

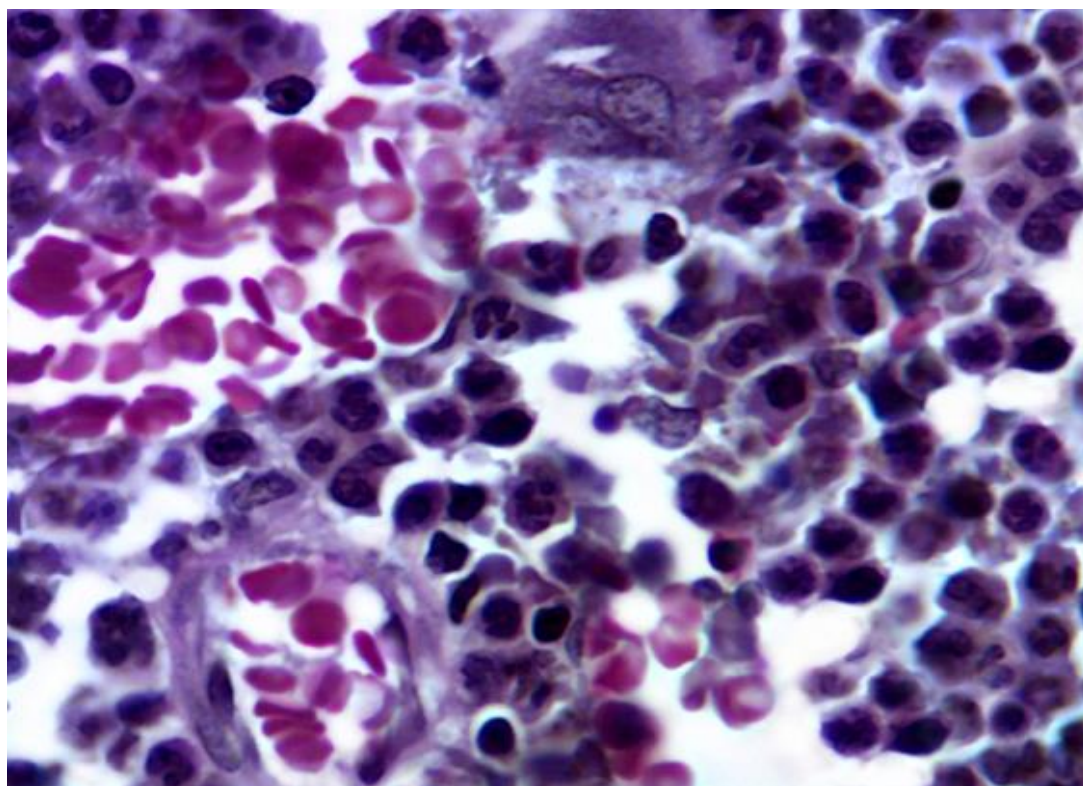
**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

**Українська медична стоматологічна академія**

**Н.В. Борута, С.М. Білаш, В.І. Шепітько**

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ ЧЕРВОНОГО  
КІСТКОВОГО МОЗКУ ЩУРІВ У НОРМІ**

**Монографія**



**Полтава – 2019**

**УДК 611.018.46:599.323.4**

**Б83**

**Затверджено до друку вченою радою  
Української медичної стоматологічної академії  
(протокол засідання № 4 від 9 жовтня 2019 року).**

**Рецензенти:**

Небесна З.М., доктор біологічних наук, професор

Попадинець О.Г., доктор медичних наук, професор

Дубінін С.І., доктор медичних наук, професор

**Б83 Морфофункціональна організація червоного кісткового мозку щурів в нормі: монографія / Н.В. Борута, С.М. Білаш, В.І. Шепітько. – Полтава: ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс, 2019. - 101 с.**

У монографії проведений аналіз морфологічної організації еритробластного острівця червоного кісткового мозку інтактних щурів на макроскопічному, мікроскопічному, електрономікроскопічному рівнях відповідала загальним закономірностям структурно-функціональної організації органу. Визначено, що червоний кістковий мозок інтактних щурів складається із стромального, судинного та клітинного компонентів. Стромальний компонент був представлений кістковими пластинками та ретикулярною тканиною. Судинний компонент складався з капілярів соматичного і синусоїдного типу. Клітини еритробластного острівця представлені: проеритробластами, базофільними еритробластами, поліхроматофільними та ортохромними еритробластами.

**УДК 611.018.46:599.323.4**

**ISBN 978-617-7464-47-0**

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- БАР – біологічно активні речовини
- ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло
- ЕО – еритробластний острівець
- КУО–Е – колонієутворююча еритробластна клітина
- КСФ – колонієстимулюючі фактори
- МСК – мезенхімальні стромальні клітини
- ММСК – мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини
- ЧКМ – червоний кістковий мозок
- ПЕ – проеритробласти
- БЕ – базофільні еритроласти
- ПХЕ – поліхроматофільні еритроласти
- ОЕ –ортохромні еритроласти
- Con A – лектин конканаваліну А специфічного до  $\alpha$ DMan,  $\alpha$ DGlc
- HPA – лектин виноградного слимака специфічний до  $\alpha$ GalNAc
- LABA – лектин кори золотого дощу специфічний до Fuc (Fuc $\alpha$ 1-2Gal $\beta$ 1-4Glc)
- PNA – лектин арахісу специфічний до Gal $\beta$ 1-3GalNAc
- SBA – лектин насіння сої специфічний до  $\alpha$ GalNAc
- SNA – лектин бузини чорної специфічний до NeuNAc( $\alpha$ 2-6)DGal /DGalNAc
- VAA – лектин омели білої специфічний до  $\beta$ -D-Gal
- WGA – лектин зародків пшениці специфічний до NAcDGlc, NANA.

## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів	3
Вступ	4
Розділ 1 Сучасні погляди на структурну організацію червоного кісткового мозку, особливості перебігу запальних захворювань його та медико-біологічне значення препаратів з плацентарної тканини (огляд літератури)	7
1.1 Морфофункціональна характеристика структурних елементів червоного кісткового мозку	7
1.2 Захворювання червоного кісткового мозку – актуальна медико-соціальна проблема	14
Розділ 2 Матеріал і методи досліджень	24
2.1 Постановка дослідження та об'єкт дослідження	24
2.2 Методи дослідження та їх обґрунтування	25
Розділ 3 Кровопостачання і структурна організація еритробластного острівця червоного кісткового мозку щурів інтактної групи	42
3.1 Топографоанатомічні і морфологічні особливості кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів в нормі	42
3.2 Морфологія клітин еритробластного острівця червоного кісткового мозку інтактних щурів	52
3.3 Морфологічна характеристика кровотворного мікрооточення червоного кісткового мозку щурів інтактної групи	57
3.4 Особливості лектиноспецифічності клітин еритробластного острівця червоного кісткового мозку щурів інтактної групи	63
Розділ 4 Аналіз та узагальнення результатів дослідження	68
Висновки	75
Список використаних літературних джерел	76

## ВСТУП

Проблема здоров'я населення є дуже актуальною, оскільки щороку кількість уперше зареєстрованих захворювань на 100 000 населення в Україні зростає – приблизно на 1 %. Однією з головних причин невисокої тривалості життя українців і смертності є захворюваність органів кровотворення та імунного захисту, в порівнянні з економічно і соціально розвиненими країнами Європи (Дячук Д.Д., 2011; Новак В.Л., 2014; Nebesna Z.M., 2017; Popadynets O.G., 2017; Ritsatakis A., 2017).

Поширеність хвороб крові, мієлоїдної та лімфоїдної тканин, за даними наукової літератури, в останні роки в Україні становить 194,2 на 100 тис. дорослого населення. В їх структурі кровотворні та лімфоїдні тканини мають найбільшу питому вагу: лімфоми – 28,7 %, гострі лейкемії – 17,25 %, хронічні лімфопроліферативні захворювання – 24,2 %, хронічні мієлопроліферативні захворювання – 13,78 %, множинні мієломи – 12 % (Шушпанов Д., 2017; Lin W., 2018). Тому, поглиблене вивчення структурної організації центрального органу кровотворення та імунного захисту червоного кісткового мозку в нормі є доцільним і з теоретичної і з практичної точок зору.

Червоний кістковий мозок – центральний орган кровотворення, у якому містяться стовбурові кровотворні клітини і відбувається розмноження та диференціація клітин мієлоїдного і лімфоїдного рядів: утворюються еритроцити, тромбоцити, гранулоцити, моноцити, В-лімфоцити і попередники Т-лімфоцитів (Луцик О., 2013).

Метою роботи було встановити морфофункціональну організацію червоного кісткового мозку щурів в нормі.

Було заплановано виконання таких завдань: вивчити особливості кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів за результатами макроскопічних, мікроскопічних та морфометричних досліджень; провести комплекс макроскопічних, мікроскопічних, електронномікроскопічних, лектиногістохімічних, морфометричних

досліджень структурних компонентів червоного кісткового мозку інтактних білих щурів.

Об'єктом дослідження була гістологічна структура червоного кісткового мозку: компонентів гемомікроциркуляторного русла, еритробластних острівців, клітин еритробластного ряду інтактної групи тварин.

Предметом дослідження були морфофункціональні особливості структурних компонентів червоного кісткового мозку інтактної групи тварин.

Дана робота виконана за допомогою використання таких методів дослідження: анатомічний – для встановлення метричних показників стегнової кістки щурів; виготовлення тотальних препаратів стегнової кістки – для визначення джерел кровопостачання червоного кісткового мозку; ін'єкційний метод – для ідентифікації і вивчення просторової будови кровоносних судин і особливостей кровопостачання червоного кісткового мозку; гістологічний – для вивчення структурних компонентів червоного кісткового мозку в нормі та за умов експерименту; лектиногістохімічний – для встановлення динаміки експресії вуглеводних детермінант на структурних компонентах еритробластного острівця; електронномікроскопічний – для визначення ультраструктурних особливостей клітин еритробластного острівця в інтактній та експериментальних групах тварин; метод серійних напівтонких зрізів – для отримання цілісної інформації про червоний кістковий мозок; морфометричний та статистичний – для визначення кількісних параметрів структурних компонентів червоного кісткового мозку та встановлення об'єктивності одержаних результатів.

За допомогою нашої наукової праці уперше за допомогою адекватних морфологічних методів досліджень одержано комплексну анатомічну, гістологічну, лектингістохімічну і морфометричну характеристику стану еритробластного острівця червоного кісткового мозку щурів у нормі.

**РОЗДІЛ 1**  
**СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА СТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ**  
**ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ, ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ**  
**ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЙОГО ТА МЕДИКО-БІОЛОГІЧНЕ**  
**ЗНАЧЕННЯ ПРЕПАРАТІВ З ПЛАЦЕНТАРНОЇ ТКАНИНИ**  
**(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)**

**1.1 Морфофункціональна характеристика структурних елементів червоного кісткового мозку**

Червоний кістковий мозок знаходиться в епіфізах трубчастих кісток, груднині, хребцях, кістках склепіння черепа та інших кістках, що містять губчасту кісткову речовину [9-11].

Кістковий мозок новонародженого становить 1,4 % маси його тіла і заповнює порожнини практично всіх трубчастих кісток. В процесі росту дитини маса кісткового мозку збільшується і становить 1,4 кг, однак, відбувається поступове його заміщення жировою тканиною в діафізах трубчастих кісток. В плоских кістках кістковий мозок зберігається протягом всього життя. У дорослої людини маса кісткового мозку складає 4,6 % маси тіла, червоний мозок становить 50 % загальної його маси [12].

Ретикулярна тканина складає основу кісткового мозку, вона пронизана великою кількістю кровоносних судин, переважно капілярами синусоїдного типу. Кістковий мозок дорослої людини поділяється на червоний і жовтий, кровотворну функцію виконує саме червоний кістковий мозок. В кістковомозкових порожнинах діафізів трубчастих кісток міститься жовтий кістковий мозок, що є переродженою ретикулярною тканиною, клітини якого містять жирові включення. Для червоного кісткового мозку – жовтий кістковий мозок є важливим резервом, бо в нього заселяються гемопоетичні елементи при великих крововтратах, і він перетворюється на червоний кістковий мозок. Отже,

червоний і жовтий мозок можна розглядати, як два функціональних стани одного кровотворного органу [11-14].

Особливістю кісткового мозку є наявність в його мікрооточенні поліпотентних стовбурових клітин [15].

В організмі людини червоний кістковий мозок виконує багато надзвичайно важливих функцій для життя. Він є центральним органом гемопоезу та імуногенезу. Згідно з єдиноутворюючою теорією гемопоезу, для всіх клітин крові, існує єдине джерело розвитку. Вихідною клітиною, для всіх паростків кровотворення, виявляється стовбура кровотворна клітина крові [16-21].

Умовно виділяють 6 класів розвитку клітин крові I – клас поліпотентних клітин-попередників, який включає стовбурові кровотворні клітини; II – клас частково детермінованих поліпотентних клітин-попередників. Існування другого класу є опосередкованим. Прикладом може бути відновлення крові в пострадіаційний період – при опромінюванні в межах 500-600 рад спостерігається тимчасовий підйом кількості еритроцитів і гранулоцитів, але не лімфоцитів.

Основна маса клітин крові знаходиться у кістковому мозку, та не виключається їх можливість переміщення з одних ділянок кровотворної системи в інші. III клас – уніпотентні клітини-попередники, здатні до обмеженої самопідтримки, вони можуть існувати протягом 10-15 мітозів, потім гинуть. Цей клас формують клітини-попередники родоначальних клітин окремих рядів кровотворення, а саме: а) еритропоетин-чутлива клітина; б) колонієутворююча в культурі клітин – клітини дають початок гранулоцитам і моноцитам; в) тромбоцитопоетин-чутлива клітина; г) клітини-попередники T і B – лімфоцитів.

Для цих клітин усіх рівнів притаманна здатність знаходитися в двох морфологічно різних формах: бластної і лімфоцитоподібної, це характерна особливість для клітин-попередників, які морфологічно ідентифікуються. IV клас – морфологічно розпізнавальних



проліферуючих клітин. Він представлений бластними формами, які започатковують окремі ряди кровотворення – гранулоцити, еритроцити, моноцити, мегакаріоцити та лімфоцити. Форма ядер бластних клітин, в основному, округла, але, винятково, буває овальна, або овально витягнута. Ядро розташоване в центрі клітини, або зміщене до одного з полюсів. Переважання об'єму ядра над площею цитоплазми, є характерною особливістю клітин цього класу. V клас представлений – дозріваючими клітинами; VI клас – зрілі клітини крові з обмеженим періодом життєвого циклу [17, 18, 20].

Кістковий мозок – єдиний орган, в якому співіснують і взаємодіють функціонально два різних типи стовбурових клітин. Розуміння процесів кісткового мозку, що відбуваються в мікрооточенні стовбурових клітин, дають можливість керувати ними та впливати на функціональний стан цих клітин. Ретикулярна сполучна тканина є стромою кісткового мозку, вона утворює мікрооточення для кровотворних клітин. До елементів мікрооточення кровотворних клітин сучасні фахівці відносять, також, остеогенні, жирові, адвентиційні, ендотеліальні клітини та макрофаги [13].

У багатьох роботах вітчизняних і закордонних вчених, що займалися дослідженням стовбурових клітин кісткового мозку, є свідчення про їх успішне застосування в терапії багатьох онкогематологічних захворювань, серед яких патології плазматичних клітин, лейкози, лейкоми, а також, спадкові і набуті захворювання кісткового мозку та аутоімунні захворювання.

В даний час проводиться активна робота по впровадженню в клінічну практику наукових підходів, заснованих на застосуванні стовбурових клітин в лікуванні серцево-судинних, нейродегенеративних та інших захворювань, травм, опіків, тощо [22-35].

Протягом останніх десятиліть загальноприйнятим методом лікування багатьох гематологічних захворювань стала трансплантація

кісткового мозку. В січні 2013 спільнота з Всесвітньої мережі трансплантації крові та мозку (The Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation – WBMT) оголосила про досягнення в 1 млн зареєстрованих трансплантацій гемопоетичних стовбурових клітин [35-41].

Щороку у світі виконують близько 50000 пацієнтам трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин [42-45] при більш ніж 70 захворюваннях [46-50].

Відносно нормативно-правових аспектів, перспектив та напрямків клінічного використання клітинної трансплантації в Україні та в світі, автори наукових робіт засвідчують, – за останнє десятиріччя в світі гостро зросла кількість трансплантацій донорського та аутологічного клітинно-тканинного анатомічного матеріалу. В плані формування нормативно-правової бази, що стосується дослідження застосування стовбурових клітин та виготовлення трансплантатів, найбільш рішуче діють у США.

В Україні використання трансплантатів в клінічній практиці базується на положеннях Закону України «Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людини» [51], постановах Кабінету Міністрів України та цілій низці нормативно-правових актів. Проте, в Україні збережені унікальні досягнення з вивчення властивостей стовбурових клітин та їх впливу на перебіг тяжких захворювань і патологічних станів людини. На жаль негативні моменти, що спостерігаються в економіці та фінансуванні медичної науки і практики, ставлять під сумнів подальший розвиток біотехнологій та створюють загрозу національній безпеці України [52]. Успіх аlogenних трансплантацій гемопоетичних стовбурових клітин, згідно з даними численних досліджень, багато в чому визначається взаємодією трансплантата і організму реципієнта.

При дослідженні динаміки приживлення трансплантата, для оцінки ефективності трансплантації, раннього виявлення рецидивів пухлини та своєчасної корекції терапії, науковці відмічають необхідність моніторингу химеризма кількісною полімеразною ланцюговою реакцією [53-56].

Роботи українського вченого Насадюка К.М. (2013) знайомлять з сучасними трендами розвитку клітинних технологій в акушерстві, гінекології та репродуктивній медицині. Автор розглядає стратегії алогенної і аутологічної трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин в мієлоаблятивній терапії гермінальних пухлин і раку молочної залози, адоптивній імунотерапії; вчений визначає сучасні підходи до лікування жіночого і чоловічого безпліддя, описує проблеми та досягнення у трансплантації матки, крім того, успіхи кріоконсервування репродуктивних клітин і тканин [57].

Використовуючи наслідки дослідження взаємодії гемопоетичних стовбурових і пухлинних клітин *in vitro* [58], автори прийшли до висновку, що гемопоетичні стовбурові клітини активно взаємодіють з клітинами гліоми та обмінюються регуляторними білками, що уповільнює швидкість непластичної проліферації фази логарифмічного росту пухлини.

Роль мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (подальше МСК), які володіють унікальними імуномоделюючими властивостями, що були підтверджені *in vitro* і *in vivo*, дослідив у своїх роботах Петинати Н.А., (2013). Ці клітини можуть бути культивовані, джерелом можуть бути кістковий мозок, жирова тканина, ембріональна печінка та ін. При введенні в організм МСК не викликають імунної відповіді, що зробило можливим застосування їх в клініці. На сучасному етапі проводяться дослідження із застосуванням МСК при багатьох хворобах, а саме, бічний аміотрофічний склероз, розсіяний склероз,

виразковий коліт, хвороба Крона, системний червоний вовчак, поліміозит та дерматомиозит, цукровий діабет 2 типу [59-61].

Американські дослідники, характеризуючи мезенхімальні стовбурові клітини, відзначають формування досить динамічної системи в кістковому мозку. Вона складається з диференційованих фібробластів, ретикулярних клітин, ендотелію, компонентів екстрацелюлярного матриксу, цитокінів. При чому, взаємодія між собою та іншими клітинами здійснюється через специфічні рецептори і молекули адгезії [62].

При дослідженні МСК, виділених із жирової тканини, скелетної мускулатури, периферичної крові, синовіальної оболонки суглобів, відмічається, що МСК кісткового мозку залишаються найбільш перспективним джерелом клітинного матеріалу, тому що в певних ситуаціях вони швидше розвиваються в культурі, утворюючи колонії, легше диференціюються, ніж МСК пуповинної і периферичної крові [62-65].

Питання оцінки якості та безпеки мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин для клінічного використання, постає предметом спеціального вивчення науковців. Тому розроблена програма культивування та дослідження значущих властивостей людських МСК для клінічного використання; наведено характеристику етапів оцінки якості і безпеки ММСК, включаючи культивування клітин «ex vivo»; оцінки імунофенотипу, ростових, імуномодельючих, регенеративних і прогеніторних властивостей; оцінки генетичної та мікробіологічної безпеки; проведена оцінка «in vitro» тестів для визначення якості та безпеки МСК [66-68].

З новими можливостями клітинної терапії знайомить Л. П. Ніколаєва, (2014): у хворих з критичною ішемією нижніх кінцівок під час вимушеної ампутації, видалається не тільки кінцівка, але й близько 25% всіх стовбурових клітин, що значно знижує можливості організму до відновлення. Вміст стовбурових клітин в кістковому мозку стегнової

кістки відповідає терапевтичній дозі і може використовуватися для аутологічної трансплантації даному хворому.

Мононуклеарні фракції кісткового мозку ампутованої кінцівки, отримані в стерильних умовах операційної, можуть протягом 1,5-2 годин бути готовими до застосування [69]. З кооперативною взаємодією синусоїдальних клітин печінки і клітин кісткового мозку при здійсненні процесів фізіологічної, репаративної і патологічної регенерації печінки, пов'язані останні наукові розробки [70]. Дослідженнями доведено, що стовбурові прогеніторні клітини кісткового мозку (гемопоетичні і мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини) компенсують регуляційну роль стовбурових клітин печінки (насамперед зірчастих клітин – клітин Іто), знижують вираженість процесів запалення і фіброзування, таким чином, модулюють процеси відновної регенерації пошкодженої печінки.

Науковці вважають, що застосування мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку в медицині, є найбільш перспективною стратегією лікування багатьох захворювань людини. Проте для остаточного висновку про регенераторні можливості аутологічних і галогенних клітин кісткового мозку при печінковій недостатності, необхідно проводити широкомасштабні клінічні дослідження.

Українські вчені відділу Імуноцитохімії та гематології ІЕПОР ім. І.Є. Кавецького НАН України в сучасну схему кровотворення, вносять ряд доповнень на основі вивчення лейкоцитарних баластних клітин, що стосуються, в першу чергу, морфологічно нерозпізнаних стовбурових клітин і гемопоетичних клітин – попередників.

Науковцями, що займаються цим питанням, передбачається існування загальних оліголінійних попередників для В-лімфоцитів і моноцитів, ЕК– клітин і моноцитів, а також, загальної клітини– попередниці Т-лімфоцитів і дендритних клітин. Проте, у авторів є сумніви, та виникають питання щодо наявності у людини загальної

клітини-попередниці лімфопоезу, здатної диференціюватися в В-, Т-лімфоцити і ЕК- клітини, що свідчить про необхідність подальшого поглибленого вивчення схеми кровотворення [71, 72].

Таким чином, розглядаючи дані вищописаних наукових статей, можна стверджувати, що кістковий мозок є одним із основних цінностей організму людини, покликаний контролювати і зберігати нормальне функціонування нашого життя.

Саме в кістковому мозку відбувається постійне оновлення компонентів крові – процес утворення нових формених елементів трьох видів: еритроцитів, тромбоцитів і лейкоцитів.

Наявність в його складі стовбурових клітин, здатних перетворюватися на клітини крові, ще одна унікальна характеристика кісткового мозку.

## **1.2 Захворювання органів кровотворення – актуальна медико-соціальна проблема**

Захворювання червоного кісткового мозку класифікуються як особливо тяжкі, бо несуть загрозу життю людини. Організм здорової людини має можливість самостійно усувати зовнішні загрози. Дестабілізація складу крові порушує цю здатність: підтримання внутрішньої стабільності для організму стає неможливим, порушуються основні процеси життєдіяльності; змінюється певна кількість речовин в органах і тканинах; пригнічуються імунні і нервово-психічні реакції [73-77].

Одним із розповсюджених порушень функціонування захворювань кісткового мозку: залізодефіцитна анемія – захворювання системи крові, яке обумовлене дефіцитом заліза в організмі та супроводжується змінами параметрів його метаболізму, зменшенням концентрації гемоглобіну в еритроцитах, кількісними та якісними їх змінами, клінічними проявами анемічної гіпоксії, сидеропенії та метаболічної інтоксикації [78-83]. Залізодефіцитна анемія є актуальною проблемою охорони здоров'я в силу

своєї високої поширеності, а також у зв'язку з негативними наслідками як для дорослого, так і для дитячого організму [84-86].

За даними ВООЗ отриманими впродовж 1993–2005 рр., на анемію страждає близько 24,8% населення планети [87, 88].

За статистичними даними, у 2013 році в Україні поширеність анемії (D50–D64; D74) складала 1084,40 на 100 000 населення, що відповідає 1,08%. Серед всіх анемії залізодефіцитна анемія (D50) склала 93,3%. Ці дані неповні, оскільки в них віддзеркалюється інформація, що надійшла лише з гематологічних відділень, які перебували у складі обласних онкологічних диспансерів та міських лікарень, що мали у своєму складі гематологічні відділення та з гематологічних відділень профільних науково-дослідних установ Національної академії медичних наук України [87].

За іншими даними, в Україні в структурі всіх анемії залізодефіцитна анемія становить понад 88% [78]. До групи ризику залізодефіцитної анемії входять діти, підлітки, жінки дітородного віку, особливо вагітні та ті, що годують груддю, а також люди похилого віку.

У спеціалізованій медичній літературі є велика кількість робіт, яка присвячена питанням причин та чинників ризику формування залізодефіцитної анемії серед дітей [89-91], діагностики [92-95], лікуванню [96-98] та профілактиці залізодефіцитної анемії [99].

Під час внутрішньоутробного періоду розвитку і в перший рік життя при інтенсивному рості та диференціюванню тканин дефіцит заліза може викликати істотні, довготривалі негативні наслідки для фізичного та інтелектуального розвитку дитини [100, 101].

Залізодефіцитної стан відноситься до однієї з актуальних проблем підліткового віку [102-104]. Зменшення кількості заліза в підлітковому організмі призводить до порушення утворення гемоглобіну і зниження темпів його синтезу, накопиченню вільного протопорфірину в еритроцитах, розвитку гіпохромною анемії і трофічних розладів в органах

і тканинах. Дефіцит заліза в підлітковому віці значно частіше спостерігається у дівчат, що може бути обумовлено рясними менструаціями.

Поширеність залізодефіцитної анемії серед дівчаток підлітків значно вища за офіційні статистичні дані й становить, за результатами дослідження [105], близько 70%, причому у переважній більшості підлітків реєструється анемія I ст. тяжкості.

Український дослідник Проценко О. С., (2012, 2013, 2015) відмічає несприятливий вплив залізодефіцитної анемії матері різного ступеня тяжкості у матері на клітини печінки плодів і новонароджених [106-111].

На сьогодні є велика кількість вітчизняних та іноземних наукових досліджень, в яких учені вивчають несприятливий вплив залізодефіцитної анемії на перебіг вагітності, наслідки пологів і розвиток плоду [112-121].

Ретроспективне дослідження поширеності анемії вагітних за даними багаторічного моніторингу [122] доводить, що частота анемії вагітних зросла з 15,0 % до 22,6 %. У кожному другому випадку причиною анемії у вагітних був залізодефіцит, у випадках залізодефіцитної анемії середній вміст сироваткового заліза складав  $(8,8 \pm 0,2)$  мкмоль/л, у 22,4% жінок прояви помірної анемії відзначалися вже на ранніх термінах вагітності.

Науковці пропонують схеми медикаментозної корекції дефіциту заліза під час вагітності і лактації [123-133].

Залізодефіцитна анемія широко поширена у літніх пацієнтів. Анемія погіршує якість життя, обтяжує перебіг основної патології і створює загрозу передчасної смерті пацієнтів [134]. У хворих на залізодефіцитну анемію похилого і старечого віку змінюється метаболізм глюкози в еритроцитах [135], за деякими даними [136] ускладнюється перебіг хронічної серцевої недостатності. У хворих похилого віку з хронічною серцевою недостатністю та проявами анемічного синдрому порушення функції нирок спостерігають уже у пацієнтів з II–III функціональним класом і збереженою фракцією викиду лівого шлуночка, а найбільш



виражені порушення – у хворих з III–IV функціональним класом і систолічною дисфункцією. Виявлено достовірний обернений кореляційний зв'язок між швидкістю клубочкової фільтрації та функціональним класом хронічної серцевої недостатності ( $r=-0,61$ ;  $p<0,05$ ), визначається підвищений рівень еритропоєтину, що відображає феномен еритропоєтинрезистентності у таких хворих [137].

Лікарі загальної практики – сімейні лікарі відіграють ключову роль у своєчасному виявленні та профілактиці залізодефіцитної анемії. Під час комплексного медичного обстеження знаходять лабораторні ознаки прихованого дефіциту заліза в організмі людей у всіх вікових групах, приділяючи особливу увагу виявленню залізодефіцитної анемії у школярів і жінок репродуктивного періоду [138].

Накопичені дані про метаболізм та транспорт заліза в організмі людини допомогли розробити оптимальні лікарські форми препаратів для корекції дефіциту заліза [139].

Залізодефіцитна анемія, незважаючи на свою назву, не є результатом тільки дефіциту заліза. Будь-який мікроелемент, у тому числі і залізо, надає свої біологічні функції в контексті багатьох інших мікроелементів. Існує цілий спектр мікронутрієнтів, необхідних для повноцінного засвоєння заліза організмом і прояви біологічних ефектів заліза. Як відмічають деякі науковці [140], принаймні ще 10 інших мікронутрієнтів необхідні для більш ефективного проявлення біологічних ефектів заліза: марганець, мідь, молібден, хром, йод і вітаміни С, В2, В6, адже спільне призначення органічних солей двовалентного заліза в поєднанні з солями марганцю і міді буде володіти мінімумом фармакологічного антагонізму і максимумом адсорбції в організмі.

На думку Е. Семенова, М. Куніна, Н. Стуклов монотерапія залізом не враховує взаємодії між мікроелементами і тому може супроводжуватися підвищеним числом побічних ефектів, а в разі дефіциту міді викликати перевантаження організму залізом або

рефрактерність до лікування. Застосування комбінації залізо+мідь+марганець дозволяє уникнути подібних результатів [141].

Апластична (гіпопластична) анемія – важке захворювання кровотворної системи, яке характеризується значним пригніченням мозкового кровотворення, а також зниженням активності проліферативних процесів дозрівання формених елементів крові з наступним розвитком панцитопенії [142-145].

Апластична анемія відноситься до групи рідкісних захворювань системи крові, проте останнім часом випадки аплазії органів кровотворення зустрічаються частіше. Практикуючим лікарям важливо знати про дану патологію та вміти вчасно поставити діагноз і диференціювати з іншими захворюваннями [145-147].

Проведено порівняльні дослідження [148] клоногенності, імунофенотипу та функціональної активності мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку здорових донорів і хворих на апластичну анемію. Показано, що хворі на апластичну анемію розрізняються за кількістю стромальних попередників. Крім того, мезенхімальні стромальні клітини кісткового мозку хворих апластичною анемією характеризуються функціональними порушеннями у вигляді: зниження проліферативного потенціалу; низькою імуносупресорною активністю відносно активованих Т-клітин; виборчій здатності підтримувати ріст мієлоїдних, але не еритробластних попередників. При цьому мезенхімальні стромальні клітини кісткового мозку хворих апластичною анемією продукують цитокіни, що відносяться до позитивних регуляторів кровотворення (ІЛ-6, Г-КСФ, ГМ-КСФ, еритропоетин), та інші ростові фактори (VEGF, IGF-1, FGF-basic). Водночас мезенхімальні стромальні клітини кісткового мозку хворих відрізняються підвищеним рівнем секреції хемокінів, а також ІЛ-2 і ІЛ-17.

Важливою медико-соціальною проблемою та предметом постійної уваги клініцистів і вчених є мегалобластні анемії. Частота вітамінів В12

дефіцитної анемії збільшується з віком і зустрічається у 0,1 % осіб молодого віку, у 1% осіб похилого віку, а після 75 років виявляється практично у 4 % населення [149-151].

Мегалобластні анемії – група захворювань, що характеризуються мегалобластичним типом кровотворення з неефективним еритропоезом, відповідною картиною периферичної крові та специфічними клінічними проявами. В основі виникнення та розвитку означених захворювань лежать порушення процесів синтезу РНК та ДНК у гемопоетичних клітинах кісткового мозку, які виникають внаслідок дефіциту вітаміну В12 та фолієвої кислоти [149, 152, 153].

Аналіз даних літератури [154-157] показує, що кістково-мозкове кровотворення при В12 дефіцитній анемії характеризується еритроїдною гіперплазією в кістковому мозку з наявністю мегабластів, що мають ніжну структуру хроматину при ранній гемоглобінізації цитоплазми, поряд з макрогенераціями, зустрічаються мезо- та мікрогенерації.

Ряд науковців [158] отримали дані щодо об'єктивних кількісних критеріїв мікроцитоза, гіперхромії зміни форми еритроцитів периферичної крові при В12 дефіцитній анемії. Виявили зміну структури популяції еритроцитів за розмірами: зменшення числа мікроцитів; при зниженні числа нормоцитів відзначено домінування серед них еритроцитів з діаметром 7-8 мкм; більша частина макроцитів (60-64,4%) представлена еритроцитами діаметром 8–9,5 мкм, макроцити діаметром більше 9,5 мкм складають не більше 13,4–22,54%, мегалоцити - не більше 0,79–1,42%.

Гетерогенна група злоякісних хвороб кровотворної системи, які походять із однієї кровотворної клітини, що зазнала мутації, проліферація якої не підпадає під контроль організму – гемобластози. Гемобластози, при яких пухлинні клітини щільно заселяють кістковий мозок, називаються гемобластомами кістково-мозкового походження [159].

Здебільшого в сучасній клінічній практиці дотримуються такої класифікації гемобластозів: 1.Гострий лейкоз (гостра лейкемія); 2.Хронічний мієлолейкоз; 3.Ідіопатичний мієлофіборз; 4.Хронічний моноцитарний і мієлоцитарний лейкоз; 5.Еритремія; 6.Есенціальна тромбоцитемія; 7.Хронічний лімфолейкоз; 8.Волосатоклітинний лейкоз; 9.Мієломна хвороба; 10.Макроглобулінемія Вальденстрема [160].

Останнім часом в науковій медичній літературі значна увага приділяється етіології, діагностиці та сучасним методам лікування самої агресивної злоякісної пухлини системи крові – гострому лейкозу, який вважають досить рідкісним захворюванням (близько 3 % усіх пухлин людини), однак серед гемобластозів становить майже 1/3 загальної їх кількості [159] та є найбільш поширеним онкологічним захворюванням у дітей. Лейкози зустрічаються з частотою 4–5 випадків на 1000 дітей, частіше виникають у віці 3–5 років, другий пік підвищеної частоти лейкозів спостерігається у віці 20–30 років [12].

Незважаючи на те, що протягом багатьох років активно вивчаються причини виникнення гострого лейкозу, до теперішнього часу етіологія даного захворювання точно не встановлена. Існує кілька «етіологічних» теорій [161]. Науковцями обговорюється роль ендогенних канцерогенів трансплацентарної дії, променеві впливи, генетична та схильність до виникнення пухлинного процесу, дія рентгенівського або  $\gamma$ -випромінювання, а також дія вірусів і специфічних агентів [159, 162, 163].

Як зауважує Гуцаленко О.О. [159] першим діагностичним заходом при підозрі на гострий лейкоз є дослідження клінічного аналізу крові в динаміці. Картина крові розгорнутої стадії гострого лейкозу досить характерна.

Окрім анемії та тромбоцитопенії, наявна зміна числа лейкоцитів в досить широких межах: від 1 до 100 Г/л із переважанням форм із нормальним та лейкопенічним у 38 % або сублейкемічним у 44 % числом лейкоцитів. Лише у 18 % хворих кількість лейкоцитів переважає 50,0 Г/л.

У 20 % хворих бластні клітини в гемограмі відсутні. У більшості пацієнтів кількість баластних клітин складає від кількох відсотків до 80–90 % [159]. Наступний етап діагностики проводиться в спеціалізованому онкогематологічному відділенні. Необхідно дослідження кісткового мозку для оцінки всіх паростків гемопоєзу, визначення кількості бластних клітин. Діагноз гострого лейкозу встановлюється за наявності в кістково-мозковому пунктаті більше 20-30% бластних клітин [161].

За результатами дослідження інтерлейкінів та показників обміну заліза в динаміці при гострих лейкозах [164], автори роблять висновок, що регуляція гемопоєзу і цитокінової мережі порушена. Це проявляється в посиленому синтезі феритину і гепсидину макрофагами, які активуються розбалансуванням в цитокіновій мережі.

Знайдено, що при лейкемії відбувається глибоке порушення показників, відповідальних за регуляторний процес. Під час гематологічної ремісії не спостерігається повної нормалізації цих показників, що, можливо, і призводить надалі до рецидиву лейкозного процесу.

Прогрес у розумінні біологічних особливостей пухлинних клітин і патогенезу лейкозів призвів до створення нових методів діагностики й оцінки результатів терапії, а застосування нових препаратів і методів лікування істотно змінило прогноз у цих хворих [165-168].

Принципове поліпшення результатів терапії гострих лейкозів стало можливим завдяки розробці нових лікувальних підходів, включаючи різні варіанти інтенсифікованої багатокомпонентної хіміотерапії, методу трансплантації кісткового мозку, а також застосування нових таргетних протипухлинних препаратів патогенетичної дії. Слід підкреслити, що важливе значення має подальша розробка і впровадження в клінічну практику нових принципів супровідного забезпечення – підтримуючої терапії [169, 170].

Іонізуюче випромінювання – один з найнебезпечніших фізичних факторів як у навколишньому середовищі, так і у виробничих умовах [171]. Відомо, що іонізуюче випромінювання в певному діапазоні доз викликає розвиток доброякісних і злоякісних пухлин, а також широкий спектр непухлинних захворювань різних органів [172-174].

Захворювання, яке виникає внаслідок впливу на організм іонізуючого випромінювання в дозах, що перевищують гранично допустимі – променева хвороба. Існує досить чітка залежність між дозою опромінення і проявами та перебігом гострої променевої хвороби. Різні тканини і органи мають різну радіочутливість. Найчутливішими є кістковий мозок, статеві органи, лімфоїдна тканина [175-177].

Пік досліджень наслідків впливу іонізуючих випромінювань на організм припав на 1950–1970 роки, після вибухів атомних бомб у Хіросімі і Нагасакі та серії експериментальних атомних вибухів у США і СРСР [178-189].

Після аварії на Чорнобильській атомній електростанції з'явилась велика кількість робіт вітчизняних та зарубіжних дослідників, присвячених вивченню стану здоров'я в осіб, які зазнали впливу чинників аварії на ЧАЕС та дітей і підлітків, які народилися в сім'ях ліквідаторів наслідків аварії, дозиметрії внутрішнього опромінення мешканців радіаційно забруднених територій, ретроспективній дозиметрії в рамках епідеміологічних досліджень, оцінці медико–демографічних наслідків безпосереднього і віддаленого впливу іонізуючої радіації на організм людини і тварин, проведенню профілактичних заходів, спрямованих на охорону здоров'я населення [190-207].

В той же час, у спеціалізованій медичній літературі є нечисленні дані дослідників, щодо впливу іонізуючого випромінювання на кістковий мозок [208, 209].

Внаслідок вкрай високої радіочутливості кісткового мозку ураження кровотворення в тій чи іншій мірі завжди спостерігається при

опроміненні, відбувається загибель і зникнення клітин кісткового мозку [210]. У нормальному стані у дорослих людей кровотворення здійснюється в червоному кістковому мозку губчастих кісток черепа, хребта, ребер і тазу.

У дитячому віці велику роль у цьому процесі відіграє кістковий мозок, що міститься в довгих трубчастих кістках.

Опромінення цих кісток може призвести до загибелі клітин, що утворюються в них і недостатньому утворенні еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів [172].

Вплив іонізуючого випромінювання на кісткомозкове кровотворення висвітлено в монографії вітчизняних вчених [211].

Експериментальне дослідження експресії зрілих мікроРНК, що беруть участь у функціонуванні p53-залежної системи збереження стабільності генома у пацієнтів з діагнозом гостра променева хвороба [212], виявило достовірне зниження mir34a, mir21 в групі хворих опромінених в клінічно значущих дозах, через роки після променевого ураження і збільшення mir145 у хворих на місцеві променеві ураження.

Рядом науковців [213] відтворена кісткомозкова форма гострої променевої хвороби у мишей та досліджено протипроменеві властивості рекомбінантної форми марганець-супероксиддисмутази (rMnSOD).

Таким чином, на основі літературних даних, що були вивчені, всі захворювання червоного кісткового мозку відносяться до тяжких, оскільки несуть серйозну загрозу життю.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1 Постановка досліду та об'єкт дослідження

Морфофункціональний стан структурних елементів червоного кісткового мозку інтактних щурів, при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти, та при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення ми досліджували на 140 статевозрілих білих щурах масою (145-180) г. При проведенні досліджень дотримувались міжнародних правил та принципів Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001) та Закону України №3447 «Про захист тварин від жорстокого поводження» IV від 21.02.2006 р. Комісією з питань біоетики ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 122 від 12.05.2015). Робота виконана в рамках планової науково-дослідної теми кафедри гістології, цитології та ембріології Української медичної стоматологічної академії «Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № держреєстрації 0113U006185. Здобувач є співвиконавцем даної комплексної науково-дослідної роботи [214, 215].

Матеріал для дослідження представлений препаратами червоного кісткового мозку білих щурів з ін'єкованим судинним руслом, гістопрепаратами та ультрамікроскопічними зрізами червоного кісткового мозку.

При відборі тварин, ми враховували те, що білі щури є найбільш вірогідним об'єктом для групового експерименту, на яких можливо отримати однотипні зміни [216].



Із експерименту тварин виводили шляхом передозування тіопенталовим наркозом (внутрішньоочеревино введення з розрахунку 75 мг/кг маси тіла тварини).

Тварини усіх груп утримували на загальноприйнятому раціоні віварію Української медичної стоматологічної академії. При щоденному огляді контролювали загальний стан, ступінь прояву місцевих змін, масу тіла і летальність білих щурів.

Об'єктом дослідження були фрагменти стегнової кістки лабораторних тварин інтактною групи. Шматочки стегнової кістки піддослідних тварин поміщали у відповідні фіксатори залежно від запланованих методів досліджень.

Експеримент та відбір тварин проводили поетапно, спочатку тварин було оглянуто, враховували стан шкіри, рухову активність та витримували тиждень в карантині до початку експерименту. Далі визначали інтактні рівні досліджуваних показників, вибраковували тварин із значеннями цих показників, що різко відрізнялись.

Для виключення впливу на експеримент добових та сезонних ритмів біологічної активності, досліди проводились у весняний період, завжди в ранковий час через 16 годин після останнього голодування.

## **2.2 Методи дослідження та їх обґрунтування.**

- 1) корозійний метод судинного русла стегнової кістки білих щурів;
- 2) мацерація – метод виготовлення препаратів стегнової кістки білих щурів;
- 3) морфометрія ланок гемомікроциркуляторного русла стегнової кістки білих щурів;
- 4) гістологічне дослідження червоного кісткового мозку білих щурів;
- 5) електронномікроскопічне дослідження червоного кісткового мозку та ланок їхнього гемомікроциркуляторного русла;
- 6) лектинохімічні методи дослідження червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів;

- 7) реконструктивні методи дослідження червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів;
- 8) статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм, які сертифіковані і входять до пакету програмного забезпечення цифрового мікроскопу.

### **2.2.1 Корозійний метод судинного русла стегнової кістки білих щурів**

Тварин виводили із експерименту шляхом внутрішньоочеревинного введення препарату тіопенталу натрію з розрахунку 2,0 мг/100г (20 мг/кг) маси тіла тварин.

Після розтину черевної порожнини, на загальну клубову артерію накладали затискачі та вводили скляну канюлю з гумовою насадкою, яку з'єднували зі шприцом і фіксували шовковою лігатурою та вводили ін'єкційну масу в судинне русло. Наливали кровоносне русло стегнової кістки білих щурів пластмасою «Протакрил-М». Дану суміш готували наступним чином: 10 мг порошку «Протакрил-М» заливали 20 мг розчинника та розмішували масу скляною паличкою на протязі 1–2 хвилин до повного зникнення порошку в розчиннику. Після перемішування, розчин набирали в шприц, і вводили через канюлю. В зв'язку з тим, що пластмаса «Протакрил-М» швидко застигає, необхідно швидко та під тиском вводити суміш. Для заповнення артеріального русла використовували від 10 мл до 15 мл суміші. Після ін'єкції, на клубову артерію, накладали лігатуру, та забирали стегнову кістку для дослідження.

В подальшому препарати підлягали корозійній обробці в водному розчині гідроокисі калію (в розведенні 1:2) на протязі від 2-3 діб. У процесі корозійної обробки проводили періодичне промивання препаратів в проточній воді для кращого очищення полімерного відбитку від лізуючих тканин. В результаті обробки препарату, залишається лише полімерний відбиток порожнин досліджуваного об'єкту.

Описана методика ін'єкції технічно проста, не вимагає використання дефіцитних препаратів, натомість, дає можливість ін'єкувати як великі судини, так і ланки ГМЦР, що дозволяє диференціювати його артеріальний, капілярний і венозний компоненти.

Після проведених етапів просвітлення здійснювали фотографування ланок кровоносного русла червоного кісткового мозку стегнової кістки в прохідному світлі мікроскопа МБИ–1 при збільшенні x 80 (об'єктив 10, окуляр 8), x 160 (об'єктив 20, окуляр 8) на цифровому фотоапараті Olympus FE 210.

### **2.2.2 Мацерація – метод виготовлення препаратів стегнової кістки білих щурів**

Для детального вивчення морфологічних особливостей будови стегнової кістки білих безпорідних щурів, використовували анатомічний метод дослідження, а саме метод мацерації (виварювання), який полягає у виготовленні препаратів кісток.

Для експериментального дослідження використовували стегнові кістки щурів, які піддавались відділенню шкіри, м'язів стегнової кістки, старанно очищали від залишків м'яких тканин. Виварювання здійснювали у чистій проточній воді, постійно поповнюючи її до початкового рівня – обережно доливаючи окріп по стінках ємності. Після виварювання стегнові кістки піддавались охолодженню на протязі 2 годин. Наступний етап у виготовленні препаратів кісток полягав у відбілюванні кісткової тканини в 3% розчині перекису водню. Для виготовлення даного розчину, використовували 97 мл. дистильованої води та 3 мл. перекису водню, в який поміщали препарати кісток, ступінь відбілювання визначали візуально.

### **2.2.3 Морфометрія кровоносних судин стегнової кістки червоного кісткового мозку білих щурів**

При дослідженні судин ГМЦР на ін'єкованих та просвітлених препаратах маємо можливість вірогідно визначити діаметр мікросудин,

щільність сітки обмінних судин (ЩСОС); площу трофічної активності тканини (ПТАТ).

Для проведення морфометричного аналізу ангіоархітектоніки червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів, здійснювали виміри діаметра артеріол, капілярів та венул.

Діаметр кровоносних судин вимірювали за допомогою окулярної лінійки. На просвітлених препаратах червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів з ін'єкованим судинним руслом здійснювали вимірювання діаметрів ланок кровоносного русла. Дійсний діаметр ( $D$ ) встановлювали за допомогою окуляра-мікрометра при збільшенні мікроскопа – об'єктив 20, окуляр 8 та об'єкти 10, окуляр 8, урахувавши ціну поділки ( $K$ ) за формулою:

$$D = d K \quad (2.1)$$

де  $D$  – дійсний діаметр судини;

$d$  – замірний діаметр судини;

$K$  – коефіцієнт окулярної мірної лінійки.

Ціну поділки в окуляр-мікрометрі ( $K$ ) визначали за стандартною сіткою камери Горяєва. Згідно паспорта довжина сторони малого квадрата становить 50 мкм. При збільшенні об'єктив 20, окуляр 8, ціна поділки ( $K$ ) складає 100 мкм (0,1 мм), а при збільшенні об'єктив 20, окуляр 8, ціна поділки ( $K$ ) складає 50 мкм (0,05 мм).

В результаті морфометричного дослідження встановлено дійсні діаметри ланок ГМЦР червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів у нормі та за умов моделювання гострого асептичного запалення та його кореції кріоконсервованою плацентою.

2) Щільність пакування обмінних судин, а саме капілярів, визначали шляхом підрахунку кількості судин на одиницю площі (за одиницю площі обрано площу поля зору мікроскопа).

3) Показник трофічної активності тканини, або радіус дифузії, визначали шляхом вимірювання відстані між двома сусідніми судинами, поділеної навпіл.

4) Площу поперечного перерізу середньої оболонки артеріоли (S) – індекс Вогенворта – вираховували за формулою Вогенворта:

$$S=(D \cdot m - m^2) \cdot \pi \quad (2.2)$$

де  $\pi$  – стала величина, дорівнює 3.14;

$m$  – товщина середньої оболонки;

$D$  – діаметр артеріоли.

Стереометричний аналіз судин проводили методом лінійного інтегрування. Окуляр-мікрометр орієнтували перпендикулярно до поздовжньої осі судин і вимірювали хорди пересічення судин. Питомий об'єм судин вираховували за формулою:

$$V_v^i = \frac{\sum d_i \cdot l}{L} \quad (2.3)$$

де  $d$  – середня сума хорд пересічення з окулярною лінійкою;

$l$  – ціна ділення лінійки;

$L$  – довжина лінійки;

$V$  – питомий об'єм судин.

Питому площу поверхні судин визначали за формулою:

$$S_v^i = \frac{4V_v^i}{D_i} \quad (2.4)$$

де  $V_v^i$  – питомий об'єм судин;

$D$  – середній діаметр судин;

$S$  – питома площа поверхні судин.

#### **2.2.4 Гістологічне дослідження червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів**

Матеріал для мікроскопічного дослідження брали відразу після евтаназії тварин, згідно строків експерименту, у попередньо зважених тварин усіх груп. Стегнову кістку ретельно відсепарували від м'яких тканин з подальшою фіксацією матеріалу в 10% розчині формаліну на протязі 24 – 48 годин у щільно закритому посуді. Застосований фіксуєчий розчин запобігає

процесу аутолізу та стабілізує клітини та тканини для їх подальшого використання в процедурах забарвлення. Після фіксування фрагменти стегнової кістки піддавалися декальцинації за допомогою етилендіамінтетрауксусної кислоти (ЕДТА). Вплив дінатрієвої солі (трилон Б) викликало розм'якшення фрагментів кісткової тканини та не утворювало бульбашки газу, внаслідок чого не пошкоджувалися тканини, використання ЕДТА та її солей, запобігало порушенню фарбування зрізів декальцинованих кісткових зразків.

Для декальцинації фрагменту стегнової кістки використовували розчин із 250 гр. трилону Б, який попередньо розчиняли у 200 мл дистильованої води на водяній бані, потім додавали розчин із 50 мл. 40 % NaOH, розчиненого попередньо в 100 мл дистильованій воді. Доводили розчин до повного розчинення всіх компонентів з дотриманням  $pH=7,4$ , шляхом додавання до нього 750-800 мл дистильованої води [217].

Матеріал стегнової кістки товщиною 1 см поміщали в марлеву тканину і занурювали в декальцинуючий розчин у підвішеному стані для рівномірного омивання тканин впродовж 24-48 годин. Об'єм розчину в 25-50 разів переважав над об'ємом усіх разом взятих декальцинуючих фрагментів. Ступінь декальцинації перевіряли препарувальною голкою, яка легко проходила крізь тканину.

Структура та метричні показники загальної площі червоного кісткового мозку та еритробластного острівця визначали на парафінових зрізах та епоксидних шліфах [218, 219].

Матеріал червоного кісткового мозку ущільнювали в парафін, за загальноприйнятою методикою та виготовляли зрізи на санному мікроскопі МС-2 товщиною (4-5) мкм, які забарвлювали гематоксиліном і еозином, за ван Гізоном [218, 219].

Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопу з цифровою мікрофотонасадкою фірми Olympus С 3040-ADU з адаптованими для

даних досліджень програмами (Olympus DP – Soft, ліцензія № VJ285302, VT310403, 1AV4U13B26802) та Biorex 3 (серійний номер 5604).

Загальну морфологію червоного кісткового мозку та еритробластного острівця визначали на епоксидних шліфах. Метод пластинації біологічних об'єктів і виготовлення епоксидних шліфів для мікроскопічного дослідження дає можливість вивчати біологічні структури з великою оглядовою поверхнею майже як на тотальному препараті. Спосіб полягає в тому, що матеріал вміщується у компаунд суміш епоксидних смол та відомими технічними прийомами з них виготовляються шліфи з виключенням постфіксації, яка передбачає дегідратацію тканин з наступним ущільненням її в епоксидну смолу та подальшою полімеризацією [218].

Матеріал за допомогою гострого леза розрізали на невеликі сегменти, які фіксували у 2,5% розчині глютарового альдегіду впродовж 4 діб при температурі  $4^{\circ}\text{C}$  і ущільнювали в суміш епоксидних смол. Після відмивання в чотирьох порціях 0,1 М фосфатного буфера протягом 2 годин шматочки занурювали в розчин чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,4: 6,71%  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  – 6,3 мл, 2,52%  $\text{NaOH}$  – 3,8 мл, 5,4% глюкоза – 2,5 мл, 2% розчин осмієвої кислоти – 12,3 мл, 1%  $\text{CaCl}_2$  – 0,05 мл (з розрахунку на 25 зразків) на 2 години при температурі  $+4^{\circ}\text{C}$  [219, 220].

Після постфіксації шматочки тканини відмивали від фіксатора в 0,1 М фосфатному буфері рН 7,3 упродовж 1 години (4 порції по 15 хвилин у кожній). Після фіксації шматочки червоного кісткового мозку відмивали від фіксатора 0,1 М фосфатним буфером з наступним зневодненням в етилових спиртах зростаючої концентрації ( $50^{\circ}$ ,  $60^{\circ}$ ,  $70^{\circ}$ ,  $80^{\circ}$ ,  $90^{\circ}$  і  $96^{\circ}$ ) спирту по 30 хвилин з триразовою зміною в кожній із порцій. Ущільнення продовжували в сумішах спирт–ацетон (3:1, 1:1, 1:3) і тричі в чистому ацетоні по 15 хвилин. Далі ущільнювали матеріал шляхом занурення в суміші ацетону з епоксидними смолами у співвідношенні 3:1; 1:1, 1:3 по 30 хвилин і 1 годину матеріал просочували в чистій смолі при температурі  $35^{\circ}\text{C}$  в термостаті. Потім шматочки матеріалу розміщували в желатинові капсули і заливали

смолою з наступною полімеризацією впродовж 3-х діб при температурах 35<sup>0</sup>С, 45<sup>0</sup>С, 60<sup>0</sup>С відповідно [221].

Напівтонкі зрізи товщиною 1–2 мкм одержували на ультрамікротомі Сумського ВО «Selmi» УМТП-7 (серійний номер 8–31.4, ТУ 25–7401 0063-91).

За допомогою стереоскопічного мікроскопу здійснювали оцінку якості отриманих зрізів. Якісні зрізи товщиною (1-2) мкм знімали зі спинки сухого леза за допомогою тонкого пінцету, а потім переносили на краплі 10% розчину ацетону на дистильованій воді, нанесені на предметні скельця, що забезпечувало краще розправлення і фіксацію зрізів до поверхні скла.

Для закріплення послідовності розподілу серійних напівтонких зрізів використовували принцип трафаретної розкладки по 18 штук з одного кінця предметного скла. Втрата зрізів при такій методиці становить не більше (3–4) %.

Перед забарвленням предметні скельця зі зрізами витримували впродовж доби в термостаті при температурі 45–50 °С з метою якісного прикріплення зрізів до поверхні предметного скла.

Барвники використовували свіжоприготовлені і двічі відфільтровані 1 % розчин метиленового синього за Lynn J.A. [228] або поліхромний барвник [223] у модифікації [224].

Поліхромний барвник складається з двох забарвлюючих сумішей:

- розчин А: метиленовий синій – 130 мг, азур II – 20 мг, гліцерин – 10 мг, метанол – 10 мг, 0,15 М фосфатний буфер рН 6,9 – 30 мл, дистильована вода – 50 мл;
- розчин Б: базовий розчин – 100 мг основного фуксину розчиненого в 10 мл 50<sup>0</sup> етанолу, потім до 3 мл базового розчину додати 57 мл дистильованої води. Розчини А і Б не фільтрували, їх зберігали у щільно закритому посуді до 4-х місяців.

Забарвлення в розчині А проводили протягом (1–3) хвилин при температурі 65<sup>0</sup>С, надалі промивали у дистильованій воді. В розчині Б забарвлення проводили при кімнатній температурі протягом 20 – 30 секунд.



Промивали та заключали зрізи під покривні скельця в полістирол і після полімеризації вивчали в світловому мікроскопі [221-224].

### **2.2.5 Електронікроскопічне дослідження червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів**

Електронікроскопічне дослідження виконано на базі лабораторії електронної мікроскопії при Інституті Морфології ДВНЗ «Тернопільській державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України.

Забір матеріалу для електронікроскопічного дослідження червоного кісткового мозку проводили згідно загальноприйнятих методик. Матеріал, за допомогою гострого леза, розрізали на невеликі сегменти в 1 см, які фіксували у 2,5% розчині глютаральдегіду з активною реакцією середовища рН 7,3–7,4, виготовленому на фосфатному буфері Міллоніга. Фіксований матеріал через 50–60 хвилин переносили у буферний розчин і промивали протягом 20–30 хвилин. Постфіксацію здійснювали 1% розчином чотириокису осмію на буфері Міллоніга протягом 60 хвилин, після чого проводили його дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол [220].

Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікроскопі LKB-3, забарвлювали 1% водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю згідно методу Ренольдса та вивчали в електронному мікроскопі МБР-100Л, серійний номер 38-76, ТУ 25-07871–70 при прискорюючій напрузі 50-75 КВт.

Серед морфологічних досліджень важливе місце посідають морфометричні та кількісні методи дослідження, які дають можливість більш об'єктивно оцінювати морфофункціональний стан гістологічних структур в нормі, а також виявити в них закономірності перебігу компенсаторних, пристосувальних, деструктивних та регенераторних процесів.

Морфометричні дослідження здійснювали, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Зображення гістологічних препаратів на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу MICROMedSEOSCAN та за допомогою відеокамери Vision CCD Camera.

Морфометричні дослідження проведені за допомогою програм ВідеоТест–5.0, КААРА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері. Дослідження проводили у визначені терміни дослідження в препаратах забарвлених гематоксиліном та еозином.

Необхідність визначення кількісних показників ґрунтується на тому, що саме вони є головним доказом, що дає можливість отримання об'єктивних стандартизованих морфологічних параметрів на підставі яких може бути створена база даних для оцінки не тільки окремих елементів органів і систем організму, але і стан біологічної системи в цілому.

#### **2.2.6 Лектиногістохімічні методи дослідження червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів**

Для дослідження змін вуглеводної специфічності клітинних поверхонь клітин еритробластних острівців червоного кісткового мозку щурів у нормі та за умови експерименту ми використали метод лектиногістохімії [225].

Для вивчення структурних компонентів еритробластних острівців червоного кісткового мозку використовували панель лектинів, яка представлена у таблиці 2.2.

Лектини є групою білків неімунного походження, яким притаманна загальна властивість зворотно і вибірково зв'язувати вуглеводи і вуглеводні детермінанти біополімерів без зміни їх ковалентної структури. Метод лектинового зондування за своєю чутливістю та селективністю виявлення вказаних молекулярних структур значно перевершує традиційні методи гістохімічної верифікації вуглеводів [226].

Для лектиногістохімічного дослідження ми використовували метод прямої і непрямой обробки зрізів лектинами, міченими пероксидазою. При використанні прямого способу виявлення рецепторів лектинів на дегідратовані зрізи наносили мічений лектин у ЗІР і інкубували 30-60 хв при кімнатній температурі. Оптимальною концентрацією лектинів у інкубаційному середовищі при обробці парафінових зрізів ми вважали 50 мкг/мл.

При обробці напівтонких зрізів концентрація лектинів була дещо більшою у 1,5 – 2 рази. Із метою попередження підсихання зрізів при інкубації їх у розчині лектину, а також з метою економії лектинів, використовувалась мінікамера для імуногістохімічних досліджень, яка представлена у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 – Спектр лектинів, якій використаний для вивчення клітин еритробластних острівців червоного кісткового мозку

Лектин	Скорочена назва	Джерело отримання	Вуглеводна специфічність
	Con A		
Лектин виноградного слимака	HPA	Helix pomatia	$\alpha$ GalNAc
Лектин кори золотого дощу	LABA	Laburnum anagyroides bark agglutinin	Fuc ( $\text{Fuc}\alpha 1\text{-}2\text{Ga}\beta 1\text{-}4\text{Glc}$ )
Лектин арахису	PNA	Arachis hypogaea	T-антиген ( $\text{Gal}\beta 1\text{-}3\text{GalNAc-}$ )
Лектин насіння сої	SBA	Glicine max	$\alpha$ GalNAc
Лектин бузини чорної	SNA	Sambucus nigra	NeuNAc( $\alpha 2\text{-}6$ )DGal /DGalNAc
Лектин омели білої	VAA	Viscum album	$\beta$ -D-Gal
Лектин зародків пшениці	WGA	Triticum vulgare	NAcDGlc, NANA
Примітка. Man – маноза; Glc – глюкоза; GlcNAc – N-ацетил-глюкозамін; Gal – галактоза; GalNAc – N-ацетил-галактозамін; Fuc – фукоза; NeuNAc – N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота.			

Гістологічні зрізи інкубували у герметичному пластмасовому боксі. Предметні скельця вкладали на скляні палички, з'єднані гумовими трубками, що розташовані на дні бокса. На дно бокса клали змочений дистильованою водою фільтрувальний папір. Випарування дистильованої

води створювало вологе середовище, що запобігало висихання нанесеного на зріз розчину лектина. Для візуального контролю за процесами інкубації зрізів використовували скляну покривку.

При непрямому способі виявлення рецепторів лектинів, зрізи інкубували у розчині нативного лектину 30–60 хв відмивали у трьох порціях ЗІР, потім обробляли другим реагентом також 30–60 хв. Добрі результати одержані при застосуванні в якості іншого реагента тироглобуліну з пероксидазою. Тироглобулін зв'язується з лектинами сочевиці, кліщовини, конканаваліном А. При використанні десіальованого нейрамінідазою тироглобуліна виявляються всі лектини, використаного нами набору. Для непрямого виявлення рецепторів conA в якості другого реагента ми використовували нативну пероксидазу. Це обумовлено, з одної сторони, присутністю у молекулі пероксидази хрону вуглеводних груп, які специфічно взаємодіють з конканаваліном А, з іншої – полівалентністю цього лектина. В молекулі останнього міститься чотири центри зв'язування вуглеводів, один із яких може взаємодіяти з тканинними глікокон'югатами, а інші – з пероксидазою. Техніка застосування в якості іншого реагента кон'югата муцину шлунка свині з пероксидазою хрону не відрізнялась від такої для міченого тироглобуліну. Для виявлення лектину зав'язків пшениці в якості другого реагента застосовували овомукоїд, мічений пероксидазою [227].

Перевага непрямих методів порівняно із прямими полягала в тому, що виключалась можливість хімічної модифікації активного центру лектина в процесі кон'югації, а також можливості застосування одного міченого реагента для виявлення рецепторів великого набору лектинів, що у значній мірі спрощувало процедуру мітки.

Для виявлення лектинових рецепторів використовували метод пероксидази-антипероксидази. Гістологічні зрізи після регідратації і пригнічення активності ендогенної пероксидази обробляють нативним лектином. Після чого наносили розчин кролячих антитіл до лектина. Далі

зрізи інкубували у розчині козячих антитіл до імуноглобулінів кроля. Останній етап полягав в обробці зрізів пероксидазно-антипероксидазним комплексом імуноглобулінів кроля.

Надлишок реагента після кожного із проміжних етапів видаляли шляхом відмивання. Неспецифічне зв'язування імуноглобулінів блокували, обробляючи зрізи нерозведеною сироваткою свині. Застосування пероксидазно-антипероксидазної системи значно підвищило чутливість гістохімічних реакцій [225].

Для виявлення активності пероксидази використовували 3,3'-діамінобензидин, запропонований для цієї мети Р. Грехемом і М. Карнавські. Активність пероксидази і відповідно локалізацію зв'язування з глікокон'югатами лектину визначали за коричневим кольором продуктів окислювальної полімеризації діамінобензидину. Активність пероксидази ми проявляли у розчині, який містив 0,05 % 3,3' – діамінобензидину тетрагідрохлориду і 0,015 %  $H_2O_2$  у ЗІР. Час проявлення для різних лектинів був в межах від 0,5 до 5 хв., реакцію зупиняли зануренням зрізів у дистильовану воду.

Вивчення кінетики прояву діамінобензидину тетрагідрохлориду показало, що повна дезактивація активності ферменту проходить протягом 45 хв.

Довша інкубація зрізів з хромогеном недоцільна, оскільки припиняється утворення преципітату, різко підвищується забарвлення фону і підвищується ймовірність виникнення артефактів.

На зрізах вивчалася локалізація та інтенсивність гістохімічної реакції, яка оцінювалась за прийнятим для гістохімічних досліджень напівкількісним методом: 0 – реакція відсутня; 1 – слабка реакція (світло-коричневе забарвлення); 2 – помірна реакція (жовто-коричневе забарвлення); 3 – сильна реакція (коричневе забарвлення); 4 – дуже сильна реакція (темно-коричневе забарвлення).

Вивчення залежності інтенсивності гістохімічної реакції від часу проявлення хромогену показало можливість оцінки кількісного вмісту антигенних детермінацій в тканинних зрізах при використанні ферментних міток.

Для стабілізації продуктів реакції з діамінобензидином і підвищення інтенсивності забарвлення у інкубаційне середовище ми додавали ферриціанід калію  $K_3[Fe(CN)_6]$  до кінцевої концентрації 0,1 % [227]. Після видалення надлишку хромогена і дегідратації препаратів їх заключали у канадський бальзам.

Результати лектинохімічних досліджень задокументовані у формалізованих картах обліку даних, які розроблені власноруч автором та впроваджені в роботу морфологічних лабораторій Української медичної стоматологічної академії.

### **2.2.7 Реконструктивні методи дослідження червоного кісткового мозку стегнової кістки білих шурів**

Розміри, візуалізація форми і взаємного розташування складових частин червоного кісткового мозку на мікроскопічному рівні є можливим за рахунок використання реконструктивних методів дослідження на основі зрізів (гістологічних, напівтонких і ультратонких) [228].

Для збереження розмірів і топологічних особливостей об'єкта, що реконструюється, товщина серійних зрізів повинна бути в 20–30 разів меншою його розмірів [229, 230].

Товщина напівтонких зрізів повинна бути (1–2) мкм. При виготовленні ультратонких зрізів прагнули отримати зрізи не більші ніж 500 нм.

У подальшому проводили порядкове мікрофотографування окремих зрізів за допомогою цифрового мікроскопа фірми Olympus C 3040-ADU з адаптованими для даних досліджень програмами (Olympus DP – Soft, ліцензія № VJ285302, VT310403, 1AV4U13B26802).

Мікрофотокарти, з отриманих мікрофотографій, виготовляли з використанням програми Photoshop 7.0 і PhotoshopCS. Для цього на

створений базовий шар переносили окремі фотографії, суміщали спочатку ручним методом, а надалі покроковим. Межі окремих фрагментів робили напівпрозорими для отримання плавного переходу кордонів окремих знімків, після фотодруку на форматі А3 їх детально вивчали.

Виготовлення фотокарт дозволяє збільшити площу вивчаємого зрізу органа чи тканини на збільшенні, яке є межуючим між світловим і електронномікроскопічним, за рахунок товщини зрізу (близько  $1 \text{ мкм} \approx 1000 \text{ нм}$ ) і розмірів реконструкції в середньому ( $50 \times 100$ ) см.

Уявлення про об'єкт дослідження дають фотореконструкції і мають значення при визначенні меж клітин еритробластних острівців, судин ГМЦР для визначення їх структурних особливостей і окреслення ділянок для подальшого детального вивчення.

Для морфометричних досліджень на світлооптичному рівні тканинного і клітинного складу червоного кісткового мозку використовували окремі вибірки серійних напівтонких зрізів. Для цього з ущільнених шматочків, методом випадкових чисел, вибирали по десять блоків, з яких виготовляли серії напівтонких зрізів, які монтували за трафаретною методикою на предметні скельця для закріплення послідовності розподілу серійних напівтонких зрізів. Також окремі підрахунки проводили на парафінових зрізах та епоксидних шліфах.

У щурів інтактної та експериментальних групах на кожен термін спостереження було отримано близько 200 зрізів товщиною 1–2 мкм, які були забарвлені в стандартизованих умовах і при однаковій експозиції.

### **2.2.8 Статистичне оцінювання результатів дослідження**

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили на компютері за допомогою пакета прикладних програм для статистичного опрацювання даних медико-біологічних та епідеміологічних досліджень «InStat». Програма дозволяє одержати результати досліджень у вигляді наступних прогнозованих значень:

*M* – середнє значення;

$\sigma$  – стандартне відхилення;

$m$  – стандартна похибка середнього значення.

Порівняння  $t$ - тест (тест Ст'юдента): оцінювали, беручи до уваги доцільність та вірогідність результатів, сусідні покзники.

$P - (T \leq t)$  одностороннє – ймовірність того, що середні значення співпадають (\*\*\*) – найменша, \*\* – дуже мала, \* – мала, xxx – велика)

$t$  критичне – критерій Ст'юдента, що обчислюється за таблицями та має бути  $>$  за  $T$ .

Результати обчислень були представлені у графічній формі у вигляді гістограм за допомогою програм Microsoft Office Exel [231, 232], із виставленням достовірних інтервалів при рівні достовірності 95 % ( $P=0,95$ ).

Якщо досліджуваний параметр підлягає нормальному розподілу (розподілу Гауса), то для вибірки  $x_1, x_2, \dots, x_n$ . Інтервальна оцінка математичного сподівання отримується наступним чином. За даними вибірки знаходимо середнє арифметичне значення за формулою:

$$M = \frac{1}{n} (x_1 + x_2 + \dots + x_n) \quad (2.5)$$

Стандартне відхилення вибірки знаходиться за формулою:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{n-1} ((x_1 - M)^2 + (x_2 - M)^2 + \dots + (x_n - M)^2)} \quad (2.6)$$

Для побудови межі похибки при рівні значущості  $p = 1 - P = 0,05$  за таблицями  $t$ -розподілу Ст'юдента знаходимо критичне значення  $t_{\frac{p}{2}}$ , при  $n-1$  ступенях вільності. Межа похибки має вигляд  $m = t_{\frac{p}{2}} \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$  а довірчий інтервал  $M \pm m$ .

При порівнянні двох вибірок висуваємо гіпотези:

$H_0$ :  $M_1 = M_2$  – середні значення співпадають,

$H_1$ :  $M_1 \neq M_2$  – середні значення відрізняються



Для заданого рівня достовірності знаходимо критичне значення  $t_{кр}$  при  $2n-2$  ступенях вільності.

Знаходимо  $t$  за формулою:

$$t = \frac{|M_1 - M_2|}{\sqrt{\sigma_1^2 \sigma_2^2}} \sqrt{n(n-1)} \quad (2.7)$$

де  $M_1, M_2$  – середні значення вибірок.

$\sigma \sigma$  – дисперсії вибірок (D)

Якщо  $t < t_{кр}$ , то гіпотеза про рівність середніх значень приймається. Перевірку гіпотез про рівність середніх значень проводили для  $P=0,95$  і для  $P=0,99$ .

Застосовані методи дослідження дають можливість вивчити структуру та морфофункціональні зміни червоного кісткового мозку, послідовність розвитку деструктивних та регенераторних процесів, динаміку змін показників при гострому асептичному запаленні, при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти та при сумісній їх дії.

### РОЗДІЛ 3

## КРОВОПОСТАЧАННЯ І СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ЕРИТРОБЛАСТНОГО ОСТРІВЦЯ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ ЩУРІВ ІНТАКТНОЇ ГРУПИ

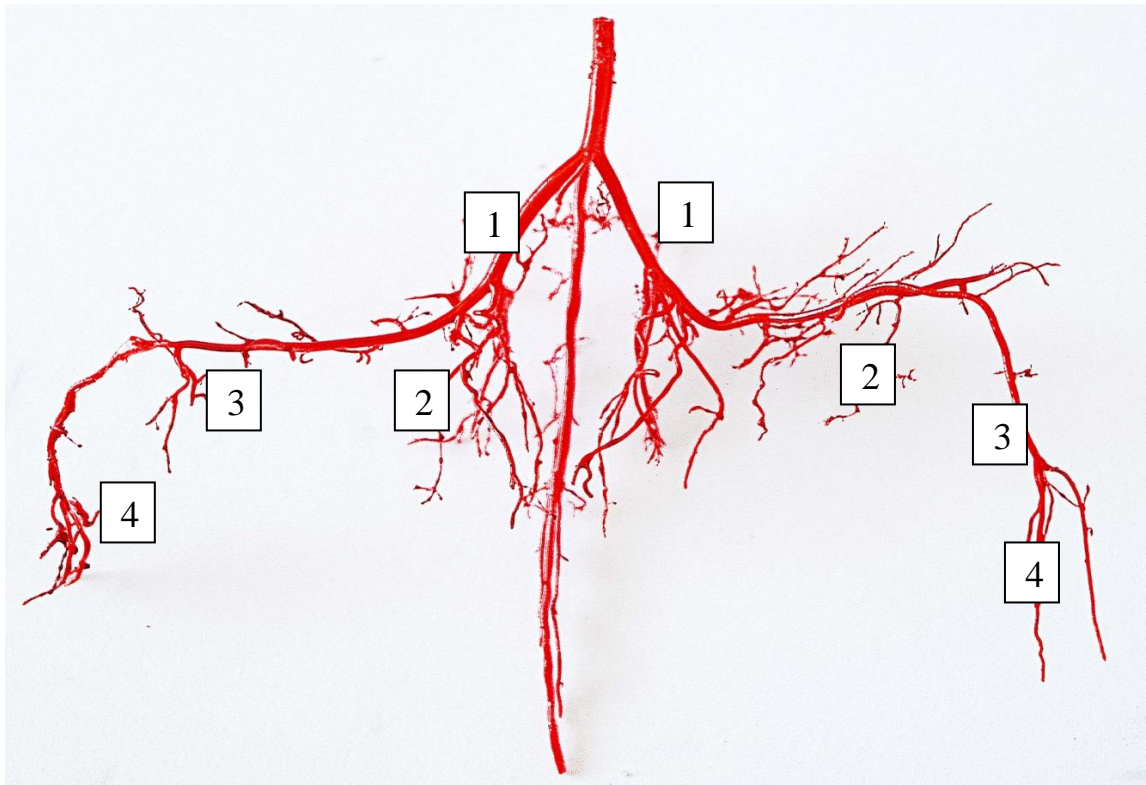
На сьогодні джерела кровопостачання і кровоносні судини червоного кісткового мозку стегнової кістки щурів не вивчені, або вивчалися поверхнево, що пов'язано з суттєвими труднощами, які виникають при морфологічному дослідженні кісткової тканини, окістя та червоного кісткового мозку якій у свою чергу розташований у кістковомозковій порожнині стегнової кістки. Напевно цими труднощами можливо пояснити не тільки різні твердження і припущення щодо шляхів кровозабезпечення червоного кісткового мозку стегнової кістки, а і відсутність єдиної думки щодо її морфологічних особливостей.

Таким чином, детальне вивчення особливостей кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки, надасть змогу в значній мірі сприяти вирішенню цілої низки питань сучасної біологічної і медичної науки при моделюванні різних експериментальних гематологічних досліджень на білих щурах і пошуку сучасних способів корекції цих патологічних станів.

### **3.1 Топографоанатомічні і морфологічні особливості кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки білих щурів в нормі**

В результаті проведеного дослідження на корозійних препаратах та тотальних епоксидних шліфах стегнової кістки білих щурів, які були забарвлені метиленовим синім, встановлено, що кровопостачання червоного кісткового мозку мають свої певні особливості і декілька джерел. Так у щурів джерелом кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки слід вважати артерії нижніх кінцівок з басейну яких відходять: стегові артерії які топографоанатомічно розташовуються внизу в передньому та присередньому відділах стегна; підколінні артерії, що залягали в підколінній ямці і

розгалужувались на передні і задні великогомілкові артерії, котрі в свою чергу кровопостачали колінний суглоб, гомілку і прямували донизу (рис. 3.1).



Умовні позначки: 1 – стегнові артерії; 2 – підколінні артерії; 3 – передні великогомілкові артерії; 4 – задні великогомілкові артерії.

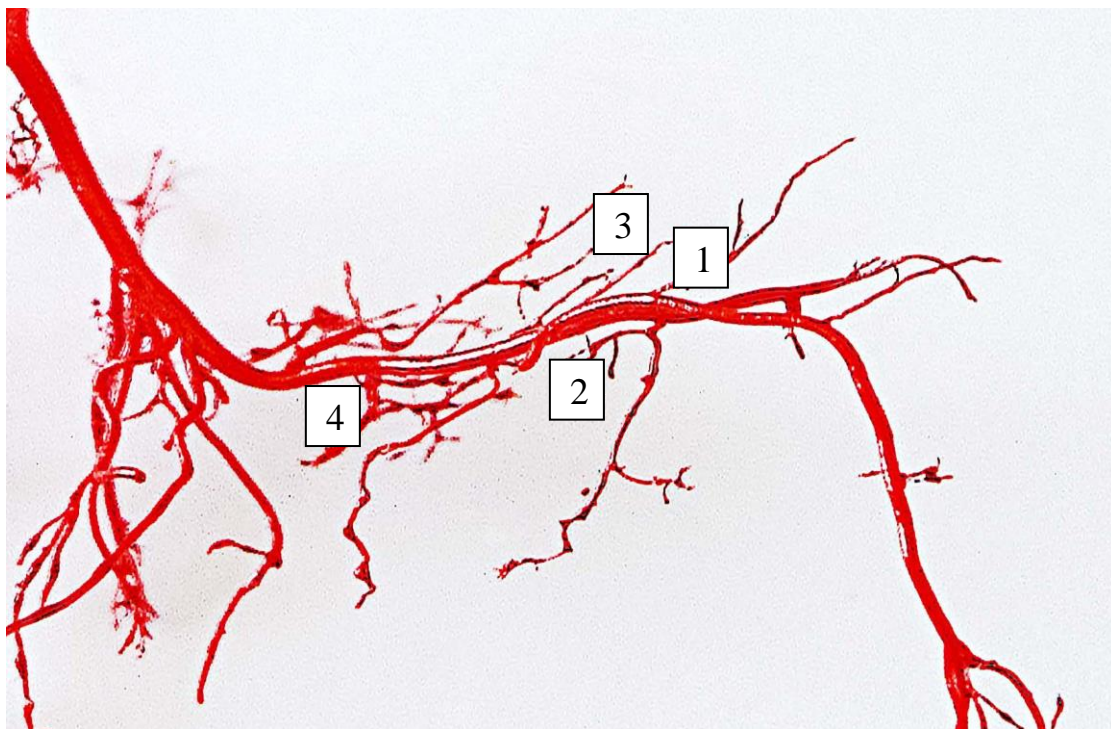
Рисунок 3.1 – Артеріальне кровозабезпечення стегнової кістки інтактної групи тварин. Тотальний корозійний препарат

Відповідно до проведеного дослідження у кровопостачанні червоного кісткового мозку стегнової кістки у щурів безпосередньо беруть участь судини які нами розділені на декілька груп:

1. Судини проксимального відділу стегнової кістки;
2. Судини дистального відділу стегнової кістки;
3. Судини, які безпосередньо кровопостачають стегнову кістку;
4. Власні судини червоного кісткового мозку стегнової кістки.

Артерії, які у щурів прямували до проксимального відділу стегнової кістки і належали до 1 групи судин, як основні джерела кровопостачання червоного кісткового мозку і чітко розділялись на передню і задню групи.

До задньої поверхні прямували гілки від медіальної і латеральної артерій, які огинали стегнову кістку. Медіальна артерія, що огинала стегнову кістку розташовувалась поблизу нижнього краю міжвертлужного гребеня від якої у напрямку головки стегнової кістки відходило 6–8 гілочок (рис. 3.2).



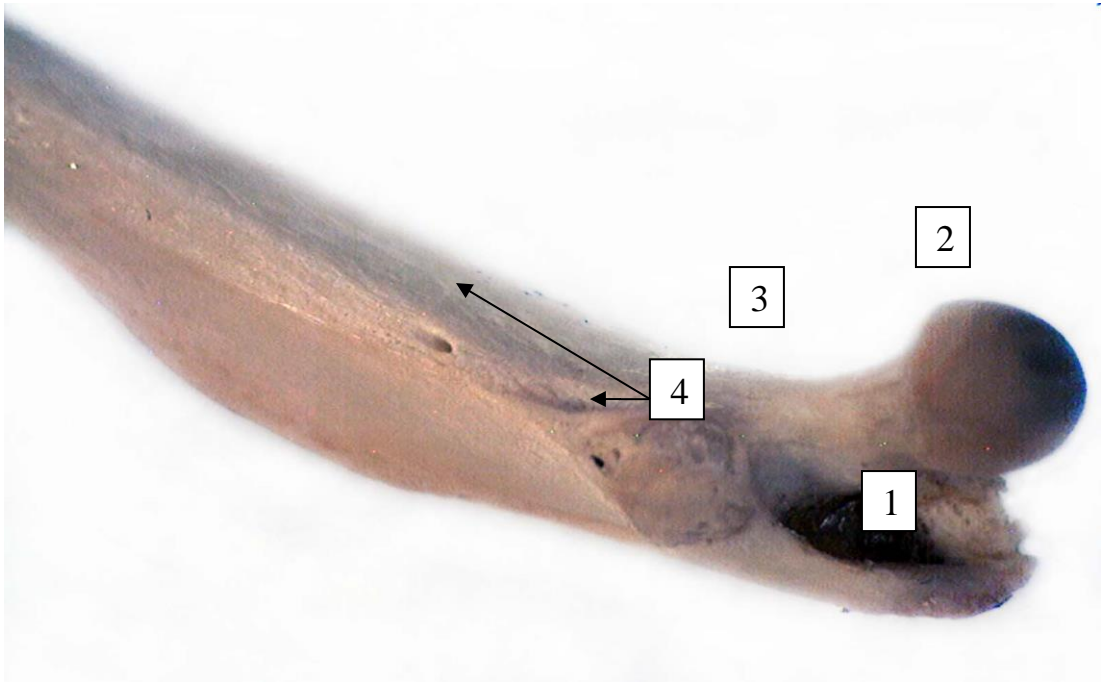
Умовні позначки: 1– права медіальна артерія; 2 – права латеральна артерія артерії; 3 – гілочки медіальної стегнової артерії; 4 – задні група артерії.

Рисунок 3.2 – Артеріальне кровозабезпечення стегнової кістки інтактної групи тварин. Тотальний корозійний препарат

Ці гілочки перфорували: головку стегнової кістки по її окружності на межі з шийкою, верхню і задню поверхню шийки стегнової кістки, по поверхні великого і малого вертлюгів, а також повздовж міжвертлужного гребеня.

Латеральна артерія, яка огинала стегнову кістку прямувала до передньої поверхні її проксимального відділу. Її гілочки в кількості від 6 до 10 стовбурців проходили в головку стегнової кістки по її окружності: на межі з шийкою, по передній поверхні шийки і по верхні малого і великого вертлюга. Глибока артерія стегна віддавала гілку, яка прямувала догори у напрямку до малого вертлюгу. Від цієї гілки відходили бокові стовбурці,

які перфорували кістку по між вертлюжній лінії і утворювали анастомози з гілками медіальної згинаючої артерії стегнової кістки (рис. 3.3).



*Умовні позначки:* 1 – малий вертлюг; 2 – великий вертлюг; 3 – шийка стегнової кістки; 4 – отвори при входженні гілочок латеральної артерії.

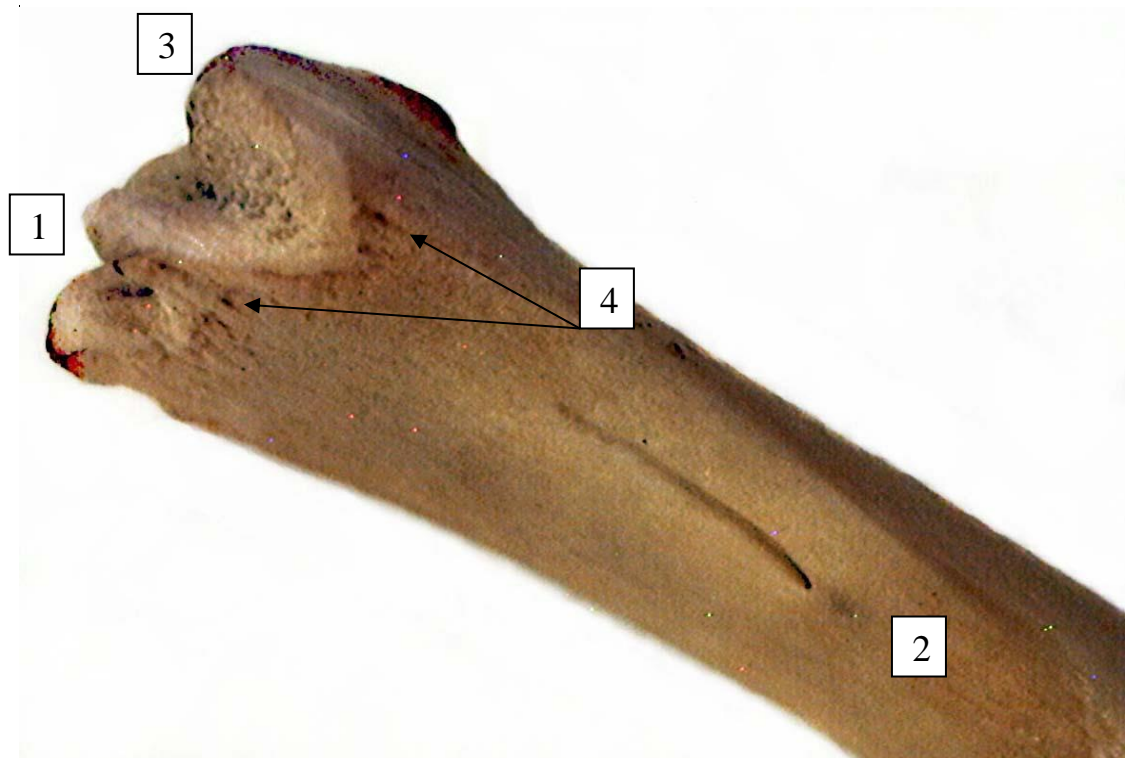
Рисунок 3.3 – Входження артеріальних гілочок 1 групи судин у стегнову кістку. Тотальний препарат

До 2 групи судин кровопостачаючих червоний кістковий мозок слід віднести артерії дистального відділу стегнової кістки. До передньої поверхні дистального відділу стегнової кістки відходили гілочки від медіальної верхньої колінної артерії у кількості від 4 до 5 стовбурців, які перфорували кістку на боковій поверхні медіального надвиростку в ділянці надколінної поверхні.

Латеральна верхня колінна артерія віддавала 2-3 стовбурця до задньої поверхні стегнової кістки у ділянці підколінної поверхні і в ділянці бокової поверхні латерального надвиростку. Від підколінної артерії відходили гілочки у напрямку підколінної поверхні та до надвиросткової ямки у кількості від 6 до 8 стовбурців (рис. 3.4).

До 3 групи судин кровопостачаючих червоний кістковий мозок, на нашу думку, слід віднести судини, які безпосередньо кровопостачають

стегнову кістку. В саму кістковомозкову порожнину стегнової кістки щурів проходило дві головні артерії. Одна через отвір який розташовувався у середній третині стегнової кістки, друга – через отвір у верхній третині її. Обидві артерії відходили з басейну глибокої артерії стегнової кістки. Верхня живильна артерія перфорувала навскіс компактний шар кістки, а в кістковомозковій порожнині діяфізу стегнової кістки мала висхідний напрямок і своїми розгалуженнями досягала губчастої речовини проксимального відділу стегнової кістки. Нижня живильна артерія по мірі входження в кістковомозкову порожнину мала низхідний напрямок. Її розгалуження сягали губчастої речовини дистального відділу стегнової кістки щурів.



*Умовні позначки:* 1 – медіальний надвиросток; 2 – дистальний відділ стегнової кістки; 3 – латеральний надвиросток; 4 – отвори при входженні гілочок латеральної верхньої колінної артерії.

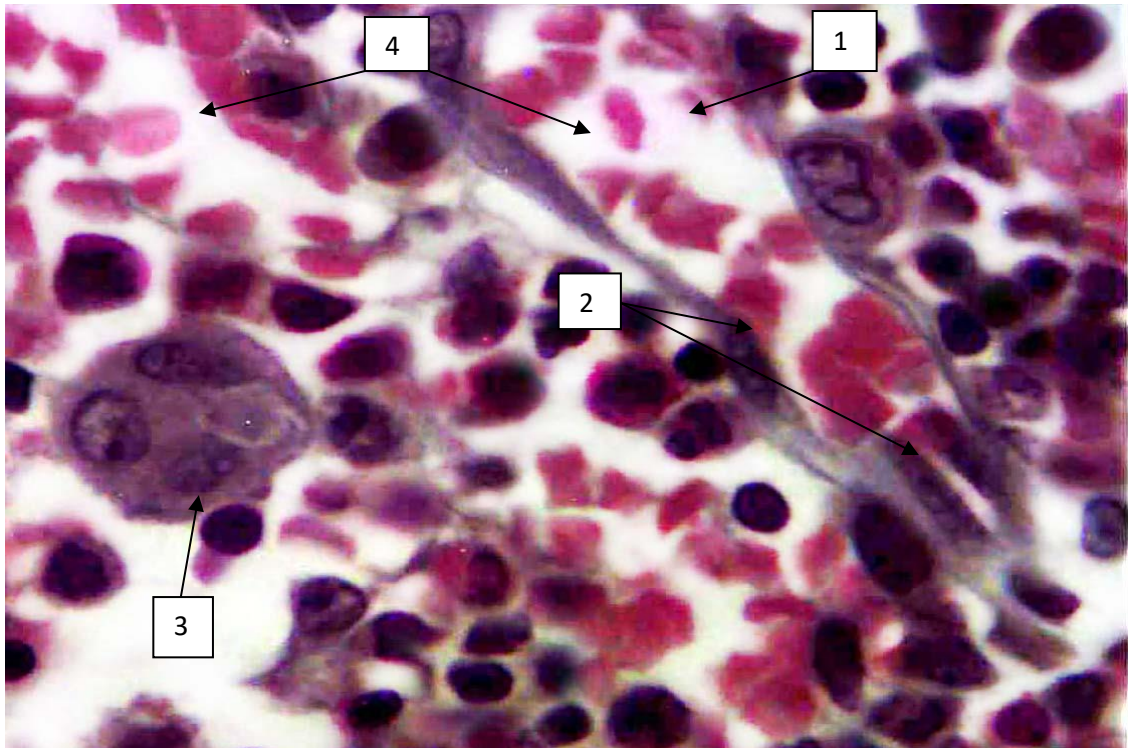
Рисунок 3.4 – Входження артеріальних гілочок 2 групи судин у стегнову кістку щурів інтактної групи. Тотальний препарат

До 4 групи судин, на нашу думку, слід віднести власні судини

червоного кісткового мозку стегнової кістки. Кількість артеріальних стовбурців, які безпосередньо кровозабезпечували червоний кістковий мозок проксимальних і дистальних відділів стегнової кістки, на корозійних препаратах і тотальних епоксидних шліфах, за середньою кількістю була значно меншою чим на зовні кістки. Визначено, що не усі зовнішні гілки проходили в губчасту речовину кістки, що, на нашу думку, пов'язано з особливостями розподілу артеріальних гілок і таким чином більша їх частина розташовувалась в компактній речовині стегнової кістки. Артеріальні гілочки які проникали в губчасту речовину в ділянках головки, шийки і апофізів стегнової кістки, а також в її дистальному відділі розташовувались дуже щільно до компактного шару. При вивчення корозійних препаратів звертає на себе увагу наявність термінальних розширень судинного русла у вигляді сітчастої структури. Характер цих сплетьень чітко був залежним від структури комірок губчастої речовини. На нашу думку, дані судинні утворення представляють собою не що інше як місця переходу артеріального судинного русла у венозне з утворенням венозних сплетьень. Ці сплетіння мали однотипову деревоподібну, розгалужену форму, а їх розташування відповідало розташуванню трабекул губчастої речовини стегнової кістки. Але нами не виявлено в групі власних судин червоного кісткового мозку стегнової кістки топографоанатомічних особливостей в окремих частинах стегнової кістки (епіфізах, метафазах, і апофізах) що потребує, на наш погляд, подальшого вивчення.

Артеріальні судини по мірі зменшення свого діаметру переходили в елементи ГМЦР до яких слід віднести: артеріоли, синусоїдні капіляри і венули. Оскільки червоний кістковий мозок це – високоваскуляризований орган, то його васкуляризація відбувається завдяки капілярній сітці. Гемомікроциркуляторні судини утворюють сітки, які заповнюють кістково-мозкові комірки і разом із ретикулярною тканиною формують мікрооточення червоного кісткового мозку. Артерії, стегнової кістки зменшуючи свій діаметр, переходять в артеріоли середній діаметр яких складає  $(18,24 \pm 0,29)$

мкм (рис. 3.5). Стінка артеріол утворена трьома оболонками, але підендотеліальний шар тонший, а внутрішня еластична мембрана різко стоншується і розташовується під базальною мембраною. Характерною особливістю цих судин є те, що в їх середній оболонці мало гладком'язових клітин, а зовнішня оболонка (адвентиція) дуже тонка (рис. 3.5).



*Умовні позначки:* 1 – просвіт артеріоли, 2 – ядро ендотеліональної клітини, 3 – мегакаріоцит, 4 – форменні елементи крові в просвіті судин.

Рисунок 3.5 – Артеріола ЧКМ інтактної групи тварин. Забарвлення гематоксилін і еозин. Збільшення: ок.:10; об.100 (масляна імерсія)

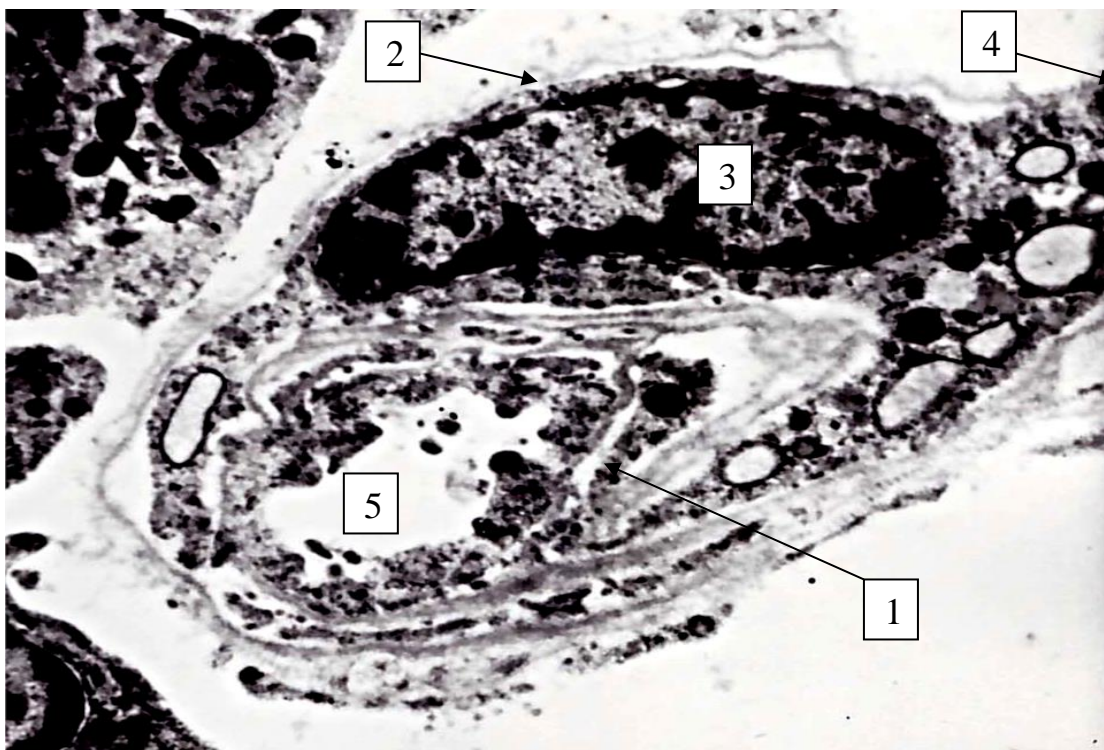
Середня оболонка артеріол утворена 1–2 шарами гладких міоцитів, які тісно контактують між собою і навіть за допомогою відростків, через пори у внутрішній еластичній мембрані, безпосередньо зв'язані з ендотеліоцитами. Зовнішня оболонка містить пухку волокнисту сполучну тканину – адвентицію, яка представлена адвентиційними клітинами, які тісно прилягають до стінки судини.

В результаті електронікроскопічного дослідження доведено, що адвентиційні клітини мають велике полігональне ніжно структуроване ядро



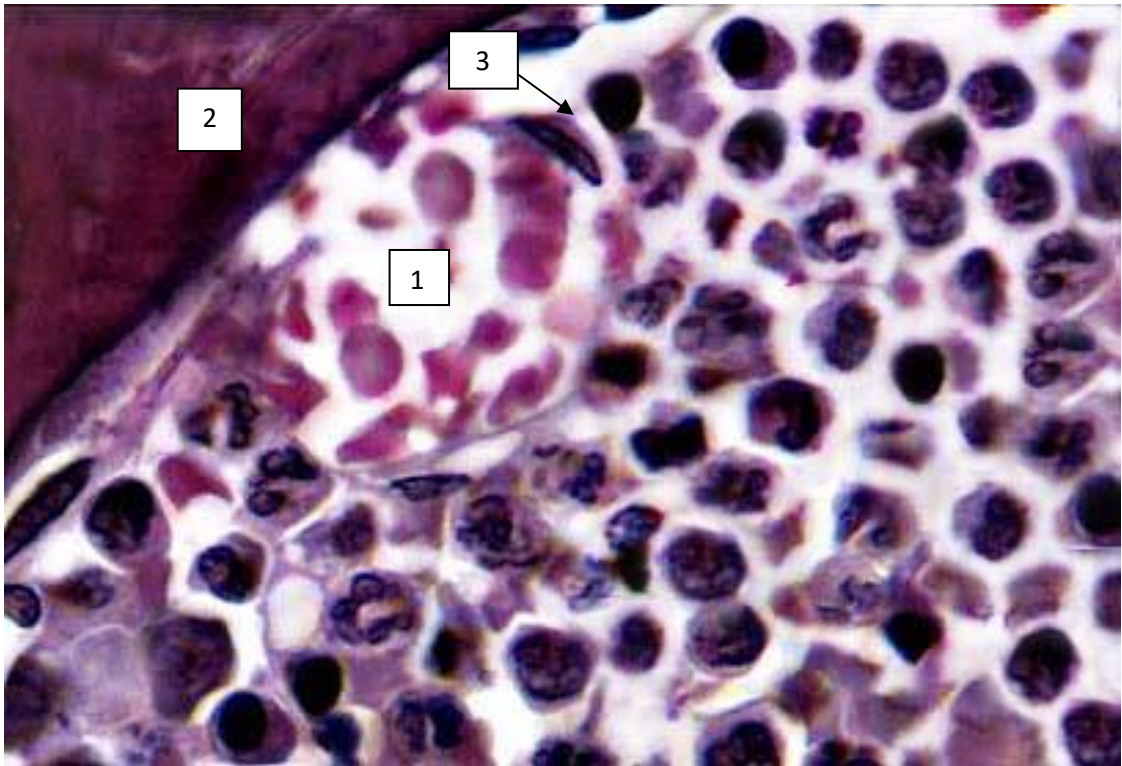
та слабо базофільну цитоплазму. Їх фіксування до судинної стінки здійснюється за допомогою вибіркової їм адгезії та тонких цитоплазматичних відростків, які огортають судину в різних напрямках.

За своїм подальшим ходом, в наслідок дихотомічних поділів, артеріоли утворювали капіляри, середній діаметр яких складав  $(28,13 \pm 0,49)$  мкм. В червоному кістковому мозку стегнової кістки щурів інтактної групи візуалізувались два типи капілярів: звичайні (капіляри які приймали участь у живленні), і функціональні (синусоїдні), які впадали в центральну вену. Синусоїдні капіляри розташовувались радіально, між ними розміщувалась кровотворна строма яка, в своїй більшій частині виявлялась поблизу з ендостом. За морфологічними ознаками синусоїдні капіляри червоного кісткового мозку фенестрованого типу. Їх стінка складається із трьох послідовних шарів: ендотеліальних клітин, базальної мембрани і адвентиції (рис. 3.6).



*Умовні позначки:* 1 – артеріола; 2 – адвентиційна клітина; 3 – ядро адвентиційної клітини; 4 – відростки адвентиційної клітини; 5 – просвіт артеріоли. Рисунок 3.6 – Атеріола ЧКМ інтактної групи тварин. Електронограма. Збільшення 8000

Характерною особливістю цих капілярів є те, що в їх середній оболонці мало гладком'язових клітин, а зовнішня оболонка (адвентиція) дуже тонка. Ендотелій утворює пори (фенестри), через які зрілі еритроцити залишають червоний кістковий мозок, з ендотеліальним прошарком синусоїдних капілярів тісно контактують макрофаги (рис. 3.7).



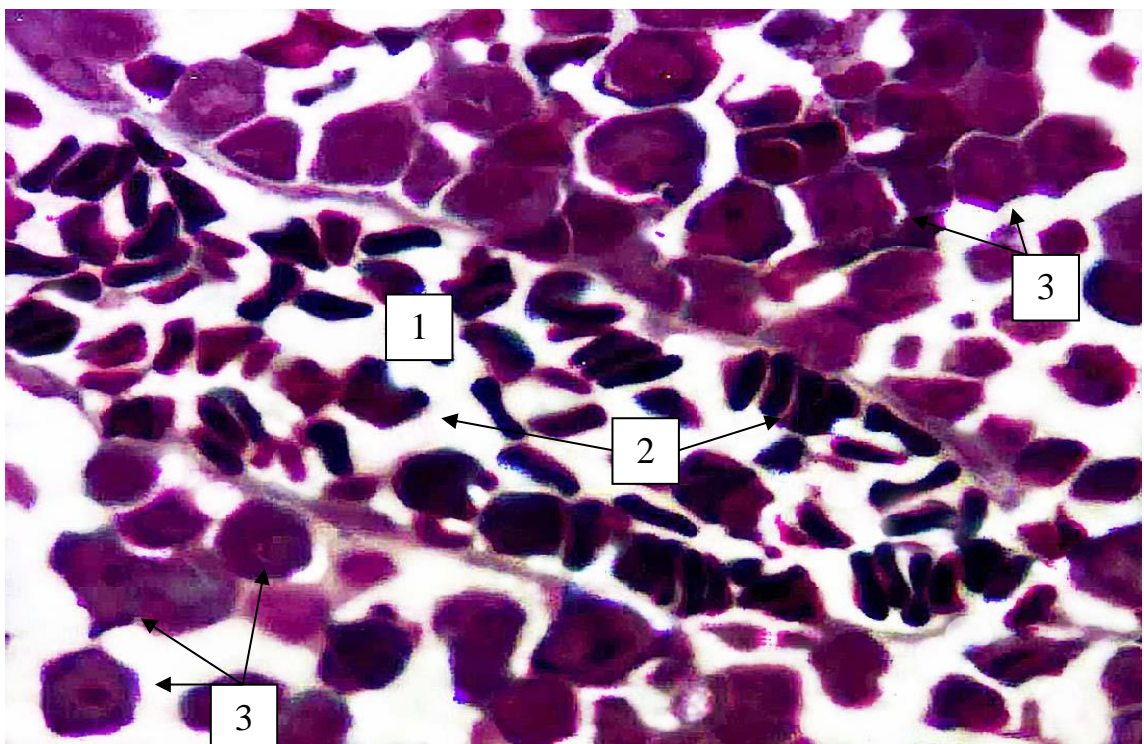
Умовні позначки: 1 – просвіт судини, 2 – кісткова пластинка, 3 – ядро ендотеліальної клітини.

Рисунок 3.7 – Капіляр синусоїдного типу ЧКМ щурів інтактної групи. Напівтонкий зріз. Забарвлення поліхромним барвником. Збільшення: ок.:10; об.100 (масляна імерсія)

На ультрамікроскопічному рівні синусоїдні капіляри виглядали по різному. В одних синусоїдах ендотеліальні клітини мали сплющену форму з довгими потоншеними відростками і овальним ядром, в якому чітко визначався конденсований хроматин. В їх цитоплазмі візуалізувалась невелика кількість мітохондрій, в стані функціонального спокою, практично однакові за розмірами пухирці, і електронно-щільні гранули та везикули овальної або витягнутої форми. У складі стінки, цього виду синусоїдів, визначалась тонка переривчаста базальна мембрана, в іншого виду синусоїдів

ядра ендотеліоцитів мали звивисті контури овальної форми і помірною конденсацією хроматину по периферії з чітко візуалізованим еухроматином. В їх цитоплазмі виявлялись мітохондрії, добре розвинений комплекс Гольджі та гранулярна ендоплазматична сітка. Необхідно відмітити, що в нормальних умовах синусоїдні капіляри червоного кісткового мозку непроникні для незрілих клітин крові. Ця вибіркова проникність, пов'язана зі специфікою хімічного складу і цитотопографії вуглеводних детермінант на поверхні зрілих та недостатньо диференційованих клітин. Дуже часто до синусоїдних капілярів прилягали мегакаріоцити, які своїми відростками проникали через пори та експортували тромбоцити безпосередньо в просвіт судин.

Венозний відділ ГМЦР інтактних щурів представлений широкими венулами середній діаметр яких складає  $(50,48 \pm 0,58)$  мкм. В результаті мікроскопічного дослідження було виявлено, що венули червоного кісткового мозку щурів інтактної групи іноді займали весь простір між кістковими балками. За своєю будовою стінка венул була дуже тонкою і представлена одним шаром ендотеліальних клітин, які розташовувались на базальній мембрані та закріплені із зовні ретикулярними волокнами строми червоного кісткового мозку (рис. 3.8).



*Умовні позначки:* 1 – просвіт венули; 2 – формені елементи крові у просвіті венули; 3 – клітинні елементи на різних стадіях дозрівання.

Рисунок 3.8 – Венула ЧКМ щурів інтактно́ї групи. Напівтонкий зріз.

Забарвлення поліхромним барвником. Збільшення: ок.:10; об.100 (масляна імерсія)

ГМЦР червоного кісткового мозку має різні пристосувальні засоби які створюють необхідні умови для перерозподілу крові, її депонування, потрапляння зрілих формених елементів у периферичну кров.

До таких пристосувань можна віднести наявність товстої м'язової та адвентиційної оболонки у артеріол, велику кількість венул, які мають дуже тонку стінку, наявність специфічних для червоного кісткового мозку синусоїдних капілярів.

### **3.2 Морфологія клітин еритробластного острівця червоного кісткового мозку інтактних щурів**

Червоний кістковий мозок стегнової кістки інтактних щурів на світлооптичному рівні мав вигляд скупчення клітин, як мієлоїдного так і лімфоїдного рядів. Усі ці клітинні елементи знаходились на різних стадіях диференціювання та розташовувались між ретикулярною тканиною, яка була представлена ретикулярними клітинами зірчастої форми.

Кісткова тканина утворювала кісткові трабекули, які мали різну орієнтацію у просторі, а в їх комірках розташовувався добре васкуляризований червоний кістковий мозок із синусоїдними гемокапілярами, середній діаметр яких складав  $(28,53 \pm 0,37)$  мкм.

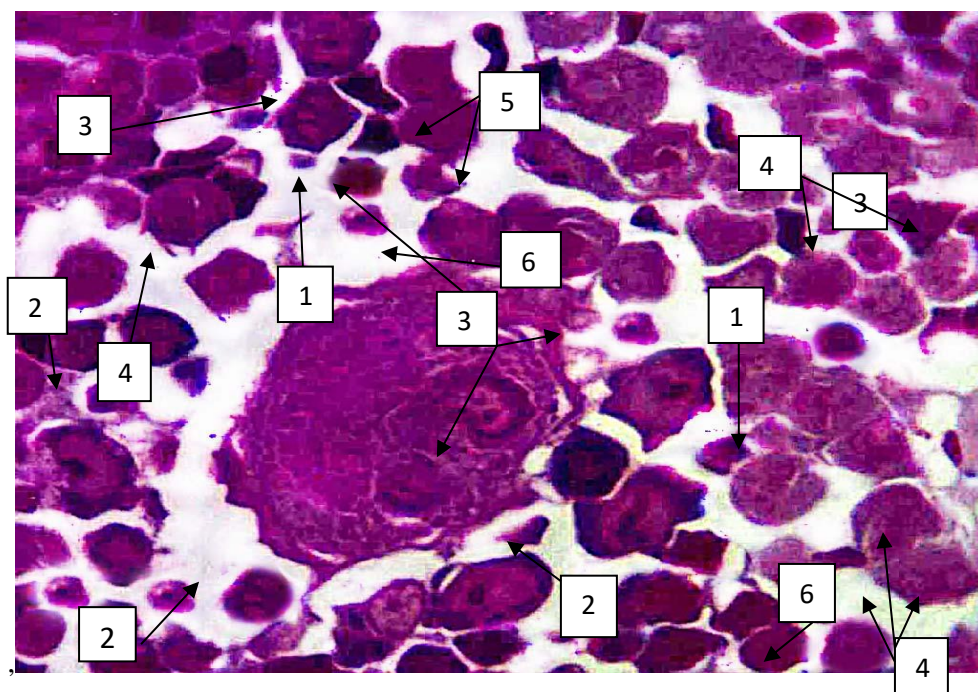
Синусоїдні гемокапіляри забезпечували проникнення зрілих клітин крові у загальний кровотік, їх стінка була утворена ендотеліоцитами, між якими візуалізувались пори через які відбувалось проникнення зрілих клітин мієлоїдного і лімфоїдного рядів. Кровотворення в червоному кістковому мозку щурів інтактно́ї групи, протікало в особливих багатоклітинних

структурах які по аналогії з червоним кістковим мозком людини ми назвали еритробластними острівцями (ЕО).

Еритробластні клітини розвивались із колонієутворюючої еритробластної клітини (КУО-Е), яка знаходилась в контакті з макрофагами червоного кісткового мозку.

Макрофаги в свою чергу відіграють роль своєрідних «годувальників» для еритробластів і сприяли накопиченню в безпосередній близькості від еритробластів і надходженню в них еритропоетину, вітамінів кровотворення (вітаміну D3), молекул феритину. Також макрофаги острівців фагоцитували ядра, виштовхнуті з еритробластів. По мірі дозрівання еритробластів вони відокремлювались від острівців і після видалення ядра (енуклеації) проникали через стінку синусоїдних капілярів у кровотік.

На нашу думку ЕО у щурів – це морфофункціональні одиниці гемопоезу (рис. 3.9). Останні в свою чергу складались із центрально розташованого макрофага та оточеного навколо нього на різних стадіях дозрівання клітин еритробластного ряду, а саме проеритробластів, базофільних, поліхроматофільних, ортохромних еритробластів, які утримуються в контакті з макрофагом за допомогою його рецепторів – сіалоадгезинів.



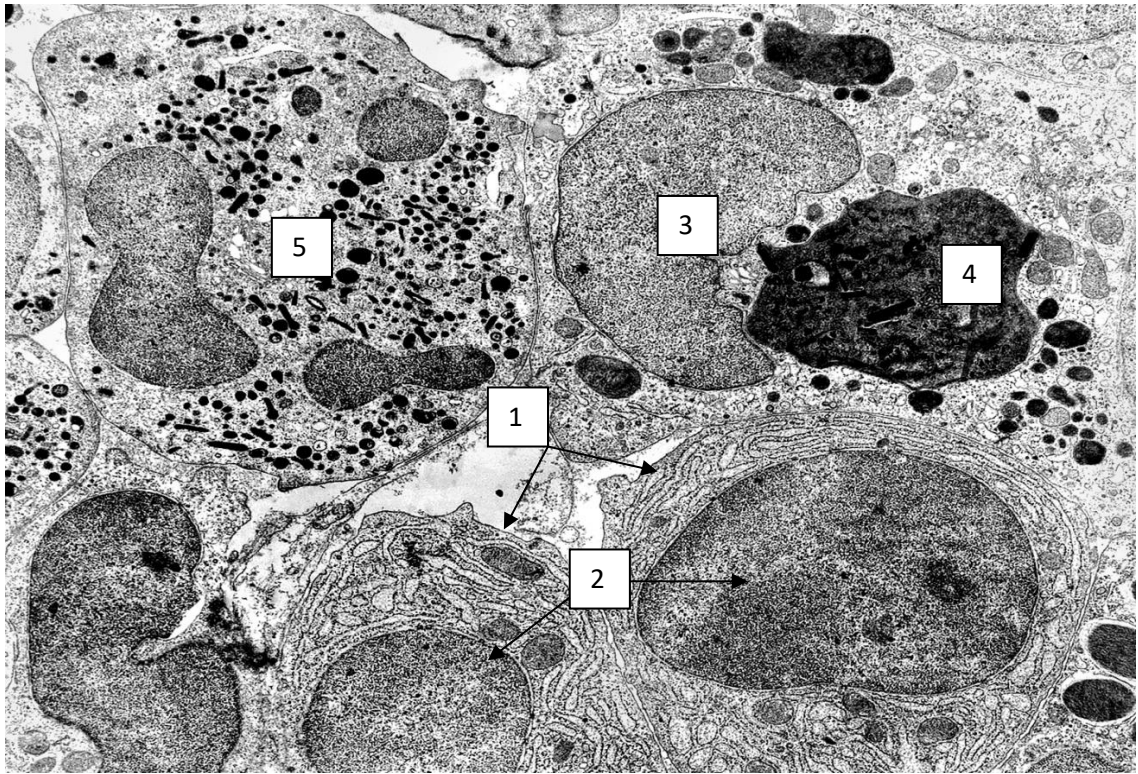
*Умовні позначки:* 1 – макрофаг, 2 – мегакаріоцит, 3 – проеритробласт, 4 – базофільний еритробласт, 5 – поліхроматофільний еритробласт, 6 – ортохромний еритробласт.

Рисунок 3.9 – ЧКМ інтактної групи щурів. Напівтонкий зріз. Забарвлення поліхромним барвником. Мікропрепарат. Збільшення.: ок.10, об.100

Макрофаги визначались, як правило, біля судин ГМЦР в центрі ЕО, вони були клітинами–нянями для еритробластів. Форма макрофагів була мінливою, їх межі при світловій мікроскопії на масляній імерсії і електронній мікроскопії не завжди чітко візуалізуються, через велику кількість пальцеподібних відростків, які відходять від клітини у різних напрямках.

Візуалізацію макрофагів ЕО полегшувало наявність в їх цитолемі великих за розмірами фагосом, гранулярної ендоплазматичної сітки, яка була слабо розвинутою, а цистерни комплексу Гольджі мали середні розміри. Також візуалізувалась велика кількість лізосом, які розташовувались або поблизу ядра, або під фагосомами, ядро макрофагів мало нерівний контур і ексцентричне розташування.

Одними із попередником клітин еритробластного ряду, є проеритробласти це перші морфологічно розпізнавані клітини ЕО, їх середній розмір становить  $(16,84 \pm 0,28)$  мкм. Вони мали центрально розташоване ядро, округлої форми діаметром  $(13,3 \pm 0,05)$  мкм і містили у своєму складі від 1 до 3 ядерця. Хроматин був ніжно–сітчастим, зернистим і на напівтонких зрізах забарвлювався в темний червоно-фіолетовий колір. Цитоплазма проеритробластів була інтенсивно базофільною, неоднорідною і містила темніші включення та оточувала ядро вузькою смужкою, а її середній діаметр складав  $(3,81 \pm 0,05)$  мкм (рис. 3.10). Навколо ядра інколи візуалізувалась світла зона, яка мала рожевий відтінок. Іноді проеритробласти візуалізувались по двом безпосередньо один біля одного, що свідчить про їх високу мітотичну активність.



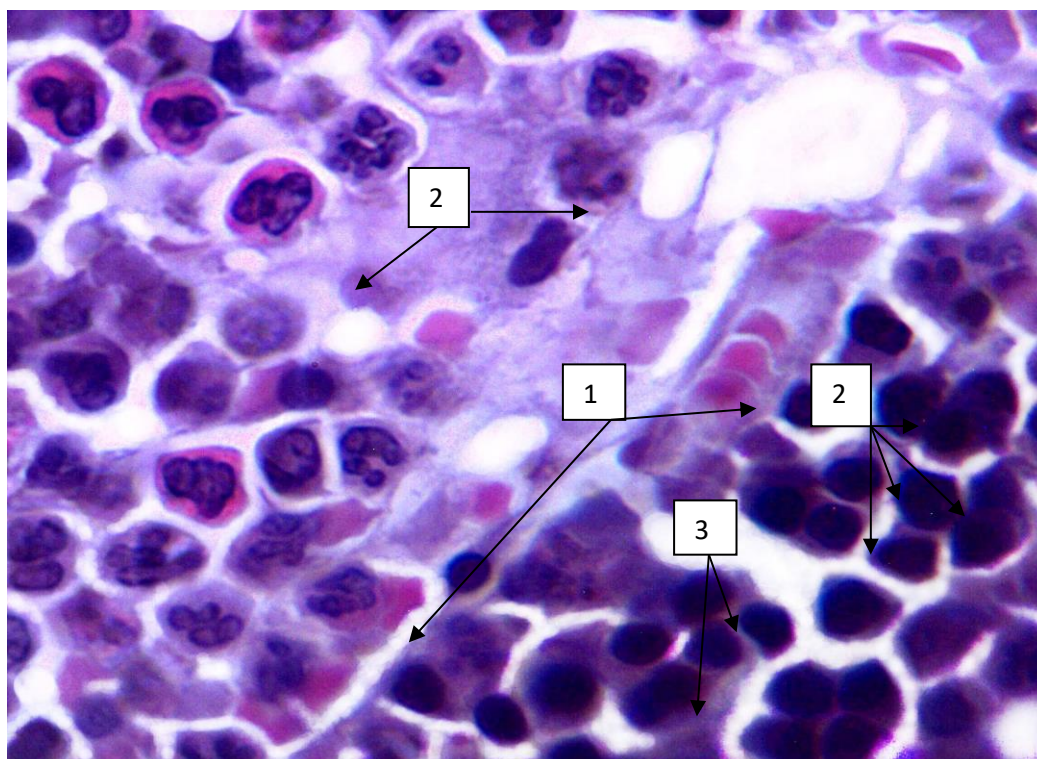
Умовні позначки: 1 – проеритробласти, 2 – ядра проеритроластів, 3 – ретикулоцит, 4 – пікнотизоване ядро ретикулоцита, 5 – нейтрофільний гранулоцит.

Рисунок 3.10 – Проеритробласт червоного кісткового мозку інтактної групи тварин. Електронограма. Збільшення 14000

Базофільні еритробласти становили менші розміри ніж проеритробласти –  $(11,32 \pm 0,84)$  мкм. Вони мали великі ядра округлої форми середній діаметр яких складав  $(6,48 \pm 0,77)$  мкм. Поряд з конденсованим хроматином визначався деконденсований, а ядерця були відсутні. В їх цитолемі присутня велика кількість полірибосом, візуалізувались елементи комплексу Гольджі і мітохондрії. Цитоплазма, при забарвленні поліхромним барвником, мала темно-синій колір, середній діаметр якої становить  $(4,84 \pm 0,27)$  мкм. У базофільних еритробластів розпочинався синтез гемоглобіну і накопичивши його певну кількість, шляхом мітозу, вони перетворювались в поліхроматофільні еритробласти.

Поліхроматофільні еритробласти мали розміри клітин близько  $(7,75 \pm 0,17)$  мкм (рис. 3.11). Ядро теж дрібніше, даметром  $(5,16 \pm 0,50)$  мкм, розташування хроматину нагадувало циферблат годинника і розташовувалось або по центру або ближче до периферії. Їх цитоплазма

змінювала забарвлення на рожево-блакитне, що пов'язано з процесами накопичення гемоглобіну, середній діаметр якої становить  $(2,59 \pm 0,04)$  мкм. При посиленому накопиченні гемоглобіну, ці попередники еритроцитів, після кожного поділу, зменшувались в розмірі, особливо це стосується ядер, паралельно з цим зменшувалась кількість і розміри мітохондрій, базофільні еритробласти перетворювались в ортохромні нормобласти.



*Умовні позначки:* 1 – просвіт судини, 2 – клітини еритробластного острівця, 3 – поліхроматофільний еритробласт.

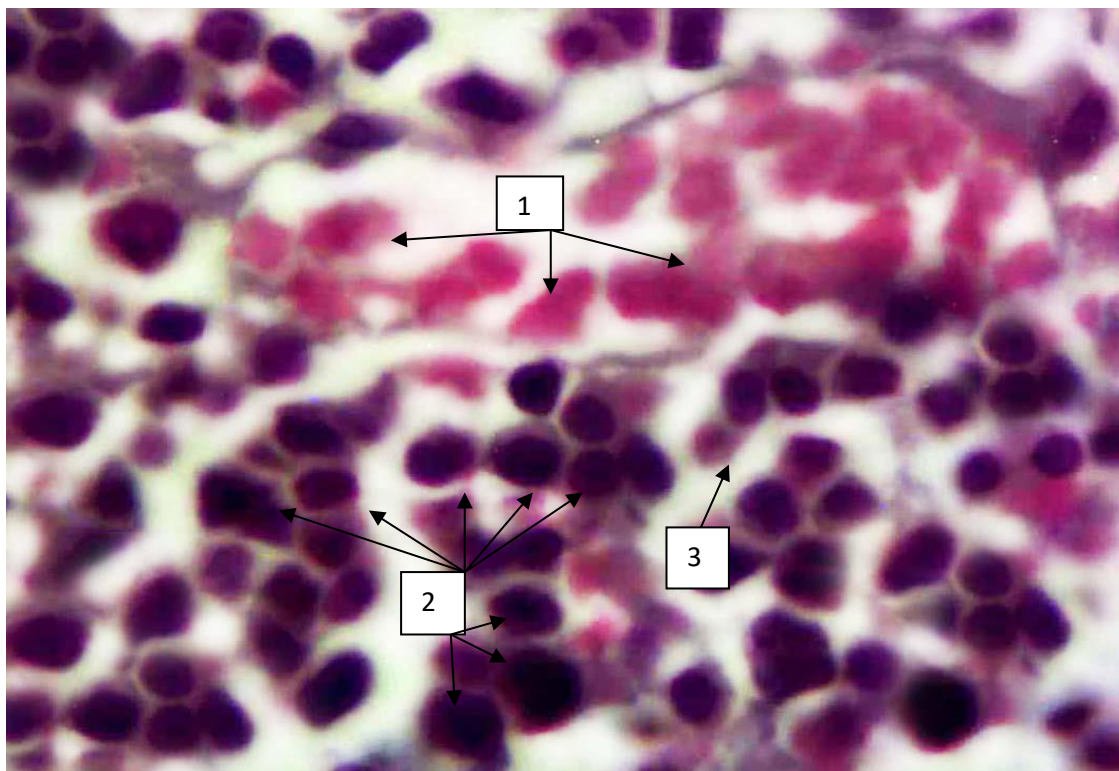
Рисунок 3.11 – ЧКМ інтактної групи щурів. Напівтонкий зріз. Забарвлення поліхромним барвником. Збільшення: ок.:10; об.100 (масляна імерсія)

Ортохромні еритробласти мали округлу форму середній діаметр яких складав  $(5,99 \pm 0,13)$  мкм. Ядро розміщене ексцентрично, хроматин розташовувався чітко у вигляді циферблата годинника із середнім діаметром  $(4,04 \pm 0,14)$  мкм. При мікроскопічному дослідженні, у деяких ортохромних еритробластів, спостерігався пікноз ядра з послідуєчим його виштовхуванням з цитоплазми, але виштовхнуте ядро було оточено широкою



смушкою цитоплазми. Ця картина нагадувала відокремлення двох дочірніх клітин у стадії телофази мітозу.

В їх цитоплазмі, яка має середній діаметр ( $1,95 \pm 0,05$ ) мкм, повністю відсутнє явище базofilії, а за кольоровою гамою цитоплазма оксифільного еритробласта була схожа з кольоровою гамою еритроцитів. Кількість рибосом зменшувалася, також виявлялися включення феритину у вигляді гранул різних за розміром (рис. 3.12).

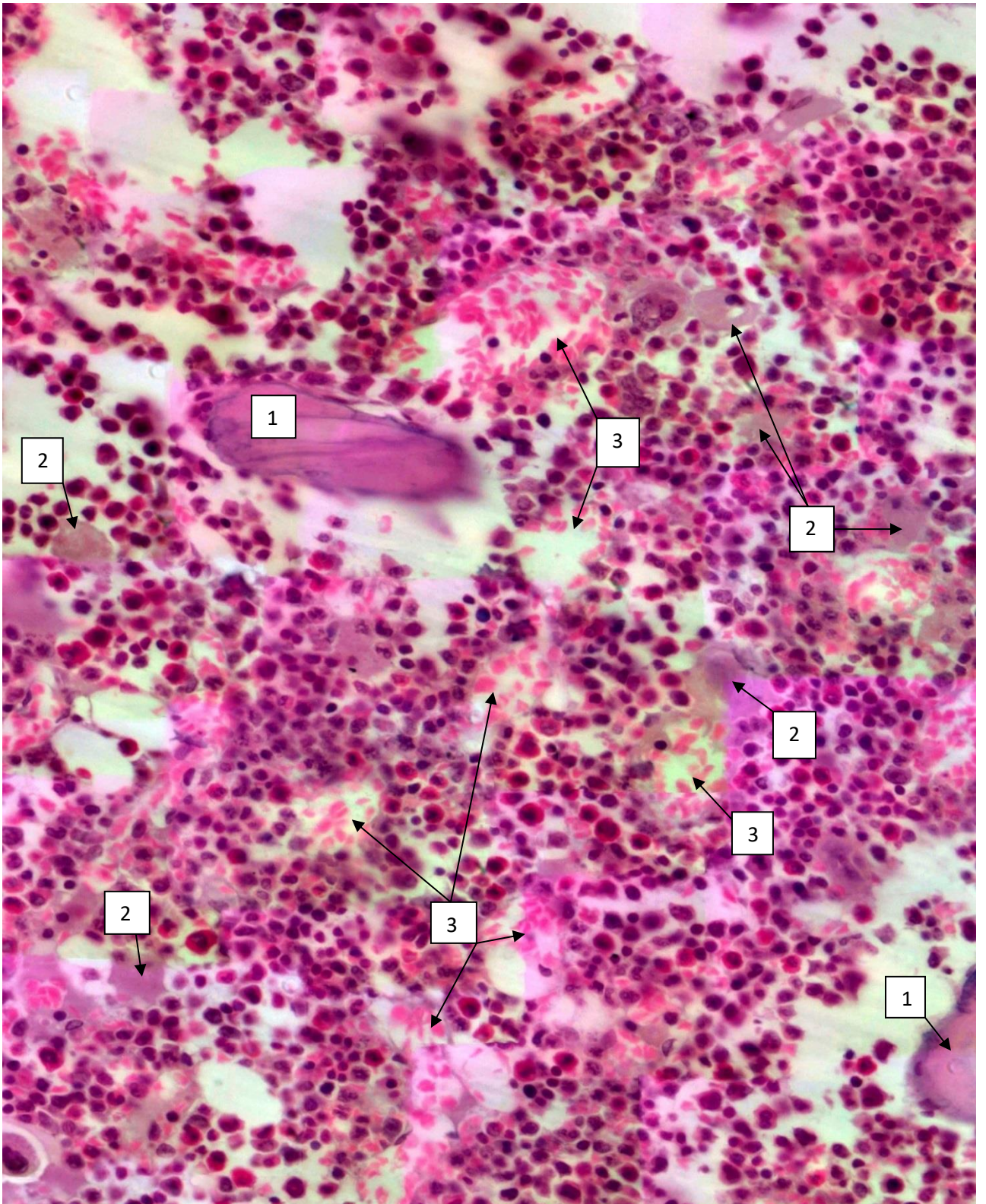


*Умовні позначки:* 1 – просвіт судини наповнений форменними елементами крові, 2 – еритробластний острівець, 3 – ортохромний еритробласт.

Рисунок 3.12 – ЧКМ інтактної групи тварин. Напівтонкий зріз. Забарвлення поліхромним барвником. Збільшення: ок.:10; об.100 (масляна імерсія)

### **3.3 Морфологічна характеристика кровотворного мікрооточення червоного кісткового мозку щурів інтактної групи**

Під кровотворним мікрооточенням червоного кісткового мозку розуміли сукупність локальних умов, які необхідні для підтримки кількісного та якісного складу клітин (рис. 3.13).



Умовні позначки: 1 – кісткова пластика, 2 – мегакаріоцит, 3 – судини.

Рисунок 3.13 – Двовимірна реконструкція ЧКМ з парафінового зрізу інтактної групи тварин. Забарвлення гематоксилін і еозином. Збільшення:

ок.:10; об.40

Диференціювання та проліферації кровотворних клітин, його морфологічним субстратом була строма, яка, окрім опорної функції, відповідала за міграцію, проліферацію та диференціювання клітин червоного кісткового мозку.

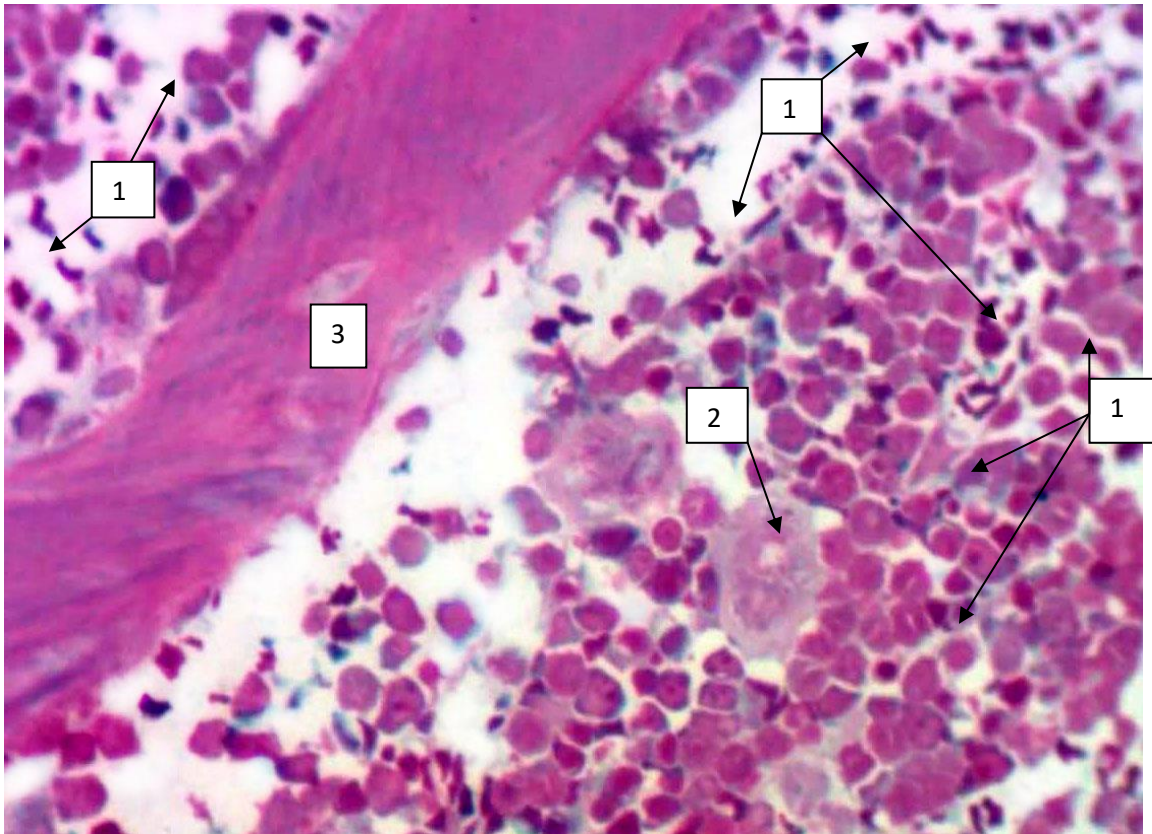
Трабекули губчастих кісток утворювали опору (грубу строму) для ретикулярної тканини, яка в свою чергу була каркасом (ніжною стромою) для гемопоетичних клітин – стовбурових, напівстовбурових, еритроцитарного, тромбоцитарного, гранулоцитарного, моноцитарного та лімфоцитарного рядів.

Трабекули – це динамічні структури, внутрішня поверхня компактного шару кістки, вони були вкриті ендостом, що представлений тонким фіброзним шаром, який важко відділити від строми червоного кісткового мозку.

Було встановлено, що стромальні клітини виділяли велику кількість специфічних регулюючих факторів, включаючи ростові фактори, без яких неможлива проліферація стовбурових клітин, подальша проліферація, диференціювання та функціонування їх нащадків.

До кровотворного мікрооточення червоного кісткового мозку відносять ретикулярні клітини, які завдяки своїй відростчатій формі утворювали ніжнопетлисту ретикулярну сітку, сітка доповнюється ретикулярними волокнами, які побудовані із колагену III типу, виконуючи механічну функцію. Приймають участь у секреції компонентів основної речовини, а саме преколагена, глікозаміногліканів, проеластину і мікрофібрилярного білка і утворювали кровотворне мікрооточення, специфічного для певних напрямків розвитку гемопоетичних клітин, виділяючи ростові фактори.

Клітинний склад ендосту представлений остеобластами, остеоцитами, ці клітини продукують ростові фактори, індукують гемопоетичні клітини до проліферації і диференціювання. Найбільш інтенсивно кровотворення відбувалося поблизу ендосту, де концентрація стовбурових клітин приблизно в три рази була більшою, ніж у центрі кісткомозкової порожнини (рис. 3.14).



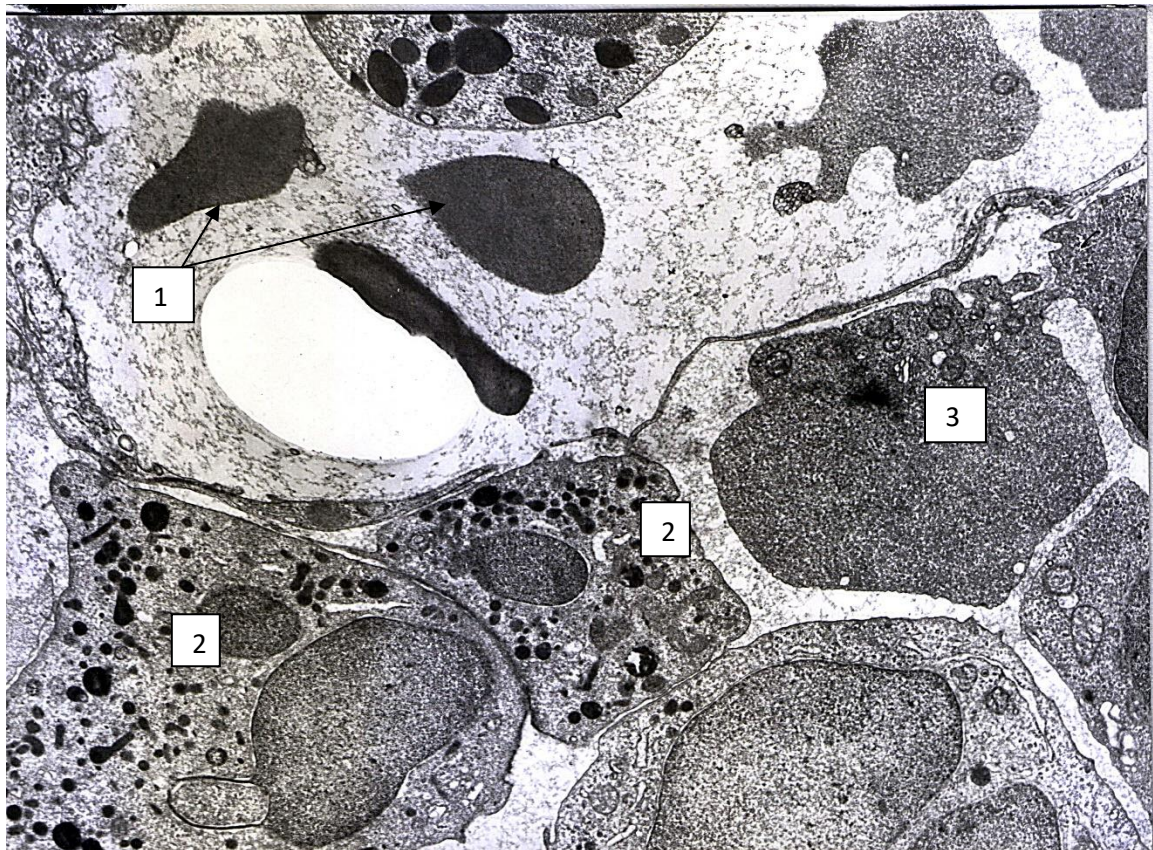
Умовні позначки: 1 – просвіт судин, 2 – мегакаріоцит, 3 – кісткова балка, 4 – гемопоетичні клітини.

Рисунок 3.14 Червоний кістковий мозок інтактної групи тварин. Забарвлення поліхромним барвником. Збільшення: ок.:10; об.40

До популяції малодиференційованих клітин, слід віднести адвентіційні клітини, які супроводжують кровоносні судини, покривають більше 50 % зовнішньої поверхні синусоїдних капілярів. Вони мали веретеноподібну або плоску форму, овальне ядро, слабо базофільну цитоплазму, і невелику кількість органел.

Під впливом гемопоетинів (еритропоетин) та інших факторів вони скорочувалися, що сприяє міграції клітин в кровотік, ці клітини в процесі диференціації перетворюються у адипоцити і фібробласти. Жирові клітини (адипоцити) є невід’ємним компонентом червоного кісткового мозку, форма адипоцита округла. Органели, а саме вільні рибосоми, мітохондрії, комплекс Гольджі та обидва типи ендоплазматичної сітки, розташовані навколо ядра.

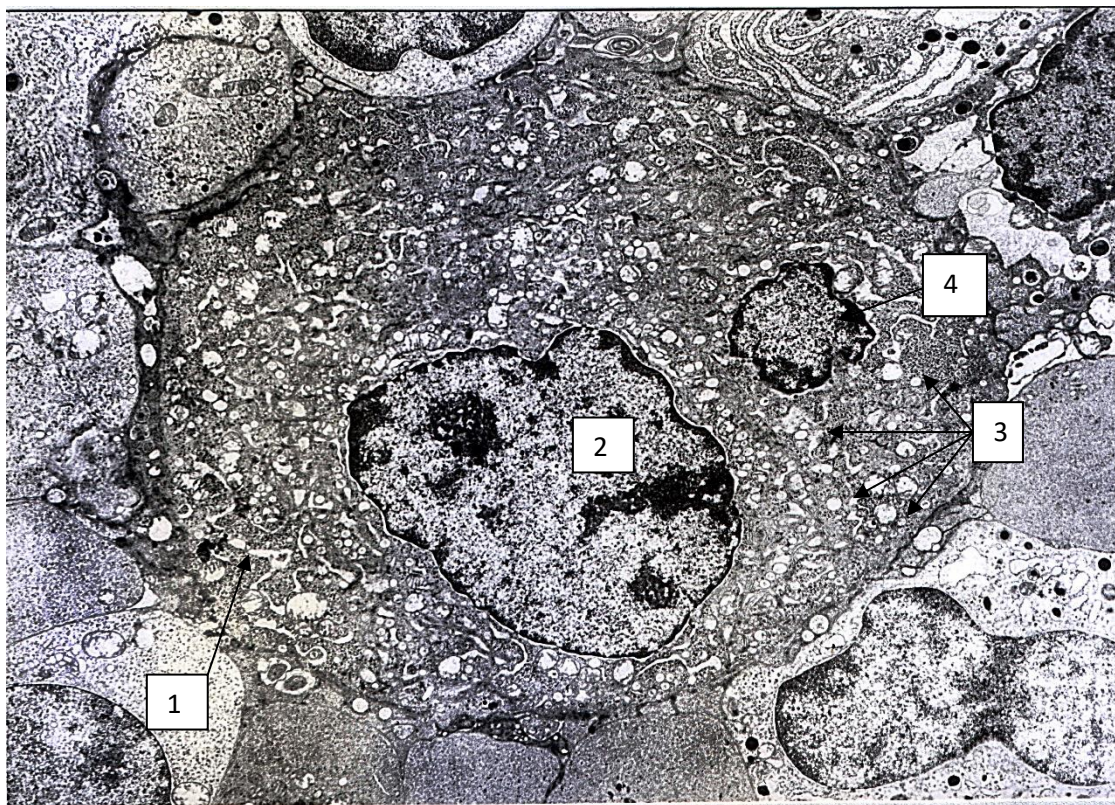
Одним із компонентом кровотворної стромы є ендотелій синусоїдів, який тісно взаємодіє із кровотворними клітинами завдяки переривчастій базальній мембрані (рис.3.15). Ендотеліоцити вистеляли внутрішню поверхню кровоносних судин органу, здатні синтезувати колаген IV типу та гемопоетини, виділяють колонієстимулюючі фактори (КСФ) і білок фібронектин, що забезпечує прилипання клітин один до одного і субстрату. Поблизу ендотелія проходила активна проліферація гемопоетичних клітин. Клітини ендотелія здатні до скорочувальних рухів, які сприяють виштовхуванню клітин крові до просвіту синусоїдного капіляра. Після проходження клітин в кровотік пори в ендотелії закриваються.



Умовні позначки: 1 – еритроцити в просвіті синусоїдного капіляра, 2 – гранулоцит, 3 – проеритробласт.

Рисунок 3.15 – Кровотворна строма червоного кісткового мозку інтактних щурів. Електронограма. Збільшення 14000

Макрофаги в червоному кістковому мозку представлені неоднорідними по структурі і функціональним властивостям клітинами, вони завжди багаті на лізосоми і фагосоми (рис.3.16).



Умовні позначки: 1 – макрофаг; 2 – ядро макрофага, 3 – лізосоми, 4 – фагоцитоване ядро.

Рисунок 3.16 – Макрофаг червоного кісткового мозку інтактного щура. Електроннограма. Збільшення 14000

Макрофаги за допомогою своїх відростків, що проникають через стінки синусів, уловлюють з кровотоку залізовмісні з'єднання (трансферин) і передають його дозріваючим еритробластним клітинам для побудови гемінових частини гемоглобіну.

Макрофаги еритробластних острівців фагоцитують ядра, які виштовхуються еритробластами при дозріванні. Всі ці структури, розвиваються в результаті дивергентного диференціювання стромальної стовбурової клітини, і відіграють роль кровотворного мікрооточення для клітин крові. Строма червоного кісткового мозку є джерелом сигналів, які

сприймаються мембранними рецепторами клітин, перетворюються при участі складних взаємодій клітинних органел і потрапляють в ядро, де відбувається запуск експресії генів, які необхідні для клітинної проліферації і диференціювання.

Важливість існування кровотворного мікрооточення обумовлена локалізацією постембріонального гемопоезу тільки в спеціалізованому кровотворному органі, а саме в червоному кістковому мозку.

### **3.4 Особливості лектиноспецифічності клітин еритробластного острівця червоного кісткового мозку інтактної групи тварин.**

При постановці лектинохімічних реакцій встановлено, що в нормі з лектином конкаваїліну, який специфічний до  $\alpha$ DMan,  $\alpha$ DGlc дуже сильної реакції зв'язування не відбувалось з жодною клітиною ЕО.

Сильну реакцію зв'язування встановлено на клітинних поверхнях макрофагів і проеритробластів. На клітинних поверхнях базофільних і поліхроматофільних еритробластів визначали помірну реакцію зв'язування, а на цитолемі ортохромних еритробластів була визначена слабка реакція зв'язування.

З лектином виноградного слимака, який специфічний до  $\alpha$ GalNAc дуже сильної реакції зв'язування не встановлено з жодними клітинами ЕО. Сильна реакція зв'язування була встановлена на клітинних поверхнях макрофагів і проеритробластів.

На клітинних поверхнях базофільних і поліхроматофільних еритробластів визначали помірну реакцію зв'язування, а на цитолемі ортохромних еритробластів була визначена слабка реакція зв'язування.

З лектином кори золотого дощу, який специфічний до Fuc ( $\text{Fuc}\alpha$ 1-2Gal $\beta$ 1-4Glc) встановили сильну реакцію зв'язування на клітинних поверхнях макрофагів і проеритробластів.

Помірну реакцію зв'язування визначали на цитолемі базофільних еритробластів, а на поверхнях поліхроматофільних і ортохромних еритробластів визначали слабку реакцію зв'язування (табл. 3.1).

Таблиця 3. 1 – Лектинохімічна характеристика клітин еритробластного острівця щурів в нормі

Лектини	Макрофаги	Клітини еритробластного острівця			
		ПЕ	БЕ	ПХЕ	ОЕ
Con A	3	3	2	2	1
HPA	3	3	2	2	1
LABA	3	3	2	1	1
PNA	3	3	3	2	1
SBA	3	3	3	2	1
SNA	2	2	2	1	0
VAA	2	2	2	1	0
WGA	4	4	3	3	2

З лектином арахісу який специфічний до (Gal $\beta$ 1-3GalNAc-) сильна реакція зв'язування була з вуглеводними залишками на клітинних поверхнях макрофагів, проеритробластів і базофільних еритробластів.

Помірну реакцію зв'язування визначали на цитолемі поліхроматофільних еритробластів, а слабку реакцію зв'язування визначали на клітинній поверхні ацидофільних еритробластів (рис. 3.17).

З лектином насіння сої, який специфічний до  $\alpha$ GalNAc виявляли таку ж реакцію зв'язування з вуглеводними залишками на клітинних поверхнях як і з лектином арахісу.

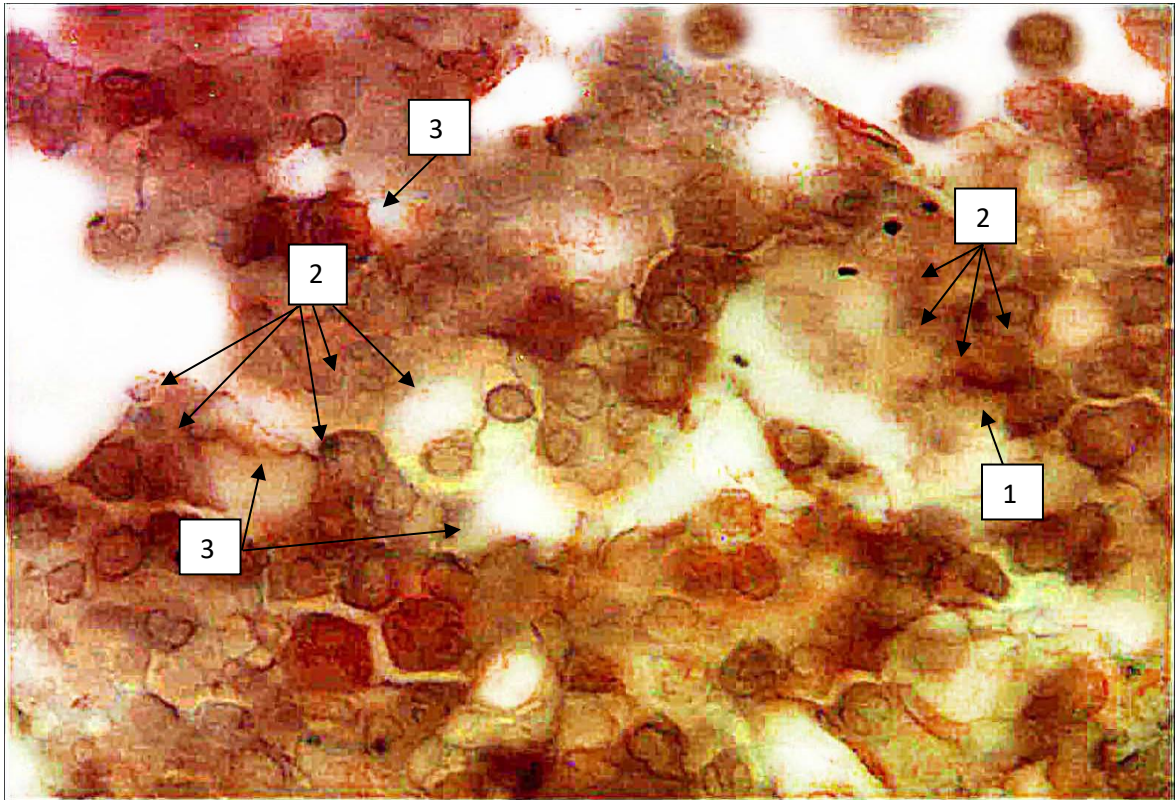
З лектином бузини чорної, який специфічний до NeuNAc( $\alpha$ 2-6)DGal /DGalNAc не виявлено сильної реакції зв'язування з вуглеводними залишками на жодній з клітинних поверхонь.

Слабка реакція зв'язування була встановлена на клітинних поверхнях макрофагів, проеритробластів, базофільних еритробластів.



Така ж картина зв'язувань визначалась і з лектином омели білої, який специфічний до  $\beta$ -D-Gal. З лектином зародків пшениці, який специфічний до NAcDGlc, NANA на відміну від вище описаних лектинів спостерігали дуже сильну реакцію зв'язування на клітинних поверхнях макрофагів і проеритробластів.

На клітинних поверхнях базофільних і поліхроматофільних еритробластів визначали сильну реакцію зв'язування.



Умовні позначки: 1 – макрофаги, 2 – клітини еритробластного острівця, 3 – кровотворна строма.

Рисунок 3.17 – Дуже сильна реакція зв'язування клітин еритробластного острівця червоного кісткового мозку стегнової кістки інтактних щурів з лектином WGA. Парафіновий зріз. Лектиногістохімічна реакція. Збільшення: ок.:10; об.100

Підсумовуючи можливо зробити висновок, що дуже сильну реакцію зв'язування спостерігали з лектином WGA на клітинних поверхнях

макрофагів, а також з лектином WGA на цитолемі проеритробластів еритробластного острівця.

Сильну реакцію на цей лектин було встановлено на базофільних та поліхроматофільних еритроблестах, а у ортохромних еритроблестах було встановлено помірно позитивну реакцію.

З лектином ConA, HPA, LABA, PNA, SBA була встановлена сильна реакція зв'язування на макрофагах та проеритроблестах, а також сильну реакцію встановлено на базофільних еритроблестах з лектинами PNA та SBA.

З лектинами Con A, HPA, LABA, SNA, VAA було відмічено сильну реакцію на клітинних поверхнях базофільних еритроблестах.

На поліхроматофільних еритроблестах було встановлена помірно позитивну реакцію з лектинами Con A, HPA, PNA, SBA.

Слабо позитивну реакцію зв'язування поліхроматофільні еритробласти мали з лектинами LABA, SNA, VAA. В ортохромних еритроблестах еритробластного острівця, була виявлена слабо позитивна реакція з лектинами Con A, HPA, LABA, PNA, SBA, а з лектинами SNA, VAA реакція була відсутня.

Таким чином, джерелом кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки щурів є: стегові артерії, що топографоанатомічно розташовувались внизу в передньому та присередньому відділах стегна; підколінні артерії, що залягали в підколінній ямці і розгалужувалися на передні і задні великогомілкові артерії.

Безпосередньо в кровопостачанні червоного кісткового мозку брали участь судини, які розділені на декілька груп: судини проксимального епіфізу стегнової кістки; судини дистального епіфізу стегнової кістки; судини, які безпосередньо кровопостачали стегову кістку; власні судини червоного кісткового мозку стегнової кістки.

Після проведення ряду досліджень слід зробити висновок, що морфологічна організація еритробластного острівця червоного кісткового

мозку інтактних щурів відповідала загальним закономірностям структурно–функціональної організації органу.

Встановлено, що червоний кістковий мозок інтактних щурів складається із стромального, судинного та клітинного компонентів.

Стромальний компонент представлений кістковими пластинками та ретикулярною тканиною.

Судинний компонент складався з капілярів соматичного і синусоїдного типу.

Клітини еритробластного острівця представлені: проеритробластами, базофільними поліхроматофільними та ортохромними еритробластами.

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІХ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

На основі проведеного комплексного топографоанатомічного і морфологічного дослідження з використанням сучасних адекватних методів дослідження встановлено, що кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки інтактних щурів має свої певні особливості і декілька джерел. Так у щурів джерелом кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки є артерії нижніх кінцівок з басейну яких відходять: стегові артерії які топографоанатомічно розташовуються внизу в передньому та присередньому відділах стегна; підколінні артерії, що залягали в підколінній ямці і розгалужувались на передні і задні великогомілкові артерії, котрі в свою чергу кровопостачали колінний суглоб, гомілку і прямували донизу. Ці дані опосередковано підтверджені [9].

Відповідно до проведеного дослідження у кровопостачанні червоного кісткового мозку стегнової кістки у щурів безпосередньо беруть участь судини, які нами розділені на декілька груп:

1. Судини проксимального відділу стегнової кістки;
2. Судини дистального відділу стегнової кістки;
3. Судини, які безпосередньо кровопостачають стегову кістку;
4. Власні судини червоного кісткового мозку стегнової кістки.

Артерії, які у щурів прямували до проксимального відділу стегнової кістки і належали до 1 групи судин, як основні джерела кровопостачання червоного кісткового мозку і чітко розділялись на передню і задню групи. До задньої поверхні прямували гілки від медіальної і латеральної артерій, які огинали стегову кістку. Медіальна артерія, що огинала стегову кістку розташовувалась поблизу нижнього краю міжвертлужного гребеня від якої у напрямку головки стегнової кістки відходило 6–8 гілочок. Ці гілочки перфорували: головку стегнової кістки по її окружності на межі з шийкою,

верхню і задню поверхню шийки стегнової кістки, по поверхні великого і малого вертлюгів, а також повздовж міжвертлужного гребеня.

Латеральна артерія, яка огинала стегнову кістку прямувала до передньої поверхні її проксимального відділу. Її гілочки в кількості від 6 до 10 стовбурців проходили в головку стегнової кістки по її окружності: на межі з шийкою, по передній поверхні шийки і по поверхні малого і великого вертлюга.

Глибока артерія стегна віддавала гілку, яка прямувала догори у напрямку до малого вертлюгу. Від цієї гілки відходили бокові стовбурці, які перфорували кістку по вертлюжній лінії і утворювали анастомози з гілками медіальної згинаючої артерії стегнової кістки.

До 2 групи судин кровопостачаючих червоний кістковий мозок слід віднести артерії дистального відділу стегнової кістки. До передньої поверхні дистального відділу стегнової кістки відходили гілочки від медіальної верхньої колінної артерії у кількості від 4 до 5 стовбурців, які перфорували кістку на боковій поверхні медіального надвиростку в ділянці надколінної поверхні. Латеральна верхня колінна артерія віддавала 2–3 стовбурця до задньої поверхні стегнової кістки у ділянці підколінної поверхні і в ділянці бокової поверхні латерального надвиростку. Від підколінної артерії відходили гілочки у напрямку підколінної поверхні та до надвиросткової ямки у кількості від 6 до 8 стовбурців.

До 3 групи судин кровопостачаючих червоний кістковий мозок, на нашу думку, слід віднести судини, які безпосередньо кровопостачають стегнову кістку. В саму кістковомозкову порожнину стегнової кістки щурів проходило дві головні артерії. Одна через отвір який розташовувався у середній третині стегнової кістки, друга – через отвір у верхній третині її. Обидві артерії відходили з басейну глибокої артерії стегнової кістки. Верхня живильна артерія перфорувала навскіс компактний шар кістки, а в кістковомозковій порожнині діафізу стегнової кістки мала визхідний напрямок і своїми розгалуженнями досягала губчастої речовини

проксимального відділу стегнової кістки. Нижня живильна артерія по мірі входження в кістковомозкову порожнину мала низхідний напрямок. Її розгалуження сягали губчастої речовини дистального відділу стегнової кістки щурів.

До 4 групи судин, на нашу думку, слід віднести власні судини червоного кісткового мозку стегнової кістки. Кількість артеріальних стовбурців, які безпосередньо кровозабезпечували червоний кістковий мозок проксимальних і дистальних відділів стегнової кістки, на корозійних препаратах і тотальних епоксидних шліфах, за середньою кількістю була значно меншою чим на зовні кістки. Визначено, що не усі зовнішні гілки проходили в губчасту речовину кістки, що на нашу думку пов'язано з особливостями розподілу артеріальних гілок і таким чином більша їх частина розташовувалась в компактній речовині стегнової кістки. Артеріальні гілочки які проникали в губчасту речовину в ділянках головки, шийки і апофізів стегнової кістки, а також в її дистальному відділі розташовувались дуже щільно до компактного шару. При вивченні корозійних препаратів звертає на себе увагу наявність термінальних розширень судинного русла у вигляді сітчастої структури. Характер цих сплетень чітко був залежним від структури комірок губчастої речовини. На нашу думку дані судинні утворення представляють собою не що інше як місця переходу артеріального судинного русла у венозне з утворенням венозних сплетень. Ці сплетіння мали однотипову деревоподібну, розгалужену форму, а їх розташування відповідало розташуванню трабекул губчастої речовини стегнової кістки. Але нами не виявлено в групі власних судин червоного кісткового мозку стегнової кістки топографоанатомічних особливостей в окремих частинах стегнової кістки (епіфізах, метафізах, і апофізах) що потребує на наш погляд подальшого вивчення.

Морфологічно встановлено, що червоний кістковий мозок інтактних щурів складався із строми, яка представлена кістковими пластинками і ретикулярною тканиною, в якій розміщувалася велика кількість судин, в

основному синусоїдні капіляри без базальної мембрани але з порами в ендотелії. Еритробластний острівець червоного кісткового мозку був представлений еритробластними острівцями, до складу яких входили клітини еритробластного ряду, на різних стадіях диференціювання, які розташовувались навколо макрофагів [17, 70].

В результаті дослідження визначено, що до морфологічно ідентифікованих клітин еритробластного ряду належать: проеритробласти, базофільні, поліхроматофільні та ортохромні еритробласти. До компонентів ГМЦР, які приймали участь у кровозабезпеченні червоного кісткового мозку відносяться: артеріоли, власні капіляри, синусоїдні капіляри і венули, що відповідає даним [8, 19, 20].

Після проведення морфологічних досліджень встановлено, що середня кількість еритробластних острівців червоного кісткового мозку щурів складала  $2,48 \pm 0,33$  у 10 полях зору. Середня кількість макрофагів, за якими визначався еритробластний становила  $2,61 \pm 0,38$  у 10 полях зору, що за даними нашого дослідження відповідає середній кількості еритробластних острівців і знаходиться в межах статистичної помилки при  $p < 0,05$ .

Навколо макрофагів візуалізувались: проеритробласти середня кількість яких в острівці складала  $1,82 \pm 0,17$ , їх середній діаметр становив  $(16,84 \pm 0,03)$  мкм, середній діаметр цитоплазми складав  $(3,81 \pm 0,05)$  мкм, а середні розміри діаметра ядра відповідали значенню  $(13,03 \pm 0,14)$  мкм; базофільні еритробласти середня кількість яких в острівці складала  $7,06 \pm 0,54$ , їх середній діаметр становив  $(11,32 \pm 0,02)$  мкм, середній діаметр цитоплазми складав  $(4,84 \pm 0,27)$  мкм, а середні розміри діаметра ядра відповідали значенню  $(6,48 \pm 0,77)$  мкм; поліхроматофільні еритробласти середня кількість яких в острівці складала  $18,57 \pm 0,89$ , їх середній діаметр становив  $(7,75 \pm 0,03)$  мкм, середній діаметр цитоплазми складав  $(2,59 \pm 0,14)$  мкм, а середні розміри діаметра ядра відповідали значенню  $(5,16 \pm 0,53)$  мкм; ортохромні еритробласти середня кількість яких в острівці складала  $1,14 \pm 0,22$ , їх середній діаметр становив  $(5,99 \pm 0,15)$  мкм, середній діаметр

цитоплазми складав ( $1,95 \pm 0,05$ ) мкм, а середні розміри діаметра ядра відповідали значенню ( $4,04 \pm 0,14$ ) мкм;

Проаналізувавши морфометричні дані щодо середньої кількості клітинних елементів еритробластного ряду визначено, що у червоному кістковому мозку інтактних щурів середня кількість еритробластних клітин складала 28 % від загальної кількості ядровмістних клітин. Середня кількість проеритробластів становила 6,1 %, базофільних еритробластів 13,8 %, поліхроматофільних еритробластів 75,7 % і ортохромних еритробластів 4,4 %. Середні розміри еритроїдних клітин по мірі їх дозрівання мали достовірну тенденцію до зменшення. Так, базофільні еритроцити порівняно з проеритробластами зменшувались у своєму діаметрі в 1,49 рази, поліхроматофільні еритробласти порівняно з базофільними в 1,46 рази, а ортохромні порівняно з поліхроматофільними в 1,29 рази. Тобто по мірі дозрівання клітин еритробластного ряду від проеритробластів до оксифільних еритробластів їх середній діаметр зменшувався в 2,81 рази.

Середні діаметри просвітів компонентів ГМЦР червоного кісткового мозку щурів інтактною групи становив: для артеріол – ( $18,47 \pm 1,06$ ) мкм; для соматичних капілярів – ( $3,71 \pm 0,98$ ) мкм; для синусоїдних капілярів – ( $28,53 \pm 2,37$ ) мкм; для венул – ( $50,97 \pm 3,28$ ) мкм.

Таким чином, середній діаметр соматичних капілярів був меншим за аналогічний показник для синусоїдних капілярів у 7,69 рази, що свідчить про їх різне функціональне значення.

Відповідно до даних Г.І. Кизинца (2004) клітини еритропоезу розмножуються дуже інтенсивно. В нормі за добу в червоному кістковому мозку утворюється приблизно  $2 \times 10^{11}$  еритробластних клітин. Комітовані еритробласні попередники з моменту утворення з плюріпотентної стовбурової клітини проходять від 5 до 10 ділень. За нашими даними з морфологічно ідентифікованих клітин здатні проліферувати проеритробласти, базофільні, поліхроматофільні і ортохромні еритробласти.



Однак автор вказує, що на даному етапі функціонування еритробластного острівця проходить від 3 до 7 поділів і кількість поділів залежить від функціонального стану організму і може бути зміненим.

Таким чином наше дослідження розширює уявлення на процес утворення зрілих еритроцитів. Так, в групі інтактних тварин, в процесі утворення ортохромних еритробластів від проеритробластів відбуваються їх кількісні зміни. Якщо середня кількість проеритробластів еритробластного острівця у інтактних тварин складала  $1,82 \pm 0,17$  то середня кількість базофільних еритробластів налічувала  $6,94 \pm 0,54$ , що більше у 3,81 рази і свідчить, що проеритробласти на шляху до базофільних еритробластів походять майже 4 мітотичних поділів.

Під час утворення поліхроматофільних еритробластів середня кількість яких складала  $13,81 \pm 0,89$  з базофільних еритробластів середня кількість яких налічувала  $6,94 \pm 0,54$  відбувалось майже 2 мітотичних поділи, а уже з поліхроматофільних еритробластів утворюється  $1,06 \pm 0,22$  ортохромних еритробластів. Таким чином, кількість ортохромних еритробластів зменшується в 12 разів, що свідчить, що на шляху від проеритробласта до ортохромного еритробласта не з кожного попередника утворюється кінцевий еритробласт.

У такому випадку ми підтримуємо думку [233], не з кожного проеритробласта в результаті поетапного диференціювання утворюється ортохромний еритробласт.

В цілому за результатами нашого дослідження диференціювання і дозрівання еритроїдних клітин починаючи з проеритробластів до ортохромних еритробластів проходить, в середньому, 7 діб.

Враховуючи таку динаміку мітотичних поділів морфологічно ідентифікованих клітин еритробластного ряду можливо стверджувати, що еритробластний острівець в процесі диференціювання і дозрівання є структурою, яка найбільш інтенсивно ділиться.

При проведенні лектинохімічного дослідження встановлено, що в групі інтактних тварин дуже сильна реакція зв'язування відбувалася з лектином WGA на клітинних поверхнях макрофагів, а також з лектином WGA на цитолемі проеритробластів.

Сильну реакцію на цей лектин було встановлено на базофільних та поліхроматофільних еритроблестах, а у ортохромних еритроблестах було встановлено помірно позитивну реакцію. З лектином ConA, HPA, LABA, PNA, SBA встановлена сильна реакція зв'язування на макрофагах та проеритроблестах, а також сильну реакцію встановлено на базофільних еритроблестах з лектинами PNA та SBA. З лектинами Con A, HPA, LABA, SNA, VAA було відмічено сильну реакцію на клітинних поверхнях базофільних еритроблестах.

На поліхроматофільних еритроблестах було встановлено помірно позитивну реакцію з лектинами Con A, HPA, PNA, SBA. Слабо позитивну реакцію зв'язування поліхроматофільні еритробласти мали з лектинами LABA, SNA, VAA. В ортохромних еритроблестах еритробластного острівця, була виявлена слабо позитивна реакція з лектинами Con A, HPA, LABA, PNA, SBA, а з лектинами SNA, VAA реакція була відсутня.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання, яке полягає у встановленні особливостей анатомічних, гістологічних і морфометричних змін структурних компонентів еритробластного острівця червоного кісткового мозку щурів у нормі.

1. Джерелом кровопостачання червоного кісткового мозку стегнової кістки щурів є артерії задніх лапок, від яких відходили: стегові артерії, що топографоанатомічно розташовувались внизу в передньому та присередньому відділах стегна; підколінні артерії, що залягали в підколінній ямці і розгалужувалися на передні і задні великогомілкові артерії. Безпосередньо в кровопостачанні червоного кісткового мозку брали участь судини, які розділені на декілька груп: судини проксимального епіфізу стегнової кістки; судини дистального епіфізу стегнової кістки; судини, які безпосередньо кровопостачали стегову кістку; власні судини червоного кісткового мозку стегнової кістки.

2. Морфологічна організація еритробластного острівця червоного кісткового мозку інтактних щурів на макроскопічному, мікроскопічному, електронікроскопічному рівнях відповідала загальним закономірностям структурно-функціональної організації органу. Встановлено, що червоний кістковий мозок інтактних щурів складається із стромального, судинного та клітинного компонентів. Стромальний компонент представлений кістковими пластинками та ретикулярною тканиною. Судинний компонент складався з капілярів соматичного і синусоїдного типу. Клітини еритробластного острівця представлені: проеритробластами, середня кількість яких становила  $1,82 \pm 0,17$ , базофільними еритробластами –  $6,94 \pm 0,54$ , поліхроматофільними еритробластами –  $13,81 \pm 0,89$  та ортохромними еритробластами –  $1,06 \pm 0,22$  в полі зору.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Дячук ДД. Щодо захворюваності дорослого населення України на неінфекційні хвороби. Вісн. соц. гігієни та орг. охорони здоров'я України. 2011;1:19-23.
2. Новак ВЛ. Стан та перспективи розвитку гематології в Україні. Гематологія і переливання крові. 2014;37:9-16.]
3. Nebesna ZM. Morphological bases of structural organization of red bone marrow for experimental studies. World of medicine and biology. 2017;3(61):173-177.
4. Popadynets' OG. Medical and social problem of gematologic diseases of Ukrainian population. World of medicine and biology. 2017; 3(61): 181-185.
5. Ritsatakis A, Makara P. Gaining health. Analysis of policy development in European countries for tackling noncommunicable diseases [Internet]. Copenhagen, 2011. 265 p. [cited Feb. 7, 2017] Available from: [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0018/105318/e92828.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0018/105318/e92828.pdf)
6. Шушпанов Д. Здоров'я населення регіону в умовах реформування системи охорони здоров'я. Регіональні аспекти розвитку продуктивних сил України. 2017;8:148-56.
7. Lin W, Hsuan YC, Su Y, Lin C, Lin M, Chen Z, Lin K. CD34-human placenta-derived mesenchymal stem cells protect against heat stroke mortality in rats. Oncotarget. 2018;9(2):1992-2001.
8. Луцик ОД, Іванова АЙ, Кабак КС, Чайковський ЮБ. Гістологія людини: підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів III-IV рівнів акредитації. 4-те вид., доопр. і випр. Київ: Книга плюс; 2013. 582 с.
9. Черкасов ВГ, Кравчук СЮ, Анатомія людини: навч. посібн. для студентів вищих мед. навч. закладів IV рівня акредитації. Вінниця: Нова книга; 2011. 639 с.
10. Леонович СИ, Слука БА, Ігнатович ИН, Горанов ВА. Трансплантация культуры островковых клеток поджелудочной железы в

красный костный мозг. Мед. Журн. 2004;1:55-7.

11. Пелипенко ОВ, Шепітько ВІ. Кількісні співвідношення структурних компонентів кісткової тканини щурів. Вісн. проблем біології і мед. 2016;2(2):249-52.

12. Похилько ВІ, Траверсе ГМ, Цвіренко СМ. Вікові особливості та захворювання крові у дітей: навч. посібн. для студентів вищ. мед. навч. закладів IV рівня акредитації. Солоницівка: Світ Книг; 2014. 151 с.

13. Николаева ЛП, Черданцев ДВ, Хват НС. Особенности миелограммы костного мозга трубчатых костей [Интернет]. Современные проблемы науки и образования. 2015;4 [цитировано 17.11.15]. Доступно: <http://www.science-education.ru/127-21082>

14. Богомолова НВ, Дулатов РМ, Киреев СИ, Киричук ВФ, Креницкий АП. Влияние КВЧ-излучения на частотах оксида азота на микроциркуляцию в костной ткани и красный костный мозг при остром и хроническом стрессе. Вестн. Волгоградского гос. мед. ун-та. 2010;4(36):83-6.

15. Грушко МП. Красный костный мозг озерной лягушки (*Rana ridibunda*) и прыткой ящерицы (*Lacerta agilis*). Морфология. 2010;137(1):31-4.

16. Наволокин НА, Мудрак ДА, Матвеева ОВ, Тычина СА, Бучарская АБ, Полуконова НВ, и др. Влияние растительных экстрактов, содержащих флаво-ноиды, на лейкоцитарную формулу и красный костный мозг лабораторных крыс с перевитой саркомой 45. Успехи современного естествознания. 2015;4:134-40.

17. Rodak B, editors. Hematology: Clinical Procedure and Applications. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002. 835 p.

18. Щуліпенко ІМ, Гольденберг ЮМ, Настрога ТВ. Клініка та діагностика синдромів і захворювань системи кровотворення: навч. посібн. для студентів старших курсів мед. ун-тів, магістрів, лікарів-інтерністів та курсантів за спец. "загальна практика - сімейна медицина". Полтава: Техсервіс; 2011. 325 с.

19. Липунова ЕА, Скоркина МЮ. Система красной крови:

Сравнительная физиология: монография. Белгород: Изд-во БелГУ; 2004.216 с.

20. Данилов РК. Гистология. Эмбриология. Цитология. Москва: МИА, 2006. 454 с.

21. Arslan G, Ozmen E, Soy Turk M. MRI of Residual Red Bone Marrow in the Distal Femur of Healthy Subjects. Pol J Radiol. 2015;80:300.

22. Абсеттарова АИ. Количественные изменения клеток красного костного мозга крыс после облучения и коррекции ксеногенной цереброспинальной жидкостью. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2014;13(3):26-9.

23. Запорожан ВН, Бажора ЮИ. Стволовые клетки. Одесса: Одес. медун-тет; 2004. 227 с.

24. Дельцова ОІ, Геращенко СБ, Кулинич ГБ. Стовбурові клітини і регенерація печінки. Наук. Вісн. Ужгородського ун-ту. Сер. "Медицина". 2012;1(43):175-9.

25. Фомін ПД, Шепетько ЄМ, Смікодуб ОО. Гемопоетичні стовбурові клітини - засіб корекції постгеморагічних анемії при виразкових кровотечах. Вестн. неотложной и восстановительной мед. 2008;9(3):305-6.

26. Буше ВВ, Попандопуло АГ. Мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку – головний проліферативний пул остеорепарації при механічних ушкодженнях кісткової тканини. Здобутки клінічної і експериментальної мед. 2010;2:119.

27. Амосова КМ, Прудкий ІВ, Кацитадзе ІЮ, Сопко ОВ. Стовбурові клітини в кардіології. Серце і судини. 2010;3:109-14.

28. Бутенко ГМ. Стовбурові клітини - стратегія майбутнього. Мистецтво лікування. 2013; 4 :32-3.

29. Гайко ГВ. Сучасні уявлення про стовбурові клітини та перспективи їх застосування в ортопедо-травматологічній клініці. Журнал Нац. акад. мед. наук України. 2014; 20 (3):306-11.

30. Chagastelles PC, Nardi NB, Camassola M. Biology and applications of

mesenchymal stem cells. *Sci Prog.* 2010; 1 (93,2):113-28.

31. Menendez P, Bueno C, Wang L. Human embryonic stem cells: a journey beyond cell replacement therapies. *Cytherapy.* 2006;8(6):530-41.

32. Шойхет ЯН, Хорев НГ. Клеточные технологии в лечении заболеваний периферических артерий. *Гены и клетки.* 2011; 6 (3):15-23.

33. Михайлова НБ, Кондакова ЕВ, Власов АА, Борзенкова ЕС, Успенская ОС, Осипова НЭ, и др. Роль трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в лечении лимфом. *Гематология и трансфузиология.* 2012; 57 (Приложение):15.

34. Разумова СВ, Бондаренко СН, Станчева НВ. Эффективность аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с миелоаблативными режимами и режимами кондиционирования со сниженной интенсивностью у детей и подростков с острым миелобластным лейкозом. *Онкопедиатрия.* 2015;2(3):322.

35. Исаева НВ, Зайцева ГА, Утемов СВ, Минаева НВ, Шерстнев ФС, Костяев АА, и др. Особенности получения и хранения гемопоэтических стволовых клеток для ауто трансплантации при онкогематологических заболеваниях. *Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической мед.* 2015;1:278-80.

36. Галстян ГМ, Макарова ПМ, Кузьмина ЛА, Паровичникова ЕН, Клясова ГА, Покровская ОС, и др. Успешная трансплантация аллогенного костного мозга у больных с тяжелым грамтрицательным сепсисом и септическим шоком. *Клиническая онкогематология.* 2014;7(2):122-30.

37. Epperly MW, Zhang X, Fisher R, Hou W, Franicola D, Shields D, et al. Reduced Competitive Repopulation Capacity of Multipotential Hematopoietic Stem Cells in the Bone Marrow of Friend Virus-infected Fv2-resistant Mice. *In Vivo.* 2017;31 (3):313-20.

38. Mead B, Tomarev S. Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomes Promote Survival of Retinal Ganglion Cells Through miRNA-Dependent Mechanisms. *Stem Cells Transl Med.* 2017;6 (4):1273-85.

39. Qu B, Chu Y, Zhu F, Wang B, Liu T, Yu B, et al. Granulocyte colony-stimulating factor enhances the therapeutic efficacy of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in rats with experimental acute pancreatitis. *Oncotarget*. 2017;8(13):21305.

40. Prokopyuk VY, Chub OV, Shevchenko NA, Falko OV, Musatova IB, Lazurenko VV, et al. Cryopreserved Placental Explants Increase Lifespan of Male Mice and Change Survival Features of Female Mice. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2017;27 (2):143-50.

41. Teira P, Bittencourt H, Cellot S, et al. Outcomes of Matched Related and Unrelated Bone Marrow Transplantation after Reduced-Toxicity Conditioning for Children Suffering from Chronic Granulomatous Disease. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(1):95.

42. Morena MT, Gatti RA. A History of Bone Marrow Transplantation. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2011;25 (10):1-15.

43. Wingard JR, Majhail NS, Brazauskas R, et al. Long-term survival and late deaths after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29(16):2230-9.

44. Robitaille N, Lacroix J, Alexandrov L, Clayton L, Cortier M, Schultz KR, et al. Excess of veno-occlusive disease in a randomized clinical trial on a higher trigger for red blood cell transfusion after bone marrow transplantation: a Canadian blood and marrow transplant group trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013; 19 (3):468-73.

45. Andreani M, Testi M, Battarra M, Lucarelli G. Split chimerism between nucleated and red blood cells after bone marrow transplantation for haemoglobinopathies. *Chimerism*. 2011;2 (1):21-2.

46. Cunha C, Almeida CR, Almeida MI, Silva AM, Molinos M, Lamas S, et al. Systemic delivery of bone marrow mesenchymal stem cells for in situ intervertebral disc regeneration. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6 (3):1029-39.

47. Horio T, Mizuno S, Uchino K, Mizutani M, Hanamura I, Espinoza JL, et



al. The recipient CCR5 variation predicts survival outcomes after bone marrow transplantation. *Transpl Immunol.* 2017; 42 ;34-9.

48. De Santis G, Garcia-Silva AC, Dotoli GM. Higher Anti-A/B isoagglutinin titers of IgG class, but not of IgM, are associated with increased red blood cell transfusion requirements in bone marrow transplantation with major ABO-mismatch. *Clin Transplant.* 2017; 31 (4):e12913.

49. Richetta E, Lo Moro G, Pasquino M. Effectiveness of pre-therapy red marrow and blood dosimetry in I-131 treatment of metastatic thyroid cancer. In: Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine (EANM). Barcelona, SPAIN; 2016; 43. p. 161.

50. Tomac G, Bojanić I, Mazić S, Vidović I, Raos M, Čepulić BG, et al. Haemolysis, pure red cell aplasia and red cell antibody formation associated with major and bidirectional ABO incompatible haematopoietic stem cell transplantation. *Blood Transfus.* 2017;19 :1-8

51. Україна. Закон. Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людині (Із змінами, внесеними згідно із Законами, від 19.10.2010 р. № 2608-VI, від 16.10.2012 р. N 5460-VI, від 14.10.2014 р. N 1697-VII). Верховна Рада України [Інтернет]. [цитовано 26.11.2015]. Доступно: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/1007-14>

52. Поляченко ЮВ, Ніконенко ОС, Салютін РВ, Комаров МП, Паляниця СС, Борис РМ. Клітинна трансплантація: нормативно-правові аспекти, перспективи та напрямки клінічного використання. *Клітинна та органна трансплантологія.* 2013;1(1):40-3.

53. Мелкова КН, Горбунова НВ, Чернявская ТЗ. Смешанный химеризм после аллогенной трансплантации костного мозга: собственные клинические наблюдения. *Клинич. онкогематология.* 2013;6(1):40-4.

54. Wang L, Kamocka MM, Zollman A, Carlesso N. Combining Intravital Fluorescent Microscopy (IVFM) with Genetic Models to Study Engraftment Dynamics of Hematopoietic Cells to Bone Marrow Niches. *JoVE. J Vis Exp.* 2017;121:e54253.

55. Ogle ME, Olingy CE, Awojoodu AO, Das A, Ortiz RA, Cheung HY, et al. Sphingosine-1-Phosphate Receptor-3 Supports Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Residence Within the Bone Marrow Niche. *Stem Cells*. 2017;35(4):1040-52.

56. Chang KH, Smith SE, Sullivan T, Chen K, Zhou Q, Wes JA, et al. Long-term engraftment and fetal globin induction upon BCL11A gene editing in bone-marrow-derived CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2017; 4: 137-48.

57. Насадюк КМ. Клеточные технологии в репродуктологии, акушерстве и гинекологии. Клітинна та органна трансплантологія. 2013;1(1):56-60.

58. Брюховецкий ИС, Мищенко ПВ, Толоч ЕВ. Взаимодействие гемопоэтических стволовых и опухолевых клеток *in vitro*. Тихоокеанский мед. журн. 2014; 4: 31-7.

59. Петинати НА. Профилактика реакции трансплантат против хозяина у больных гемобластозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с помощью мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток донора [автореферат]. Москва;2013.92 с.

60. Шутова НА. Характеристика изменений клеточного состава красного костного мозга в динамике острого воспаления. Таврический медико-биологический вестн. 2012;15 (3,2,59):397.

61. Zhang N, Zhou H, Wang H. Cerebral function of bone marrow multipotent adult progenitor cells after transplantation in Parkinson's disease rat models. *Transplant Proc*. 2013;45 (2):719-25.

62. Cheng L, Hammond H, Ye Z, Zhan X, Dravid G. Human Adult Marrow Cells Support Prolonged Expansion of Human Embryonic Stem Cells in Culture. *Stem Cells*. 2003;21(2):131-42.

63. Wexler SA, Donaldson C, Denning-Kendall P, Rice C, Bradley B, Hows JM. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal "stem" cells but

umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol.* 2003;121 (2):368-74.

64. Assmus B, Tonn T, Seeger FH, Yoon CH, Leistner D, Klotsche J, et al. Red blood cell contamination of the final cell product impairs the efficacy of autologous bone marrow mononuclear cell therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55 (13):1385-94.

65. Li WT, Leu YC, Wu JL. Red-light light-emitting diode irradiation increases the proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Photomed Laser Surg.* 2010;28 (S1):S-157.

66. Шахпазян НК, Кобзева ИВ, Астрелина ТА, Яковлева МВ, Осипова ЕЮ, Скоробогатова ЕВ. Системный подход к обеспечению качества мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для клинического применения. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2011;VI (2):51-4.

67. Шахпазян НК, Астрелина ТА, Яковлева МВ. Мезенхимальные стволовые клетки из различных тканей человека: биологические свойства, оценка качества и безопасности для клинического применения. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2012; VII (1): 23-33.

68. Halvarsson C, Eliasson P, Jönsson JL. Pyruvate dehydrogenase kinase 1 is essential for transplantable mouse bone marrow hematopoietic stem cell and progenitor function. *PloS one.* 2017;12(2):e0171714.

69. Николаева ЛП. Новые возможности клеточной терапии. *Инновации в науке.* [Интернет]. 2014 [цитировано 24.11.2015];29. Доступно: <http://cyberleninka.ru/article/n/novye-vozmozhnosti-kletochnoy-terapii>

70. Онищенко НА, Люндуп АВ, Деев РВ, Шагидулин МЮ, Крашенинников МЕ. Синусоидальные клетки печени и клетки костного мозга как компоненты единой функциональной системы регуляции восстановительного морфогенеза в здоровой и поврежденной печени. *Гены и клетки.* 2011;6(2):12-5.

71. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Коваль СВ, Ивановская ТС, Украинская НИ, Полудненко ЛЮ, и др. Лейкемические бластные клетки и современная

иерархическая модель нормального кроветворения. Онкология. 2013;15 (3):172-7.

72. Глузман ДФ, Склярченко ЛМ, Коваль СВ, Ивановская ТС. О возможных дополнениях к современной схеме нормального кроветворения на основе изучения лейкемических бластных клеток. Клиническая лабораторная диагностика. 2014;4:40-3.

73. Gauthier J, Castagna L, Garnier F, Guillaume T, Socié G, Maury S, et al. Reduced-intensity and non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation from alternative HLA-mismatched donors for Hodgkin lymphoma: a study by the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy. Bone Marrow Transplant. 2017;52 (5):689-96

74. de Mayo T, Conget P, Becerra-Bayona S, Sossa, C L, Galvis V, Arango-Rodríguez ML. The role of bone marrow mesenchymal stromal cell derivatives in skin wound healing in diabetic mice. PloS one. 2017;12 (6):e0177533.

75. Li Q, Luo C, Luo C, Wang J, Li B, Ding L, Chen J. Disease-specific hematopoietic stem cell transplantation in children with inherited bone marrow failure syndromes. Annals of Hematology. 2017:1-9.

76. Meissner J, Finel H, Dietrich S, Boumendil A, Kanfer E, Laboure G, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for intravascular large B-cell lymphoma: the European Society for Blood and Marrow Transplantation experience. Bone Marrow Transplant. 2017;52 (4):650-2.

77. Nitta H, Mihara K, Sakai A, Kimura A. Expansion of CD8+/perforin+ effector memory T cells in the bone marrow of patients with thymoma-associated pure red cell aplasia. Br J Haematol. 2010;150 (6):712-5.

78. Видиборець СВ, Гайдукова СМ, Чорноброва ОІ, та ін., Видиборець СВ, редактор. Залізодефіцитна анемія: навчально-метод. посібник для студентів і слухачів системи післядиплом. навчання вищ. мед. навч. закладів III-IV рівнів акредитації. Вінниця, Бориспіль: Меркьюрі-Поділля; 2012. 237 с.

79. Andreani M, Testi M, Gaziev J, Condello R, Bontadini A, Tazzari PL, et al. Quantitatively different red cell/nucleated cell chimerism in patients with long-

term, persistent hematopoietic mixed chimerism after bone marrow transplantation for thalassemia major or sickle cell disease. *Haematologica*. 2011;96 (1):128-33.

80. Nguyen V, Wuebbolt D, Thomas H, Murphy K, D'souza R. Iron Deficiency Anemia in Pregnancy and Treatment Options: A Patient-Preference Study [IL]. *Obstetrics & Gynecology*. 2017;129: 122.

81. Camaschella C, Longo DL. Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med Overseas Ed*. 2015;372 (19):1832-43.

82. Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L. Iron deficiency anaemia. *The Lancet*. 2016;387 (10021):907-16.

83. Parmar JK, Sheikh S. Study of bone marrow: dyserythropoiesis for etiological evaluation of anemia. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 2017;3 (12):3734-8.

84. Захарова ИН, Горяйнова АН, Мачнева ЕБ, Дмитриева ЮА, Мозжухина МВ. Дефицит железа у детей раннего возраста и способы его коррекции. *Вопросы совр. педиатрии*. 2013. 12(2):52-8.

85. Powers JM, Shamoun M, McCavit TL, Adix L, Buchanan GR. Intravenous ferric carboxymaltose in children with iron deficiency anemia who respond poorly to oral iron. *J Pediatr*. 2017;180:212-6.

86. McDonagh MS, Blazina I, Dana T, Cantor A, Bougatsos C. Screening and routine supplementation for iron deficiency anemia: a systematic review. *Pediatrics*. 2015;135(4):723-33.

87. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та медичної допомоги. Залізодефіцитна анемія: проект. [Інтернет]. [цитовано 22.10.15]. Доступно: [http://civic.kmu.gov.ua/consult\\_mvc\\_kmu/news/article](http://civic.kmu.gov.ua/consult_mvc_kmu/news/article)

88. Auerbach M, Adamson JW. How we diagnose and treat iron deficiency anemia. *Am J Hematol*. 2016;91(1):31-8.

89. Белих НА. Прогнозування ризику формування анемії у дітей грудного віку. *Современная педиатрия*. 2015;1:34-9.

90. Третьякова ОС. Дефицит железа у детей: причины, механизм

развития, клинические проявления. Дитячий лікар. 2013;7/8:32-42.

91. Эрман МВ. Железодефицитные анемии у детей. Современная педиатрия. 2014; 4: 22-5.

92. Захарова ИН, Дмитриева ЮА. Синдром анемии в практике педиатра: дифференциальная диагностика и терапия. Современная педиатрия. 2015;1:23-8.

93. Казюкова ТВ, Шевченко НН, Русакова ВД, Мамукова ЮИ, Левина АА, Алиева АМ. Некоторые аспекты диагностики и лечения дефицита железа и железодефицитной анемии у детей раннего возраста. Вестн. семейной мед. 2013;2:46-53.

94. Казюкова Т, Алиева А, Русакова В, Панкратов И, Алеев А. Разрешимые трудности при диагностике дефицита железа и железодефицитной анемии у детей. Врач. 2014;8:70-4.

95. Третьякова ОС. Алгоритм диагностики железодефицитных состояний в педиатрической практике. Дитячий лікар. 2014;5:38-44.

96. Банадига НВ, Рогальська ЯВ. Клінічні аспекти залізодефіцитної анемії в дітей раннього віку. Перинатология и педиатрия. 2013;2:82-5.

97. Мальцева ТВ, Репина СП. Особенности терапии железодефицитных анемий у детей первого года жизни при различных видах вскармливания. Вопр. практической педиатрии. 2012;7(4):57-9.

98. Казюкова ТВ, Тулупова ЕВ, Алиева АМ. Стратегия лечения железодефицитной анемии у детей раннего возраста. Педиатрия. Журн. им. Г. Н. Сперанского. 2012;91(4):89-97.

99. Ярцева ВЮ. Новый взгляд на профилактику железодефицитных состояний у детей старше года. Лечащий врач. 2012;8:37-41.

100. Baker RD, Greer FR. Committee on Nutrition American Academy of Pediatrics Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron-deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age). Pediatrics. 2010;126(5):1040-50.

101. Park JA, Lim YJ, Park HJ, Kong SY, Park BK, Ghim TT. Normalization of Red Cell Enolase Level Following Allogeneic Bone Marrow

Transplantation in a Child with Diamond-Blackfan Anemia. J Korean Med Sci. 2010;25(4):626-9.

102. Бокова ТА, Масликова ГВ. Железодефицитные состояния у подростков: Принципы коррекции. Лечащий врач. 2014;9:49-51.

103. Голованова НЮ. Железодефицитные анемии у подростков. Тактика лечения. Вопр. практической педиатрии. 2011;6(5):95-98.

104. Сульженко МЮ, Головченко НМ. Профілактика залізодефіцитної анемії в дівчаток-підлітків із доклінічними стадіями дефіциту заліза. Перинатология и педиатрия. 2013;4:108-10.

105. Сульженко МЮ, Головченко НМ. Структура залізодефіцитних станів серед дівчаток-підлітків у віковому аспекті. Перинатология и педиатрия. 2011;3:65-6.

106. Проценко ЕС, Невзоров ВП. Влияние железодефицитной анемии матери на ультраструктуру печени плодов и новорожденных. Вісн. проблем біології і мед. 2013;1(1):214-9.

107. Проценко ОС. Вплив залізодефіцитної анемії, прееклампсії та цукрового діабету матері на імунну відповідь печінки плодів і новонароджених. Вісн. проблем біології і мед. 2015;1(117):173-7.

108. Проценко ОС. Вплив залізодефіцитної анемії матері на морфологічний стан клітин Купфера печінки плодів і новонароджених. Світ мед. та біології. 2015;1(48):145-8.

109. Проценко ОС. Вплив залізодефіцитної анемії матері на ультраструктуру печінки плодів і новонароджених. Світ мед. та біології. 2015;2(49):116-20.

110. Проценко ОС. Характерні ознаки будови печінки плодів та новонароджених від матерів із залізодефіцитною анемією різних ступенів тяжкості. Вісн. проблем біології і мед. 2015;1(2):278-82.

111. Проценко ЕС. Иммуногистохимические особенности эндотелина-1 и фибронектина печени плодов и новорожденных от матерей с железодефицитной анемией. Вісн. проблем біології і мед. 2012;2(2):145-7.

112. Булавенко ОВ. Железодефицитные состояния в различные периоды жизни женщины. Укр. мед. альманах. 2013;16(2):12-5.
113. Петрухин ВА, Мельников АП, Будыкина ТС, Гришин ВЛ. Возможности лечения железодефицитной анемии беременных в третьем триместре беременности. Акушерство и гинекология. 2014;5:74-8.
114. Запорожан ВМ, Анчева ІА, Микитенко ДО. Генетична детермінація ангіогенезу при формуванні децидуальної тканини у вагітних із залізодефіцитною анемією. Актуал. пробл. сучасн. мед. : Вісн. Укр. мед. стомат. акад. 2014;14(4);142-6.
115. Жук СІ, Пехньо ТВ, Бикова ОГ. Залізодефіцитна анемія вагітних. Здоровье женщины. 2014;8:40-3.
116. Запорожан ВМ, Анчева ІА, Микитенко ДО. Експресія гена HIF1A у породілей, що страждали на дисфункцію плаценти на тлі залізодефіцитної анемії протягом вагітності. Одес. мед. журн. 2014;5:68-72.
117. Запорожан ВМ, Анчева ІА. Генна мережа адаптивної відповіді на хронічну гіпоксію при залізодефіцитній анемії вагітних. Вісн. проблем біології і мед. 2014;1(4):116-20.
118. Запорожан ВМ, Анчева ІА. Фармакокорекція ендотеліальної дисфункції, що виникла на тлі залізодефіцитної анемії, як засіб профілактики ускладнень вагітності та пологів. Здоровье женщины. 2015;2:71-4.
119. Underwood BA. Preventive weekly iron-folic acid supplementation can improve iron status of reproductive age women: experience in Cambodia, the Philippines, and Vietnam. Washington: International Life Sciences Institute; 2005. 158 p.
120. Jordan RG, Marfell J, Engstrom J, Farley CL. Prenatal and postnatal care : a woman-centered approach. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2014. 668 p.
121. Bridges KR, Pearson HA. Anemias and other red cell disorders. New York: McGraw-Hill Medical; 2008. 374 p.
122. Анчева ІА. Клінічна епідеміологія анемії вагітності на півдні України: ретроспективне дослідження. Вісн. проблем біології і мед. 2013;



2(3):112-4.

123. Виноградова МА, Федорова ТА, Рогачевский ОВ. Анемия при беременности: алгоритмы диагностики и лечения железодефицита. Акушерство и гинекология. 2014;8:137-42.

124. Гадаев ИЮ, Гадаева ИВ. Железодефицитная анемия в практике терапевта. Фокус на Ферро-Фольгамму. Вестн. семейной медицины. 2013;1:54-6.

125. Давыдова ЮВ, Лиманская АЮ, Огородник АО. Железодефицитная анемия в XXI веке: ионные и неионные препараты железа, практические рекомендации для беременных. Здоровье женщины. 2013;3:25-9.

126. Коноводова ЕН. Железодефицитные состояния: когда и кому назначать Тотему? Современная педиатрия. 2013;7:33-7.

127. Мальцев СВ, Шакирова ЭМ, Халитова ДИ. Оптимизация профилактики и лечения железодефицитных состояний у кормящих женщин. Педиатрия. 2013;92(4):52-8.

128. Мубаракшина ОА, Сомова МН, Любавская СС. Фармакологическая коррекция дефицита железа и магния в период беременности. Акушерство и гинекология. 2014;4:75-9.

129. Нікітін ОД. Ефективність та безпека застосування препарату Суфер® в корекції анемії у пацієнтів із хронічною нирковою недостатністю. Укр. мед. часопис. 2015;1:49-51.

130. Чернов ВМ, Тарасова ИС. Эффективность и безопасность препаратов трехвалентного железа в лечении железодефицитной анемии. Лечащий врач. 2013;8:40-3.

131. Шамов ИА, Меджидова РА. Эндогенные факторы в оценке эффективности ферротерапии железодефицитной анемии. Клиническая мед. 2014;92(4):41-4.

132. Шурпяк СО. Гідроксид-полімальтозний комплекс тривалентного заліза (Мальтофер) у лікуванні та профілактиці анемії під час вагітності,

лактації та в ранній неонатальний період. Здоровье женщины. 2013;6:58-62.

133. Милованова Л, Милованов Ю, Козловская Л. Железа (III) гидроксид полимальтозат - препарат нового поколения для лечения железодефицитной анемии. Врач. 2013;1:54-7.]

134. Горыня ЛА, Сергеева ВВ, Сошина АА. Дифференцированный поход к диагностике и лечению анемии хронического заболевания и железодефицитной анемии у пожилых. Вестн. Северо-Западного гос. мед. ун-та им. И. И. Мечникова. 2012;4(2):93-102.

135. Сергиенко АВ. Изменение метаболизма глюкозы в эритроцитах больных железодефицитной анемией пожилого и старческого возраста. Укр. журн. клінічної та лабораторної мед. 2011;6(1):142-4.

136. Ларина ВН, Барт БЯ. Клинические проявления анемического синдрома и его значение в течении хронической сердечной недостаточности у больных пожилого возраста. Терапевтический архив. 2014;86(3):53-8.

137. Василенко АМ, Шейко СО. Корекція анемічного синдрому у хворих похилого віку з хронічною серцевою недостатністю. Укр. кардіологічний журн. 2011;1;73-8.

138. Ждан ВМ, Зазикіна ДС, Флегантова БЛ. Особливості роботи сімейного лікаря на етапі первинної медичної допомоги. Сімейна мед. 2012;4:86.

139. Захарова ИН, Мачнева ЕБ. Коррекция дефицита железа: исторические и современные аспекты. Сімейна мед. 2015;1:142-5.

140. Громова ОА, Торшин ИЮ, Хаджидис АК. Анализ молекулярных механизмов воздействия железа (II), меди, марганца в патогенезе железодефицитной анемии. Клиническая фармакология и фармакоэкономика. 2010;1;30-7.

141. Семенова Е, Кунина М, Стуклов Н. Роль меди и марганца в метаболизме железа. Сімейна мед. 2015;2:18-22.

142. Щуліпенко ІМ, Гольденберг ЮМ, Настрога ТВ. Клініка та діагностика синдромів і захворювань системи кровотворення: навчальний

посібник для студентів старших курсів мед. ун-тів, магістрів, лікарів-інтерністів та курсантів за спец. "загальна практика - сімейна медицина". Полтава: Техсервіс; 2011. 325 с.

143. Helgadottir H, Kis L, Ljungman P, Larkin J, Kefford R, Ascierto PA, et al. Lethal aplastic anemia caused by dual immune checkpoint blockade in metastatic melanoma. *Annals of Oncology*. 2017;28(7):1672-3.

144. Park M, Park CJ, Cho YW, Jang S, Lee JH, Lee JH, et al. Alterations in the bone marrow microenvironment may elicit defective hematopoiesis: a comparison of aplastic anemia, chronic myeloid leukemia, and normal bone marrow. *Exp Hematol*. 2017;45:56-63.

145. Choi YB, Yi ES, Lee JW, Sung KW, Koo HH, Yoo KH. Immunosuppressive therapy versus alternative donor hematopoietic stem cell transplantation for children with severe aplastic anemia who lack an HLA-matched familial donor. *Bone marrow transplant*. 2017;52(1):47-52.

146. Нагорная НВ. Апластическая анемия у детей: симпозиум. *Здоровье ребенка*. 2013;7:197-202.

147. DeZern AE, Zahurak M, Symons H, Cooke K, Jones RJ, Brodsky RA. Alternative donor transplantation with high-dose post-transplantation cyclophosphamide for refractory severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(3):498-504.

148. Messa E, Biale L, Castiglione A, Lunghi M, Bonferroni M, Salvi F, et al. Erythroid response during iron chelation therapy in a cohort of patients affected by hematologic malignancies and aplastic anemia with transfusion requirement and iron overload: a FISM Italian multicenter retrospective study. *Leuk Lymphoma*. 2017:1-3.

149. Шевела ЕЯ, Кулагин АД, Тихонова МА, Сахно ЛВ, Крючкова ИВ, Орловская ИА, и др. Апластическая анемия: фенотип и функции мезенхимальных стромальных клеток костного мозга. *Гематология и трансфузиология*. 2010;6:14-21.

150. Видиборець СВ, Гайдукова СМ, Сергієнко ОВ, Чорноброва ОІ. Мегалобластні анемії. Вінниця ; Бориспіль : Меркьюрі-Поділля; 2012. 135 с.

151. Wasekar N, Wagaskar V, Jadhav N, Jadhav S. Association of *Helicobacter pylori* infection with megaloblastic anemia: a single centre experience. *Int J Med Sci Public Health*. 2017;6(1):63-6.

152. Agarwal L, Ramawat J, Agrawala M, Rai N. A study on prevalence and causative factors of megaloblastic anaemia in Hadoti region. *Ann Appl Biosci*. 2017;4(1):31-4.

153. Huang Z, Shi J, Shao Y, Nie N, Zhang J, Li X, et al. Clinical profile of megaloblastic anemia in China: a single center experience from MegA-1710 program over two decades. *Ann hematol*. 2016;95(5):827.

154. Mandal A, Sahi P. Megaloblastic anemia: Clinical spectrum and hematological profile. *Medical Journal of Dr. DY Patil University*. 2016;9(6):771.

155. Гончаров ЯП, Гайдукова СМ, Видиборець СВ, Бишук ВА. Кістково-мозкове кровотворення при вітамін В<sub>12</sub>дефіцитній анемії. Збірник наук. праць співр. КМАПО ім. П. Л. Шупика. Київ, 2000. Вип. 9, Кн. 2. С. 211-5.

156. Babior BM, Bunn HF. Megaloblastic Anemias. *Harrisons principles of internal medicine*. 2005;1(16):601-6.

157. Ohyama W, Yamaoka M, Yokoi K, Iwahashi M, Inage Y, Arihiro S, et al. Maternal Crohn's disease-related vitamin B12 deficient megaloblastic anemia in an infant. *The Japanese journal of clinical hematology*. 2016;57(1):15-9.

158. Marsch AF, Shashidhar H, D'orazio JA. B12 deficient megaloblastic anemia in a toddler with a history of gastroschisis. *The Journal of pediatrics*. 2011;158(3):512.

159. Потапова СГ, Шишина РН. Морфометрическая характеристика эритроцитов при В12-дефицитной анемии (по данным компьютерной морфометрии). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2008;7:29-32.

160. Гуцаленко ОО. Гематологія : навчальний посібник [для студентів вищих медичних навчальних закладів IV рівня акредитації, лікарів-інтернів і сімейних лікарів]. Полтава : Верстка; 2012. 695 с.

161. Ковальова ОМ, Гольденберг ЮМ, Петров ЄЄ, Борисова ЗО.

Клініка та діагностика захворювань органів кровообігу. Полтава : АСМІ; 2004. 284 с.

162. Нагорная НВ, Вильчевская ЕВ, Дудчак АП, Бордюгова ЕВ, Марченко ЕН. Острый лейкоз у детей: симпозиум. Здоровье ребенка. 2013;2:11-6.

163. Zhang Y, Yan Y, Nath R, Bao S, Deng J. Personalized estimation of dose to red bone marrow and the associated leukaemia risk attributable to pelvic kilo-voltage cone beam computed tomography scans in image-guided radiotherapy. *Phys Med Biol.* 2012;57(14):4599.

164. Lehmann S, Deneberg S, Antunovic P, Rangert-Derolf Å, Garelius H, Lazarevic V, et al. Early death rates remain high in high-risk APL: update from the Swedish Acute Leukemia Registry 1997-2013. *Leukemia.* 2017;31(6):1457.

165. Мекешова АБ, Левина АА, Мамукова ЮИ, Мелик-Нубаров НС, Цибульская ММ, Савченко ВГ. Значение динамического исследования цитокинов в сыворотке крови и лейкоцитах больных острым лейкозом. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2009;12:19-24.

166. Журавльова ЛВ, Хворостінка ВМ, Власенко АВ. Сучасні методи лікування гострих лейкозів (Огляд). *Сімейна мед.* 2010;1:65-71.

167. Kimura SI, Fujita H, Kato H, Hiramoto N, Hosono N, Takahashi T, et al. Management of infection during chemotherapy for acute leukemia in Japan: a nationwide questionnaire-based survey by the Japan Adult Leukemia Study Group. *Supportive Care in Cancer.* 2017:1-7.

168. Sorg N, Poppe C, Bunos M, Wingenfeld E, Hümmer C, Krämer A, et al. Red blood cell depletion from bone marrow and peripheral blood buffy coat: a comparison of two new and three established technologies. *Transfusion.* 2015;55(6):1275-82.

169. Woliner-van der Weg W, Schoffelen R, Hobbs RF, Gotthardt M, Goldenberg DM, Sharkey RM, et al. Tumor and red bone marrow dosimetry: comparison of methods for prospective treatment planning in pretargeted radioimmunotherapy. *EJNMMI physics.* 2015;2(1):5.

170. Баранова ОЮ, Антипова АС, Захаров ОД, Фалалеева НА, Калетин

ГМ, Ширин АД, и др. Острые миелоидные лейкозы: 10 лет терапии. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2015;8(3):287-301.

171. Brunstein C, Zhang MJ, Barker J, Martin AS, Bashey A, De Lima M, et al. The effect of inter-unit HLA matching in double umbilical cord blood transplantation for acute leukemia. *Haematologica*. 2017;102(5):941-7.

172. Глиненко ВМ, Катаева ВА, Лакшин АМ, Фокин СГ. Гигиена и экология человека : учебник для студентов лечебных факультетов медицинских вузов. Москва : МИА; 2010. 545 с.

173. Москалев ЮИ. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. Москва : Медицина; 1991. 463 с.

174. Kendall GM, Fell TP. Doses to the red bone marrow of young people and adults from radiation of natural origin. *Journal of Radiological Protection*. 2011;31(3):329.

175. Hoffmann W, Meiboom MF, Weitmann K, Terschüren C, von Boetticher H. Influence of age, sex and calendar year on lifetime accumulated red bone marrow dose from diagnostic radiation exposure. *PloS one*. 2013;8(11):e78027.

176. Нікберг ІІ, Сергета ІВ, Цимбалюк ЛІ. Гігієна з основами екології : підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів. Київ : Здоров'я; 2001. 503 с.

177. Ai J, Xie T, Sun W, Liu Q. Red bone marrow dose calculations in radiotherapy of prostate cancer based on the updated VCH adult male phantom. *Phys Med Biol*. 2014;59(7):1815.

178. Goodsitt MM, Shenoy A, Shen J, Howard D, Schipper MJ, Wilderman S, et al. Evaluation of dual energy quantitative CT for determining the spatial distributions of red marrow and bone for dosimetry in internal emitter radiation therapy. *Med Phys*. 2014;41(5).

179. Гуськова АК, Байсоголов ГД. Лучевая болезнь человека. Москва : Медицина; 1971. 380 с.

180. Горизонтов ПД, редактор. Вопросы патогенеза,

экспериментальной терапии и профилактики лучевой болезни. Москва : Медиздат; 1960. 432 с.

181. Клемпарская НН. Вопросы инфекции, иммунитета и аллергии при острой лучевой болезни. Москва : Медгиз; 1958. 203 с.

182. Яковлева ЛА. Сравнительное исследование лучевой болезни и ее последствий. На модели лучевой болезни обезьян. Ленинград : Медицина, Ленингр. отд-ние; 1966. 259 с.

183. Краевский НА. Очерки патологической анатомии лучевой болезни. Москва : Медгиз; 1957. 230 с.

184. Груздев ГП. Проблема поражения кроветворной ткани при острой лучевой патологии. Москва : Медицина; 1968. 139 с.

185. Гольдберг ДИ, Гольдберг ЕД. Атлас микрофотограмм костного мозга при острой лучевой болезни. Москва : Медицина; 1973. 143 с.

186. Клетки крови при лучевой болезни: атлас. Москва: Госиздат медлитературы; 1959. 81 с.

187. Biochemical indicators of radiation injury in man. Proceedings of a scientific meeting ... jointly organized by the International Atomic Energy Agency and the World Health Organization and held in Paris-Le Vesinet, France, 22-26 June 1970 / International Atomic Energy Agency; World Health Organization. Vienna : International Atomic Energy Agency; 1971. 320 p.

188. Manual on radiation haematology. A joint undertaking by the International Atomic Energy Agency and the World Health Organization / International Atomic Energy Agency ; World Health Organization. – Vienna : International Atomic Energy Agency; 1971. 430 p.

189. Rubin P, Casarett GW. Clinical radiation pathology. Philadelphia; 1968. 1057 p.

190. Upton AC. Radiation injury; effects, principles, and perspectives. Chicago: University of Chicago Press; 1969. 126 p.

191. Goans RE, Holloway EC, Berger ME, Ricks RC. Early Dose Assessment Following Severe Radiation Accidents. Health physics. 1997;72(4):

513-8.

192. Mould RF. Chernobyl record : the definitive history of the Chernobyl catastrophe. Bristol, UK ; Philadelphia, PA : Institute of Physics Publishing; 2000. 402 p.

193. Білий ДО. Віддалені медичні наслідки в осіб, які перенесли гостру променеву хворобу в результаті аварії на Чорнобильській АЕС [автореферат]. Київ; 2005. 48 с.

194. Белый ДА. Лечение острой лучевой болезни. Therapia. Укр. мед. вісн. 2009;4:46-9.

195. Галстян И, Надежина Н, Баранов А. Острые лучевые поражения у детей вследствие случайного контакта с источниками ионизирующего излучения. Врач. 2012;8:10-4.

196. Миронченко СІ. Фізико-хімічні властивості крові при фармакотерапевтичній корекції місцевих лучевих пошкоджень шкіри. Актуал. пробл. сучасн. мед. : Вісн. Укр. мед. стомат. акад. 2009;9(2):96-100.

197. Попович ВІ, Абизов РА, Самойленко СС. Класифікація місцевих променевих уражень у онкоотоларингологічних хворих. Журн. вушних, носових і горлових хвороб. 2011;6:56-61.

198. Сімонова ЛІ, Гертман ВЗ, Білогурова ЛВ. Моделювання місцевих променевих ушкоджень шкіри на лабораторних тваринах. Укр. радіол. журнал. 2011;19(4):460-6.

199. Васин МВ, Ушаков ІБ, Ковтун ВЮ, Семенова ЛА, Королева ЛВ, Галкин АА. и др. Терапевтический эффект длительного применения мелатонина на течение и летальный исход экспериментальной острой лучевой болезни. Бюл. экспериментальной биологии и мед. 2013;156(12):738-40.

200. Чорна ВІ, Лянна ОЛ. Вплив малих доз іонізуючого випромінювання на маркер астрогліальної популяції клітин головного мозку (Експериментальне дослідження). Укр. радіол. журнал. 2011;19(2):238-42.

201. Ільєнко ІМ, Лясківська ОВ, Базика ДА. Довжина теломерних



послідовностей та апоптоз лімфоцитів периферичної крові людини у ранній та віддалений періоди після опромінення. Журн. Нац. академії мед. наук Укр. 2012;18(1):115-9.

202. Бобирьова ЛЄ. Епідеміологічні дослідження радіаційно-обумовленої щитоподібної залози по Полтавській, Житомирській областях і по Україні в цілому у післячорнобильський період. В: Збірник матеріалів обласної науково-практичної конференції "Медико-генетичні та екологічні проблеми чорнобильської катастрофи через 15 років". 19 квітня 2001 року. Полтава; 2001. С. 4-14.

203. Иванина ЕЮ. Клиническая характеристика детей, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в результате аварии на ЧАЭС. Перинатология та педіатрія. 2012;1:57-60.

204. Кондрашова ВГ, Домбровська НС. Якість життя дітей з малими аномаліями розвитку серця, які народилися від батьків, опромінених в дитячому віці в результаті аварії на ЧАЕС. Лікарська справа. 2015;1/2:17-22.

205. Присяжнюк АЄ, Романенко АЮ, Базика ДА. Організація в Україні аналітичних епідеміологічних досліджень радіаційних ризиків розвитку лейкемій внаслідок Чорнобильської катастрофи. Журн. Нац. акад. мед. наук Укр. 2013;19(4):482-9.

206. Бебешко ВГ, Бруслова КМ, Станкевич ВВ, Цветкова НМ, Ляшенко ЛО, Галкіна СГ, и др. Роль радіаційних та нерадіаційних факторів у розвитку та перебігу гострої лейкемії у дітей. Лікарська справа. 2012;8:29-36.

207. Базика ДА, Логановський КМ, Кубашко АВ, Ільєнко ІМ, Чумак СА, Беляєв ОА. Стан клітинного імунітету в учасників ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС із когнітивними розладами у віддалений період після аварії. Укр. неврологічн. журн. 2015;1:66-72.

208. Липська АІ, Родіонова НК, Атаманюк НП, та ін. Інтенсивність вільно радикальних процесів та рівень пошкоджень ДНК в клітинах кісткового мозку тварин за умов дії <sup>137</sup>CS. В: Бебешко ВГ, гол. редактор. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології : збірник наукових праць.

Вип. 12. Київ: Наук. центр радіац. медицини; 2006. С. 202-8.

209 Заичкина СИ, Розанова ОМ, Ахмадиева АХ, и др. Исследование действия низких доз острого и хронического гамма-облучения в клетках костного мозга мышей *in vivo*: доза-эффект, адаптивный ответ и генетическая нестабильность. В: Бебешко ВГ, редактор. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології : збірник наукових праць. Вип. 12. Київ : Наук. центр радіац. медицини; 2006. С. 265-72.

210. Ярмоненко СП. Радиобиология человека и животных. Москва : Высшая школа; 1988. 424 с.

211. Серкиз ЯИ, Пинчук ВГ, Пинчук ЛБ. Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС. Київ : Наукова думка; 1992. 170 с.

212. Шуленина ЛВ, Галстян ИА, Надежина НМ. Михайлов ВФ, Раева НФ. Экспрессия зрелых микроРНК, участвующих в функционировании р53-зависимой системы сохранения стабильности генома, у лиц, облученных в клинически значимых дозах. Саратовский научно-мед. журн. 2014;10(4):749-53

213. Амбеси-Импломбато ФС, Иванов АА, Манчини А, Белов ОВ, Боррелли А, Молоканов АГ, и др. Влияние рекомбинантной марганец-супероксиддисмутазы (rMnSOD) на гематологический статус мышей, облучённых протонами. Мед. радиология и радиационная безопасность. 2014;59(6):12-7

214. Закон України “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 21.02.2006 р., № 3447-IV. Відом. Верховної Ради Укр. 2006;27:230.

215. Общие этические принципы работы с экспериментальными животными при проведении медицинских и биологических исследований. Національний конгрес з біоетики (Київ 17-20 верес. 2001 р.). Журн. АМН Укр. 2001;7(4):814-6.

216. Shin WS, Rockson SG. Animal models for the molecular and mechanistic study of lymphatic biology and disease. Ann N Y Acad Sci. 2008;1131:50-74. doi: 10.1196/annals.1413.005.

217. Меркулов ГА. Курс патологической техники. Медицина,

Ленинградское отделение. 1969: 168-171.

218. Старченко П. Застосування методу пластинації в стереоморфологічних дослідженнях. Вісник проблем біології і медицини. 2006; Вип 2: 420-422.

219. Millonig G. Further observations on a phosphates buffer for osmium solutions in fixations V. Internat. Congr. EM. New York. 1962: 1–8.

220. Карупу ВЯ. Электронная микроскопия. Киев: Вища школа. 1984; 207.

221. Костиленко ЮП. Методы работы с полутонкими эпоксидными срезами в гистологической практике. Архив анатомии, гистол. и эмбриол. 1978; Т. 75, Вып. 12: 68–72.

222. Lynn J. Rapid toluidine blue staining of Epon-embedded and mounted “adjacent” sections. Am. J. Clin. Path. 2005;44:57–8.

223. Humphrey Ch D. A simple methylene blue-azure II – basic Fuchsin stain for epoxy-embedded tissue sections. Stain Technol. 2004; 49 (1): 9–14.

224. Казакова КС. Спосіб окрашування напівтонких зрізів. Свідectво про раціоналізаторську пропозицію № 1880 видану Українською медичною стоматологічною академією 15.09.1999.

225. Луцик АД, Детюк ЕС, Луцик МД. Лектины в гистохимии. Львов: Вища школа. Изд-во при Львовском ун-те; 1989. 144 с.

226. McMahon RFT, Panesar MJR, Stoddart RW. Glycoconjugates of the normal human colorectum: a lectin histochemical study. Histochem. J. 2004; 26:514-8.

227. Katsuyama T, Spicer SS. Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A-horseradish peroxidase method. J. Histochem. Cytochem. 2008; Vol.26, №4: 233-250.

228. Туркевич НГ. Реконструкция микроскопических объектов по гистологическим срезам. Москва. Медгиз. 1967: 47.

229. Костиленко ЮП. Способ фотореконструкции микроскопических объектов. Удостоверение на рационализаторское предложение № 788, выданное Полтавским медицинским стоматологическим институтом. 1980.

230. Костиленко ЮП. Метод пластической реконструкции

микроскопических объектов. Удостоверение на рационализаторское предложение № 787, выданное Полтавским медицинским стоматологическим институтом 1980.

231. Лакин ГФ, Биометрия. Москва. Медицина. 2000: 200.

232. Лапач СН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион. 2008: 320.

233. Кизинец ГИ, Шишканова ЗГ, Саричева ТГ, Новодержкина ЮК, Дягилева ОА, Проценко ДД. Клетки крови и костного мезга. Медицинское информационное агентство. 2004;203.

**Наукове видання**

**Борута Наталія Володимирівна**

**Білаш Сергій Михайлович**

**Шепітько Володимир Іванович**

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ ЧЕРВОНОГО  
КІСТКОВОГО МОЗКУ ЩУРІВ У НОРМІ**

**Монографія**

---

Віддруковано в ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс»

36039, м. Полтава, вул. Пушкіна, 103, к. 102

Свідотство про внесення до Державного реєстру  
суб'єкта видавничої справи ПЛ №9 від 20.06.2001

Підписано до друку 09.11.2018 р.

Формат 60x90/16. Папір офсетний. Друк офсетний.

Ум. друк. арк. 0,9. Наклад 100 прим.