його предикторів.

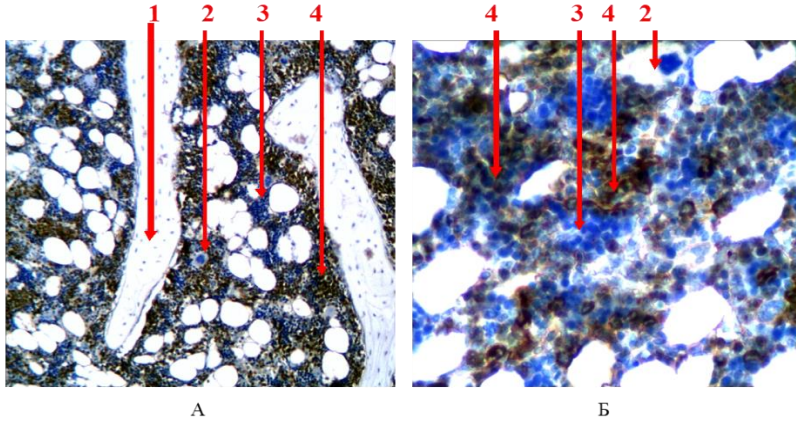


Рисунок 27 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ї серії 1-ї групи: 1 – кісткова балка; 2 – мегакаріоцити; 3 – еритроїдний острівець; 4 – попередники гранулоцитів. ІГХ-дослідження рецепторів до МПО. Збільшення А – $\times 100$; Б – $\times 400$

Дискордантне їх розміщення (наявність мієлобластів та промієлоцитів у центральній частині комірок) супроводжувалося змінами їх тинкторіальних властивостей та клітинного поліморфізму, окремі групи попередників лейкоцитів асинхронно сприймали ДАБ під час ІГХ- виявлення рецепторів до МПО (рис. 28).

В окремих ділянках виникали явища полісегментації, хоча ця ознака мала місце лише в поодиноких випадках унаслідок кільцеподібного типу ядер гранулоцитів у щурів.

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

Вони були наявні, як у складі еритроїдних острівців, так і окремо (іноді формуючи скупчення з 3–4 клітин) серед збережених ділянок кровотворної тканини (рис. 29).

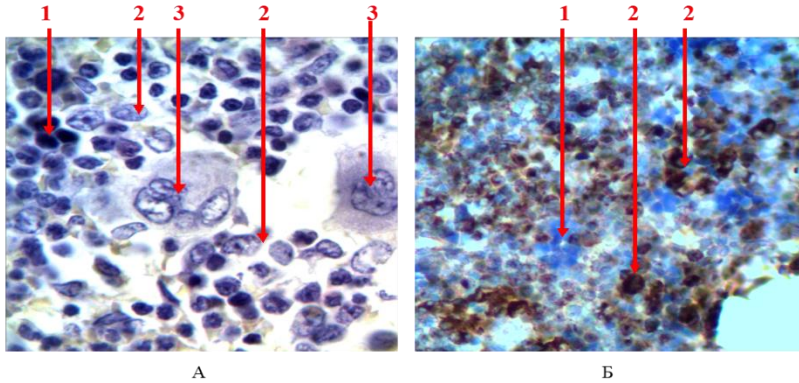


Рисунок 28 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ї серії 1-ї групи: 1 – клітини еритрона; 2 – попередники гранулоцитів; 3 – мегакаріоцит. А – забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 1\ 000$.
 Б – ІГХ-дослідження рецепторів до МПО. Збільшення $\times 400$

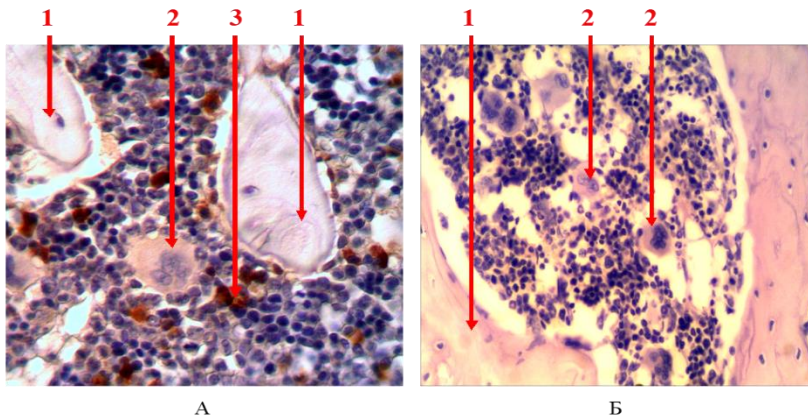


Рисунок 29 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 3-ї серії 1-ї групи: 1 – кісткова балка; 2 – мегакаріоцит; 3 – S100-позитивні макрофаги. А – ІГХ-дослідження рецепторів до білка S100. Збільшення $\times 200$. Б – забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 400$

На 90-ту добу значні зміни виникали в тромбоцитарному паростку кровотворення, що проявлялися збільшенням кількості мегакаріоцитів, зростанням сегментації їх ядер, явищ клітинно-ядерного поліморфізму (рис. 28 А).

Щодо інших компонентів КМ (кісткова тканина, сполучнотканинний каркас), то впродовж експерименту із СВМ та корекції змін вітаміном Е значних відхилень від норми не спостерігали, крім вакантного заміщення жировою тканиною (внаслідок гіпертрофії й гіперплазії) та синусоїдами спустошених від кровотворення ділянок КМ, подекуди траплялися вогнищеві крововиливи та набряк.

Істотних коливань із боку М:Е- співвідношення не виявлено ($p > 0,05$) – на рівні епіфіза воно становило 3,3:1 й на рівні діафіза дорівнювало 3,2:1, зважаючи на одночасність змін двох паростків гемопоезу. Не зазнав істотних 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 уживали СВМ разом із вітаміном Е, можна стверджувати про виникнення та посилення змін у кровотворній тканині під час вживання полютантів. Гіпопластично-деструктивні зміни, що виникали у тварин цієї групи, посилювалися в разі пролонгації експерименту, хоча й не досягали показників другої серії тварин, які виключно вживали СВМ без корекції. Найбільш стрімко відхилення виникали в перші 30 діб дослідження з поступовим зменшенням інтенсивності (але не зі зниженням їх) в наступні періоди. Еритроїдний паросток зазнавав найбільших відхилень, які спочатку виникали в ділянці епіфізів із подальшим поширенням у бік кістково-мозкового каналу стегових кісток статевозрілих щурів.

Розділ 9

Зміни в кістковому мозку щурів за умов відновлення

У разі відміни з раціону щурів СВМ у їх КМ поступово виникали зміни у зворотному напрямку. Темпи відновлення залежали від терміну реадаптаційного 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-ї групи) спостерігали поступове зростання площі гемопоетичної тканини. Темпи відновлення прямо пропорційно залежали від термінів спостереження (рис. 3.30).

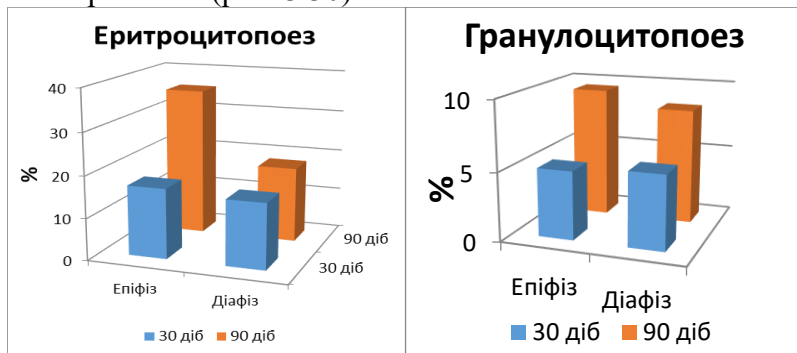


Рисунок 30 – Показники зростання площі кровотворення у тварин 2-ї серії 2-ї групи на 30-ту та 90-ту доби відновлення (120-та та 180-та доби спостереження) стосовно показників тварин 2-ї серії 1-ї групи

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 діафіза. У разі пролонгації спостереження (через три 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 самим сценарієм – через 30 діб на рівні епіфізів їх площа зросла на $5,0 \%$ ($p = 0,22$), на рівні діафіза – 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 становила $(0,22 \pm 0,07) \%$ ($p = 0,2$)). На 180-ту добу спостереження (три місяці відновлення) площа тромбоцитопоезу зменшилася на $28,0 \%$ (у середньому становила $(0,18 \pm 0,04) \%$ ($p = 0,019$)). Хоча й спостерігалось значне покращання показників усіх паростків кровотворення, їх значення, навіть на 90-ту добу відновлення, відрізнялися від показників інтактної групи тварин.

З метою встановлення протективних властивостей вітаміну Е в щурів, які впродовж трьох місяців уживали СВМ, ми після відміни поліютантів у періоді відновлення додали до їх раціону коректор (щури 3-ї серії 2-ї групи). Динаміка відновлення кровотворної функції була більш стрімкою з досягненням кращих показників, починаючи з 30-ї доби відновлення.

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-ту добу відновлення, показники гранулоцитопоезу відповідно становили $(14 \pm 1,5) \%$ ($p = 0,075$) та $(47,5 \pm 1,9) \%$ ($p = 0,004$). У разі пролонгації спостереження (180-та доба) динаміка змін була подібною, майже досягаючи показників контрольної групи тварин.

Площа еритроцитопоезу на третій 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-ту добу спостереження в щурів 3-ї серії 2-ї групи становили ($14,3 \pm 0,82$ % ($p = 0,008$) та ($48,3 \pm 2,25$) % ($p = 0,002$) відповідно. Найбільш виражені зміни відбувалися в КМ саме в перші 30 діб відновного періоду з поступовим сповільненням їх показників та одночасним наближенням до значень контрольної серії тварин (1-ша серія 2-ї групи) на 90-ту добу відновлення (рис. 31).

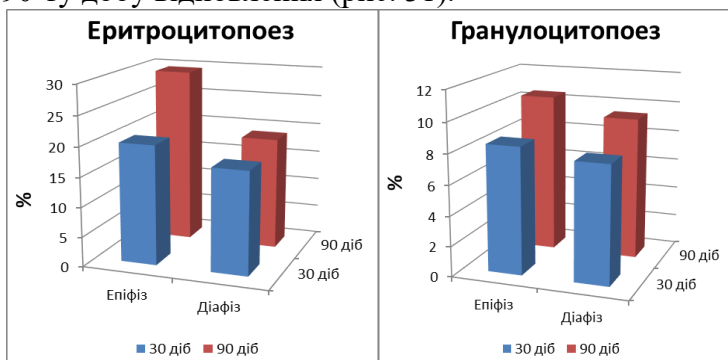


Рисунок 31 – Показники зростання площі кровотворення у тварин 3-ї серії 2-ї групи на 30-ту та 90-ту доби відновлення (120-та й 180-та доби спостереження) стосовно до показників тварин 2-ї серії 1-ї групи

Щодо характеристики тромбоцитопоезу, то динаміка була подібною з попередньою серією тварин, але спостерігалось більш яскраве зменшення кількості мегакаріоцитів. Так, на 30-ту добу їх кількість зменшилася на 20 % (у середньому становила ($0,2 \pm 0,06$) %) з поступовим наростанням змін на 90-ту добу відновлення – знизилася на 36 % (у середньому становила ($0,17 \pm 0,05$)). Усі показники істотно наближалися до контрольних

параметрів, але вони були дещо зміненими навіть на 180-ту добу спостереження.

Тваринам, які впродовж 90 діб споживали СВМ разом із вітаміном Е, на 90-ту добу було також припинене додавання полютантів до раціону випоювання за умови продовження додавання коректора (4-та серія 2-ї групи). Зміни, що виникали в цьому разі в КМ, також були спрямовані на відновлення параметрів усіх паростків кровотворення.

На 30-ту 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 самі параметри на 180-ту 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-ту 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 три місяці відновного періоду відповідні показники змінилися менш помітно, але значно наблизилися до значень контрольної серії тварин (рис. 32). Так, гранулоцитопоез на рівні епіфізів у середньому був $(14,7 \pm 0,52) \%$ ($p = 0,004$) та на рівні діафізів – $(49,8 \pm 2) \%$ ($p < 0,001$).

Щодо тромбоцитопоезу, зміни проходили у зворотньому напрямку, що відображалось зменшенням кількості мегакаріоцитів. Через 30 діб відновного періоду за одночасного вживання коректора площа тромбоцитопоезу зменшилася на 18 % (у середньому становила $(0,18 \pm 0,04) \%$), досягаючи свого максимуму на 90-ту добу – зменшення на 23,0 % (у середньому становила $(0,17 \pm 0,05) \%$).

Необхідно зазначити, що більшість параметрів у щурів 4-ї серії 2-ї групи зазнавала виражених змін саме через один місяць відновлення з поступовим зменшенням їх темпів на 180-ту добу спостереження (три місяці відновлення). Деякі з них наближалися до показників контрольної серії тварин (еритроцитопоез), але більшість із них (тромбоцитопоез, гранулоцитопоез), хоча й статистично не достовірно, не досягали значень інтактної серії щурів (1-ша серія 2-ї групи).

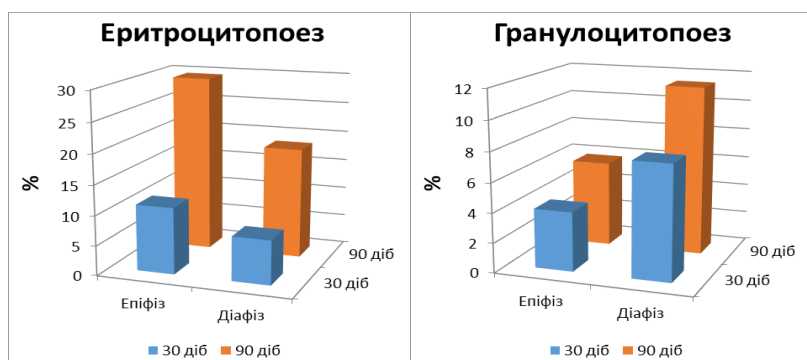


Рисунок 32 – Показники зростання площі кровотворення у тварин 4-ї серії 2-ї групи на 30-ту та 90-ту доби відновлення (120-та й 180-та доби спостереження) стосовно показників тварин 3-ї серії 1-ї групи

Упродовж усього періоду відновлення коливання М:Е-співвідношення перебували в межах норми, що пов'язано із синхронністю та односпрямованістю (зростання показників еритроцито- й гранулоцитопоезу) змін площі обох паростків кровотворення. Так, у тварин 2-ї серії 2-ї групи на 120-й день спостереження (1 місяць відновлення) воно дорівнювало 2,2–4:1 на рівні епіфізів та 2,5–3:1 – на рівні діафізів. Через три місяці відновного періоду цей показник складав 2,1–3,8:1 та 2,5–3,1:1 відповідно. У тварин, які після відміни СВМ почали

вживати вітамін Е (3-тя серія 2-ї групи), М:Е-співвідношення на 30-ту добу становило 3–4,3:1 (епіфізи) та 2,6 –2,9:1 (діафіз). Через три 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-ї групи), після відміни СВМ зазначений показник на 30-ту добу становив 2,2–5:1 та 2,7–3,6:1, а на 90-ту добу – 2–3,8:1 та 2,4 – 3,1:1 відповідно.

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

Унаслідок зростання площі гемопоезу першочергово зменшувалися ділянки, які були зайняті під синусоїди, з поступовим зниженням площі, зайнятої під жовтий КМ. Але в 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 й коливалися в межах 0,4 %, в середньому становлячи 1,0 % від загальної площі кровотворення КМ (рис. 3.33). Спостерігали незначне переважання Т-лімфоцитів над В-лімфоцитами, іноді з формуванням вогнищевих скупчень імуніцитів.

Відміна СВМ із раціону тварин усіх серій щурів 2-ї групи відбивалася й на якісних показниках КМ. Поступово відновлювалася типова будова кровотворної тканини, зникали деструктивні явища (рис. 34). Так, ділянки міксоматозу та крововиливи виявляли в поодиноких випадках лише на 30-ту добу відновлення в щурів 2-ї серії 2-ї групи (в дуже рідких випадках і на 90-ту добу можна

було спостерігати залишкові ділянки ослизнення). Значно знизилася ймовірність виявлення клітин з ознаками апоптозу або некрозу. Внаслідок зменшення імуногенного впливу полутантів макрофаги виявляли значною мірою лише у складі еритроїдних острівців та значно меншою кількістю. Набряку в КМ щурів в усіх серіях майже не спостерігали.

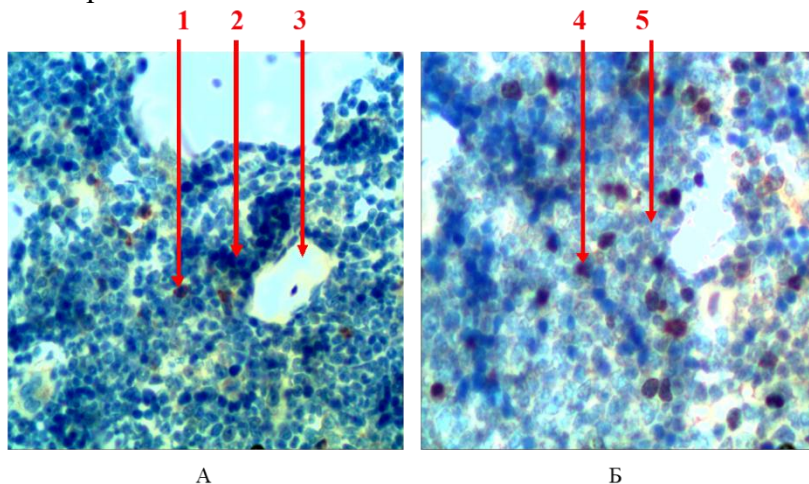


Рисунок 33 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ї серії 2-ї групи на 90-ту добу відновлення:
 1 – В-лімфоцит; 2 – еритроїдний острівець; 3 – кісткова балка; 4 – Т-лімфоцит; 5 – вогнище гранулоцитопоезу.
 А – ІГХ-дослідження рецепторів CD79 α .
 Б – ІГХ-дослідження рецепторів CD3. Збільшення $\times 400$

Поступово відновлювався склад і вогнищевий тип розміщення еритроїдних острівців. Вони здебільшого склалися з усіх попередників еритрону за умови відсутності будь-яких диспластичних явищ (рис. 35). Як і в 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 разом із відміною СВМ починали або продов- жували давати вітамін Е. У деяких тварин 4-ї серії 2-ї групи кількісний склад, хоча й статистично не достовірно, але перевищував показники інтактних тварин – дещо більші показники площі еритроїдних острівців та кількість клітин еритрона в їх складі.

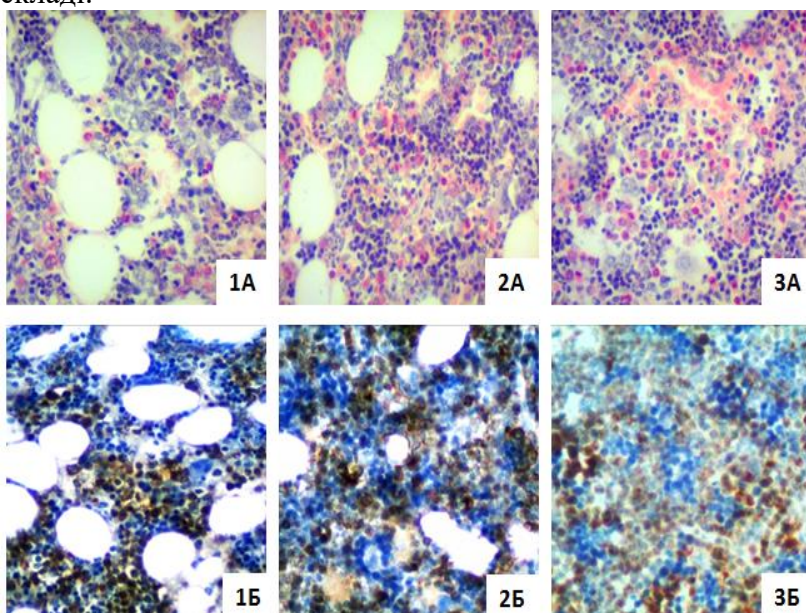


Рисунок 34 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура:
 1 – 30-та доба; 2 – 90-та доба відновлення в щура 2-ї серії 2-ї групи; 3 – КМ тварини контрольної серії.
 А – забарвлення гематоксиліном та еозином.
 Б – імуногістохімічне дослідження рецепторів до мієлопероксидази. Збільшення $\times 400$

Під час відновлення якісні зміни спостерігалися й у гранулоцитарному паростку кровотворення. Відновлювалася структурованість лейкоцитопоезу, що

характеризувалася ендостальним розміщенням його попередників. Починаючи з 30-ї доби, поступово зникали диспластичні явища та порушення тинкторіальних властивостей клітин.

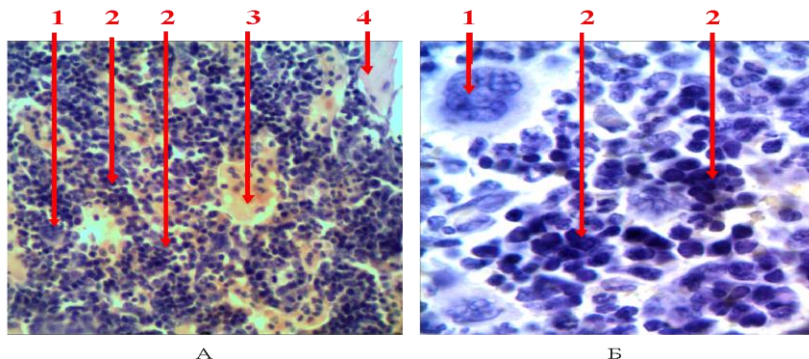


Рисунок 35 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ї серії 2-ї групи на 90-ту добу відновлення: 1 – мегакаріоцит; 2 – еритроїдний острівець; 3 – залишковий міксоматоз; 4 – кісткова балка. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$ (А) та $\times 1\ 000$ (Б)

Під час ІГХ- дослідження виявлено відновлення закономірностей насичення різних попередників мієлопероксидазою – більш інтенсивне забарвлення ранніх форм гранулоцитопоезу (рис. 36). У дозріваючих формах нейтрофільного та еозинофільного паростків кровотворення виявлялася кільцеподібна форма ядра в більшості клітин. За умови сегментації на 90-ту добу не спостерігалось їх гіперсегментованості так само, як і порушень гранулярності цитоплазми. Виявлені впродовж споживання СВМ явища еозинофілії повністю зникали в період відновлення.

Під час пролонгації спостереження за тваринами поступово відновлювалася як кількість мегакаріоцитів, так

і їх якісні характеристики. Зникали явища підвищеної сегментації ядер, нормалізувалася їх форма.

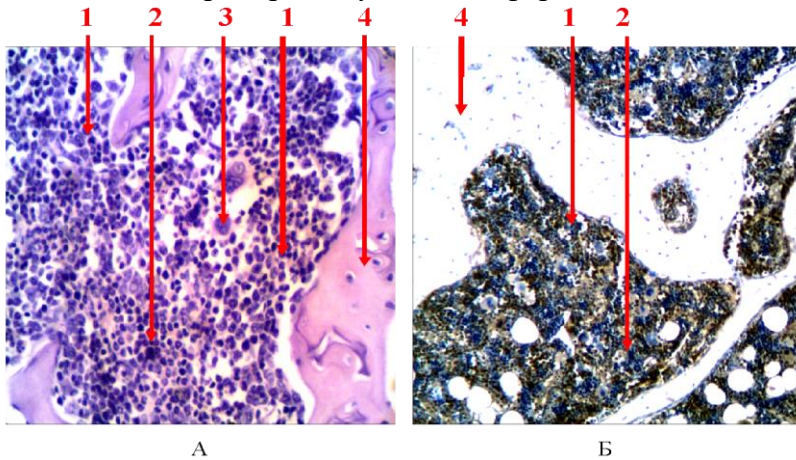


Рисунок 36 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ї серії 2-ї групи на 90-ту добу відновлення: 1 – ділянка гранулоцитопоезу; 2 – еритроїдний острівцев; 3 – мегакаріоцит; 4 – кісткова балка. А – забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

Б – ІГХ-дослідження рецепторів до МПО. Збільшення $\times 100$

Незважаючи на це, в окремих ділянках виникали явища емперіоплезу – наявність цілих клітин (гранулоцитів) у цитоплазмі мегакаріоцитів без порушення цілісності жодної з клітин (рис. 37). Зменшувалися випадки виявлення попередників тромбоцитів у вигляді груп (до 5 клітин) та кластерів (більше ніж 5 клітин).

Упродовж відновлювального періоду, хоча й доволі повільно, але відновлювалася нормальна структура кісткової тканини (рис. 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).

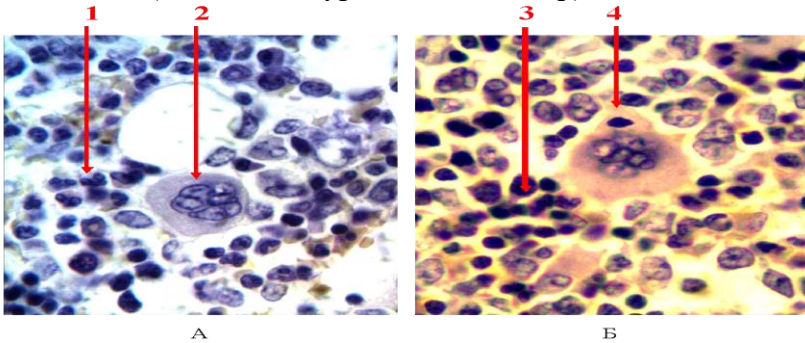


Рисунок 37 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ї серії 2-ї групи на 90-ту добу відновлення:
1 – попередники гранулоцитів; 2 – нормальний мегакаріоцит; 3 – попередники еритроцитів;
4 – мегакаріоцит із явищами емперіполезу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 1\ 000$

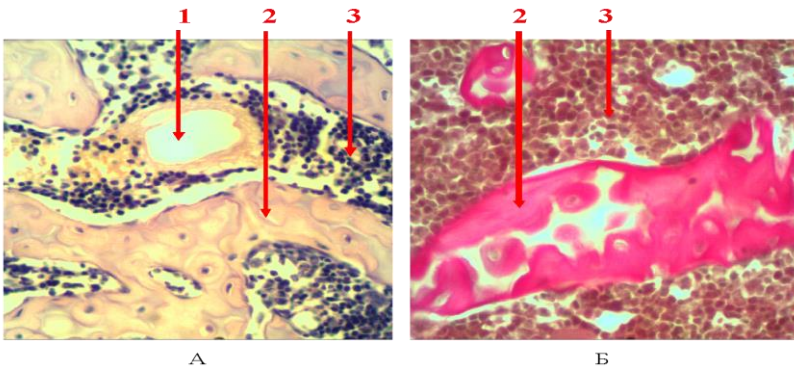


Рисунок 38 – Поздовжній зріз стегнової кістки щура 4-ї серії 2-ї групи на 90-ту добу відновлення:
1 – кровносна судина; 2 – кісткова тканина;
3 – гемопоетична тканина. А – забарвлення гематоксиліном та еозином.
Б – забарвлення за Ван-Гізеном. Збільшення $\times 400$

Зміни з боку жирової тканини проявлялися здебільшого лише її зменшенням та залишковими вогнищевими явищами ліпоматозу – вогнищевого скупчення ліпоцитів. На окремих ділянках виявлялися незначні ділянки розростання сполучної тканини.

Як і в разі з кількісними характеристиками КМ, у разі відновлення спостерігалася чітка залежність між його темпами в 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 коректора до харчового раціону тварин посилює темпи нівелювання змін, що виникли після хронічного впливу СВМ. Ці відновні процеси прямо пропорційні тривалості спостереження. Хоча і спостерігається майже повне відновлення кількісно-якісних характеристик гемопоетичної тканини, вони здебільшого не досягають показників контрольної серії тварин.

Наближені до нормальних параметри КМ на 90-ту добу відновлення (180-та доба спостереження) свідчать про високі регенераторні можливості кровотворної тканини за умови припинення згубного впливу екзогенних поллютантів на тварин.

Розділ 10

Мікроелементний склад кісткового мозку в щурів

Методом проведення спектрофотометрії ми встановили вміст кожного з ВМ (Fe, Cu, Zn, Mn, P1 та Cr) в 1 мг КМ, одержаного способом бужування кістковомозкової порожнини середньої частини стегнової кістки інтактних щурів. Для цього використали тканину від тварин (n = 24) всіх контрольних серій – 12 щурів першої групи та 12 – другої (по 6 тварин, які виводилися з експерименту на 30-ту та 90-ту доби). Нами встановлено, що вміст заліза в 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 в середньому становила $(596,1 \pm 21,895)$ мкг/г (коливалася від 560,42 до 644,42 мкг/г).

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

У тварин, яким додавали СВМ у воду, кількість ВМ у кровотворній тканині значно зростала. Так, на 30-ту добу спостерігалася 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 Pl – на 84,7 % (у середньому – ($1,18 \pm 0,1$) мкг/г). Загальна кількість ВМ зросла на 82,1 % та становила ($1086,68 \pm 33,43$) мкг/г (рис. 39).

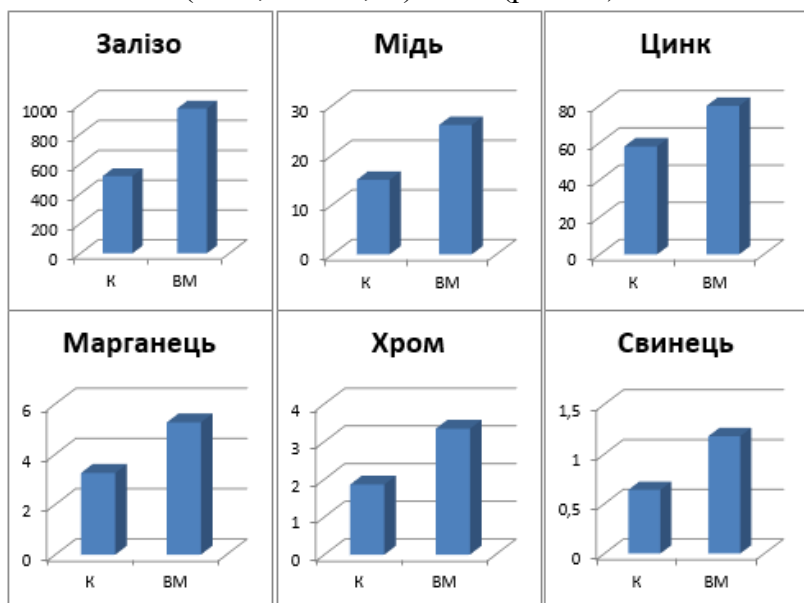


Рисунок 39 – Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) з показниками тварин, які впродовж 30 діб уживали СВМ (ВМ)

Під час пролонгації експерименту акумулювання ВМ у гемопоетичній тканині продовжувало наростати. Але, потрібно зазначити, що темпи цього збільшення були менш стрімкими. Так, порівняно з результатами інтактних тварин ($p < 0,001$), на 90-ту добу кількість Fe перевищувала показники норми на 147,0 % (у середньому – ($1\ 266,03 \pm 52,13$) 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 Рl – на 182,0 % (у середньому – ($1,71 \pm 0,11$) мкг/г). Загальна кількість ВМ зросла на 137,5 % та становила ($1406,98 \pm 52,35$) мкг/г (рис. 40).

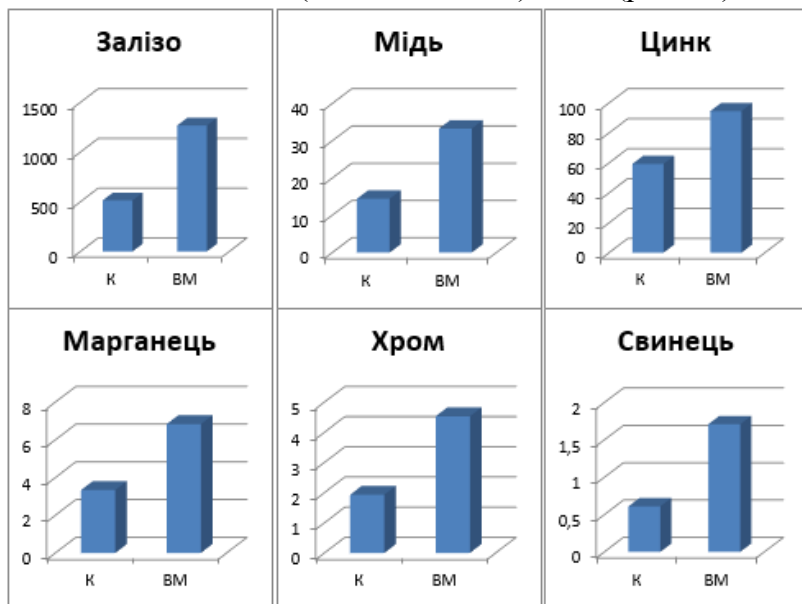


Рисунок 40 – Показники вмісту хімічних елементів у щурів контрольної серії (К) та тварин, які впродовж 90 діб вживали СВМ

Використання як коректора вітаміну Е сповільнювало накопичення ВМ у кровотворній тканині. Так, за умови додаткового споживання вітаміну разом із СВМ на 30-ту та 90-ту доби дослідження показники вмісту ВМ у КМ були значно нижчими за виявлені в щурів попередньої серії. Через один та три місяці експерименту виявлено відповідне зростання Fe на 41,03 % та 80,3 % (у середньому ($730,47 \pm 22,6$) мкг/г та

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

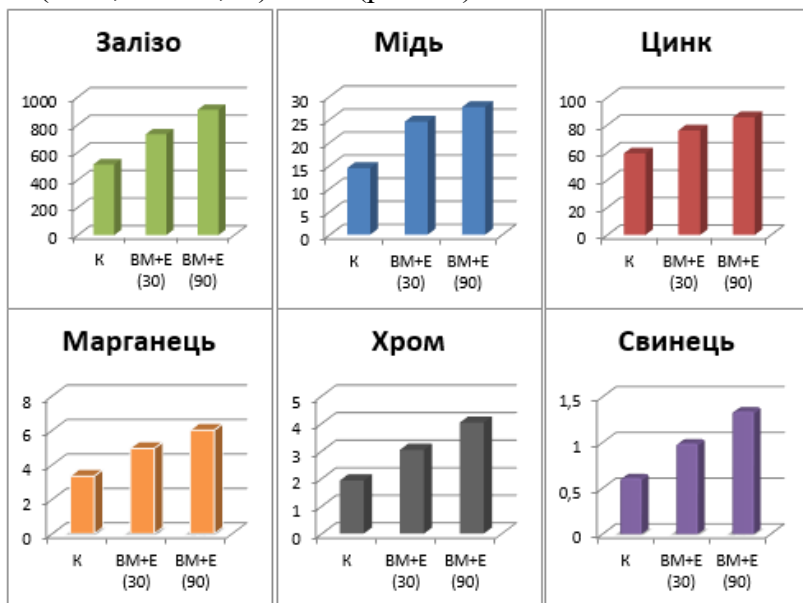


Рисунок 41 – Показники вмісту хімічних елементів у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 30 (ВМ + Е (30)) та 90 (ВМ + Е (90)) діб вживали СВМ із вітаміном Е

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

Другою частиною нашого дослідження було встановлення особливостей виведення з організму тварин надлишку ВМ. Для цього серію 2 першої групи було поділено 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 прикладі спостерігалось, хоча й не настільки стрімке, але зменшення кількості ВМ у гемопоетичній тканині. 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 усе ще істотно 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 становлячи $(1096,76 \pm 59,6)$ мкг/г (рис. 42).

Пролонгація спостереження за тваринами супроводжувалася подальшим зниженням ВМ у КМ. Відбувалося поступове виведення ксенобіотиків із гемопоетичної тканини. Порівняно 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 й

спостерігалось істотне 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).

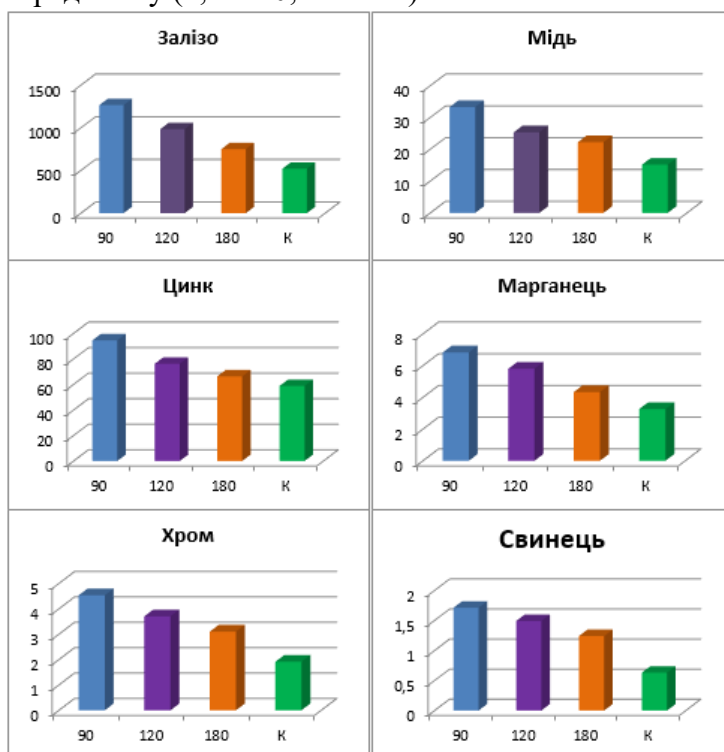


Рисунок 42 – Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) та тварин, які впродовж 90 діб живили СВМ (90), на 30-ту (120) та 90-ту (180) доби відновлення

Загальний показник вмісту ВМ у КМ перевищував на 42,3 %, у середньому складаючи $(846,82 \pm 66,78)$ мкг/г.

У тварин, яким разом із відміною СВМ одночасно почали додавати вітамін Е (3-тя серія 2-ї групи), спостерігалось більш стрімке зниження ВМ у кровотворній тканині. Через один та три місяці після припинення впливу ксенобіотиками кількість заліза все ще перевищувала показники контролю відповідно на 65,8 % та 26 % (у середньому становила $(862,1 \pm 27,73)$ 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 % порівняно з показниками 90-ї доби експерименту. Вміст досліджуваних елементів наближався до значень контрольної групи тварин, але все ще був на 62,0 % і 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).

Деякі іншими виявилися результати у тварин, які впродовж 90 діб уживали СВМ разом із вітаміном Е та у відновлювальний період продовжили одержувати корегувальну вітамінну профілактику. У цих щурів (4-та серія 2-ї групи) й до цього найнижчі показники відхилення більше наближалися до норми, хоча в усіх ситуаціях не досягали рівня інтактних тварин.

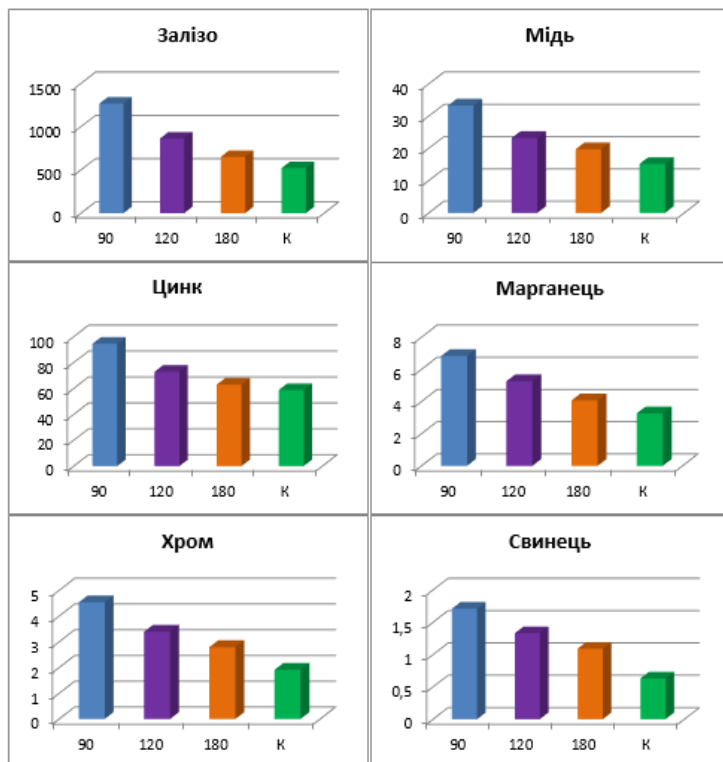


Рисунок 43 – Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) та тварин, які впродовж 90 діб живили СВМ (90), на 30-ту (120) та 90-ту (180) доби відновлення з додаванням вітаміну Е

Вони на 30-ту та 90-ту доби періоду відновлення перевищували відповідно показники норми для Fe на 35,0 % та 16,0 % (у середньому становивши $(701,63 \pm 23,54)$ 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 $(3,98 \pm$

$\pm 0,14$) мкг/г), Cr – на 67,7 % та 35,8 % (у середньому ($3,2 \pm \pm 0,17$) 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 ($0,88 \pm \pm 0,12$) мкг/г). Загальні показник вмісту ВМ перевищував на 33,7 % та 15,7 % відповідно, у середньому становлячи ($801,74 \pm 22,44$) мкг/г та ($685,74 \pm 19,17$) мкг/г (рис. 44).

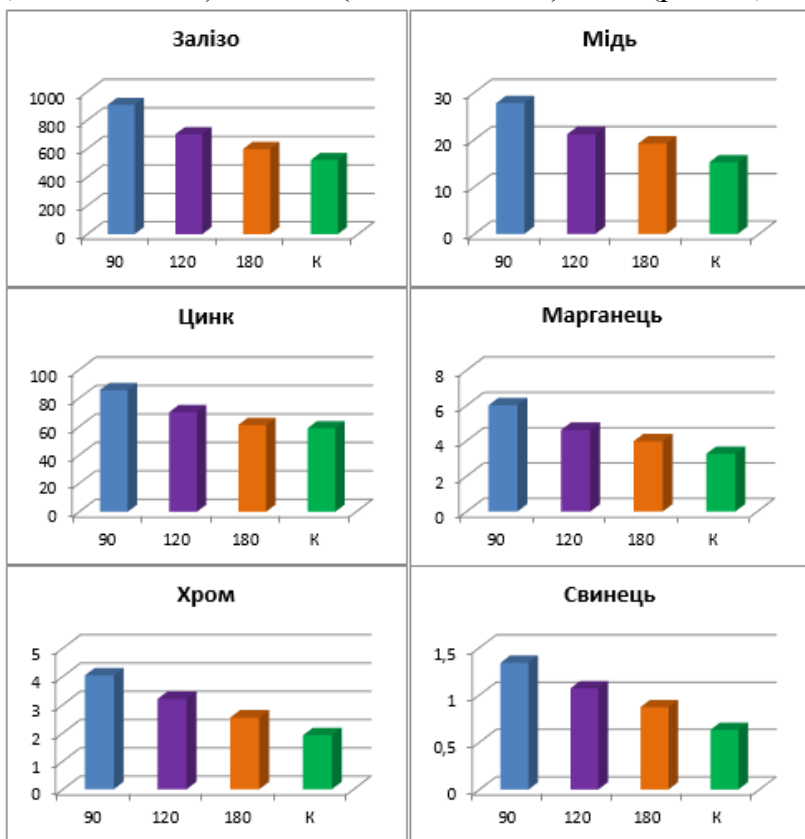


Рисунок 44 – Показники вмісту ВМ у щурів контрольної серії (К) та тварин, що впродовж 90 діб живили СВМ із вітаміном Е (90), на 30-ту (120) та 90-ту (180) доби відновлення з продовженням одержання вітаміну Е

Аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що впродовж відновлювального періоду відбувається поступове виведення ВМ із кровотворної тканини. Темпи цього виведення прямо залежать від додавання вітаміну Е – за умови його споживання ВМ видаляються швидше та в більшій кількості.

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

Розділ 11

Дослідження показників крові у щурів

Для визначення функціонального стану КМ у статевозрілих щурів-самців ми дослідили кількісні показники крові – Нв, еритроцити, лейкоцити, тромбоцити та ШОЕ. Коливання ФЕК було індикатором кровотворної спроможності гемопоетичної тканини. Додатково нами проведено визначення деяких біохімічних параметрів крові – кальцію (Са), натрію (Na), калію (К), 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. 2) – n = 24).

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

Так, кількість Нв була в межах від 138 г/л до 146 г/л (у середньому (142,08 ± 2,13) г/л), еритроцитів – від

4,12 × 10¹²/л до 4,78 × 10¹²/л (у середньому (4,42 ± 0,21) × 10¹²/л), лейкоцитів – від 7,6 × 10⁹/л до 8,6 × 10⁹/л (у середньому (8,16 ± 0,29) × 10⁹/л) та тромбоцитів від 246,4 × 10⁹/л до 266,4 × 10⁹/л (у середньому (256,8 ± 4,52) × 10⁹/л). ШОЕ коливалося від 1 мм/год до 3 мм/год.

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

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

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

Через 30 діб експерименту в щурів другої серії першої групи, 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 недостовірними. Під час зростання терміну одержання тваринами екзогенних поллютантів (на 90-ту 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. 45).

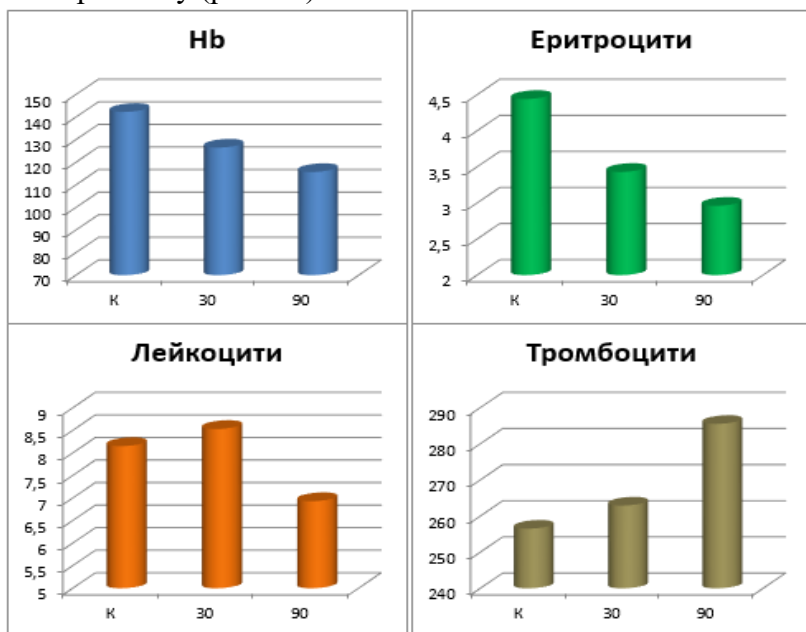


Рисунок 45 – Показники Нв (г/л), еритроцитів ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитів ($\times 10^9/л$) і тромбоцитів ($\times 10^9/л$) у щурів контрольної серії (К) та тварин, які впродовж 30 (30) та 90 (90) діб вживали СВМ

У крові щурів третьої серії першої групи, які вживали СВМ разом із вітаміном Е, динаміка змін є не такою вираженою. Через місяць експерименту значення не дуже відрізнялися від показників контролю (рис. 46). Але на

90-ту добу спостерігалось зменшення показників Нб на 6,6 %, еритроцитів – на 23,3 %, лейкоцитів – на 13,2 %, а тромбоцити навпаки зросли на 8,2 % ($p < 0,001$).

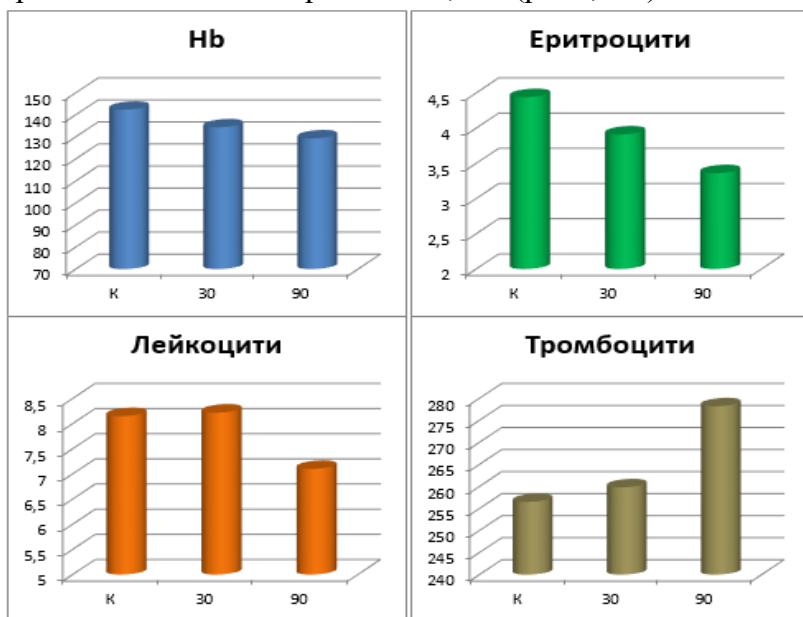


Рисунок 46 – Показники Нб (г/л), еритроцитів ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитів ($\times 10^9/л$) і тромбоцитів ($\times 10^9/л$) у щурів контрольної серії (К) та тварин, які впродовж 30 (30) та 90 (90) діб вживали СВМ та вітамін Е

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

У процесі відновлення в щурів показники крові поступово покращувалися, але не досягали рівня тварин контрольної групи (рис. 47).

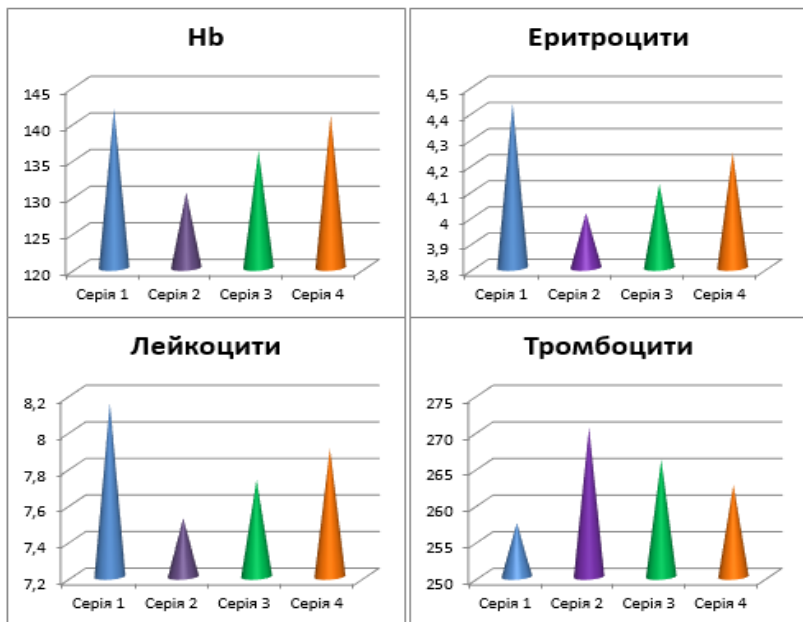


Рисунок 47 – Показники Hb (г/л), еритроцитів ($\times 10^{12}/л$), лейкоцитів ($\times 10^9/л$) та тромбоцитів ($\times 10^9/л$) у щурів різних серій другої групи

Темпи цієї динаміки також залежали від умов відновлення. Так, у щурів другої серії другої групи (до цього вживали СВМ) на 90-ту 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 E) 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 E) кількість Hb 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.

Зміни біохімічних показників крові у щурів другої та третьої серій першої групи мали подібну динаміку (табл. 4). Під час додавання екзогенних поліютантів на 90-ту 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 на пряму залежала від пролонгації експерименту.

Таблиця 4 – Показники біохімічного аналізу крові тварин першої групи

	1-ша серія		2-га серія		3-тя 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 ступеня ймовірності (p) між двома незалежними вибірками за критерієм Стюдента $p < 0,05$,

** – $p < 0,01$

У процесі відновлення ці показники поступово покращувалися, але здебільшого випадків не досягали значень тварин контрольної групи (табл. 5). Швидкість відновлення змін залежала від умов відновлення (наявна чи немає корекції вітаміном Е) та її терміну ($p < 0,05$).

Таблиця 5 – Показники біохімічного аналізу крові тварин другої групи

	1-ша серія		2-га серія		3-тя серія		4-та 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
К (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 ступеня ймовірності (р) між двома незалежними вибірками за критерієм Стьюдента $p < 0,05$;
** – $p < 0,01$

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

Під час порівняння показників, одержаних у разі атомно-абсорбційної спектрофотометрії з результатами гістологічного та ГХ дослідження (визначення площі кожного з паростків кровотворення) установлено, що під час зростання кількості ВМ у тканині КМ статевозрілих щурів відбувалося (на рівні епіфізів та діафіза) 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 (під час вивчення 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 порівняно із зазначеними ВМ (табл. 6).

Необхідно зазначити, що для кожної ланки кровотворення виявлено більш або менш значущий 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 умістом ВМ у КМ та кількістю виявлених попередників лімфоцитів (Т- та В-популяцій) ми не виявили ($p > 0,05$).

Таблиця 6 – 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 за умови рівня значущості $p \leq 0,05$ дорівнює 0,24, $p \leq 0,01$ –0,31, $p \leq 0,00$ –0,39

Зростання рівнів усіх виявлених металів знайшло своє відображення й у показниках ЗАК. Так, у міру їх збільшення у КМ відбувалося зниження кількості Нб ($r = -0,93$, $p < 0,001$), 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. 7). Зниження рівня Нб більш яскраво проявлялося у разі накопичення в 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 під час накопичення свинцю та хрому ($r = 0,81$ та $r = 0,77$, $p < 0,001$).

Більше того, аналізуючи червоний паросток кровотворення, установлено сильний кореляційний зв'язок

між кількістю еритроцитів та Hb в периферичній крові статевозрілих шурів – $r = 0,81$, $p < 0,001$.

Таблиця 7 – Факторний аналіз між умістом ВМ у тканині КМ шурів та показниками ЗАК, урахувавши 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 $n = 84$ за рівня значущості $p \leq 0,05$ дорівнює $0,22$, $p \leq 0,01$ – $0,29$, $p \leq 0,001$ – $0,36$

Дослідження спільних рис у накопиченні ВМ у гемопоетичній тканині й 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 із показників БАК стала індикатором для виявлення значно більшого негативно впливу на мікроелементний склад крові та показники функціонування нирок (креатиніну та сечовини) саме для марганцю, у разі найменшого залучення до варіабельності вищезазначених даних міді. Незважаючи на це, зміна

кількості всіх інших металів також прямо пропорційно (для натрію, сечовини й креатиніну) та обернено пропорційно (для кальцію та калію) відображалася на показниках БАК (табл. 8).

Таблиця 8 – Факторний аналіз між умістом ВМ у тканині КМ щурів та показниками ЗАК, ураховуючи 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 за рівня значущості $p \leq 0,05$ дорівнює 0,22, $p \leq 0,01$ –0,29, $p \leq 0,001$ –0,36

Ураховуючи той факт, що показники периферичної крові, а саме ЗАК, прямо залежать від функціонування КМ (кров є індикатором порушення кровотворної функції КМ), ми провели визначення зв'язків між варіабельністю площі гемопоезу та рівнями показників ЗАК. Ми виявили сильні прямі кореляційні зв'язки між пригніченням еритроцитопоезу й даними еритроцитів та Hb 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 діафіза.

Під час порівняння показників площі лейкоцитопоезу з кількістю лейкоцитів у периферичній крові також виявили сильні позитивні кореляційні зв'язки. Так, на противагу показникам червоного паростка кровотворення більш сильні кореляційні зв'язки виявлено на рівні діафіза

($r = 0,87$, $p < 0,001$), порівняно з епіфізами ($r = 0,74$, $p < 0,001$).

Хоча динаміка змін показників тромбоцитів та тромбоцитопоезу спостерігалася у зворотному напрямку (зростання обох показників), порівняно з іншими паростками гемопоезу, також виявлено їх односпрямованість. У разі зростання кількості мегакаріоцитів у КМ щурів спостерігалася прямо пропорційне 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, в разі одночасного зростання кількості мегакаріоцитів. Це відповідно проявляється в порушенні однієї з основних функцій КМ – утворення ФЕК. Це яскраво продемонстровано на наявності кореляційних зв'язків між показниками гемопоезу та даними ЗАК. Окремо виявлено прямо пропорційну динаміку між акумулюванням ВМ у КМ та змінами БАК і ЗАК. Це свідчить про можливість постійного впливу полютантів на інші органи в організмі щурів (унаслідок порушення їх функції відбувається збільшення або зменшення різних показників крові), що можуть, по-перше, бути індикаторами їх ураження, по-друге, – додатково впливати на пригнічення кровотворної функції КМ, по-третє, надавати інформацію не лише про ураження паренхіматозної частини КМ, а й окремих складових стром (кісткової тканини), що може бути джерелом мікроелементів (кальцію).

Розділ 12

Аналіз та узагальнення результатів досліджень

В умовах сучасного прогресу та розвитку промисловості значної актуальності набули питання впливу екзогенних полютантів на організм людини. Одними із таких ксенобіотиків є СВМ, які згідно з епідеміологічним дослідженням у деяких регіонах значно перевищують фізіологічні концентрації в 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 в усіх 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 порушення їх метаболізму вони проявляють свої токсичні властивості, хоча більшість із 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 із вивчення впливу полютантів (зокрема й 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) в разі захворювання інших органів та екзогенних впливах ксенобіотиків [79–82]. Проведені експериментальні дослідження з виявлення пагубної дії ВМ стосувалися здебільшого або визначення їх токсичної дії на кров [25], або вивчення впливу окремих МЕ на гемопоез [24; 135]. Ми не виявили 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 методом комплексного дослідження морфологічних особливостей КМ, у зв'язку з неможливістю одержання достатньої інформації під час цитологічного вивчення кровотворної тканини [26]. Завдяки виконанню трепанобіопсії клубової кістки та виготовленню гістологічних препаратів стало можна 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].

Окремою складовою проведених експериментів став пошук коректора. Ураховуючи 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 повинно протидіяти токсичному впливу ксенобіотиків. Кількість протектора визначали, урахувавши терапевтичну дозу для людини та видову приналежність тварин, у зв'язку з доведеною антагоністичною дією вітаміну Е в разі його надлишкового надходження до організму [33; 34].

Для визначення впливу СВМ на кровотворення нами проведено дослідження на 84 білих щурах-самцях статевозрілого віку (4 місяці), урахувавши відсутність варіабельності в будові гемопоетичної тканини в даного виду тварин у цей період життя [4]. Дизайн експерименту побудували, урахувавши 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 під час вилучення з раціону СВМ (серія 2), додавання 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 з літературними даними, є найкращими органами для комплексного аналізу гемопоезу [1; 4; 51]. Функціональну спроможність КМ оцінювали за показниками периферичної крові – дослідження кількості Нб, еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів. Атомна спектрофотометрія виконана для 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 груп). Ми не виявили статистично достовірної різниці в коливанні кількісного складу КМ та крові впродовж усього терміну спостереження, що ще раз підтвердило необхідність вивчення КМ у статевозрілих щурів, починаючи з 4-го 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. Залежно 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, у яких дифузно розсіяні макрофаги й мастоцити, сіткою ретикулярних волокон. Значна васкуляризація кровотворної тканини та наявність фенестрування в будові капілярів є передумовою до легкого потрапляння токсичних речовин до гемопоетичної тканини в разі зростання їх кількості в крові. Гістологічне дослідження (забарвлення гематоксиліном та еозином) із залученням додаткових гістохімічних методик забарвлення (за Ван-Гізеном 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 із тенденцією до згруповування в

епіфізах та розміщення одним безперервним шаром на поверхні трабекул.

Гемопетична 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 в 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 розміщені в ендостальних ділянках епіфізів та навколо синусоїдів діафіза. У клітин, що перебувають на нижчій сходинці диференціювання (мієлобласти, промієлоцити), спостерігається більш інтенсивна реакція під час ПХ виявлення рецепторів МПО (незважаючи на зростання її кількості в 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. Зі зростанням диференціювання клітин, як для еритроцитопоезу, так і для гранулоцитопоезу характерні поступове зменшення їх розмірів, конденсація хроматину в 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. У разі переважання гранулоцитопоезу воно зростало, у разі збільшення площі еритроцитопоезу – знижувалося.

Попередники лімфоцитів (CD3 та CD79α) характеризувалися розсіяним типом розміщення з поодинокими випадками згруповування й порівняно сталою їх кількістю (не перевищували 5,0%). Мегакаріоцити (вони займають приблизно 1–3%) виявляються поодинокі, групами та кластерами чітко біля синусоїдів із явищами клазматозу в просвіт кровососних судин. Наявна зернистість усередині цих клітин, що містить глікоген, дозволяє дуже легко візуалізувати їх під час забарвлення гістологічних препаратів на вуглеводи (ШИК-реакція) – вони мають яскраву рожеву цитоплазму, що виокремлює ці клітини поміж інших гемопоетичних клітин (останні мають здебільшого прозору цитоплазму).

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

Під час порівняння кількісних і якісних показників 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 в 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, трапляються у вигляді поодиноких клітин. Серед

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

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

Для 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 Hb 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 мм/год до 3 мм/год. 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, Pl та Cr у КМ, який був одержаний зі стегнового сегмента (в його середній частині) за допомогою виштовхування вмісту кістково-мозкової

порожнини за допомогою бужувальних 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) за умови порівняно низьких показників умісту 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 в середньому становила 596,1 мкг/г.

Статистично достовірних відмінностей між показниками загального та біохімічного аналізів крові та вмістом ВМ в усіх тварин контрольних серій згідно з критерієм 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 поллютантів виникають значні зміни в усьому організмі, зокрема й гемопоетичній тканині. Вони, потрапляючи до організму, надходять до всіх органів та акумулюються в 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. 48 А). Спостерігалось стрімке накопичення Fe, Cu, Zn, Cr, Mn та Pb із пролонгацією дослідження.

Нами виявлено різну інтенсивність акумулювання вищезазначених ВМ – найбільше зростала кількість заліза, хрому та свинцю, за умови 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]. У разі 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 %. За-гальна кількість ВМ зросла на 137,5 % щодо контролю.

Накопичення ВМ у гемопоетичній тканині відобразилося на кровотворенні (рис. 48 Б, В, Г). У КМ спостерігався стрімкий розвиток мікроелементозу (зміна якісних та кількісних показників усіх паростків гемопоезу й навколишніх тканин).

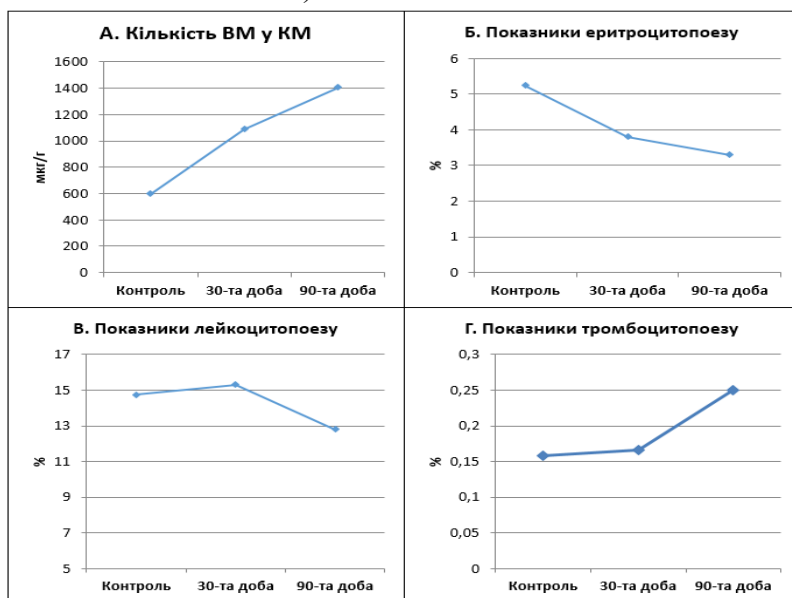


Рисунок 48 – Зміни накопичення ВМ (А) у КМ щурів 2-ї серії 1-ї групи та особливості коливання різних паростків гемопоезу (Б, В, Г)

Ми виявили, що в разі пролонгації впливу екзогенних поллютантів відбувалося пригнічення еритроцито- та лейкоцитопоезу, синхронне зростання кількості мегакаріоцитів. Такі зміни мали тенденцію до наростання за пролонгації експерименту й 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 із проявів згубної дії ВМ (рис. 48 В).

Як виявилось, найбільш чутливою складовою КМ є еритропоетична тканина (рис. 48 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.

Разом із кількісними змінами у КМ щурів виникали та в міру пролонгації експерименту наростали ще і 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 й було виявлено під час оцінювання ЗАК (рис. 49 А).

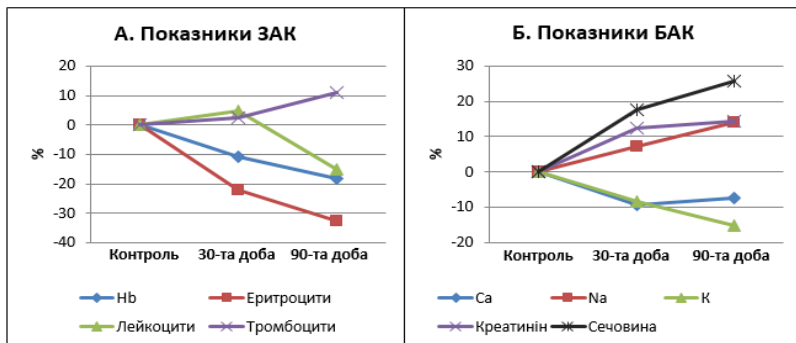


Рисунок 49 – Показники ЗАК (А) та БАК (Б) у щурів 2-ї серії 1-ї групи

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

Як видно з результатів дослідження, у процесі надходження СВМ до організму відбуваються значні зміни і в БАК (рис. 49 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) в щурів поступово зменшувалися зміни в досліджуваних показниках гемопоетичної тканини (рис. 50).

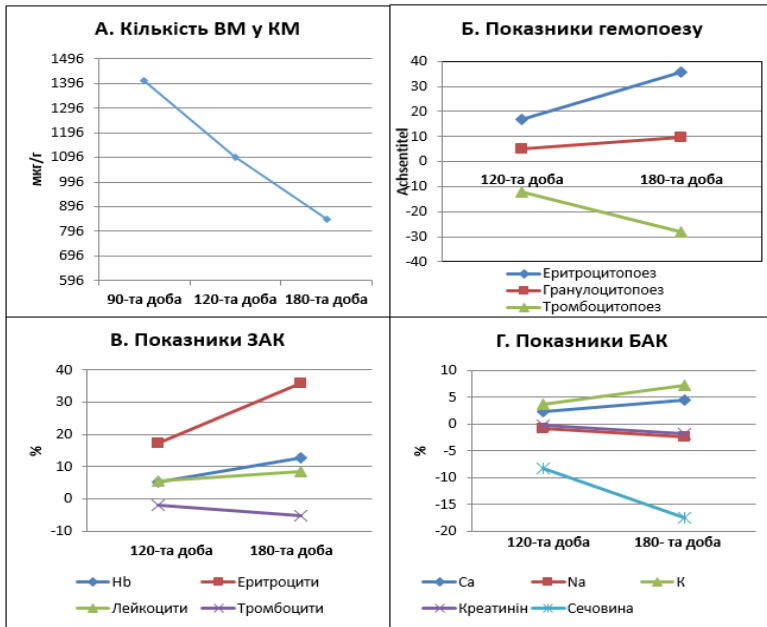


Рисунок 50 – Показники КМ (А, Б) та крові (В, Г) у тварин щурів 2-ї серії 2-ї групи: А – показники вмісту ВМ у КМ; Б – динаміка коливання (%) площі різних паростків кровотворення; В, Г – динаміка коливання (%) показників крові

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 й стромі, 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 поллютантів та пригніченням функції КМ (зниження ФЕК). Хоча й спостерігалось значне покращання всіх показників, їх значення навіть на 90-ту добу відновлення значно відрізнялися від результатів інтактної групи тварин.

Зазначені зміни пов'язані з прямою та опосередкованою гематотоксичною дією ВМ (рис. 51). 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.

Значну роль у пригніченні гемопоезу відіграє й естрогеноподібна активність ВМ [131; 203], що знаходить своє відображення в нормальному аналізі крові (показники еритроцитів та Нв чоловіків вищі, а тромбоцитів нижчі порівняно з жінками). Тому в разі зростання кількості ВМ у крові посилюється їх естрогеноподібна дія на КМ, ураховуючи наявність рецепторів до естрогену в 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, в результаті цього зростає швидкість дозрівання

попередників тромбоцитів та знижується їх руйнування [13].



Рисунок 51 – Схема негативного впливу ВМ на гемопоез

Непрямий ефект ВМ на гемопоез проявляється в ураженні інших органів і підвищенні рівня інших мікроелементів та продуктів обміну в крові. Це пов'язано з їх нефротоксичною дією (підвищенням сечовини, креатиніну, дисмікроелементозом), впливом на кісткову тканину та прищитоподібну залозу (початкове зменшення Са внаслідок пригнічення синтезу паратгормону та його подальший ріст під час вимивання Са зі структури гідроксиапатиту кісток) [205; 206]. Саме завдяки підвищенню продуктів обміну азотистих основ та

дисмікроелементозу реалізується ця опосередкована дія ВМ на гемопоєз у КМ (рис. 51).

Проведене дослідження демонструє більш виражені зміни в системі гемопоєз – 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 із терапевтичною дозою коректора (9,1 мг/кг), спостерігалось менш стрімке накопичення ВМ у гемопоетичній тканині (рис. 52).

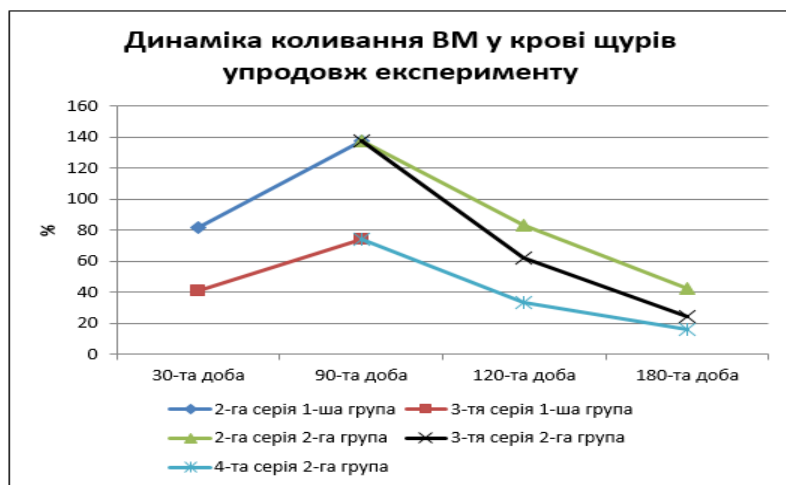


Рисунок 52 – Показники переважання (%) кількості ВМ у КМ усіх серій тварин порівняно з показниками інтактної групи щурів; 0 – контрольні показники

Через 90 діб загальна їх кількість перевищувала показники контролю на 74,3 %, водночас 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 в разі з уживанням СВМ, у тварин 3-ї серії 1-ї групи виявлена тенденція до більш стрімкого накопичення ВМ упродовж перших 30 діб зі 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 зі щурами 2-ї серії 2-ї групи (рис. 52). На 90-ту 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 в 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 здебільшого 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 три 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 із гемопоетичної тканини. Незважаючи на використання додаткових засобів, рівні металів не досягають показників контролю, навіть на 90-ту добу після припинення споживання СВМ, хоча в разі постійного одержання вітаміну Е впродовж 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, порівняно зі щурами, що виключно вживали СВМ (рис. 53).

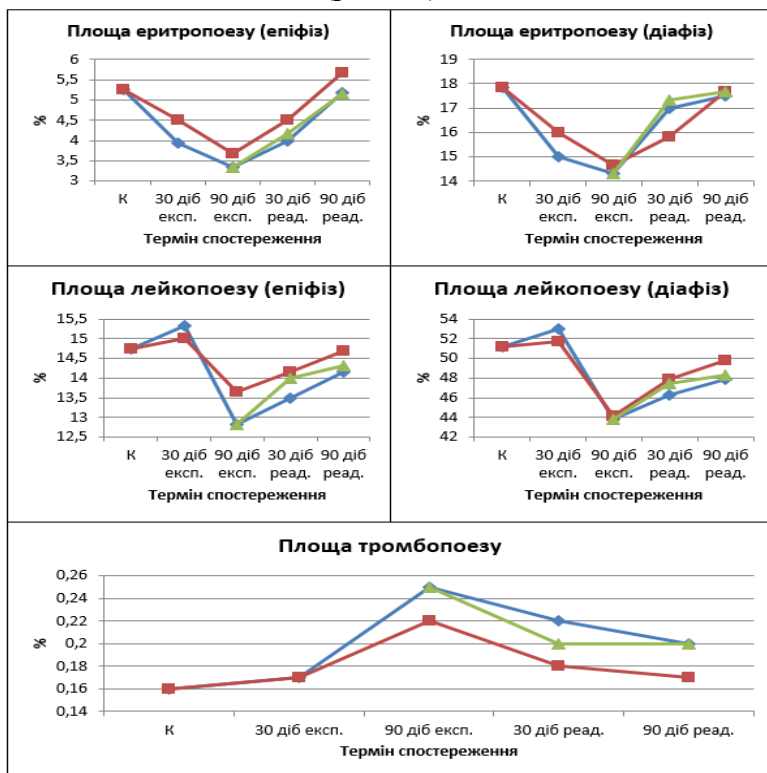


Рисунок 53. Показники площі КМ, зайняті під різні напрямки гемопоезу в щурів: К – показники щурів контрольної серії, —◆— щури, які отримували СВМ, —■— щури, які отримували СВМ із вітаміном Е; —▲— щури, які в період відновлення після СВМ почали отримувати вітамін Е

На 90-ту добу експерименту відбувалося зниження еритроцитопоезу на 30,0 % на рівні епіфізів та на 17,8 % на рівні діафіза, гранулоцитопоез був пригнічений на 6,1 % та 13,7 % відповідно, кількість мегакаріоцитів зросла на 25 %. Серед якісних змін незначною мірою спостерігали ектазію синусоїдів, крововиливи, явища еозинофілії, зменшення розмірів еритроїдних ostrivciv, порушення тинкторіальних (сприйняття гематоксиліну, еозину, інтенсивність забарвлення мієлопероксидазою) властивостей різних предикторів, порушення закономірностей розміщення попередників гранулоцитів (їх ендостального розміщення) та еритроцитів (їх ostrivkovist, ta kompaktnist), незначну макрофагальну інфільтрацію.

Упродовж відновного періоду використання вітаміну Е призводило до більш стрімкого та майже повного відновлення всіх паростків кровотворення (рис. 53). 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 діафіза, 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 в кровотворній тканині, що майже повністю були відсутніми на 90-ту добу відновлення. Лише в окремих ділянках зберігалися явища ліпоматозу та переповнені кров'ю синусоїди. Наявність мегакаріоцитів із явищами емперіполезу свідчило про підвищення темпів регенераторного процесу, що неодноразово було помічено під час додавання факторів

росту до гемопоетичної тканини [89; 90]. В окремих випадках ми виявили навіть незначне переважання окремих паростків кровотворення у відновний період (незначне переважання площі еритроцитопоезу над показниками контрольної серії тварин), що свідчило про намагання якнайшвидше компенсувати нестачу клітинного складу крові, що виникла в разі гематотоксичного впливу ВМ на КМ.

Використання коректора та зміна якісного й кількісного складу КМ прямо пропорційно відбилися на показниках периферичної крові (рис. 54).

Упродовж експерименту коливання Нв, еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів під час споживання вітаміну Е були менш помітними (щури 2-ї серії 2-ї групи), що призвело до зниження Нв 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, що 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, На, К, сечовини та креатиніну, що 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 згубного впливу на систему гемопоезу – кров. Зазначені ефекти реалізуються через можливу підтримку цілісності клітинних мембран [30;31], перешкоджання взаємодії з вільними радикалами й пероксидами жирних кислот [29],

що утворюються за надлишкових концентрацій ВМ у складі клітин [13; 15; 128].

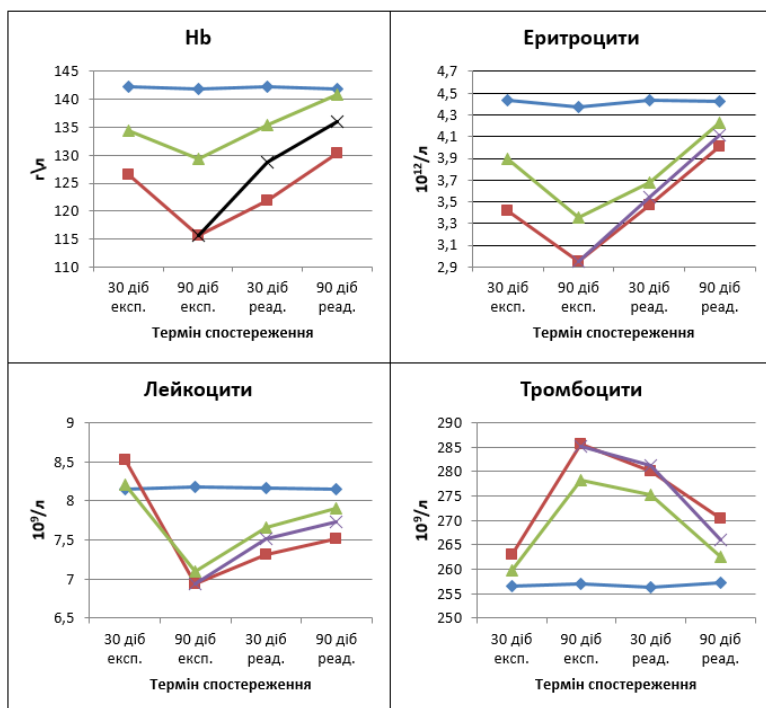


Рисунок 54 – Показники ЗАК у щурів упродовж усього періоду спостереження: ◆ – контрольна група; ■ – щури, які отримували СВМ; ▲ – щури, які отримували СВМ із вітаміном Е; ✕ – щури, які в період відновлення після СВМ почали отримувати вітамін Е

Проявляючи свої виражені антигіпоксичні властивості за рахунок стабілізування мітохондріальних мембран та участі в синтезі убіхінону, він потенціує 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. Унаслідок своєї ангіопротекторної функції вітамін Е підтримує цілісність судинних стінок та їх проникність [155], що намагаються порушити підвищені концентрації ВМ у крові (рис. 55).

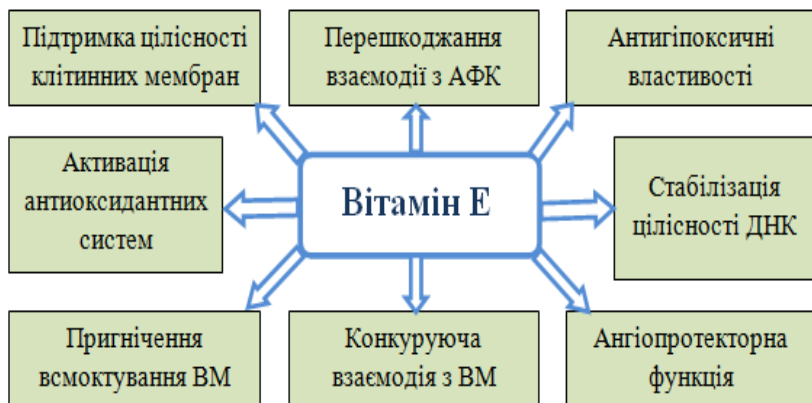


Рисунок 55 – Ефекти вітаміну Е, спрямовані на попередження негативного впливу надлишкового надходження ВМ до КМ

Використання вітаміну Е як коректора призводить до прямого конкуруючого ефекту з деякими ВМ – його окиснювальне руйнування під впливом міді та заліза [28], зміни їх валентності, попереджаючи утворення АФК у разі їх надлишку [157; 158], пригніченні всмоктування ВМ у шлунково-кишковому тракті [149; 150]. Унаслідок прямого контакту з еритроцитами, що допомагають транспортувати його організмом [147], реалізується прями 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 мікроелемента на якусь одну складову гемопоезу (на КМ або на кров). Ми провели комплексне оцінювання негативного комбінованого впливу різних ВМ на гемопоез з одночасним дослідженням порушень його функціональної активності, що проявляється в коливаннях кількості різних ФЕК.

Статистичний аналіз одержаних показників демонструє значне пригнічення гемопоезу та зниження кількості ФЕК у периферичній крові під час накопичення ВМ у КМ. Водночас ми виявили, що найбільше впливають на варіабельність зазначених показників хром та свинець, що 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 й рівнем Нb та еритроцитів у крові, гранулоцитопоезом і 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 умісту в КМ, що проявляється різностороннім ураженням гемопоетичної тканини. Наслідки гематотоксичного ефекту полютантів прямо відображені в периферичній крові у вигляді варіабельності кількості Нb, еритроцитів, лейкоцитів та

тромбоцитів. За умов відмінення вживання ксенобіотиків відбувається оптимізація всіх 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 у разі їх одночасного споживання, більш повного та швидкого покращання у відновному періоді. Відхилення, що виникають упродовж експерименту, 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 із метою попередження накопичення ВМ у КМ з усіма подальшими негативними наслідками для гемопоезу та коливаннями кількості ФЕК.

Висновки та практичні рекомендації

У репрезентованій монографії ми намагалися висвітлити основні оглядові та власні результати досліджень, що стосуються морфофункціональних особливостей кісткового мозку стегнових кісток статевозрілих щурів за умов підвищеного надходження до організму солей важких металів та корекції виявлених змін вітаміном Е, а також з'ясування патогенетичних особливостей їх гематотоксичного впливу як у період споживання екзогенних поллютантів, так і впродовж відновлення, що дозволило зробити висновки, описані нижче.

1. Кістковий мозок статевозрілих щурів побудований зі строми, що складається з кісткової, жирової, фіброзної тканин, кровоносних судин, мастоцитів, тощо, та паренхіми, що представлена різними попередниками еритроцито-, лейкоцито- та тромбоцитопоезу. Усі складові гемопоетичної тканини мають чіткі особливості розміщення в 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 в 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. Впродовж 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 й досягали максимальних рівнів відхилення на 90-ту добу спостереження – площа еритроцитопоезу знижувалася на 36,6 % на рівні епіфізів та на 19,7 % на рівні діафіза, 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 периферичній 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 ($p < 0,001$) в системі «гемопоез – кров» свідчить про синхронність порушень. Під час уживання політантів відбувалося зростання кількості Na, креатиніну та сечовини з одночасним зменшенням Ca та K ($p < 0,05$).

5. За умов відновлення відбувалося поступове зменшення виразності всіх вищезазначених змін, що 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 діафіза) та лейкоцитопоезу (на 9,7 % на рівні епіфізів та

8,4 % на рівні діафіза), зменшення кількості мегакаріоцитів (на 25 %), зникали дистрофічні та диспластичні зміни в складі паренхіми та стромы, поступово відновлювалися показники крові.

6. Використання вітаміну Е як коректора приводило 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 й прискоренням їх відновлення і, як наслідок, меншою варіабельністю показників периферичної крові.

Аналіз одержаних результатів є основою для практичних рекомендацій щодо застосування даних у теоретичному та практичному секторах медицини:

1) з огляду на подібні структурні особливості кісткового мозку статевозрілих щурів та людини (за умов 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 виражені гематопротективні властивості вітаміну Е за умов мікроелементозу, пропонується його застосування в разі потрапляння організму в умови підвищеного забруднення довкілля солями важких металів та впродовж відновного періоду.

Список літератури

1. Travlos G. S. Normal structure, function and histology of the bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006; 34(5). P. 548–265.
2. Tavian M., Péault B. Embryonic development of the human hematopoietic system. *Int J Dev Biol.* 2005; 49(2–3). P. 243–250.
3. Travlos G. S. Histopathology of bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006; 34(5). P. 566–598.
4. Cline J. M, Maronpot R. R. Variations in the histologic distribution of rat bone marrow cells with respect to age and anatomic site. *Toxicol Pathol.* 1985; 13(4). P. 349–355.
5. Rabea A. A. Histological, Histochemical and Immunohistochemical Evaluation of the Role of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells on the Structure of Periodontal Tissues in Carbimazole-Treated Albino Rats. *Arch Oral Biol.* 2020;119. P. 104887.
6. Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2009 році. Суми : ПКП «Еллада S», 2010. 84 с.
7. Погорелов М. В., Бумейстер В. І., Ткач Г. Ф., Бончев С. Д., Сікора В. З., Суходуб Л. Ф., Данильченко С. М. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення). Суми : Вид-во СумДУ, 2010. 147 с.
8. Crielaard B. J., Lammers T., Rivella S. Targeting iron metabolism in drug discovery and delivery. *Nat Rev Drug Discov.* 2017;16(6). P. 400–423.
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 с.

10. Sutherland D. E., Stillman M. J. The «magic numbers» of metallothionein. *Metallomics*. 2011. May 1; 3(5). P. 444–463.
11. Błażewicz A., Wiśniewska P., Skórzyńska-Dziduszko K. Selected Essential and Toxic Chemical Elements in Hypothyroidism-A Literature Review (2001-2021). *Int J Mol Sci*. 2021;22(18). P. 10147.
12. Тронько М., Щербак О. Мікроелементи в ендокринології. *Аспекти фармакології*. 2002; 10. С. 24–27.
13. Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B. B., Beeregowda K. N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol*. 2014; 7(2). P. 60 – 72.
14. Flora S. J. S., Mittal M., Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res*. 2008; 128. P. 501–523.
15. Трахтенберг И. М. Очерки возрастной токсикологии. *Киев*, 2006. 350 с.
16. Taylor M. P., Winder C., Lanphear B. P. Eliminating childhood lead toxicity in Australia: a call to lower the intervention level. *MJA*. 2012; 197(9). 493 с.
17. Yu Z., Cowan J. A. Metal complexes promoting catalytic cleavage of nucleic acids-biochemical tools and therapeutics. *Curr Opin Chem Biol*. 2018; 43. P. 37–42.
18. Schlatter C., Kissling U. Acute fatal bichromate poisoning. *Beitrag zur Gerichtlichen Medizin*. 1973; 30. P. 382–388.
19. Москаленко Р. А. Морфогенез щитоподібної залози в умовах модельованого мікроелементозу та корекції його впливу глутаргіном. *Вісник Сумського державного університету. Серія. Медицина*. 2010; 1. С. 27–36.
20. Романюк А. М., Гринцова Н. Б. Органометричні показники та макроскопічний стан головного мозку щурів

за умов довготривалого впливу на організм сульфатів міді, цинку та заліза. *Світ біології та медицини*. 2014; 10. С. 42–47.

21. Sikora V., Vojko 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. С. 85–92.

22. Романюк А. М., Сауляк С. В., Москаленко Ю. В., Романюк О. К., Шкрюба А. О. Морфологічні зміни у статевих органах (сім'яники, передміхурова залоза) в умовах впливу на організм солей важких металів. *Таврический медико-биологический вестник*. 2013; 16(61). С. 210–211.

23. Saljooghi A. S., Delavar-Mendi F. The effect of mercury in iron metabolism in rats. *J Clinic Toxicol*. 2012; 3(1). P. 1–5.

24. Hounkpatin A. Y., Edorh P. A., Guédénon P., Alimba C. G., Ogunkanmi A., Dougnon T. V., Boni G., Aissi K. A., Montcho S., Loko F., Ouazzani N., Mandi L., Boko M., Creppy E. E. Haematological evaluation of Wistar rats exposed to chronic doses of cadmium, mercury and combined cadmium and mercury. *African Journal of Biotechnology*. 2013; 12(23). P. 3731–3737.

25. Сікора В. З., Приходько О. О. Структурно-функціональна характеристика крові щурів старечого віку в умовах дії солей важких металів. *Український морфологічний альманах*. 2010; 8(2). С. 191–193.

26. Riley R. S., Hogan T. F., Pavot D. R., Forysthe R., Massey D., Smith E., Wright L. Jr., Ben-Ezra J. M. A pathologist's perspective on bone marrow aspiration and biopsy: I. Performing a bone marrow examination. *J Clin Lab Anal*. 2004;18(2). P. 70–90.

27. Frenkel' M. A., Chigrinova E. V., Kupryshina N. A., Pavlovskaja A. I. Diagnostic value of study of bone marrow trepanobiopsy imprints in patients with non-Hodgkin's lymphomas. *Klin Lab Diagn.* 2007. Nov; (11). P.44–47.

28. Brigelius-Flohé R.1., Traber M. G. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.* 1999. Jul; 13(10). P. 1145–1155.

29. Traber M. G. Vitamin E. In: Bowman, B. A. and Russell, R. M., (Editors) «Present Knowledge in Nutrition», ninth edition, ILSI, Washington D. C. Pp. 2006. P. 211–219.

30. Chow C. K. Vitamin E. In: Rucker R. B., Suttie J. W., Mc Cormick D. B., Machlin L. J., Eds. Handbook of Vitamins, 3rd ed. New York. Marcel Dekker 2001; P.165–197.

31. Wang X, Quinn P. J. The location and function of vitamin E in membranes (Review). *Mol Membr Biol.* 2000; 17. P. 143–156.

32. Christen S., Woodall A. A., Shigenaga M. K., Southwell-Keely P. T., Duncan M. W., Ames B. N. α -Tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO_x and complements α -tocopherol: physiological implications. *Proc Natl Aca. Sci. USA* 1997; 94. P. 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. P. 3400–3404.

34. Weinberg R. B., VanderWerken B. S., Anderson R. A., Stegner J. E., Thomas M. J. Pro-oxidant effect of vitamin E in cigarette smokers consuming a high polyunsaturated fat diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21. P. 1029–1033.

35. Луцик О. Д., Іванова А. Й., Кабак К. С., Чайковський Ю. Б. Гістологія людини. Київ : «Книга плюс», 2003. 592 с.

36. Sugiyama D., Inoue-Yokoo T., Fraser S. T., Kulkeaw K., Mizuochi C., Horio Y. Embryonic Regulation of the Mouse Hematopoietic Niche. *The Scientific World Journal*. 2011; 11. P. 1770–1780.

37. Tavian M., Hallais M. F., Peault B. Emergence of intraembryonic hematopoietic precursors in the pre-liver human embryo. *Development*. 1999; 126. P. 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. P. 4474–4485.

39. Fukuda T. Fetal hemopoiesis. I. Electron microscopic studies on human yolk sac hemopoiesis. *Virchows Arch B Cell Pathol*. 1973; 14. P. 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). P. 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). P. 3941–3952.

42. Mikkola H. K. A., Gekas C., Orkin S. H., Dieterlen-Lievre F. Placenta as a site for hematopoietic stem cell development. *Experimental Hematology*. 2005; 33(9). P. 1048–1054.

43. Ema H., Nakauchi H. Expansion of hematopoietic stem cells in the developing liver of a mouse embryo. *Blood*. 2000; 95(7). P. 2284–2288.

44. Bertrand J. Y., Desanti G. E., Lo-Man R., Leclerc C., Cumano A., Golub R. Fetal spleen stroma drives macrophage commitment. *Development*. 2006; 133(18). P. 3619–3628.

45. Hirschi K. K. Hemogenic endothelium during development and beyond. *Blood*. 2012; 119. P. 4823–4827.

46. Winkler I. G., Barbier V., Nowlan B., Jacobsen R. N., Forristal C. E., Patton J. T., Magnani J. L., Lervesque J. P. Vascular niche E-selectin regulates hematopoietic stem cell dormancy, self renewal and chemoresistance. *Nat Med*. 2012; 18. P. 1651–1657.

47. Nombela-Arrieta C., Pivarnik G., Winkel B., Canty K. J., Harley B., Mahoney J. E., Park S. Y., Lu J., Protopopov A., Silberstein L. E. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment. *Nat Cell Biol*. 2013; 15. P. 533–543.

48. Coşkun S., Chao H., Vasavada H., Heydari K., Gonzales N., Zhou X., de Crombrughe B., Hirschi K. K. Development of the fetal bone marrow niche and regulation of HSC quiescence and homing ability by emerging osteolineage cells. *Cell Rep*. 2014; 9(2). P. 581–590.

49. Ding L., Saunders T. L., Enikolopov G., Morrison S. J. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature*. 2012; 481. P. 457–462.

50. Christensen J. L., Wright D. E., Wagers A. J., Weissman I. L. Circulation and chemotaxis of fetal hematopoietic stem cells. *PLoS Biol*. 2004; 2(3). E75.

51. Білаш С. М., Бору́та Н. В., Шепітько В. І., Єрошенко Г. А. Морфологія червоного кісткового мозку та ерит-роїдного паростка щурів у нормі. *Світ медицини та біології*. 2015; 3(52). С. 78–82.

52. Ulich T. R., del Castillo J. The hematopoietic and mature blood cells of the rat: their morphology and the kinetics of circulating leukocytes in control rats. *Exp Hematol*. 1991 Aug;19(7). P. 639–648.

53. Abboud C. N., Lichtman M. A. 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.) McGraw-Hill, New York. 2001. P. 29–58.

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). P.77–80.

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

56. Mazzarini M., Falchi M., Bani D., Migliaccio A. R. Evolution and new frontiers of histology in bio-medical research. *Microsc Res Tech*. 2021 Feb;84(2). P. 217-237.

57. Shiozawa Y., Havens A. M., Pienta K. J., Taichman R. S. The bone marrow niche: habitat to hematopoietic and mesenchymal stem cells, and unwitting host to molecular parasites. *Leukemia*. 2008 May; 22(5). P. 941–950.

58. Lawrence S. Anatomy, Histology, and Cytology. In P. Bowler & J. Pickstone (Eds.), *The Cambridge History of Science*. Cambridge: Cambridge University Press. (The Cambridge History of Science). P. 265–284.

59. Muntadhur M. C. A., Noumaan S. M. A. Identification of granulopoiesis lineage in bone marrow of adult male albino rat «Rattus norvegicus». *Kerbala Journal of Pharmaceutical Sciens*. 2014; 7. C. 1–11.

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

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

62. Le Douarin N. M., Dieterlin-Lievre F., Oliver P. D. Ontogeny of primary lymphoid organs and lymphoid stem cells. *Am J Anat.* 1984; 170. P. 261–299.

63. Nemeth M. J., Bodine D. M. Regulation of hematopoiesis and the hematopoietic stem cell niche by Wnt signaling pathways. *Cell Res.* 2007. Sep; 17(9). P.746–758.

64. Fiedler K., Brunner C. Mechanisms controlling hematopoiesis. *Hematology science and practice.* 2012. P.43–46.

65. Vandekerckhove J., Courtois G., Coulon S., Ribeil J-A., Hermine O. Regulation of erythropoiesis. *Iron.* 2009; 2. P. 44–87.

66. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity.* 2010; 33(5). P. 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). P. 1137–1144.

68. Bresnick E. H., Lee H. Y., Fujiwar T., Johnson K. D., Keles S. GATA switches as developmental drivers. *J Biol Chem.* 2010; 285(41). P. 31087–31093.

69. Elmore S. A. Enhanced histopathology of the bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006; 34(5). P. 666–686.

70. Cora M. C., Travlos G. Bone Marrow – Hypercellularity. Erythroid, Granulocytic, Megakaryocytic. *Nonneoplastic lesion atlas.* P. 1– 4.

71. Regan W. J., Irizarry-Rovira A., Poitout-Belissent F., Bollinger A. P., Ramaiah S. K., Travlos G., Walker D., Bounous D., Walter G. Best practices for evaluation of bone marrow in nonclinical toxicity studies. *Toxicol Pathol.* 2011; 39. P. 435–448.

72. Provencher-Bolliger A., Everds N. E., Zimmerman K. L., Moore D. M., Smith S. A., Barnhart K. F.

2010. Hematology of laboratory animals. In: Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed (Weiss DJ, Wardrop KJ, eds). Wiley-Blackwell, Ames, IA. P. 852–887.

73. Valli V. E., McGrath J. P., Chu I. Hematopoietic system, In Handbook of Toxicologic Pathology, 2nd edition (W. M. Haschek, C. G. Rousseaux, and M. A. Wallig, eds.) 2002. P.647–679. Academic Press, San Diego, CA.

74. Lee S. H., Erber W. N., Porwit A., Tomonaga M., Peterson L. C. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol.* 2008 Oct; 30(5). P. 349–364.

75. Adamyan T. I., Karapetyan H. M., Gevorgyan E. S., Hayrapetyan T. A. Immobilization stress influence on leukopoiesis index and on activity changes of proline biosynthesis enzymes. *Chemistry and Biology.* 2015; 1. P. 39–44.

76. Ulich T. R., 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. *Blood.* 1996; 87. P. 5006–5015.

77. Weiss D. J. Drug-induced blood cell disorders. In: Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed (Weiss DJ, Wardrop KJ, eds). Wiley-Blackwell, Ames, IA, 2010. P. 98–105.

78. Gossett K. A. Anemia associated with drugs and chemicals. In Schalm's Veterinary Hematology, 5th edition (B. F. Feldman, J. G. Zinkl, and N. C. Jain, eds.), 2000. P. 185–189, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, P A.

79. Sokolic R., Maric I., Kesserwan C., Garabedian E., Hanson I. C., Dodds M., Buckley R., Issekutz A. C., Kamani N., Shaw K., Tan B., Bali P., Hershfield M. S., Kohn D. B., Wayne A. S., Candotti F. Myeloid dysplasia and bone marrow hypocellularity in adenosine deaminase-deficient

severe combined immune deficiency. *Blood*. 2011. Sep 8; 118(10). P. 2688–2694.

80. Островська С. С., Гарець В. Г. Кровотворення у щурів різного віку при впливі свинцю. *Таврійський медико-біологічний вісник*. 2014; 2(66). С. 103–106.

81. Weinzierl E. P., Arber D. A. The differential diagnosis and bone marrow evaluation of new-onset pancytopenia. *Am J Clin Pathol*. 2013 Jan; 139(1). P. 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. P. 205–209. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.

83. Lund J. E. 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. P. 44–50, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.

84. George J. N., Aster R. H. Drug-induced thrombocytopenia: pathogenesis, evaluation, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009. P. 153–158.

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). P. 723–730.

86. Dawson M. A., Davis A., Elliott P., Cole-Sinclair M. Linezolid-induced dyserythropoiesis: chloramphenicol toxicity revisited. *Intern Med J*. 2005; 35(10). P. 626–628.

87. Wickramasinghe S. N., Wood W. G. Advances in the understanding of the congenital dyserythropoietic anaemias. *Br J Haematol*. 2005; 131(4). P. 431–446.

88. Matsuda A., Germing U., Jinnai I., Iwanaga M., Misumi M., Kuendgen A. 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). P. 678–686.

89. Sable M. N., Sehgal K., Gadage V. S. Megakaryocytic emperipolesis: A histological finding in myelodysplastic syndrome. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2009; 52(4). P. 599–600.

90. Rastogi V., Sharma R., Misra S. R., Yadav L., Sharma V. Emperipolesis – a review. *J Clin Diagn Res*. 2014. Dec; 8(12). ZM01-2.

91. Huff J. D., Keung Y. K., Thakuri M., Beaty M. W., Hurd D. D., Owen J. Copper deficiency causes reversible myelodysplasia. *Am J Hematol*. 2007; 82(7). P. 625–630.

92. Carpenter S. L., Zimmerman S. A., Ware R. E. Acute parvovirus B19 infection mimicking congenital dyserythropoietic anemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004; 26(2). P. 133–135.

93. Du Y., Fryzek J., Sekeres M. A., Taioli E. Smoking and alcohol intake as risk factors for myelodysplastic syndromes (MDS). *Leuk Res*. 2010; 34(1). P. 1–5.

94. Ma X., Lim U., Park Y., Mayne S. T., Wang R., Hartge P. Obesity, lifestyle factors, and risk of myelodysplastic syndromes in a large US cohort. *Am J Epidemiol*. 2009; 169(12). P. 1492–1499.

95. Valent P., Horny H. P. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS and IDUS: update and open questions. *Eur J Clin Invest*. 2009; 39(7). P. 548–553.

96. Bain B. J., Clark D. M., Wilkins B. Bone marrow pathology. 4th ed. Chichester, UK; Hoboken, N. J: Wiley-Blackwell; 2010.

97. Fohlmeister I., Schaefer H. E., 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). P. 249–261.

98. MacKenzie W. F. Interpretation of paraffin sections of bone marrow, Society of Toxicologic Pathologists Great Lakes Region Discussion Group: Bone Marrow Toxicity. *Toxicol Pathol*. 1990; 18. P. 707.

99. MacKenzie W. F., Eustis S. L. 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. P. 395–403. Academic Press, Inc., San Diego, CA.

100. Frith C. H., Ward J. M., Chandra M., Losco P. E. Non-proliferative lesions of the hematopoietic system in rats, HL-1. In *Guides for Toxicologic Pathology*, 2000. P. 1–22, STP/ARP/AFIP, Washington, DC.

101. Gervais F., Attia M. A. Fibro-osseous proliferation in the sternums and femurs of female B6C3F1, C57black and CD-1 mice: A comparative study. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 2005; 112. P. 323–326.

102. McAnulty P. A., Skydsgaard M. Diethylstilbestrol (DES): Carcinogenic potential in Xpa^{-/-}, Xpa^{-/-}/p53^{+/-}, and wild-type mice during 9 months' dietary exposure. *Toxicol Pathol*. 2005; 33. P. 609–620.

103. Weiss D. J. Chronic inflammation and secondary myelofibrosis. In: Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed (Weiss D. J., Wardrop K.J., eds). Wiley-Blackwell, Ames I. A. 2010. P. 112–117.

104. Rosenthal N. S. Bone marrow findings in inflammatory, infectious and metabolic disorders. In: Hematopathology (Jaffe E. S., Harris N. L., Vardiman J. W., Campo E., Arber D. A. eds). Elsevier Saunders, St Louis 2011. P. 194–207.

105. Horny H-P., Sotlar K., Valent P. Mastocytosis. In: Hematopathology (Jaffe E. S., Harris N. L., Vardiman J. W.,

Campo E., Arber D. A. eds). Elsevier Saunders, St Louis, 2011. P. 757–776.

106. Ezov N., Levin-Harrus T., Mittelman M., Redlich M., Shabat S., Ward S. M., Peddada S., Nyska M., Yedgar S., Nyska A. A chemically induced rat model of hemolysis with disseminated thrombosis. *Cardiovasc Toxicol.* 2002; 2. P.181–194.

107. Weiss D. J. Myelonecrosis and acute inflammation. In: Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed (Weiss D. J., Wardrop K. J. eds). Wiley-Blackwell, Ames I. A., 2010. P. 106–111.

108. Rosenthal N. S. Bone marrow findings in inflammatory, infectious and metabolic disorders. In: Hematopathology (Jaffe E. S., Harris N. L., Vardiman J. W., Campo E., Arber D. A. eds). Elsevier Saunders, St Louis. 2011. P. 194–207.

109. NTP. (2005 a). Rat historic control data base. <http://ntp.niehs.nih.gov/ntpweb/index.cfm?objectid=92E705C7-F1F6-975E-2D23026B1645EB9>.

110. NTP. (2005 b). Mouse historic control data base. <http://ntp.niehs.nih.gov/ntpweb/ind>.

111. Harvey J. W. Iron metabolism and its disorders. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals (Kaneko J. J., Harvey J. W., Bruss M. L. eds). Elsevier, Burlington M. A. 2008. P. 259–285.

112. Nemeth E., Tuttle M. S., Powelson J., Vaughn M.B., Donovan A., Ward D. M., Ganzand T., Kaplan J. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004; 306. P. 2090–2093.

113. Khlifi R., Hamza-Chaoui A. Head and neck cancer due to heavy metal exposure via tobacco smoking and professional exposure: A review. *Toxicol Appl Pharmacol.* (2010); 248. P. 71–88.

114. Järup L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull.* 2003; 68. P.167–182.

115. Vithanage M., Kumarathilaka P., Oze C., Karunatilake S., Seneviratne M., Hseu Z. Y., Gunarathne V., Dassanayake M., Ok Y. S., Rinklebe J. Occurrence and cycling of trace elements in ultramafic soils and their impacts on human health: A critical review. *Environ Int.* 2019 Oct;131. P. 104974.

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). P. 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). P. 63–69.

118. Наказ № 887 від 30.11.2009 Про затвердження медичних рекомендацій «Біопротекція розвитку екозалежної патології у критичних верст населення індустріальних міст» Міністерство охорони здоров'я України.

119. Rojas-Rueda D., Morales-Zamora E., Alsufyani W., Herbst C. H., AlBalawi S. M., Alsukait R., Alomran M. Environmental Risk Factors and Health: An Umbrella Review of Meta-Analyses. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Jan 15;18(2). P. 704.

120. Jaishankar M., Mathew B. B., Shah M. S., Gowda K. R. S. Biosorption of Few Heavy Metal Ions Using Agricultural Wastes. *Journal of Environment Pollution and Human Health.* 2014; 2(1). P. 1–6.

121. Nagajyoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ Chem Lett.* 2010; 8(3). P. 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). P. 819–825.
123. Valko M. M. H. C. M., Morris H., Cronin M. T. D. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005; 12(10). P. 1161–1208.
124. Vallee B. L., Falchuk K. H. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev.* 1993; 73. P. 79–118.
125. Vincent J. B. Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. *Acc Chem Res.* 2000 Jul;33(7). P. 503–510.
126. Cen S. Biological Monitoring of Air Pollutants and Its Influence on Human Beings. *Open Biomed Eng J.* 2015 Aug 31;9. P. 219-23.
127. Albretsen J. The toxicity of iron, an essential element. *Veterinary medicine.* 2006. P. 82–90.
128. Wadhwa N., Mathew B. B., Jatawa S., Tiwari A. Lipid peroxidation: mechanism, models and signiio cance. *Int J Curr Sci.* 2012; 3. P. 29–38.
129. Mathew B. B., Tiwari A., Jatawa S. K. Free radicals and antioxidants: A review. *Journal of Pharmacy Research.* 2011; 4(12). P. 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). P. 819–825.
131. Jackson L. W., Howards P. P., Wactawski-Wende J. The association between cadmium, lead and mercury blood levels and reproductive hormones among healthy, premenopausal women. *Hum Reprod.* 2011; 10. P. 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). P. 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). P. 1–8.
134. Finney L. Copper and angiogenesis: unravelling a relationship key to cancer progression. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009; 1. P. 88–94.
135. Crossgrove J., Zheng W. Manganese toxicity upon overexposure. *NMR Biomed*. 2004. Dec; 17(8). P. 544–553.
136. Сікора В. В. Ультраструктура кіркової речовини нирок щурів при споживанні солей важких металів. *Вісник наукових досліджень*. 2006; 3. С. 143–145.
137. Сікора В. З., Романюк К. А. Порушення будови та мінерального складу кісток скелета в умовах впливу солей важких металів та їх корекція помірними динамічними навантаженнями. *Вісник морфології*. 2009; 15(1). С. 29–30.
138. Ferner D. J. Toxicity, heavy metals. *eMed J*. 2001; 2(5). 1.
139. Chow C. K., Chow-Johnson H. S. Antioxidant Function and Health Implications of Vitamin E. *The Open Nutrition Journal*. 2013; 7. P. 1–6.
140. Järvinen R., Erkkilä A.T. Tocopherols: Physiology and Health Effects. *Encyclopedia of Food and Health*. 2016. P. 303–308.
141. Schaffer S., Müller W. E., Eckert G. P. Tocotrienols: constitutional effects in aging and disease. *J Nutr*. 2005; 135. P. 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. P. 884–889.

143. Waller K. P., Sandgren C. H., Emanuelson U., Jensen S. K. Supplementation of RRR- α -tocopheryl acetate to periparturient dairy cows in commercial herds with high mastitis incidence. *J Dairy Sci.* 2007; 90. P. 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 p.
145. Weiss W. P. J. S., Wyatt D. J. 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. P. 720–731.
146. Leeson S., Summers J. D. Scott's Nutrition of the Chicken, fourth edition, University Books, Guelph, 2001.
147. Niki E., Traber M. G. A history of vitamin E. *Ann Nutr Metab.* 2012; 61(3). P. 207–212.
148. McDowell L. R., Ward N. E. Optimum vitamin nutrition for poultry. *Inter Poult Prod.* 2008; 16(4). P. 27–34.
149. Kim E-S S. K., Koo S. I. Marginal zinc deficiency lowers the lymphatic absorption of alpha tocopherol in rats. *J Nutr.* 1998; 128. P. 265–270.
150. Lu J., Combs G. F. Excess dietary zinc decreases tissue alpha tocopherol in chicks. *J Nutr.* 1988; 118. P. 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. P. 1816.
152. Buettner G. R. Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anticancer Agents Med Chem.* 2011; 11. P. 341–346.
153. Azzi A., Stocker A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog Lipid Res.* 2000; 39. P. 231–255.

154. Khor H. T., Ng T.T. 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 B. N. 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. P. 11494–11499.

156. Dunnett C. E. 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. P. 439–448.

157. Trumbo P. R. 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. P. 354–356.

158. Hatfield D. L., Gladyshev V.N. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Molecular and cell Biology.* 2002; 22. P. 3565–3576.

159. Fraga C. G., Oteiza P. Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology.* 2002; 180. P. 23–32.

160. Ibrahim W., Chow C. K. Dietary vitamin E reduces tissue labile iron. *J Biochem Mol Toxicol.* 2005; 19. P. 298–303.

161. Raederstorff D., Wyss A., Calder P. C., Weber P., Eggersdorfer M. Vitamin E function and requirements in relation to PUFA. *Br J Nutr.* 2015 Oct 28; 114(8). P.1113–22.

162. Wells S. R., Jennings M. H., Rome C., Hadjivassiliou V., Papas K. A., Alexander J. S. Alpha-, gamma- and delta-tocopherols reduce inflammatory angiogenesis in human microvascular endothelial cells. *J Nutr Biochem.* 2010; 21. P. 589–597.

163. Takahashi S., Takeshita K., Seeni A., Sugiura S., Tang M., Sato S. Y. Suppression of prostate cancer in a transgenic rat model via gamma-tocopherol activation of caspase signaling. *Prostate*. 2009; 69. P. 644–651.

164. Rizvi S., Raza S. T., 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). P. 157–165.

165. Meagher E. A. Treatment of atherosclerosis in the new millennium: is there a role for vitamin E? *Prev Cardiol*. 2003; 6. P. 85–90.

166. Manson J. E., Bassuk S. S., Stampfer M. J. Does vitamin E supplementation prevent cardiovascular events? *J Women's Health*. 2003; 12. P. 123–136.

167. Mangialasche F., Westman E., Kivipelto M., Muehlboeck J. S., Cecchetti R., Baglioni M. 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. P. 602–621.

168. Radhakrishnan A. K., Mahalingam D., Selvaduray K., 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. Li C. Q., Lei H. M., Hu Q. Y., Li G. H., Zhao P. J. Recent Advances in the Synthetic Biology of Natural Drugs. *Front Bioeng Biotechnol*. 2021; 29(9). P. 691152.

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). P. 673–679.

171. Hódi A., Földesi I., Ducza E., Hajagos-Tóth J., Seres A. B., 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). P. 48–55.

172. Astiz M., Hurtado de Catalfo G. E., García M. N., Galletti S. M., Errecalde A. L., de Alaniz M. J., Marra C. A. Pesticide-induced decrease in rat testicular steroidogenesis is differentially prevented by lipoate and tocopherol. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2013 May; 91. P. 129–138.

173. Mandil R., Rahal A., Prakash A., Garg S. K., Gangwar N. K., Swain D. K. Ameliorative potential of α -tocopherol against flubendiamide and copper-induced testicular-insult in Wistar rats. *Chem Biol Interact.* 2016 Dec 25; 260. P. 91–101.

174. Hernandez M. L., Wagner J. G., Kala A., Mills K., Wells H. B., Alexis N. E., Lay J. C., Jiang Q., Zhang H., Zhou H., Peden D. B. 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. P. 56–62.

175. Rao A. R.1, Quach H. 2, Smith E. 2, Vatassery G. T. 2, Rao R. 3. 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. P. 67–71.

176. Rosińczuk J.1, Całkosiński I.2. Effect of tocopherol and acetylsalicylic acid on the biochemical indices of blood in dioxin-exposed rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015 Jul; 40(1). P. 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. P. 176.

178. Романюк А. М., Сікора В. В., Линдіна Ю. М., Линдін М. С. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму. *Буковинський медичний вісник*. 2017; 21(82), ч. 1. С. 145–150.

179. Романюк А. М., Гринцова Н. Б., Коробчанська А., Сауляк С. В., Линдіна Ю. М. 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). С. 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). P. 105–111.

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). P. 73–81.

182. Романюк А. М., Линдіна Ю. М., Сікора В. В., Гусак Є. В., Сумцова Н. Г. Визначення важких металів у кістковому мозку щурів в умовах модельованого мікроелементозу. *Вісник проблем і медицини*. 2018; 1(142). С. 171–177.

183. Гринцова Н. Б., Романюк А. М., Линдін М. С., Линдіна Ю. М. 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). С. 126–130.

184. Линдіна Ю. М., Сікора В. В., Гирявенко Н. І., Линдін М. С., Романюк А. М. Дослідження протективних властивостей вітаміну Е на кістковий мозок щурів в умовах підвищеного споживання солей важких металів.

Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019; 23(1). С. 59–64.

185. Романюк А. М., Гринцова Н. Б., Коробчанська А., Сауляк С. В., Линдіна Ю. М. Морфологічні зміни у кістковій системі та внутрішніх органах в умовах впливу на організм солей важких металів. Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії: збірник тез VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України; 2015 16–18 вересень; Запоріжжя : Запорізький державний медичний університет; 2015. С. 77.

186. Линдіна Ю. М., Фесюра Г. М. Дослідження гістологічних особливостей червоного кісткового мозку у статевозрілих щурів. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини : збірник тез доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених; 2015 квітень 23–24; Суми : Сумський державний університет; 2015. С. 222–223.

187. Романюк А. М., Линдіна Ю. М. 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. Київ : Вид-во «Центр навчальної літератури»; 2015. С. 116–117.

188. Линдіна Ю. М., Карпенко Л. І., Фесюра Г. М. Гістологічні особливості стромального компоненту кісткового мозку статевозрілих щурів. 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 : Сумський державний університет; 2016. С. 135.

189. Романюк А. М., Линдіна Ю. М., Линдін М. С., Будко Г. Ю. Особливості будови кісткового мозку у щурів. Природничі читання 2016 : матеріали III міжнародної науково-практичної конференції; 2016 травень 19–22; Чернівці : Медуніверситет; 2016. С. 69–70.

190. Bambizzle 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 : Faculty of Medicine, University of Belgrade; 2016. P. 75.

191. Романюк А. М., Линдіна Ю. М., Фесюра Г. М. Гістоморфологічні зміни кісткового мозку за умов впливу солей важких металів : 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 : ХНМУ; 2016. С. 103–105.

192. Линдіна Ю. М., Фесюра Г. М. Особливості процесу реадаптації у кістковому мозку щурів після вживання солей важких металів : Актуальні питання теоретичної та практичної медицини : збірник тез доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених; 2017 квітень 20–21; Суми : Сумський державний університет; 2017. С. 195–196.

193. Romaniuk A. M., Sikora V. V., Lyndina Y. M., 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 T. M., editor. Natural Science Readings: abstract book; 2017 May 18–21; Bratislava; 2017. P. 53–54.

194. Линдіна Ю. М. Особливості елементного складу кісткового мозку щурів за умов споживання солей важких металів : збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-методичної конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету: Перспективи розвитку медичної науки і освіти; 2017 листопад 16–17; Суми : Сумський державний університет; 2017. С. 28.

195. Романюк А. М., Линдіна Ю. М. Особливості гематологічних показників за умови впливу солей важких металів на статевозрілих щурів-самців : збірник матеріалів науково-практичної конференції «Довкілля і здоров'я», 2017 квітень 27–28, Тернопіль : Укрмедкнига; 2017. С. 205–206.

196. Линдіна Ю. М. Порівняльний аналіз морфологічної будови кісткового мозку щурів та людини : матеріали ХХІІ Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених; 2018 квітень 23–25; Тернопіль : Укрмедкнига; 2018. С. 265–266.

197. Романюк А. М., Линдіна Ю. М., Карпенко Л. І. Вивчення мієлопротективних 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 : Мед-університет, 2018. С. 116–117.

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 Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А. Науково-практичні

рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ : Авіценна, 2002. 319 с.

200. Гінч О. В., Кук Ю. В. Радіаційна обстановка на Сумщині. Стан природного середовища та проблеми його охорони на Сумщині. Суми : Джерело, 1997. С. 44–52.

201. Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. Доклады АН СССР. 1979; 6. С. 1513–1516.

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). P. 206–223.

204. Schulze H., Shivdasani R. A. Mechanisms of thrombopoiesis. *J Thromb Haemost.* 2005 Aug; 3(8). P. 1717–1724.

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

206. Sabath E., Robles-Osorio M. L. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity. *Nefrologia.* 2012 May 14; 32(3). P. 279–286.

Наукове видання

Романюк Анатолій Миколайович,
Линдіна Юлія Миколаївна,
Сікора Катерина Олексіївна та ін.

**Патоморфологічні та функціональні діагностичні
критерії порушення гемопоезу
за умов мікроелементозу**

Монографія

Художнє оформлення обкладинки Ю. М. Линдіної
Редактори: С. М. Симоненко, О. Ф. Дубровіна
Комп'ютерне верстання К. О. Сікори

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 9,36. Обл.-вид. арк. 8,86. Тираж 300 пр. Зам. №

Видавець і виготовлювач
Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007
Свідоцтво суб'єкта видавничої діяльності ДК № 3062 від 17.12.2007.