

**ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БАБІЙЧУК ЛЮДМИЛА ВІКТОРІВНА

УДК 616.12-008.331.1-092.4:612.649.011.87:615.014.41

ДИСЕРТАЦІЯ

**ВПЛИВ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ КОРДОВОЇ КРОВІ НА
СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СЕРЦЕВО-
СУДИННОЇ СИСТЕМИ У ТВАРИН ІЗ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ**

(експериментальне дослідження)

14.01.35 – кріомедицина

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії)

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Л.В.Бабійчук (підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник Коваль Сергій Миколайович доктор медичних наук,
професор

Харків–2018

АНОТАЦІЯ

Бабійчук Л. В. Вплив кріоконсервованої кордової крові на структурно-функціональний стан серцево-судинної системи у тварин із експериментальною гіпертензією (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.35 – «кріомедицина». – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, 2017.

Зміст анотації

На даний час для вирішення ряду важливих медико-біологічних задач широко застосовуються кріотехнології, на основі яких розроблено унікальні методи довгострокового зберігання в низькотемпературних банках клітин, тканин та інших біологічних об'єктів зі збереженням їх життєздатності і функціональної повноцінності. У регенеративній медицині для відновлення функцій органів і тканин використовуються клітинні препарати фетоплацентарного походження. Особливий інтерес представляє кордова кров (КК) та її компоненти. Відмінною особливістю КК є те, що вона багата на стовбурові гемопоетичні клітини-попередники (ГСК). Застосування КК ефективно для лікування ряду захворювань, у патогенезі яких провідну роль відіграє зниження компенсаторно-захисних механізмів організму.

На даний час есенціальна артеріальна гіпертензія (АГ) відноситься до найбільш поширених захворювань серцево-судинної системи (ССС). Незважаючи на існування великої кількості фармацевтичних засобів, призначених для зниження артеріального тиску (АТ), на певних етапах медикаментозної терапії виникають значні перешкоди в досягненні очікуваного лікувального ефекту.

У зв'язку з вищевикладеним виникають передумови для вивчення впливу кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (ЯВК КК) на структурно-функціональний стан ССС з метою розробки нових методів

відновлення адаптаційно-компенсаторних можливостей організму тварин різних вікових груп на фоні експериментальної стрес-індукованої АГ.

Дисертацію присвячено вивченню впливу кЯВК КК на структурно-функціональний стан ССС у тварин різних вікових груп на моделі стрес-індукованої АГ.

Вперше на моделі стрес-індукованої АГ досліджено ефективність застосування кЯВК КК із метою корекції структурно-функціональних порушень ССС у молодих та старих щурів.

Встановлено, що кріоконсервування ЯВК КК, в тому числі й стовбурових гемопоетичних, під захистом кріопротектора ДМСО в 5% концентрації після виділення у 3% -му поліглюкіні дозволяє зберігати у життєздатному стані більше 80% ЯВК КК і більше 90% ГСК КК.

Вперше показано, що колонієутворююча активність клітин після кріоконсервування за даним методом зберігається на досить високому рівні та не відрізняється від контрольних значень, що свідчить про функціональну повноцінність клітин.

Встановлено, що введення молодим і старим тваринам кріоконсервованої плазми КК супроводжувалося підвищенням функціональної активності вегетативної нервової системи (ВНС) на ранніх етапах експериментальних досліджень. У віддалені терміни спостережень рівень загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції відповідав початковому. На відміну від введення плазми застосування кЯВК КК значно підвищувало в усі терміни дослідження адаптаційні можливості організму тварин незалежно від їх віку.

Вивчено функціональний стан симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС, а також гуморальної ланки регуляції тварин різних вікових груп у динаміці розвитку АГ та після використання кЯВК КК.

Вперше показано, що застосування кЯВК КК на тлі гіпертензії супроводжувалося збільшенням показника загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції за рахунок активації вегетативних

центрів, що свідчило про відновлення у експериментальних тварин розвиненої збалансованої вегетативної регуляції.

Досліджено структурно-функціональні зміни в кардіоміоцитах і ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів як на тлі стрес-індукованої АГ, так і після введення ЯВК КК. Встановлено, що після введення гіпертензивним тваринам кЯВК КК активувалися компенсаторно-регенеративні процеси (зменшення ступеня прояву дегенеративних змін у тканинах і судинах міокарда, відсутність осередків лізису ядерної мембрани, збільшення кількості мітохондрій і крист у них, числа рибосом, полісом і гранул глікогену).

Гістологічне дослідження виявило ознаки розвитку дистрофічних і деструктивних змін м'язових волокон міокарда молодих та старих гіпертензивних тварин. Після використання кріоконсервованих ЯВК КК покращувалася трофіка тканин, зникали дистрофічні та деструктивні порушення як у результаті неоангіогенезу, так і за рахунок активації репаративних процесів.

Показано, що застосування кріоконсервованих ЯВК КК щурам зі стрес-індукованою АГ супроводжувалося нормалізацією ліпідного профілю та рівня тиреоїдних гормонів у сироватці крові. Зазначалося підвищення вмісту ліпопротеїнів високої щільності на тлі зниження ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності. У сироватці крові гіпертензивних щурів після введення кріоконсервованих ЯВК КК виявлено збільшення вмісту кінцевих продуктів обміну оксиду азоту, що є позитивним ефектом, оскільки він спрямований на корекцію дисбалансу системи локальної регуляції гомеостазу та судинного тону.

На моделі стрес-індукованої АГ встановлено, що введення молодим і старим тваринам кЯВК КК приводить до нормалізації показників АТ.

Результати експериментальних досліджень впливу кріоконсервованих ЯВК КК на структурно-функціональний стан ССС тварин різних вікових груп на моделі стрес-індукованої АГ надають можливості обґрунтування

перспективності застосування кріоконсервованих ЯВК КК у практичній медицині. Отримані експериментальні дані поширюють уявлення про механізми дії кріоконсервованих ЯВК КК на процеси компенсації та адаптації тварин в умовах стресу, підтверджують доцільність нормалізації нейрогуморальної регуляції для підвищення стійкості організму до дії несприятливих чинників навколишнього середовища, та можуть бути використані в лекційних курсах на профільних кафедрах. Результати досліджень дозволили розробити спосіб корекції артеріальних дисфункцій організму експериментальних тварин на тлі стрес-індукованої АГ, що підтверджено Патентом України (№ 86886).

Ключові слова: кордова кров, ядровмісні клітини кордової крові, кріоконсервування, серцево-судинна система, артеріальна гіпертензія, артеріальний тиск, вегетативна нервова система.

ANNOTATION

Babiychuk L.V. Effect of cryopreserved cord blood on structural and functional state of cardiovascular system in animals with experimental hypertension (experimental study). – Qualified as manuscript scientific paper.

Thesis for a candidate degree in medical sciences (Doctor of Philosophy), specialty 14.01.35 – «Cryomedicine». – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2017.

Annotation content

Currently, cryotechnologies are widely used to solve a number of important medical and biological tasks, on the basis of which the unique methods of long-term storage at low-temperature banks of cells, tissues and other biological objects have been developed with the preservation of their viability and functional integrity. In regenerative medicine, cell preparations of fetoplacental origin are used to restore the organs and tissues. Cord blood (CB) and its components are of particular interest. The CB distinctive feature is that it is rich in stem hemopoietic precursor cells (SHPCs). The use of CB is effective when treating many diseases

wherein a pathogenesis plays a leading role in reducing the compensatory and protective mechanisms of the body.

At present, essential arterial hypertension (AH) is one of the most common diseases of the cardiovascular system (CVS). Despite the existence of a large number of pharmaceutical products designed to lower blood pressure (BP), at certain stages of drug therapy there are significant impediments to achieving the expected therapeutic effect.

In connection with the foregoing, there are prerequisites to investigate the effect of cryopreserved cord blood nucleated cells (CBNCs) on structural and functional state of the CVS in order to develop new methods to restore adaptive and compensatory abilities of animals of various age groups against the background of experimental stress-induced hypertension.

The thesis is devoted to the study of an influence of cryopreserved CBNCs on structural and functional state of CVS in animals of different age groups in the model of stress-induced AH.

For the first time in the model of stress-induced hypertension, the effectiveness of using the cryopreserved CBNCs was investigated to correct structural and functional disorders of CVS in young and aged rats.

It was established that the cryopreservation of the cord blood nucleated cells, including the stem hemopoietic ones, under the protection of the DMSO cryoprotectant in 5% concentration after isolation in 3% polyglycine, allowed to maintain in a viable state more than 80% of the CCNCs and more than 90% of CB SHPCs.

It has been for the first time demonstrated that the colony-forming activity of cells after cryopreservation by this method remained at a rather high level and did not differ from the control values, which indicated the functional integrity of cells.

It was established that the introduction of cryopreserved cord blood plasma to young and aged animals was accompanied by an increase in functional activity of autonomic nervous system (ANS) at early stages of experimental studies. In distant terms of observation, the level of total spectral power of neurohumoral regulation

corresponded to the initial one. In contrast to the introduction of plasma, the use of cryopreserved CBNCs in all the terms of the study significantly increased adaptive capacity of the animals, regardless of their age.

Functional state of sympathetic and parasympathetic compartments of the VNS, as well as the humoral link of regulation of animals of various age groups in dynamics of hypertension and after the use of cryopreserved CBNCs were studied.

For the first time, it was shown that the use of cryopreserved CBNCs against the background of hypertension was accompanied by an increase in the index of total spectral power of neurohumoral regulation due to activation of vegetative centers, indicating the restoration of experimental animals in a well-developed, balanced vegetative regulation.

Structural-functional changes in cardiomyocytes and endothelial cells of myocardial capillaries of young and aged rats both against the background of stress-induced hypertension, and after introduction of CBNCs were investigated. It has been established that after administration to hypertensive animals of cryopreserved CBNCs, compensatory and regenerative processes were activated (reduction of the manifestation extent of degenerative changes in the tissues and vessels of myocardium, absence of lysis foci of nuclear membrane, increase in the number of mitochondria and their crysts, number of ribosomes, polysomes and granules of glycogen).

Histological examination revealed the signs of development of dystrophic and destructive changes in myocardial muscle fibers of young and aged hypertensive animals. After use of cryopreserved CBNCs, the trophics of tissues improved, dystrophic and destructive disorders disappeared both as a result of neoangiogeogenesis and due to activation of reparative processes.

It was shown that the use of cryopreserved CBNCs in rats with stress-induced AH was accompanied by the normalization of lipid profile and level of thyroid hormones in blood serum. The increase in the content of high-density lipoproteins was observed against the background of reduction of lipoprotein of low and very low density.

In the blood serum of hypertensive rats, after the introduction of cryopreserved CBNCs an increase in the content of the final products of nitric oxide exchange was found, that was a positive effect, since it was aimed at correcting the imbalance of the system of local regulation of homeostasis and vascular tone.

In the model of stress-induced hypertension, it was found that the introduction of cryopreserved CBNCs of young and aged animals led to the normalization of blood pressure indices.

The results of experimental studies on the influence of cryopreserved CBNCs on structural and functional status of CVS of animals of different age groups in the model of stress-induced hypertension provided the possible substantiation of the perspectives to use the cryopreserved CBNCs in practical medicine. The obtained experimental data extend the notions about the mechanisms of action of the CBNCs on the processes of compensation and adaptation of the animals under stress conditions, confirm the expediency of normalizing a neurohumoral regulation to increase the resistance of the body to the adverse environmental factors, and can be used in the lecture courses in profile departments. The results of the studies allowed to develop a method to correct the arterial dysfunctions of an organism of experimental animals against the background of stress-induced hypertension, as confirmed by the Ukrainian Patent (No. 86886).

Key words: cord blood, cord blood nucleated cells, cryopreservation, cardiovascular system, arterial hypertension, arterial pressure, autonomic nervous system.

Список публікацій здобувача за темою дисертації:

Статті у фахових журналах

1. Бабийчук Л. А., Грищенко В. И., **Бабийчук Л. В.** Действие препарата стволовых гемопоэтических клеток cordовой крови человека на

некоторые показатели вегетативной регуляции у старых крыс. *Буковинський медичний вісник*. 2009. Т. 13. № 4. С. 20–23.

2. Структурно-функциональное состояние и жизнеспособность ядросодержащих клеток пуповинной крови после криоконсервирования / Л. А. Бабийчук, В. И. Грищенко, П. М. Зубов, О. Л. Зубова, В. В. Рязанцев, **Л. В. Бабийчук**, О. В. Кудокоцева, С. А. Любич. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010. Т. 5. № 3. С. 77–81.

3. **Бабийчук Л. В.**, Невзоров В. П., Невзорова О. Ф. Динамика изменений ультраструктуры кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 54, № 3. С. 86–91.

4. **Бабийчук Л. В.**, Бабийчук В. Г., Мамонтов В. В. Влияние гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс разного возраста. *Проблемы старения и долголетия*. 2012. Т. 21, № 1. С. 14–23.

5. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с неврогенной артериальной гипертензией после введения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 55, № 4. С. 47–52.

6. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 56, № 5. С. 24–29.

7. Влияние криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на ультраструктурную архитектуру миокарда молодых крыс с неврогенной стресс-индуцированной артериальной гипертензией / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 57, № 6. С. 50–55.

8. Уровни липидов и глюкозы в сыворотке крови крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии и после введения криоконсервированной кордовой крови / **Л. В. Бабийчук**, Л. А. Сиротенко, Н. Г. Малова, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук, В. В. Мамонтов. *Проблеми ендокринної патології*. 2014. № 3. С. 89–96.

9. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток пуповинной крови на состояние гомеостаза у животных разных возрастных групп при стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, Л. А. Сиротенко, Н. Г. Малова, С. Н. Коваль. *Гены и Клетки*. 2014. Т. IX № 4. С. 88–94. SCOPUS

10. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на уровень конечных продуктов обмена оксида азота в сыворотке крови крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, Л. А. Сиротенко, Н. Г. Малова, С. Н. Коваль. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2015. Т. 68. № 3. С. 5–9.

11. **Бабийчук Л. В.**, Коваль С. Н., Бабийчук Г. А. Структура миокарда молодых гипертензивных крыс после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Проблеми криобіології і криомедицини*. 2016. Т. 27, № 3. С. 271–288. SCOPUS

Патенти України на корисну модель

12. Спосіб моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії: пат. 67199 Україна. МПК⁷ G09B 23/28 / **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, О. В. Козлов, В. В. Мамонтов; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. № u201108117, заяв. 29.06.2011. Опубл. 10.02.2012. Бюл. № 3.

13. Пристрій для моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії: пат. 67200 Україна. МПК⁷ G09B 23/28 / О. В. Козлов, **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, В. В. Мамонтов; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. № u201108121, заявл. 29.06.2011. Опубл. 10.02.2012. Бюл. № 3.

14. Спосіб корекції артеріальних дисфункцій організму експериментальних тварин при стрес-індукованій артеріальній гіпертензії: пат. 86886 Україна. МПК⁷ А61К 35/14, А61Р 9/12 / **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, В. В. Мамонтов, П. М. Зубов; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. № u201309719, заявл. 05.08.2013. Опубл. 10.01.2014. Бюл. № 1.

Статті у збірниках матеріалів конференцій

15. **Бабийчук Л. В.**, Мамонтов В. В. Влияние гемопоэтических стволовых клеток на показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у экспериментальных животных. *Медицина XXI століття: матеріали наук.-практ. конференції молодих вчених, присвяченій 200-річчю від дня народження М.І. Пирогова, Харків, 30 листопада 2010 р, Харків, 2010. С. 6–7.*

16. Оценка функционального состояния стволовых гемопоэтических клеток кордовой крови в препарате «криоцелл-гемоклетки» / **Л. В. Бабийчук**, С. А. Любич, Т. Ф. Петренко, П. М. Зубов, Л. А. Бабийчук. *Ліки-людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів: матеріали 28 всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 03 січня 2011 р, Харків, 2011. С. 8–10.*

17. Криоконсервирование гемопоэтических клеток кордовой крови: комплексная оценка структурно-функциональной полноценности / Л. А. Бабийчук, П. М. Зубов, В. В. Рязанцев, **Л. В. Бабийчук**, О. Л. Зубова, О. В. Кудогоцева. *Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участ. Киев, 27-28 жовтня 2011р. К. 2011. С. 19–21.*

18. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов миокарда старых крыс с экспериментальной неврогенной артериальной гипертензией до и после введения криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук. *Биотехнологии в клинической медицине: материалы междунар. науч.-практ. конференци*

Донецк, 19-20 сентября 2012 г. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2012. Т. 13, № 1. С. 23–26.

19. **Бабийчук Л. В.**, Бабийчук В. Г. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у молодых крыс. *Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины: науч. конф. с междунар. участием, посвящённая 40-летию ИПКиК НАНУ Харьков, 18-19 октября 2012 г, Харьков. Проблемы криобиологии*. 2012. Т. 22, № 3. С. 308.

20. **Бабийчук Л. В.**, Мамонтов В. В., Бабийчук В. Г. Влияние криоконсервированного препарата кордовой крови на некоторые показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у старых крыс с артериальной гипертензии. *Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: от теории к практике: науч.-практ. конференция и школа, посвященная памяти академика В.В. Фролькиса, Киев, 16-17 мая 2013. Проблемы старения и долголетия*. 2013. Т. 22. С. 9–10.

21. **Бабійчук Л. В.**, Нікольченко О. А. Морфологічні зміни міокарда у щурів різного віку в умовах моделювання артеріальної гіпертензії. *Зб. тез 4 з'їзду Українського товариства клітинної біології з міжнародним представництвом Ужгородський нац. ун. Ужгород, 17-20 вересня 2014 р, Ужгород*, 2014. С. 95.

22. Особенности развития эндотелиальной дисфункции у крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии /

Л. В. Бабийчук, В. Г. Бабийчук, С. Н. Коваль, И. В. Комаров *Ендотеліальна дисфункція: матеріали науч.-практ. конф., Киев, 12-13 ноября 2015 г. К.*, 2015. С. 60–61.

23. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечным ритмом у животных различных возрастных групп в норме и при алиментарном ожирении /

Ю. В. Руднева, В. Г. Бабийчук, Е. А. Чернявская, В. В. Кулик, **Л.В. Бабийчук**. *Криоконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, Пушино, 28-30 октября 2014г. Биофизика живой клетки*. 2014. Т. 10. С. 171–173.

Тези конференцій

24. **Бабийчук Л. В.** Влияние гемопоэтических стволовых клеток на состояние систем нейрогуморальной регуляции. *Перспективні технології діагностики і лікування терапевтичних захворювань: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 21 жовтня 2010 р.* Харків, 2010. С. 9.

25. **Бабийчук Л. В.,** Петренко Т. Ф Бабийчук Л. А. Клоногенная активность препаратов кордовой крови после криоконсервирования. *Щорічні терапевтичні читання: нові технології та міждисциплінарні питання у загально терапевтичній практиці: матеріали наук.-практ. конф. Харків, 14-15 квітня 2011р.* Харків, 2011. С. 16.

26. Влияние плазмы кордовой крови на функциональное состояние систем нейрогуморальной регуляции у старых крыс / **Л. В. Бабийчук,** П.М. Зубов, В. Г. Бабийчук, В. В. Мамонтов. *Медична наука і клінічна практика: минуле, сьогодення, майбутнє: матеріали наук.-практ. конф., присвяченої 150 річчю Харківського медичного тов-ва, Харків, 20 жовтня 2011р.* Харків. Харків, 2011. С. 19.

27. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии/ **Л. В. Бабийчук,** В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров. *Щорічні терапевтичні читання: оптимізація профілактики, діагностики та лікування в клініці внутрішніх хвороб: матеріали наук.-практ. конф. Харків, 19-20 квітня 2012 р.* Харків 2012. С. 10.

28. **Бабийчук Л. В.,** Коваль С. Н. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с неврогенной

артериальной гипертензией после введения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови. *Мультидисциплінарний підхід – ключ до успішної терапевтичної науки та практики»: матеріали наук.-практ. конф. Харків, 18 жовтня 2012 р.* Харків, 2012. С. 11.

29. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на ультраструктурную архитектуру миокарда молодых крыс с неврогенной стресс-индуцированной артериальной гипертензией / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук. *Щорічні терапевтичні читання: лікувально-діагностичні технології сучасної терапії: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 25-26 квітня 2013 р.* Харків, 2013. С. 20.

30. Изменение уровня липидов в сыворотке крови старых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук. *Наукові та практичні аспекти хронізації неінфекційних захворювань внутрішніх органів: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 06 листопада 2014 р.* Харків, 2014. С. 19.

31. Влияние криоконсервированной кордовой крови на динамику изменения уровня липидов в сыворотке старых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук, И. В. Комарова. *Щорічні терапевтичні читання: від досліджень до реалій клінічної практики XXI століття»: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 23–24 квітня 2015 р.* Харків, 2015. С. 22.

32. Влияние криоконсервированной кордовой крови на динамику изменения липидов в сыворотке молодых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук, И. В. Комарова. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і боротьби з ускладненнями: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 5 листопада 2015 р.* Харків, 2015. С.15.

33. **Бабийчук Л. В.**, Коваль С. Н., Бабийчук В. Г. Вариабельность сердечного ритма молодых крыс на фоне стресс-индуцированной АГ.

Щорічні терапевтичні читання: профілактика неінфекційних захворювань на перехресті терапевтичних наук: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 21 квітня 2016 р. Харків, 2016. С. 19.

34. **Бабийчук Л. В.**, Коваль С. Н., Бабийчук В. Г. Гистологические изменения ультраструктуры миокарда старых крыс при стресс-индуцированной артериальной гипертензии. *Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє: матеріали наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, Харків, 4 листопада 2016 р. Харків, 2016. С. 10.*

35. **Бабийчук Л.В.**, Коваль С.Н. Уровень конечных продуктов NO в сыворотке крови старых крыс на фоне стресс-индуцированной АГ. *Медикаментозна та не медикаментозна профілактика неінфекційних захворювань: погляд в майбутнє (присвячена пам'яті академіку Л.Т. Малої: матеріали наук.-практ. конф. за уч. міжнар. спеціалістів, Харків 20 квітня 2017р. Харків, 2017. С. 13.*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ЗМІСТ.....	16
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	19
ВСТУП	20
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
1.1. Стрес як фактор розвитку серцево-судинних захворювань	30
1.2. Проблема гіпертонічної хвороби. Етапи становлення нейрогенної теорії розвитку артеріальної гіпертензії	38
1.3 Кордова кров і її застосування в клітинній терапії	45
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	55
2.1. Характеристика експериментальних тварин і схема експерименту	55
2.2. Методика моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії	57
2.3. Отримання і кріоконсервування кордової крові. Оцінка структурно-функціональної повноцінності ядровмісних клітин	58
2.3.1. Збір кордової крові	58
2.3.2. Виділення фракції ядровмісних клітин з цільної кордової крові і обробка кріопротектором	58
2.3.3. Заморожування - відігрівання ядровмісних клітин кордової крові	59
2.3.4. Визначення збереження ядровмісних клітин кордової крові	59
2.3.5. Визначення кількості гемопоетичних стовбурових клітин кордової крові	60
2.3.6. Визначення життєздатності ядровмісних та гемопоетичних стовбурових клітин кордової крові методом проточної цитофлуориметрії	60
2.3.7. Метод культивування ЯВК КК	61
2.3.8. Введення кріоконсервованих ЯВК КК	62
2.4. Електрофізіологічні методи дослідження	62
2.5. Електронно-мікроскопічні методи дослідження	64
2.6. Гістологічні методи дослідження	65

2.7. Біохімічні методи дослідження	66
2.7.1. Вивчення ліпідного профілю в сироватці крові	66
2.7.2. Методика визначення концентрації тиреоїдних гормонів в сироватці крові	68
2.7.3. Методика визначення сумарних метаболітів NO в сироватці крові	68
РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	
РОЗДІЛ 3. КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ: ОЦІНКА ЗБЕРЕЖЕННЯ, ЖИТТЕЗДАТНОСТІ ТА КОЛОНІЄУТВОРЮЮЧОЇ АКТИВНОСТІ.....	70
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН ТА ПЛАЗМИ	83
РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СИСТЕМ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ТА ПОКАЗНИКИ АРТЕРІАЛЬНОГО ТИСКУ У МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ЗІ СТРЕС-ІНДУКОВАНОЇ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ	94
РОЗДІЛ 6. УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ПЕРЕБУДОВИ ТКАНИН І СУДИН МІОКАРДУ ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ДО І ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ.....	102
6.1. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда молодих щурів в процесі розвитку і прогресування артеріальної гіпертензії.....	102
6.2. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда молодих щурів з артеріальною гіпертензією після введення кріоконсервованих ядровісних клітин кордової крові.....	108
6.3. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда старих щурів в процесі розвитку і прогресування артеріальної гіпертензії.....	114
6.4. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда старих щурів з артеріальною гіпертензією після введення кріоконсервованих ядровісних клітин кордової крові.....	122

РОЗДІЛ 7. ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРИ СЕРЦЯ МОЛОДИХ І СТАРИХ ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ	131
7.1. Структурна характеристика міокарда молодих гіпертензивних щурів	132
7.2. Гістологічні зміни структури міокарду молодих гіпертензивних щурів після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові	140
7.3. Структурна характеристика міокарда старих гіпертензивних щурів.....	147
7.4. Гістологічні зміни структури міокарда старих гіпертензивних щурів після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові	156
РОЗДІЛ 8. ОЦІНКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ЗІ СТРЕС-ІНДУКОВАНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ	164
8.1. Оцінка ліпідного профілю сироватки крові експериментальних тварин	164
8.2. Рівень тиреоїдних гормонів і зміст кінцевих продуктів обміну NO в сироватці крові щурів при стрес-індукованій артеріальній гіпертензії та після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові	171
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	179
ВИСНОВКИ	191
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	196
ДОДАТОК.....	231
ДОДАТОК А. Список публікацій за темою дисертації.....	231
ДОДАТОК Б. Акт впровадження.....	238
ДОДАТОК В. Патенти.....	239

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ – артеріальна гіпертензія

АТ – артеріальний тиск

ВНС – вегетативна нервова система

ВСР – варіабельність серцевого ритму

ГСК – гемопоетичні ствовові клітини – попередники

ГХ – гіперхолестеринемія

ДМСО – диметилсульфоксид

КК – кордова кров

ЗХ – загальний холестерин

ССЗ – серцево-судинні захворювання

ССС – серцево-судинна система

ТЗ – трийодтиронин

Т4 – тироксин

ТГ – тригліцериди

ХСЛПДНЩ – холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності

ХСЛПНЩ – холестерин ліпопротеїнів низької щільності

ХСЛПВП – холестерин ліпопротеїнів високої щільності

ЦНС – центральна нервова система

ЯВК КК – ядровмісні клітини кордової крові

ЕКГ – електрокардіограма

BFU-E – бурстоутворююча одиниця еритроцитів

CFU-E – колонієутворююча одиниця

CFU-E – колонієутворююча одиниця еритроцитів

CFU-GM – колонієутворююча одиниця гранулоцитів, макрофагів

CFU-G – колонієутворююча одиниця гранулоцитів

CFU-M – колонієутворююча одиниця макрофагів

CFU-GEMM – колонієутворююча одиниць гранулоцитів, еритроцитів, макрофагів, мегакаріоцитів

NO – оксид азота

ВСТУП

Актуальність теми. На даний час для вирішення ряду важливих медико-біологічних задач широко застосовуються кріотехнології на основі яких розроблено унікальні методи довгострокового зберігання в низькотемпературних банках клітин, тканин та інших біологічних об'єктів зі збереженням їх життєздатності і функціональної повноцінності. У регенеративній медицині для відновлення функцій органів і тканин використовуються клітинні препарати плацентарного походження. Завдяки низькій імуногенності і високому регенеративному потенціалу, а також наявності в їх складі досить великої кількості стовбурових клітин, вони є унікальним матеріалом для клітинної терапії [1-4]. Особливий інтерес представляє кордова кров (КК) та її компоненти, яка являє собою унікальну субстанцію з різноспрямованою біологічною активністю. Відмінною особливістю КК є те, що вона багата стовбуровими гемопоетичними клітинами-попередниками (ГСК). Застосування КК ефективно для лікування ряду захворювань, у патогенезі яких провідну роль відіграє зниження компенсаторно-захисних механізмів організму. У таких випадках її дія спрямована на відновлення специфічних функцій організму [5-8].

У науковій і клінічній практиці накопичено значну інформацію щодо позитивного впливу КК як на різні органи, системи, так і на організм у цілому [9-11].

Встановлена плюріпотентність і висока пластичність гемопоетичних стовбурових клітин кордової крові (ГСК КК), що дозволило розглядати їх як потенційне джерело для клітинної терапії широкого спектра захворювань, у тому числі й кардіологічних (стабільна стенокардія, інфаркт міокарда, серцева недостатність) з метою активації репаративних процесів [11].

Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ), основною причиною смертності населення в усьому світі є захворювання серцево-судинної системи (ССС). До числа найбільш поширених

захворювань ССС відноситься артеріальна гіпертензія (АГ). На даний час АГ і пов'язані з нею ускладнення (стенокардія, інфаркт міокарда, порушення ритму і провідності серця, хронічна серцева недостатність, ниркова недостатність і мозковий інсульт) залишаються найважливішою проблемою сучасної медицини. Це обумовлено, перш за все, складністю профілактики і діагностики ранніх стадій АГ особливо у осіб молодого віку [12].

Есенціальна АГ є одним з провідних факторів, що призводять до інвалідизації та зменшення тривалості життя людей працездатного віку [13, 14].

Провідну роль у розвитку АГ згідно з нейрогенною гіпотезою Г.Ф. Ланга і О.Л. Мясникова відіграє психоемоційний стрес [15, 16].

На даний момент, очевидний зв'язок між виникненням АГ і патологічним розвитком емоційних реакцій [17].

Серед ключових механізмів відповідальних за підтримання високого рівня артеріального тиску (АТ) при стресі виділяють нейрогенні, гуморальні і судинні [18]. В останні роки спостерігається підвищений інтерес вчених до вивчення ролі центральної нервової системи (ЦНС) у механізмах формування АГ. Встановлено тісний взаємозв'язок між нервовими (симпатична нервова система) і гуморальними (ренін-ангіотензинової системи) механізмами регуляції АТ при стресі [18, 19].

Під впливом тривалих емоційних перевантажень відбувається збудження кори головного мозку і гіпоталамічних центрів, що супроводжується активацією симпатичного відділу вегетативної нервової системи (ВНС) і викликає розлад центральних механізмів регуляції кровообігу [20, 21].

Симпатикотонія надає як прямий, так і непрямий вплив на системну гемодинаміку. В результаті прямого впливу симпатoadреналової системи на ССС (збільшення концентрації катехоламінів крові, активація α і β -адренорецепторів) збільшується частота серцевих скорочень, скоротність

серцевого м'яза і тонус ємнісних судин [22], що в поєднанні з високою концентрацією реніну сприяє підвищенню АТ.

Незважаючи на існування великої кількості фармацевтичних засобів, призначених для зниження АТ, на певних етапах медикаментозної терапії виникають значні перешкоди в досягненні очікуваного лікувального ефекту, пов'язані з побічною дією препаратів даної групи, наявністю факторів навколишнього середовища, які потенціюють прогресування АГ. Серед них одне з перших місць займає гострий і хронічний емоційний стрес, з яким людина часто стикається в повсякденному житті [23].

Тому актуальним залишається пошук нових методів терапевтичного впливу на організм, здатних стимулювати і покращувати функцію ВНС і ССС, для часткового або повного відновлення порушеного гомеостазу в умовах тривалої дії емоційного стресу. Особливий інтерес для сучасної медицини представляє можливість корекції вищезазначених порушень за допомогою препаратів отриманих із КК. Використання технологій кріоконсервування і низькотемпературного зберігання дозволить створити запаси препаратів (кЯВК КК), що містять ГСК для клінічного застосування.

У зв'язку з вищевикладеним виникають передумови для вивчення впливу кЯВК КК на структурно-функціональний стан серцево-судинної системи з метою розробки нових методів відновлення адаптаційно-компенсаторних можливостей організму тварин різних вікових груп на фоні експериментальної стрес-індукованої АГ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота виконана в рамках відомчих НДР відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України № 63: «Особливості фізіологічних і патофізіологічних механізмів регуляції гомеостазу організму гомойо- і гетеротермних тварин при різних видах охолодження» (шифр – 2.2.6.63, № державної реєстрації 0111U001195); № 103: «Формування адаптаційних реакцій організму експериментальних тварин в умовах дії штучного охолодження та кріоконсервованих

ядровмісних клітин кордової крові при старінні та патологічних станах» (шифр – 2.2.6.103, № державної реєстрації 0116U003493).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – оцінити вплив кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові людини на структурно-функціональний стан серцево-судинної системи тварин різних вікових груп на моделі стрес-індукованої артеріальної гіпертензії.

Для досягнення поставленої мети передбачалося вирішити наступні завдання:

1. Провести оцінку збереженості, життєздатності та колонієутворюючої активності ЯВК після виділення з цільної КК та кріоконсервування.
2. Дослідити стан вегетативної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів після введення кЯВК КК і плазми КК людини.
3. Вивчити вплив кЯВК КК на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції і показники АТ молодих і старих щурів зі стрес-індукованою АГ.
4. Оцінити динаміку ультраструктурних перебудов тканин і судин міокарда молодих і старих щурів зі стрес-індукованою АГ до та після введення кЯВК КК.
5. Вивчити особливості гістологічної структури міокарда тварин різних вікових груп зі стрес-індукованою АГ до та після введення кЯВК КК.
6. Визначити рівень тиреоїдних гормонів, цукру крові, оксиду азоту (NO), показники ліпідного обміну в сироватці крові молодих і старих щурів зі стрес-індукованою АГ до та після введення кЯВК КК.

Об'єкт дослідження. Структурно-функціональний стан серцево-судинної системи тварин різних вікових груп у нормі, в умовах стрес-індукованої АГ та після введення кЯВК КК.

Предмет дослідження. Кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові, регуляторні механізми серцево-судинної системи, серцево-судинна система.

Методи дослідження. У роботі використано наступні методи досліджень: кріобіологічні, цитофлуориметричні, культуральні, електрофізіологічні (аналіз варіабельності серцевого ритму), електронно-мікроскопічні, гістохімічні, біохімічні, імуноферментні, методика моделювання стрес-індукованої АГ та статистичний аналіз отриманих даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше на моделі стрес-індукованої АГ досліджено ефективність застосування кЯВК КК із метою корекції структурно-функціональних порушень ССС у молодих та старих щурів.

Встановлено, що кріоконсервування ЯВК КК, в тому числі й стовбурових гемопоетичних, під захистом кріопротектора ДМСО в 5% концентрації після виділення у 3% -му поліглюкіні дозволяє зберігати у життєздатному стані більше 80% ЯВК КК і більше 90% ГСК КК. Вперше показано, що колонієутворююча активність клітин після кріоконсервування за даним методом зберігається на досить високому рівні та не відрізняється від контрольних значень, що свідчить про функціональну повноцінність клітин.

Вперше встановлено, що введення молодим і старим тваринам кріоконсервованої плазми КК супроводжувалося підвищенням функціональної активності ВНС на ранніх етапах експериментальних досліджень. У віддалені терміни спостережень рівень загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції (ТР) відповідав початковому. На відміну від введення плазми застосування кЯВК КК значно підвищувало в усі терміни дослідження адаптаційні можливості організму тварин незалежно від їх віку. Вперше показано, що застосування кЯВК КК у щурів різних вікових груп на тлі АГ супроводжувалося збільшенням показника ТР за рахунок активації вегетативних центрів, що свідчило про відновлення у експериментальних тварин розвиненої збалансованої вегетативної регуляції. Уперше на моделі АГ встановлено, що введення молодим і старим тваринам кЯВК КК приводить до нормалізації показників АТ.

Вперше встановлено, що після введення тваринам з АГ кЯВК КК в кардіоміоцитах і ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда активувалися компенсаторно-регенеративні процеси (зменшення ступеня прояву дегенеративних змін, відсутність осередків лізису ядерної мембрани, збільшення кількості мітохондрій і крист у них). При гістологічному дослідженні міокарда молодих та старих тварин з АГ вперше виявлено, що після використання кЯВК КК покращувалася трофіка тканин, зникали дистрофічні та деструктивні порушення як у результаті неоангіогенезу, так і за рахунок активації репаративних процесів.

Вперше показано, що застосування кЯВК КК щурам з АГ супроводжувалося нормалізацією ліпідного профілю, рівня тиреоїдних гормонів та вмісту кінцевих продуктів обміну NO у сироватці крові.

Практичне значення отриманих результатів. Результати експериментальних досліджень впливу кЯВК КК на структурно-функціональний стан ССС тварин різних вікових груп на моделі стрес-індукованої АГ надають можливості обґрунтування перспективності застосування кЯВК КК у практичній медицині. Отримані експериментальні дані поширюють уявлення про механізми дії ЯВК КК на процеси компенсації та адаптації тварин в умовах стресу, підтверджують доцільність нормалізації нейрогуморальної регуляції для підвищення стійкості організму до дії несприятливих чинників навколишнього середовища, та можуть бути використані в лекційних курсах на профільних кафедрах. Результати досліджень дозволили розробити спосіб корекції артеріальних дисфункцій організму експериментальних тварин на тлі АГ, що підтверджено Патентом України (№ 86886).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Основні результати роботи отримані здобувачем особисто. Автором проаналізовано наукову літературу з досліджуваної проблеми, виконано дослідження, обґрунтовано мету і завдання роботи та визначено методи їх вирішення, проведено статистичну обробку даних.

Спільно з науковим керівником здійснено аналіз експериментальних даних, їх обговорення та інтерпретацію, сформульовано висновки.

Морфологічні, гістохімічні та біохімічні дослідження виконано за безпосередньої участі автора.

У зв'язку з використанням суміжних дисциплін, дисертаційна робота виконувалася за консультативної допомоги співробітників ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», на базі лабораторії морфології сполучної тканини ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (зав. лабораторією - д.б.н., проф. Дєдх Н.В.; свідоцтва про атестацію лабораторії № 100-3700 / 2010 від 19.07.2010 р, № 100-147 / 2014 від 21.07. 2014 р до 20.07.2018 р).

Опубліковані в співавторстві наукові статті відображають концепцію роботи і підтверджують ідеї і рішення поставлених дисертантом завдань. Допомога співавторів була спрямована на виконання окремих методичних завдань.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися і обговорювалися на наукових форумах: 28 всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки—людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів » (Харків, 2011); міжнародній науково-практичній конференції «Біотехнології в клінічній медицині» (Донецьк, 2012); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 40-річчю ІПКіК НАН України «Актуальні проблеми кріобіології і кріомедицини» (Харків, 2012); науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті академіка В.В. Фролькіса «Актуальні проблеми геронтології та геріатрії: від теорії до практики» (Київ, 2013); 4-му з'їзді Українського товариства клітинної біології з міжнародним представництвом (Ужгород, 2014); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Кріоконсервація генетичних ресурсів. Сучасний стан, проблеми та перспективи» (Пущино, 2014); науково-практичній конференції

з міжнародною участю «Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє» (Харків, 2017).

Публікації. Основні положення дисертації викладено в 35 наукових публікаціях, з них 9 – у спеціалізованих наукових виданнях України, 3 – у зарубіжних наукових журналах, 9 – у збірниках науково-практичних конференцій України та 11 тез у матеріалах науково-практичних конференцій. Отримано три патенти на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертацію викладено на 241 сторінках із яких 156 основного тексту. Робота складається із анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, розділів власних досліджень та їх обговорення, висновків та списку використаних джерел, який містить 345 першоджерел, розміщених на 37 сторінках тексту. Роботу проілюстровано 10 таблицями та 97 рисунками, з яких 34 мікрофотографії.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Стрес як фактор розвитку серцево-судинних захворювань

Серцево-судинна патологія займає провідне місце в структурі захворюваності населення планети. Вирішальна роль у виникненні цих захворювань, відводиться систематично повторюваним стрес-реакціям. Стрес та супутня ішемія клітин і тканин є головним фактором, що приводить до розвитку основних захворювань серця. У несприятливих умовах вони можуть посилювати тяжкість серцево-судинної патології, а при хронічному стресі викликати пошкодження не ішемізованих відділів міокарда [17, 24].

У 1936 р Г. Сельє вперше була описана стресорна реакція, як «синдром, викликаний різними шкідливими агентами» [25, 26].

Згідно з його теорією стрес викликає системну реакцію організму, яка супроводжується порушенням фізіологічних функцій серцево-судинної, ендокринної, статевої, психосоматичної та інших систем.

Міркування вчених про загальний адаптаційний синдром (ЗАС) має на увазі пристосувальний характер стресової реакції. Разом з тим, досягаючи певного порогу інтенсивності, стрес може надавати шкідливу дію і бути причиною розвитку будь-якого патологічного процесу [24-31].

Через багато років Г. Сельє описав ЗАС як синдром біологічного стресу, що складається з трьох фаз: реакції тривоги, фази опору (резистентності), фази виснаження. Перші дві фази в певних умовах можуть бути оборотними, в той час як в фазі виснаження зміни в організмі мають незворотний характер, так як механізми адаптації не в змозі підтримувати гомеостаз [14, 25, 32, 33].

На думку авторів, є дві основні причини стійкого негативного емоційного збудження:

- екзогенний емоційний стрес, що виникає в умовах систематично повторюваних конфліктних ситуацій;

– ендогенний стрес, пов'язаний з постійною дратівливою дією на негативні емоційні центри внутрішніх, переважно гуморальних факторів (вазопресин, адренкортикотропний гормон (АКТГ), ангіотензин, альдостерон та ін.) [32-34].

Координовані фізіологічні процеси, які підтримують стійкий стан організму, американський фізіолог В.Б. Кеннон назвав гомеостазіс (від давньогрецького *homoios* - однаковий і *stasis* - стан), який залежить головним чином від правильної продукції організмом синтаксичних і кататоксичних реакцій, у відповідь на загрозу зміни сталості внутрішнього середовища [32, 35].

Результатом тривалої дії стресу на організм є порушення гомеостазу, що супроводжується комплексом нейрогуморальних та метаболічних реакцій [27, 36, 37].

Відповідно до твердження Г. Резникова, подразники помірної сили викликають еустрес, який розглядають як фізіологічний стан, що підвищує рівень неспецифічної резистентності організму. Важкий та тривалий стрес (дистрес) являє загрозу життю і здоров'ю. Саме в стані дистресу найбільш повно проявляється динаміка ЗАС: стадії тривоги, резистентності та виснаження [34].

Первинною реакцією на подразник можна вважати емоційну відповідь, коли формується «застійне» збудження мозку, що активує нервові і гуморальні механізми які беруть участь в ініціації поведінкових стрес-реакцій і призводять до активації гіпоталамо-гіпофізарно-адrenalової системи (ГГАС) та інших ендокринних органів.

Ноцицептивні імпульси, що виникають у відповідь на подразники (електричні, термічні, хімічні та ін.), по висхідним нервовим провідникам латерального спиноталамічного шляху і ретикулярної формації стовбура головного мозку досягають таламуса, кори, септогіпокампулярного комплексу, амігдали, а також гіпоталамуса, який є ключовою нейроендокринною ланкою ГГАС. При зміні гомеостатичних параметрів

внутрішнього середовища організму виникає нервова імпульсація з інтероцептивних полів, яка досягає ЦНС і ініціює поведінкові, емоційні та нейроендокринні реакції стресу [34, 38].

Під впливом інтенсивного і тривалого стресу реакція тривоги, фаза опору і фаза виснаження швидко змінюють один одного. Численні хімічні процеси, необхідні для пристосування організму до нових умов існування, призводять до утворення певної кількості нерозчинних шлаків, що провокує втрату еластичності тканин. У міру зниження еластичності судин підвищується АТ, створюються передумови для виникнення серцево-судинних захворювань (ССЗ) [39].

Ступінь стійкості організму до дії стресового чинника визначається функціональним станом ГГАС [40-42].

Активація ГГАС забезпечує адаптаційні перебудови в організмі і виступає індикатором прояву стресової реакції. З віком рівень її активності зменшується і відповідно знижуються адаптаційні можливості організму. При емоційному стресі відбувається перебудова нейрохімічних властивостей нейронів, знижується чутливість мембранних рецепторів до нейромедіаторів і нейропептидів, в результаті чого сповільнюються постсинаптичні процеси [26, 43-50]. В результаті вищевказаних змін в емоціогенних зонах мозку формується застійне збудження, що приводить до функціональних порушень.

Встановлено, що порушення в гіпоталамо-лімбіко-ретикулярних структурах головного мозку формує загальну неспецифічну реакцію, в подальшому поширюючись на кору великих півкуль і по спадним шляхам на периферичні органи через ВНС, забезпечуючи адаптаційні перебудови в організмі.

Стрес сприяє розвитку безліч захворювань. Він грає важливу роль в підвищенні кров'яного тиску, виникненні серцевих нападів, виразки шлунка і різних типів душевних розладів [17, 32, 51].

Численні дослідження дозволяють стверджувати, що стрес і стрес-індуковані стани є незалежними факторами ризику ССЗ. Вони значно

підвищують ймовірність несприятливих серцево-судинних результатів: інфаркту міокарда, мозкового інсульту, загрозливих для життя аритмій, раптової кардіальної смерті [52-56]. Пошкоджуваним ефектом володіє не тільки виражений стрес, але і хронічне психоемоційне перенапруження, яке з одного боку, може провокувати психічні розлади, з іншого - сприяти розвитку та прогресуванню цілого ряду соматичних захворювань, в тому числі АГ та ішемічної хвороби серця.

Важлива роль у розвитку ССЗ належить периферичній нервовій системи (ПНС) [57]. ПНС можна розділити на соматичну і автономну. Соматична передає сенсорні і моторні сигнали до ЦНС і від неї, автономна - імпульси, які здійснюють регуляцію внутрішнього середовища організму і підтримання гомеостазу. Вона інервує серце, гладку мускулатуру і залози. Автономна нервова система ділиться на два відділи - симпатичний і парасимпатичний. Симпатичний відділ пов'язаний з підготовкою організму до стану загальної активації. Парасимпатичний відділ асоціюється з відновними функціями та розслабленням організму, активуючи механізми гальмування в підтримці гомеостазу [32, 57].

Надмірна активація симпатичного відділу ВНС супроводжується порушеннями гемодинаміки, що лежить в основі підвищення АТ, яке призводить до змін в механізмах регуляції кровообігу. Все це підтверджує найважливішу роль нейрогенної регуляції кровообігу в патогенезі розвитку ССЗ. Дані перетворення особливо істотні на етапі становлення захворювань, коли мають місце клінічні (схильність до тахікардії, гіперкінетичний тип гемодинаміки) та лабораторні (підвищення в крові норадреналіну) ознаки, що свідчать про симпатикотонію [58].

Систематично діючі, соціально значущі стреси здатні ініціювати не тільки підвищення АТ, а й розвиток каскаду внутрішньоклітинних біохімічних порушень кардіоміоцитів, що призводять до морфофункціональних змін і далі до стійкої гіпертензії.

Фізіологічні та патофізіологічні зміни в системі кровообігу тісно пов'язані з порушенням нейрогуморальної регуляції, в результаті чого слабшає вплив нервової системи на серце і судини, підвищується їх чутливість до дії гуморальних чинників [59].

ССС найбільш схильна до вікових структурних та функціональних змін, які призводять до розвитку ССЗ [12].

З віком, в серці поряд з процесами регресивного характеру спостерігається підвищення активності механізмів адаптації, спрямованих на підтримку функції міокарда. Знижується споживання кисню тканинами, зменшується хвилинний обсяг. На тлі зниження хвилинного об'єму крові збільшується загальний периферичний і судинний опір.

Однією з основних причин порушення діяльності ССС у літніх людей є зменшення еластичності великих артеріальних судин зокрема, аорти, що істотно знижує адаптаційні можливості малого і великого кола кровообігу до різких і значних перевантажень, а робота серця стає менш економною. Надалі зменшується кількість функціонуючих капілярів, спостерігається облітерація їх просвіту, в результаті чого розвиваються гемодинамічні порушення [59].

Ступінь розвитку атеросклерозу судин головного мозку і серця, багато в чому обумовлена станом нейроендокринної системи [12, 60, 61].

Прогресуюче атеросклеротичне ураження в різних судинних басейнах призводить до погіршення кровопостачання життєво важливих органів, перш за все головного мозку, нирок і серця, що сприяє розвитку ССЗ [12, 60, 61].

У цих умовах нарастають кількісні і якісні зміни реакцій організму на стрес, збільшується частота стрес-індукованих станів, зокрема, тривоги і депресії, які є найважливішими факторами ризику і результату розвитку серцевої патології [62, 63].

Порушується структурно-функціональне забезпечення таких найважливіших клітинних систем ССС як: ендотеліальних і гладком'язових

клітин, кардіоміоцитів і фібробластів. Знижується швидкість синтезу білків, наростає інсулінорезистентність тканин і судин міокарда, відбувається погіршення метаболізму в зв'язку зі зниженням утилізації глюкози. Ці зміни є основою для розвитку дистрофічних процесів і фіброзування тканин і судин серця [64-66].

Зміна ендокринного статусу в умовах стресу досягається за рахунок симпато-адреналових і гіпоталамо-гіпофізарних механізмів, які є основою системних реакцій [67-69].

На ранніх стадіях розвитку стресових реакцій, ці фізіологічні процеси спрямовані на підтримку функцій життєво важливих органів і систем шляхом поліпшення нейрогуморальної регуляції з метою підвищення адаптації. Важливою умовою в їх реалізації є внутрішньоклітинне накопичення кальцію, яке відбувається в перші хвилини прояви стресової реакції [68, 70].

В результаті підвищеного скорочення м'язових клітин, збільшується синтез білків і утворення енергії в мітохондріях, відбувається оновлення клітинних структур [71, 72]. У серці надлишок Ca^{2+} набуває токсичний характер і може викликати гибель клітин [37, 72]. Виникає кальцієва тріада, що складається з контрактурних пошкоджень міофібрил, порушень функції мітохондрій, активації міофібрилярних протеаз і мітохондріальних фосфоліпаз [72]. Все це характерно для стресових і ішемічних ушкоджень міокарда і лежить в основі розвитку первинних проявів АГ [68, 70]. Систематична дію стрес-гормонів, зокрема катехоламінів, стимулює проникнення в кардіоміоцити Ca^{2+} , який через механізми «ліпідної тріади», за рахунок лобілізації лізосом і вивільнення лізосомальних протеолітичних ферментів пошкоджує внутрішньоклітинні структури і клітину в цілому.

Надлишок кальцію, не тільки пошкоджує кардіоміоцити, він викликає неконтрольований гідроліз ліпідів. В результаті знижується стійкість серцевого м'яза до ішемії і гіпоксії. На клітинному рівні це проявляється пошкодженням мембран мітохондрій, розладом окисного фосфорилування, а також зниженням вмісту рівня глікогену [73, 74].

Вплив стресу на ССС по суті є адренергичним і реалізується через накопичення Ca^{2+} в кардіоміоцитах. Пошкодження міокарда посилюється розладом його кровопостачання. В судинах серця переважають β_2 -адренергічні рецептори, за допомогою яких при стресі катехоламіни здійснюють симпатичну вазоділятацію [36].

Підвищений вміст в крові вазопресину і адреналіну супроводжується поступовим зниженням чутливості β -адренорецепторів до ліганду, в результаті чого активується вплив, що реалізуються за рахунок α -адренорецепторів [75]. Багато в чому механізми підтримки адекватного кровотоку в умовах підвищеного навантаження на серце та інші органи і системи, здійснюються завдяки продукції ендотеліальними клітинами оксиду азоту (NO), рівень якого при помірно вираженому стресі підвищується. Аналогічний ефект мають цитокіни [23]. У той же час тривалий стрес супроводжується зменшенням синтезу NO, що потенціює спазм судин [75, 76].

Встановлено, що стресорне та ішемічне пошкодження міокарда мають ряд загальних патогенетичних ланок [74, 75].

За літературними даними, ранньою ознакою дії стресу є зниження стійкості міокарда до ішемії і гіпоксії. Існує тісна залежність між функціональним станом серцевого м'яза і необхідним рівнем кисню і енергетичних субстратів [69, 70, 75, 77].

Стрессова реакція є багатокomпонентним патогенетичним фактором, що визначає виникнення, розвиток і прогноз ішемічної хвороби серця, серцевої недостатності і АГ.

Виявлено, що 3-х годинна експозиція електростимуляції емоційних центрів і центрів, відповідальних за симпатичну і парасимпатичну регуляцію міокарда призводить до незворотної альтерації клітинних структур міокарда [78].

Дослідженнями [74, 75] з використанням емоційно-больового та імобілізованого стресу, показано, що при надмірній дії подразника адаптивні ефекти можуть перетворюватися в пошкоджуючи.

Реєстрація біоелектричної активності фронтальної зони кори головного мозку при серцевих аритміях на фоні стресу в експерименті супроводжується її збудженням [24]. Автори роблять висновок, що це може бути пов'язано з активацією адренергічних впливів [79] і зниженням амплітуди повільних потенціалів.

Систематично діючий, соціально значущий стрес здатний ініціювати не тільки підвищення АТ, а й розвиток каскаду внутрішньоклітинних біохімічних порушень кардіоміоцитів, що призводять до морфофункціональних змін і далі до стійкого підвищення АТ [27, 79].

У дослідях на адренектомічних кроликах, яким проводили електростимуляцію вентромедіальних ядер гіпоталамуса з введенням стресових гормонів, виявлена лімітуюча роль катехоламінів і кортикостероїдів в генезі розвитку АГ.

В умовах хронічного стресового впливу дана пристосувальна реакція зустрічається часто і може сприяти стабілізації підвищеного тиску [79].

Встановлено, що двостороння адренектомія у експериментальних тварин призводить до зниження АТ, а компенсаторне введення гормонів нормалізує його вихідний рівень.

У своїй роботі Виноградов В.В. [24] показав, що тривалі емоційно-больові стреси, призводять до виникнення першої, транзиторної фази гіпертензії. АТ у тварин підвищувався на 40-50 мм рт.ст., з подальшим зниженням до вихідних показників. Після комбінованого застосування стресових гормонів і електричного роздратування негативних емоційних центрів спостерігалось повторне стійке підвищення АТ. Автор робить висновок, що формування стійкої АГ емоційного походження здійснюється шляхом включення в патогенетичний процес гормонів коркового та мозкового шару надниркових залоз.

Комплексні біохімічні, фізіологічні та цитологічні дослідження у експериментальних тварин на тлі емоційно-больового стресу показали, що при збільшенні інтенсивності експозиції моделі, адаптивні реакції у відповідь на стрес можуть набувати пошкоджуючого характеру.

Індукований викид катехоламінів в кров викликає агрегацію тромбоцитів і їх руйнування, внаслідок чого в кров'яне русло надходять вазоактивні речовини, тромбоксан А, серотонін, гістамін, що підсилюють спазм судин.

Поряд з катехоламінами важливу роль у розвитку стрес-реакції грають гормони, що впливають на реологічні властивості крові. Вони скорочують час її згортання і погіршують мікроциркуляцію тканин.

Можливо у формуванні стійкої гіпертензії емоційного походження, важлива роль належить ретикулярної формації, оскільки її електрокоагуляція на рівні моста мозку не супроводжується розвитком АГ [28].

У механізмах стійкості організму до дії системних стресових факторів важлива роль відводиться реактивності стрес-реалізуючих і стрес-лімітуючих систем. Перші природні медіатори стрес-лімітуючих систем підвищують стійкість організму до стресових пошкоджень і надають профілактичну і лікувальну дію за рахунок обмеження надмірної стрес-реакції.

Виникає «порочне коло», коли спочатку після емоційного перенапруження, порушуються лімбіко-ретикулярні структури мозку, які отримують стійкість під впливом на них гормонів кори надниркових залоз, в результаті чого формується стійка АГ [72,79].

1.2. Проблема гіпертонічної хвороби. Етапи становлення нейрогенної теорії розвитку артеріальної гіпертензії.

Гіпертонічна хвороба (есенціальна артеріальна гіпертензія) відноситься до числа найбільш поширених неінфекційних захворювань серцево-судинної системи в більшості країн світу. Вона є одним з провідних факторів, що

призводять до інвалідизації та зменшення тривалості життя [80]. За даними Комітету експертів ВОЗ, на її частку припадає близько 96% всіх випадків АГ.

Розвиток АГ пов'язаний зі стійким підвищенням АТ і асоціюється з підвищеним ризиком виникнення мозкового інсульту, ішемічної хвороби серця, серцевої та ниркової недостатності [81, 82].

Регуляція АТ - багатофакторна фізіологічна функція, що залежить від інтеграції діяльності серцево-судинної, нервової та ендокринної систем. Для розуміння механізмів формування АТ необхідно враховувати як загальні патофізіологічні, так і конкретні процеси [83].

У нейрогенному контурі регуляції АТ можна виділити три основні складові. Аферентна ланка, яка отримує і доставляє в ЦНС інформацію про стан системної гемодинаміки та адекватності регіонарного кровотоку; центральна ланка, де здійснюється аналіз інформації, що надходить і її інтеграція; еферентна ланка, яка передає команду з центральної ланки до ефекторних органів. В прояві ефекторної ланки виступають не тільки еферентні нерви, а й багато гормонів (ангіотензин II, вазопресин, катехоламіни та ін.) [84, 57].

Порушення функціональної рівноваги в серцево-судинних центрах головного мозку може супроводжуватися патологічними змінами в системі кровообігу, що сприяє розвитку стійкої АГ [85].

На думку ряду вчених (Г.Ф. Ланг, О.Л. Мясников, Е.М. Тарєєв), есенціальна АГ являється самостійною нозологічною формою, яка суворо обмежена від симптоматичних гіпертонії [86].

Багато вчених-медиків трактують есенціальну гіпертензію як психоемоційне захворювання, в основі виникнення якої важлива роль відводиться стресовим факторам, що сприяють порушенню адаптації організму [83].

До теперішнього часу немає єдиної думки про походження гіпертонічної хвороби.

Відповідно до мембранної концепції Ю.В. Постнова, в основі патогенезу первинної гіпертензії лежить порушення іонотранспортної функції клітинних мембран, що полягає в неможливості підтримувати внутрішньоклітинний баланс іонів Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . Внаслідок цього відбувається накопичення кальцію з наступним порушенням функціональної адаптації клітини [83]. В результаті розвитку кальцієвої мембранопатії гіперактивується біосинтез катехоламінів і стероїдів. Стабілізація гіпертензії призводить до структурно-морфологічних змін в артеріальній частині судинного русла.

Традиційно до основних факторів ризику розвитку АГ відносять: гіподинамію, надлишкову масу тіла, дисліпідемію, інсулінорезистентність, куріння, вікову нейроендокринну перебудову, алкоголізацію, спадковість, негативні і хронічні психоемоційні стреси, харчовий раціон з надмірним вмістом солі та ін. [88-91].

Психоемоційний стрес самий частий фактор розвитку АГ [92]. Встановлено [89], що стрес сприяє виникненню гіпертонічних кризів при есенціальній АГ в 75% випадків. Висловлюється думка [75], що одним з істотних патогенетичних факторів, що визначають «ефект» емоційного стресу, є генетична схильність до стресових порушень регуляції судинного тону.

У нашій країні та за кордоном отримала визнання нейрогенна теорія, висунута Г.Ф. Лангом, який стверджував, що АГ виникає не у кожної людини, а тільки у тих, які мають «певні якості», що призводять до даного захворювання [15].

Порівняльна характеристика величин гіпертензивного ефекту стресу у щурів лінії Вістар та щурів зі спонтанною спадковою гіпертензією (SHR) свідчить про генетичну обумовленість.

У щурів SHR збільшення АТ в середньому перевищувало 40-50 мм рт.ст., в той час як у щурів Вістар ці показники були значно нижчими. Таким чином у щурів SHR існує схильність до стресорного підвищення АТ з

подальшим розвитком стійкої АГ через підвищену збудливість судинозвужувального ефекту нейрогуморальної системи.

З цього випливає, що генетично обумовлена або придбана схильність відіграє ключову роль в патологічній дії емоційного стресу на систему регуляції судинного тону, в основі якої лежить дефект стрес-лімітуючих систем [15].

Згідно з основними положеннями теорії Ланга (1948), АГ є класичною "хворобою регуляції", виникнення якої пов'язано з тривалою психічною травматизацією, негативними емоціями сфери вищої нервової діяльності. Розвиток АГ обумовлено порушенням функції коркових і гіпоталамічних центрів, що регулюють АТ, під впливом психоемоційних впливів.

У класичних роботах Г.Ф. Ланга вказувалося, що початковою патогенетичною ланкою АГ є надмірне тонічне скорочення артеріол у відповідь на появу вогнища застійного збудження вищих центрів. Згодом О.Л. Мясников, розвиваючи нейрогенну концепцію виникнення гіпертензії Г.Ф. Ланга як «особливого неврозу», підтвердив первинність психогенного порушення функції вазомоторної системи в регуляції АТ [15, 93]. Він вказував на те, що літній організм схильний до більш виражених емоційних реакцій і має менш пластичні адаптивні процеси функціональних систем.

Однак при цьому в літньому віці в патогенезі та клінічному перебігу захворювання істотне місце займають атеросклеротичні та дегенеративні зміни ССС, а також ішемічні порушення в басейнах мозкових, коронарних і ниркових судин (Е.В. Шляхто, 2009) [22].

Роль негативних психоемоційних переживань в генезі первинної АГ підтверджена клінічними та експериментальними роботами [94, 95]

Найбільш відомими стрес-індуковані варіантами АГ у людей є «гіпертонія білого халата» і «гіпертонія на робочому місці». У таких пацієнтів емоційний стрес, як правило, супроводжується підйомом тиску і підвищеною реактивністю судин.

Виникнення емоційного стресу в ряді випадків обумовлено суб'єктивними особливостями сприйняття і реагування. Їх прояв залежить від професії, соціального стану, освіти. У таких пацієнтів часто зустрічається тривожна недовірливість, психічна ригідність, неконтрольована реакція тривоги, розлад психіки, аж до розвитку енцефалопатії. Клінічну картину захворювання доповнюють тахікардія, задишка, підвищення АТ, порушення сну, почастищення кризових станів [96].

Для хворих з АГ характерна гіперсимпатікотонія, що реалізує свій негативний вплив через підвищення рівня циркуляції та тканинної активності норадреналіну, порушення трофіки судин і серця [97, 98, 99].

У своїх роботах S. Mann [100, 101] звертає увагу на провідну роль активації симпатичного відділу ВНС, під дією стресових факторів в механізмах формування нейрогенної АГ.

У подальших дослідженнях було виявлено тісний зв'язок симпатичного відділу ВНС з іншими пресорними (катехоламіни, β -адренорецептори, ренін-ангіотензин-альдостеронової системи) і депресорними (калікреїн-кінінової система, простагландини, передсердний натрій уретичний пептид (ПНП) та ін.) [83, 102] механізмами.

Сформоване конфліктною ситуацією стаціонарне емоційне збудження набуває здатність нейрогуморальним шляхом оказувати безперервний генералізований спадний вплив на соматовісцеральні функції [17].

До теперішнього часу отримано велику кількість даних, які свідчать про роль порушень нейрогуморальної регуляції кровообігу в патогенезі АГ. Найбільш значимими нейрогуморальними системами регуляції судинного тону є: симпато-адреналова, ренін-ангіотензинова, альдостеронова, калікреїн-кінінова системи, ендотелін-1, система простаноїдів та оксиду азоту (NO) [12, 83, 103].

Патогенетична значимість цих регуляторних систем в механізмах розвитку АГ в різні вікові періоди неоднозначна. На початкових етапах формування АГ у молодих індивідуумів простежується найбільша активність

симпатоадреналової та ренін-ангіотензинової систем, активація ендотеліну-1 і пресорних простаноїдів. На більш пізніх стадіях відзначається в більшій мірі зниження вазоділятаційних факторів (вазоділятаційних простаноїдів) і активація утворення альдостерону. У літньому віці характерне зростання концентрації альдостерону та активності реніну плазми. Виявлена [104] пряма кореляційна залежність між ступенем порушень в продукції мелатоніну і тяжкістю АГ.

Збільшення активності симпатичного відділу ВНС призводить до структурних та біохімічних змін кровоносних судин. Внаслідок цього зменшується співвідношення між товщиною стінки і просвітом судин, має місце тривале підвищення периферичного опору. У осіб з АГ вік та АТ - важливі детермінанти, що визначають судинну жорсткість. При підвищеному АТ відбувається прискорення вікових інволюційних змін в самій судинній стінці і формування атеросклеротичних бляшок [105].

Найважливішим ланкою патогенезу АГ незалежно від віку є порушення функції ендотелію судин [12, 82, 83, 106, 107].

Судинний ендотелій являє собою динамічно зміню систему, структурні і функціональні властивості якої тісно пов'язані з численними локальними і системними стимулами. Його дисфункція є фактором ризику ураження судин [108-110].

При ураженні ССС ендотеліальна дисфункція супроводжується не тільки порушенням вазоділятації, а й підвищенням синтезу ендотеліальних вазоконстрикторних факторів, судинним ремоделюванням, збільшенням адгезивних властивостей та активацією процесу апоптозу. Ключовим проявом дисфункції ендотелію за сучасними даними є порушення в системі оксиду азоту (NO) [111, 112]. Знижений синтез NO і підвищена продукція вільних радикалів кисню причинно пов'язані. Ендотелій відіграє важливу роль в регуляції судинної архітектоніки, а тривалий гемодинамічний стрес може опосередкувати судинне ремоделювання. У цей процес втягується перебудова компонентів судинної стінки, тобто ендотеліальних і

гладком'язових клітин, колагенового матриксу. Основними ендотеліальними факторами в цьому процесі є NO, що інгібує мітогенез і проліферацію клітин гладких м'язів та ендотелін-1, який є мітогенний і активує експресію протоонкогена в судинних гладком'язових клітинах. Показано, що гостре, індуковане фармакологічне зниження АТ викликає підвищене вивільнення NO, а підвищення АТ супроводжується зниженням продукції NO, що визначає значимість показників АТ в регуляції синтезу NO [111, 112].

Зазначені порушення супроводжуються не тільки прогресуванням АГ, а й сприяють формуванню атеросклеротичних уражень та патологічного ремоделювання судинної стінки з подальшими глибокими змінами м'язового шару і формуванням фіброзуючих процесів. Зміни судин в свою чергу призводять до значного зниження кровопостачання життєво важливих органів і розвитку ускладнень АГ та атеросклерозу [111].

Для АГ характерно раннє ураження серця, яке проявляється перш за все, розвитком гіпертрофії лівого шлуночка. Однак зміни міокарда при АГ не обмежуються тільки гіпертрофією лівого шлуночка, а стосуються і порожнини серця (лівого шлуночка і лівого передсердя). Вище описані структурні порушення м'яза серця в даний час визначаються терміном «ремоделювання серця», яке у міру прогресування патології призводить до розвитку спочатку діастолічної, а потім і систолічної серцевої недостатності. Ремоделювання серця на фоні АГ сприяє розвитку ішемічної хвороби серця (ІХС) у зв'язку з прогресуючою недостатністю мікроциркуляторного русла міокарда [65, 83].

Істотна роль в розвиток ІХС при АГ належить атеросклерозу. За рахунок проліферації фібробластів і збільшення синтезу колагену в них, а також внаслідок порушення процесів деградації синтезованого колагену відбувається перебудова колагенової мережі, що проявляється інтерстиціальною і периваскулярною акумуляцією колагену 1 типу. В результаті розвивається інтерстиціальний реактивний фіброз міокарда, що супроводжується підвищенням його жорсткості і зміною геометрії лівого шлуночка [65, 83, 113-116].

Фібробласти складають близько 90% популяції нем'язових клітин міокарда. Зовнішній стрес призводить до зміни фенотипу фібробластів - їх трансформації в міофібробласти. Останні активно продукують компоненти екстрацелюлярного матриксу та профібріногенні медіатори, що включають трансформуючий фактор росту [117, 118].

В останні роки значне місце в патогенезі розвитку АГ та інших ССЗ відводиться процесам ангіогенезу. Особливо чітко роль порушень в системі ангіогенезу встановлена в механізмах розвитку ішемічного ураження нижніх кінцівок [119-127].

На сьогоднішній день методики лікування ССЗ, в тому числі АГ, відрізняються різноманітністю і пройшли довгий шлях від медикаментозної корекції і хірургічного втручання до регенераційної терапії стовбуровими клітинами. Ідея регенеративної терапії з використанням, як власних стовбурових клітин (СК) пацієнта, так і СК донора на сьогоднішній день стала реальністю [128, 129]. Введення клітинних препаратів призводить до заміни ушкоджених ділянок живими функціонуючими клітинами, що може відновити циркуляцію крові у вогнищі ішемії. Це робить клітинну терапію перспективним методом запобігання або скорочення прогресуючої незворотної втрати функції серцевого м'яза [130].

1.3. Кордова кров і її застосування в клітинній терапії.

Клітинна терапія з використанням СК є одним з найбільш перспективних та іноваційних напрямків розвитку медицини і вже сьогодні дозволяє отримати якісно нові клінічні результати в різних областях застосування [131, 132].

Найперспективнішим та доступним джерелом СК є КК. Вперше наявність великого числа примітивних та комітованих попередників гемопоезу було показано в роботі [133]. Застосування даного джерела гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК) в практичній медицині через відсутність етичних протиріч було обгрунтовано в роботах Broxmeyer [8, 134].

Перелік захворювань, при яких успішно застосовується трансплантація СК налічує кілька десятків [128, 131, 135-144].

За рахунок скоординованого і програмованого поділу СК є джерелом тканин організму, беруть участь в їх підтримці протягом усього життєвого періоду. Така сталість залежить від існування тканиноспецифічних СК, які виробляють нові функціональні клітини в нормальних умовах, а також після специфічного стресу в міру зростаючих потреб активності або пошкодження організму (фізіологічна або репаративна регенерація). Вважається, що дані клітини знаходяться в відповідних органах, де строго контролюються специфічним мікрооточенням. Після надходження відповідного сигналу вони мобілізуються і залучаються до ділянок, які вимагають клітинної регенерації [145-151].

Механізм дії СК полягає в їх можливості мігрувати до патологічного вогнища, забезпечувати клітинним субстратом пошкоджений орган для репопуляції, стимулювати його регенерацію та функціональну активність [131, 147, 149].

Стовбурова клітина – це клітина позбавлена тканеспецифічних структур, здатна до тривалої самопідтримки та диференціації в різні типи спеціалізованих клітин [131, 148].

В даний час найбільш широко поширені два види класифікації СК. За джерелом отримання вони поділяються на ембріональні стовбурові клітини (ЕСК), фетальні стовбурові клітини (ФСК), СК з пуповинної крові, тканини дорослого організму та кісткового мозку. ЕСК виділяють з внутрішньої клітинної маси та епібласта бластоцист, а ФСК з ембріона до 12 тижнів гестації.

Відповідно до другого виду – СК класифікують за кількістю різних типів спеціалізованих клітин, початок яким може дати дана СК. Тотіпотентні СК – перші клітини, що утворюються після поділу заплідненої яйцеклітини; плюрипотентні СК – клітини внутрішньоклітинної маси бластоцисти (в процесі ембріонального розвитку вони дають початок всім типам соматичних

клітин людини); мультипотентні СК – клітини з більш низьким, ніж у плюрипотентних потенціалом; уніпотентні СК – клітини, які можуть диференціюватися тільки в один тип спеціалізованих клітин [131, 146-148, 152].

Характеризуючи кожен вид СК отриманих з різних джерел, можна говорити про її позитивний або негативний вплив на організм людини [153].

ЕСК є добре вивченим джерелом плюрипотентних СК. Вони характеризуються високою проліферативною і теломеразною активністю, тоті – та плюрипотентністю, завдяки чому можуть утворювати будь-яку з тканин організму, хоумінгом – здатністю при введенні в організм знаходити зону пошкодження і фіксуватися там, виконуючи втрачену функцію.

Однак їх використання в замісній клітинній терапії обмежена із кількох причин.

Перша причина полягає в імунологічній несумісності донорських клітин та організму реципієнта, що може привести до відторгнення трансплантованих клітин.

Друга носить етичний характер, оскільки під час отримання ЕСК людський ембріон руйнується.

Третя, що обмежує використання ЕСК те, що вони можуть формувати пухлини в організмі.

Найбільш поширеними джерелами СК, в тому числі й ГСК є кістковий мозок (КМ) та кордова кров (КК). Ці клітини здатні диференціюватися в клітинні лінії, що формують кісткову, нервову, жирову тканину, сухожилля, кардіоміоцити, строму, підтримувати гемопоез [152, 153].

Кордова кров, як джерело отримання ГСК має ряд переваг:

- ГСК з КК мають великий проліферативний потенціал у порівнянні з ГСК з КМ, що, ймовірно, пов'язано з більшою довжиною теломер [154-159].

- Т - лімфоцити КК функціонально незрілі, що знижує ймовірність та тяжкість реакції «трансплантат проти господарів» (РТПГ) [160, 161].

Надалі це дозволило проводити алогенну трансплантацію при несумісності зразка по 1-2 HLA антигенів та істотно розширити список доступних донорів. При цьому не відзначалося збільшення частоти хвороби «трансплантат проти господаря» [162, 163].

- підбір і отримання необхідного для трансплантації зразка відбувається набагато швидше, ніж підбір донора КМ;
- при неспорідненій трансплантації менш суворі вимоги до сумісності з HLA типування;
- процедура збору КК безболісна і безпечна для донора;
- низька ймовірність контамінації латентними вірусами, такими як цитомігаловірус та вірус Епштейна - Бара.

Крім того, важливою перевагою КК є необмежені ресурси по її заготівлі, можливість підбору рідкісних HLA-гаплотипів при заборі крові серед етнічних меншин, а також відсутність ризику для донора та матері [148, 153].

КК має ряд принципових відмінностей від периферичної донорської крові дорослої людини. Плазма КК гормонально насичена, має високий рівень вітамінів та мікроелементів, багата імунорегуляторними агентами, специфічними плацентарних білками, які виконують роль ферментів, коферментів, гемопоетинів, адаптогенів, рецепторів факторів росту, містить цілий ряд пептидів. Ці речовини формують біологічно активний комплекс, який при потрапленні в організм може нормалізувати обмін речовин [164, 165].

У КК в високих концентраціях присутній пролактин, який надає позитивний вплив на імункомпетентні клітини [166].

Кількість еритропоетину в КК в 2-3 рази більше ніж в донорської [167], дана речовина регулює еритропоез та забезпечує підтримку необхідного обсягу еритроцитарної маси відповідно до потреб організму в кисні, що дозволяє розглядати КК як стимулятор еритропоезу [167, 168].

Незважаючи на велику кількість біо- та імуностимуляторів в КК, ці речовини знаходяться в збалансованих концентраціях та представляють потужний біологічно активний комплекс, необхідний для організму [169-171].

Історія виникнення, розвитку та застосування алогенних трансплантації ГСК КК (алло-ТСКК) налічує трохи більше півстоліття. На сьогоднішній день, незважаючи на такий нетривалий проміжок часу, алло-ТСКК широко використовуються в практичній охороні здоров'я як ефективний метод лікування різних захворювань крові, імунної системи, порушень обміну речовин.

Зараз існує реальна можливість використовувати СК для негемопоетичних трансплантацій, тому що з КК були виділені негемопоетичні СК (мезенхімальні). Ці клітини можуть бути вирощені та диференційовані в різні тканини, в тому числі мезенхімальну, кісткову, хрящову тканину та інші лінії. Їх можна застосовувати для аутогенних і алогенних трансплантацій, вони не потребують інтенсивної обробки, і не викликають етичних проблем [131, 145].

Успішну трансплантацію ГСК з КК дитині з анемією Фанконі вперше здійснили в Парижі в 1988 році, а вже через 13 років в світі налічували понад 1500 пересадок з використанням кровотворних клітин КК. На даний момент виконано більше 10000 трансплантацій ГСК отриманих з КК.

Значна затребуваність в препаратах ГСК КК привела до необхідності створення банків кордової крові, де зразки зберігаються в рідкому азоті при температурі – 196°C протягом практично необмеженого часу без втрат їх біологічних властивостей.

Банки КК ввели критерії стандартизації отримання, банкіровання, обробки та кріоконсервування КК для трансплантантів, отриманих від неспоріднених донорів, призначених для пацієнтів з різними онкогематологічними та неонкогематологічними захворюваннями. В даний час КК стала одним з найбільш поширених джерел ГСК для алогенних

трансплантацій. Сьогодні існує глобальна мережа банків КК та центрів трансплантації для публічного користування [172-176].

Створення таких банків потенційно корисно в майбутньому, особливо для пацієнтів з відносно рідкісними групами крові по HLA - системі.

У зв'язку з необхідністю створення банків КК та отримання з неї клітинних препаратів дуже важливою і актуальною проблемою є розробка нових і вдосконалення існуючих технологій кріоконсервування [172].

Для наукового обґрунтування та розробки методів кріоконсервування різних біологічних об'єктів необхідно вивчення фізико-хімічних, біохімічних, морфологічних та патофізіологічних процесів на клітинному, тканинному і організменному рівнях.

Слід врахувати, що критично значущим для клінічного застосування і успішного приживлення трансплантата є параметри зразка КК, що характеризується кількістю ядровмісних клітин (ЯВК) $CD45^+$ (не менше $2,5 \times 10^7/\text{кг}$) та $CD34^+$ -клітин (не менше $1 \times 10^5/\text{кг}$).

З огляду на обмежені обсяги КК (в середньому не більше 100 мл) та відносно невеликої абсолютної кількості ГСК, а також неможливості її повторного забору, одним з основних завдань при заготівлі КК є взяття максимально можливої її кількості. КК отримують при фізіологічних та оперативних пологах доношених дітей 37-41 тижнів гестації з урахуванням наявності інформованої згоди матері та відсутності стандартних протипоказань. Взяття крові проводять після стискання та перетину пуповини, проводять пункцію судин спеціальною системою для забору крові, яка містить антикоагулянт [9, 148, 177, 178].

Сама технологія кріоконсервування ЯВК КК складається з декількох етапів: виділення ЯВК, обробка їх кріопротекторами та заморожування-відігрівання клітин. КК можна кріоконсервувати і без попередньої обробки, проте, еритроцити при заморожуванні-відтаванні лізують і продукти лізису можуть викликати несприятливі реакції у реципієнта. Крім того еритроцити донора можуть бути несумісні по еритроцитарним антигенам (ABO і Rh) з

реципієнтом. У зв'язку з цим, а також для зменшення обсягу біоматеріалу, перед довгостроковим зберіганням КК проводять виділення ЯВК, для чого використовуються різні методи та речовини [177].

Одним з таких методів є седиментації ЯВК в 3% розчині желатину (1: 1), або 10% розчині гідроксиетилкрохмалю (1: 4), які дозволяють отримати (80 – 90)% ЯВК, видалення еритроцитів при цьому методі (96 – 99)% [178].

В даний час досить велике поширення в світовій практиці отримав метод виділення ЯВК в градієнті щільності на основі фікола або перкола [178, 179]. Даний метод виділення дозволяє отримати переважно моноклеарні клітини, однак призводить до значних втрат гемопоетичних попередників (30 – 50)%.

Ряд авторів [180, 181], вважають, що практично всі методи фракціонування крові ведуть до великих втрат ЯВК. Тому вони запропонували проводити сепарацію шляхом центрифугування, розділяючи КК на три фракції: еритроцитарну, лейкоцитарне кільце та плазму. Даний метод дозволяє виділяти до 90% клітин з імунофенотипом CD34⁺.

Одним з перспективних методів для сепарації ЯВК КК є осадження еритроцитів в поліглюкіні (ПГ) [182, 183], оскільки він є ефективною седиментуючою речовиною та має ряд переваг перед іншими речовинами. ПГ є доступним стандартним медичним препаратом, його використання не вимагає відмивання перед введенням, являється сприятливим середовищем для ядровмісних клітин.

Найбільш небезпечним для клітин етапом в технології кріоконсервування є етап заморожування-відігрівання. В даний час для кріоконсервування ЯВК КК широко використовується, здатний проникати в клітину кріопротектор - диметилсульфоксид (ДМСО). Незважаючи на те, що використання проникаючих кріопротекторів дозволяє отримати досить високий відсоток життєздатних клітин після кріоконсервування, їх застосування часто має ряд серйозних труднощів пов'язаних з поверненням клітин в ізотонічне середовище та необхідністю видалення кріопротектора

після розморожування. Це істотно ускладнює процедуру отримання якісних деконсервованих клітин та призводить до втрати їх кількості в процесі відмивання.

ДМСО має досить ефективні кріопротекторні властивості, а в високих концентраціях є токсичною речовиною [182]. Токсичність ДМСО для клітин залежить від температури, часу інкубації, а також від концентрації кріопротектора.

Останнім часом спостерігається тенденція до розробки методів кріоконсервування ЯВК шляхом поєднання в одному розчині низьких концентрацій декількох захищаючих речовин різного механізму дії [184, 185]. Таке поєднання дозволяє знизити токсичну дію кріопротектора на клітини, не зменшуючи їх життєздатності.

При вивченні впливу різних концентрацій ДМСО в поєднанні з 4% гідроксиетилкрохмалем ДЕК, було показано [186], що при концентраціях ДМСО (5–10)% з 4% ДЕК кількість CD34⁺ клітин практично не змінювалася. Однак при зниженні концентрації ДМСО (5–2,5) % відзначалася гибель ЯВК КК (85,4–12,2)% [187]. Концентрація ДМСО 5 % та 10 % в поєднанні з аутологічною сироваткою однаково ефективні для кріоконсервування ЯВК КК [184, 185] .

Таким чином, для кріоконсервування ЯВК КК необхідно використовувати ДМСО в мінімально допустимих концентраціях в поєднанні з речовиною, яка сама по собі була б кріопротектором та найбільш сприятливим середовищем для ЯВК, а також не вимагала відмивання клітинної суспензії.

Також слід зазначити, що не менше важливим для збереження клітин у функціонально-повноцінному стані на етапі заморожування є швидкість охолодження клітинної суспензії. Загальноприйнятим для ЯВК є швидкість охолодження на першому етапі (1–3) °С/хв. до температури 80 °С, з наступним зануренням у рідкий азот [178]. Іноді використовується

трьохетапне заморожування, коли швидкість охолодження на першому етапі становить $1\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{хв.}$ до температури клітинної суспензії $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, на другому етапі $-5\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{хв}$ до $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$, а потім занурення в рідкий азот [186].

Тому, використання оптимальних технологій кріоконсервування і зберігання в замороженому стані ЯВК КК дає можливість створити запаси клітинних препаратів для їх успішного клінічного застосування.

Якщо розглядати ЯВК КК в якості терапевтичних агентів, можна виділити дві області за рахунок впливу на які вони визначають свою ефективність. Перша включає регенерацію, заміну або заміщення функціональних клітин; друга, пов'язана з використанням імуніцитів, в якій будуть експлуатуватися їх специфічні типи відповідей в області ефекторів та супресорів (клітинна імунотерапія) [188, 189].

В даний час спостерігаються очевидні успіхи в терапії серцево-судинної патології, проте існує певна група пацієнтів, у яких традиційні фармакологічні та хірургічні методи лікування неефективні.

Незважаючи на прогрес, досягнутий в лікуванні гострого інфаркту міокарда (ГІМ), хронічної серцевої недостатності (ХСН) – часто виникає процес ремоделювання міокарда шлуночків, при цьому стані можливості медикаментозної терапії різко обмежені [190].

Високий рівень смертності при ССЗ багато в чому пов'язаний з різко обмеженою здатністю міокарда до регенерації. В процесі розвитку захворювань ССС здатність кардіоміоцитів до клітинного ділення знижується. В умовах ішемії кількість проліферуючих клітин з маркерами кардіоміоцитів зменшується в десятки разів, їх число та проліферуючий потенціал неадекватний потребам регенеруючого міокарда [191-195].

Роль кровотворних СК у вогнищі ішемії зводиться, ймовірно, до секреції біологічно активних речовин, злиття з кардіоміоцитами пацієнта та стимуляції неоангіогенезу [196].

Альтернативним терапевтичним підходом для цієї категорії хворих може служити клітинна терапія. На відміну від хірургічних, фармакологічних

або генно-інженерних методів, застосування клітинних препаратів дозволяє замінити пошкоджені ділянки міокарда живими функціонуючими клітинами. Це, разом зі здатністю ряду клітинних препаратів стимулювати відновлення кровотоку у вогнищі ішемії, робить клітинну терапію перспективним методом запобігання або скорочення прогресуючої незворотної втрати функції серцевого м'яза [196-202].

Важливою умовою відновлення функції міокарда є утворення повноцінних електромеханічних контактів як між знову утворюваними клітинами, так і з тими, що оточують кардіоміоцити. Використовуючи клітинну терапію, за рахунок процесу стимуляції неоангіогенезу можна домогтися реваскуляризації ішемічного вогнища [196].

У формуванні нових кровоносних судин в тканинах беруть участь два основні механізми - ангіогенез і артеріогенез [203].

В процесі ангіогенезу відбувається розгалуження існуючих капілярів і формується нова капілярна мережа. В основному цей процес регулюється фактором росту ендотелію судин (VEGF) та фібробластів (FGF). VEGF індукує збільшення судинної проникності, продукцію оксиду азоту, розпушення базальної мембрани і експресію молекул адгезії на поверхні ендотеліоцитів. Це сприяє міграції макрофагів, гладком'язових клітин, клітин - попередників ендотелію та формування нової судини [204].

Артеріогенез, являє собою невід'ємну складову розвитку колатерального кровообігу за рахунок ремоделювання існуючих артеріол малого калібру в судини більшого діаметру. Він запускається при підвищенні тиску в колатеральних артеріолах, що виникають при оклюзії основної артерії. Основним механізмом артеріогенеза є міграція в стінку судини моноцитів, які диференціюються в макрофаги та продукують велику кількість факторів росту судин та інших цитокінів. Це супроводжується проліферацією гладком'язових і ендотеліальних клітин, синтезом міжклітинної речовини і, в підсумку - ремоделюванням судини.

Відновлення адекватної васкуляризації ішемічного вогнища є виключно важливою умовою зменшення некротичних змін в міокарді і максимального відновлення його скорочувальної здатності [190].

Позитивні ефекти клітинної терапії можуть мати місце за рахунок збільшення концентрації ендогенних ендотеліальних клітин – попередників (ЕКП). ЕКП та мезенхімальні СК в патологічному вогнищі активуються при їх мобілізації шляхом введення Г-КСФ. Крім цього, Г-КСФ безпосередньо пригнічує процеси гибелі кардіоміоцитів в періінфарктній зоні завдяки активації ендотеліальної NO-синтази [205].

Нейтрофіли, мобілізуєми і активовані Г-КСФ, сприяють фагоцитозу некротизованих тканин, регулюють активацію фібробластів і процеси ангиогенезу. Динамічні спостереження виявили поступове поліпшення гемодинамічних показників, обумовлене збереженням нормальної архітекτονіки міокарда та підвищення метаболічної активності в зоні інфаркту в результаті поліпшення її перфузії.

Великий інтерес викликає можливість використання для терапії ССЗ ЯВК КК у зв'язку з високим вмістом в них мультипотентних СК, значна пластичність і проліферативний потенціал яких встановлені в багатьох експериментальних дослідженнях [206, 207].

Клітинна терапія також вдало поєднується з використанням β - блокаторів та інгібіторів АПФ, одним з ефектів яких є зниження ангіотензин-залежної проліферації фібробластів та секреції колагену в зоні пошкодження.

Сумарний ефект сприятливого впливу клітинної терапії на функціональний стан міокарда при його ішемічному пошкодженні, досягається за рахунок паракринних впливів транспортованих клітин та стимуляції власної ендогенної репарації міокарда [208].

ГСК мають маркери CD34⁺ та CD133⁺, вони є найбільш доступними клітинами для проведення кардіоміопластики. Поліпшення функції серця після трансплантації КК, що містить ГСК можна пояснити поліпшенням неоваскуляризації (диференціювання клітин в ендотеліальні попередники),

виділенням цитокінів та хемокінів, зниженням запалення в пошкодженій області, відновленням позаклітинного матриксу [209-211].

Таким чином, застосування ЯВК КК, що містять ГСК для лікування ССЗ є однією з найбільш багатообіцяючих та динамічно прогресуючих областей клітинної терапії. Проте, слід зазначити, що для широкого використання клітинних технологій повинні бути проведені клінічні дослідження, спрямовані на визначення ефективності різних варіантів клітинної терапії серцево-судинної патології, розробка показань і протипоказань до використання клітинних препаратів, створення рекомендацій по комбінації методів клітинної терапії з традиційними хірургічними та консервативними методами лікування ССЗ [152].

З огляду на високу пластичність та диференційний потенціал різних популяцій стовбурових та прогеніторних клітин КК людини, актуальним є подальше дослідження механізмів дії ЯВК КК на організм на тлі патології ССС.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Характеристика експериментальних тварин і схема експерименту.

Основну частину досліджень проводили на базі наукових підрозділів Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (ІПКіК НАН України), м. Харків відповідно до загальних принципів роботи на тваринах, схвалених Комітетом із біоетики ІПКіК НАН України та узгоджених із положеннями III Національного конгресу з біоетики (Київ, 2007) та «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [212].

Експерименти виконували на 154 безпородних білих щурах - самцях 6- і 28- місячного віку масою 160–180 гр. і 300–350 гр. відповідно.

Тварини містилися в умовах віварію ІПКіК НАН України при світловому режимі 10 годин і 14 годин темряви, на стандартному харчовому раціоні. З метою виключення сезонних і добових коливань експерименти проводилися в зимовий період, в першій половині дня. [212].

Кожна вікова група тварин була розподілена на три підгрупи: 1 – інтактні; 2 – щури з моделлю стрес-індукованої АГ; 3 – щури зі стрес-індукованою АГ після введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Кількість тварин в кожній підгрупі визначалася необхідністю поточних вимірювань показників, визначених метою і завданнями дослідження (таблиця 2.1). В динаміці проведення експерименту і в період спостереження жодна з досліджуваних тварин не загинула.

При статистичній обробці результатів перевіряли характер розподілу цифрового матеріалу в вибірках за допомогою критерію В. Шапіро-Уїлка. Середні арифметичні значення порівнювали за допомогою *t* критерію Стьюдента для незалежних вибірок. Відмінності вважали статистично значущими при $p \leq 0,05$ [213, 214].

Таблиця 2.1.

Схема розподілу тварин за серіями в експерименті

№	Характер експерименту	Вік тварин	Кількість тварин
1.	Вивчення динаміки змін основних показників спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму у щурів після введення фізіологічного розчину, плазми кордової крові і препарату ЯВК КК на плазмі (тварини без АГ).	молоді старі	28 28
2.	Оцінка стану вегетативної регуляції серцевого ритму у тварин з АГ до та після введення кріоконсервованих ЯВК КК	молоді старі	49 49
3.	Оцінка динаміки ультраструктурних перебудов тканин і судин міокарда щурів з АГ до та після введення ЯВК КК.	молоді старі	49 49
4.	Вивчення особливостей гістологічної структури міокарда тварин з АГ до та після введення ЯВК КК.	молоді старі	49 49
5.	Визначення рівня цукру крові, показників ліпідного обміну, в сироватці крові щурів з АГ до та після введення ЯВК КК	молоді старі	49 49
6.	Визначення вмісту кінцевих продуктів обміну оксиду азоту, тиреоїдних гормонів в сироватці крові тварин з АГ до та після введення ЯВК КК.	молоді старі	49 49

2.2. Методика моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії.

Моделювання стрес-індукованої АГ проводилося в спеціалізованій установці [215] за методикою [216] яка нами була модифікована [217].

Тварин (7 щурів одночасно) поміщали в спеціальну клітку, підлога якої є ґратами, розташованої на дерев'яній рамці. Крізь неї через 8-10 мм. протягнутий металевий дріт діаметром 1 мм. Зовні клітини знаходиться вимикач з регулятором напруги, з'єднаний з джерелом живлення змінним електричним струмом. На решітку підлоги подавали електричну напругу, замикаючи контакти, тим самим, забезпечуючи дозовану і регульовану подачу струму, що дозволяло уникнути гибелі тварин через коротке замикання.

На щурів впливали комплексом подразників. Протягом 10 хв їх піддавали дії звукового подразника (різкий звук 50 Гц), потім тричі впливали електричним (змінним струмом напругою від 10 до 20 вольт, протягом 10-15 сек., з інтервалами між ними 15 сек.). Далі застосовували світловий подразник (включали на 10 хв електричну лампу потужністю 200 Вт, розташовану на висоті 40 см над рівнем підлоги). Вище описані впливи проводили послідовно, три рази в день. Перерва між комплексом подразників (звукового, електричного, світлового) становила 30 хв. По закінченню експерименту щурів поміщали в стандартні умови віварію. Моделювання стрес-індукованої АГ проводили протягом 7 днів, до появи стійкого підвищення АТ. У інтактних і експериментальних тварин протягом моделювання захворювання реєстрували електрокардіограму (ЕКГ) і АТ, як до так і після роздратування. Моделювання стрес-індукованої АГ проводилося до отримання стійких підвищених цифр АТ (у молодих щурів – $(161,98 \pm 5,47)$ мм рт.ст., норма – $(99,72 \pm 3,57)$ мм рт.ст., у старих – $(179,25 \pm 2,29)$ мм рт.ст., норма – $(103,92 \pm 2,96)$ мм рт.ст.) АТ вимірювали непрямим методом за принципом медичної тонометрії, за допомогою електрокардіографа «Полі-Спектр» (компанія «Нейрософт», Росія),

використовуючи спеціальні притискні манжетки «Microlife BP BEO-4» (Microlife, Швейцарія) і датчики пульсу кровоносних судин хвоста тварини.

Підтвердивши стійку АГ (протягом 7 діб гіпертензія стабільно зберігалася і не було тенденції до зниження АТ), тваринам вводили кріоконсервований препарат ЯВК КК людини, отриманий в ІПКіК НАН України [218, 219].

2.3 Отримання і кріоконсервування кордової крові. Оцінка структурно-функціональної повноцінності ядровмісних клітин.

2.3.1. Збір кордової крові.

Збір кордової крові виконували відповідно до вимог комісії з біоетики ІПКіК НАН України після отримання інформованої згоди у вагітної, яка проходила ретельний дородовий скринінг на наявність протипоказань до донорства. Ексфузію крові здійснювали закритим способом в систему для забору крові з 25 мл антикоагулянту «Глюгіцир» («Біофарм», Україна) з вени пуповини при природних пологах або операції кесарів розтин після народження дитини і відділення її від плаценти затискачем. Середній обсяг одержуваної КК в одному зразку становив 80 ± 20 мл.

2.3.2. Виділення фракції ядровмісних клітин з цільної кордової крові і обробка кріопротектором.

Виділення фракції ядровмісних клітин з цільної кордової крові проводили методом седиментації в поліглюкіні (ПГ) (6 % розчин декстрану з молекулярною масою 60000). Для цього кров і ПГ змішували в об'ємі 1: 1, відстоювали до появи чіткої межі між еритроцитарним шаром та ядровмісними клітинами. Після чого супернатант відбирали, переносили в центрифужні пробірки і центрифугували протягом 5-7 хвилин при 1000 об/хв для отримання концентрату ЯВК в аутоплазмі.

Для кріоконсервування ЯВК КК використовували кріопротектор ДМСО в кінцевій концентрації 5 %, приготований на 6 %-му розчині

поліглюкіну. Суспензії клітин обробляли кріопротектором при низькій позитивній температурі (0–4 °C). Розчин ДМСО додавали повільно, по краплях, при постійному помішуванні [218].

Після обробки концентратів клітин кріопротектором суспензію клітин переносили в кріопробірки фірми «Nun» (Німеччина) для заморожування.

2.3.3. Заморожування - відігрівання ядровмісних клітин кордової крові.

Заморожування проводили до –196 °C за спеціально розробленою запатентованою програмою [219] на програмному заморожувачі «Cryosan» (Німеччина). Суспензію ЯВК, оброблену ДМСО поміщали в заздалегідь охолоджений до 0 °C програмний заморожувач і витримували клітини 20 хв. Далі клітинну суспензію охолоджували зі швидкістю 3–3,5 град/хв до – 60–65 °C і переносили в рідкий азот [220]. Відтавання здійснювали при 37–40 °C на водяній бані при постійному погойдуванні, не допускаючи нагрівання клітинної суспензії.

2.3.4. Визначення збереження ядровмісних клітин кордової крові.

Кількість збережених ЯВК КК підраховували у камері Горяєва за стандартною методикою (Davis J.M., 2002).

Збереження клітин визначали як відношення кількості клітин в досліджуваному зразку (або після обробки клітин кріопротектором, або після кріоконсервування) до кількості клітин після виділення, виражене у відсотках.

$$\text{Збереженість ЯВК, \%} = \frac{\text{Кількість клітин після впливу}}{\text{Вихідна кількість клітин}} \times 100 \%$$

2.3.5. Визначення кількості гемопоетичних стовбурових клітин кордової крові.

Визначення відносної кількості CD34⁺ - клітин проводили з використанням стандартного ISHAGE (International Society of Hematotherapy and Graft Engineering) протоколу та реактивів «Becton Dickinson» («BD», США) [222, 223].

Для цього до 50 мкл цільної крові додавали 10 мкл. реагенту, що містить FITC-мічений CD45⁺, клон 2D1, і PE-мічений CD34⁺, клон 8G12, перемішували і інкубували при кімнатній температурі в темряві. Додавали 1 мл лізуючого розчину (хлорид амонію) в кожну пробірку. Інкубували проби 3–5 хв. при кімнатній температурі в темряві. Проби аналізували на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» («BD», США). Для мінімізації помилки збір даних проводився до моменту накопичення не менше 200 CD34⁺ клітин. Результати оцінювали за допомогою програмного забезпечення фірми «BD-CELLQuest Pro», («Becton Dickinson», США).

2.3.6. Визначення життєздатності ядровмісних та гемопоетичних стовбурових клітин кордової крові методом проточної цитофлуориметрії.

Життєздатність ЯВК оцінювали з використанням вітального барвника 7AAD («BD», США) [224] на проточному цитофлуориметрі згідно ISHAGE протоколу. Для цього до 50 мкл. цільної крові додавали 10 мкл. реагенту, що містить 7-AAD, перемішували і інкубували 15 хв. при кімнатній температурі в темряві. Потім проводили лізис еритроцитів з використанням хлориду амонію («BD», США).

Проби аналізували на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» («BD», США). Для мінімізації помилки в пробі аналізували 20000 подій. Результати вимірювання оцінювали за допомогою програмного забезпечення фірми «BD-CELLQuest Pro», («Becton Dickinson», США).

2.3.7. Метод культивування ЯВК КК.

Для вивчення колонієутворюючої активності було використане метілцелюлозне середовище «MethoCult H4434» («StemCellTechnologies», Канада), виготовлене з метою підтримки оптимального росту еритроїдних, гранулоцитарно-макрофагальних, гранулоцитарних, макрофагальних і мегакаріоцитарних попередників, що містить набір цитокінів і факторів росту, необхідних для утворення колоній зі стовбурових гемопоетичних клітин та клітин-попередників різного ступеня розвитку. Культуральне середовище «MethoCult GF H4434» складається з: метилцелюлози, фетальної бичої сироватки, бичого сироваткового альбуміну, 2 меркаптоетанолу, фактора стовбурових клітин, колонієстимулюючого фактора гранулоцитів-макрофагів (GM-CSF), інтерлейкіну-3 (ІЛ-3), еритропоєтину, Iscoves MDM (основа середовища - модифікація середовища Дульбеко) [225, 226].

Клітини вихідної суспензії ресуспендували в середовищі «Iscove's MDM» («Sigma», США) до досягнення концентрації клітин $3,2 \cdot 10^5$ кл/мл, щоб забезпечити оптимальний ріст та морфологію CFC. У відігріте, при кімнатній температурі, середовище «MethoCult GF H4434» об'ємом 3 мл додавали 0,3 мл клітин встановленої концентрації ЯВК КК (співвідношення обсягів клітин і середовища 1/10 дає потрібну в'язкість, щоб забезпечити оптимальний ріст і морфологію CFC) [225]. Після цього ЯВК КК і середовище «MethoCult GF H4434» перемішувалися на мішалці («Vortex» - «Wizard») для рівномірного розподілу клітин в середовищі та переносили в посуд для культивування. Культивування проводилося в умовах CO_2 -інкубатора, при температурі 37 °C і змісті 5 % CO_2 в повітрі протягом 18-20 днів. Дослідження колонієутворюючої активності клітин кордової крові проводили використовуючи інвертований мікроскоп («Carl Zeiss», Німеччина).

2.3.8. Введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Кріоконсервований препарат кордової крові людини являє собою суспензію ядровмісних клітин (ЯВК) (в тому числі і стовбурових) в плазмі з концентрацією стовбурових $CD34^{+}$ клітин $2-4 \times 10^5$ в 1мл [157, 227, 228, 229].

Введення клітинного препарату для експериментальних досліджень проводилося з урахуванням кількісних і якісних характеристик клітин. Для введення реципієнту мінімальна кількість життєздатних $CD34^{+}$ клітин повинна знаходитися в межах $(1.0-2.3) \times 10^5$ /кг, а ядровмісних клітин $CD45^{+}$ не менше 3×10^7 / кг маси тіла після розморожування зразка [228, 229].

Підтвердивши стійку АГ (протягом 7 діб після закінчення моделювання гіпертензія стабільно зберігалася, і не було тенденції до зниження АТ), тваринам вводили кріоконсервованих препарат ЯВК КК людини, отриманий в ІПКіК НАН України [218, 219].

Розморожений препарат вводили внутрішньочеревно, в 1 мл плазми в дозі 1×10^5 $CD34^{+}$ - клітин на кілограм маси, одноразово на 7-му добу після розвитку АГ.

2.4. Електрофізіологічні методи дослідження.

Реєстрацію ЕКГ здійснювали на 3, 7 добу на тлі моделювання стрес-індукованої АГ, а також через 3 дня, тиждень, два, три тижні і місяць після розвитку стійкої АГ і введення гіпертензивним тварин кріоконсервованих ЯВК КК, на електрокардіограф серії «Полі-Спектр» («Нейрософт», Росія) в 6 стандартних відведеннях. Тривалість запису становила 5 хв.

Спектральний аналіз ВСР проводили за допомогою програми «Полі-Спектр-Ритм» («Нейрософт») [230, 231].

Варіабельність серцевого ритму (ВСР) є одним з найбільш інформативних методів, що дозволяє виявити взаємозв'язок між ВНС і смертністю від ССЗ.

Фізіологічні механізми ВСР основані на тому, що послідовний ряд кардіоінтервалів (кардіоритмограма) відображає регуляторний вплив на

сінусовий вузол серця різних відділів ВНС – симпатичного і парасимпатичного. У стані спокою вплив обох відділів ВНС на серце врівноважено, спостерігається так званий вегетативний баланс. При стресі, фізичному навантаженні зростає активність симпатичного відділу ВНС і знижується - парасимпатичного. Таким чином, вегетативна регуляція забезпечує необхідний рівень діяльності системи кровообігу відповідно до потреб організму в кожній конкретній ситуації. Тому мінливість періодичних процесів кровообігу - результат інтеграційних нейрогуморальних впливів, в зв'язку з чим її показники є фундаментальними характеристиками регуляторних систем, а не кровообігу.

Мінливість інтервалів між синусовими скороченнями може бути виміряна на коротких (5-10 хв) і довгих (від декількох годин до доби) записах ЕКГ [232].

Спектральний аналіз ВСР полягає в ідентифікації його хвильової структури. Спектральні методи застосовуються виключно для аналізу коротких (від 2 до 10 хв) ділянок ритмограми [233].

В спектрі, отриманому при аналізі коротких записів (від 2 до 5 хвилин), розрізняють три основні спектральні компоненти:

1. Високочастотні коливання (ВЧ) (HF – high frequency) - потужність в цьому діапазоні відображає модулюючий вплив парасимпатичного відділу ВНС на пейсмеркерську активність синусового вузла.

2. Низькочастотні коливання (НЧ) (LF – low frequency) - обумовлені як періодично виникаючими спалахами симпатичної вазомоторної активності (власний ритм судинного центру), так і коливаннями ритму АТ, що реалізується через барорефлекторні механізми. На потужність в цьому діапазоні переважно впливає зміна тону симпатичного відділу ВНС.

3. Дуже низькочастотні коливання (ОНЧ) (VLF – very low frequency) - тісно пов'язані з психоемоційним напруженням і ймовірно є індикатором управління гуморально-метаболічними процесами.

Найбільш інформативний показник, який використовується при аналізі функціональної адаптації ССС - загальна потужність спектра (ЗПС), або повний спектр частот, що характеризують ВСР (TP – Total power). Вона відображає сумарну активність нейрогуморальних впливів на серцевий ритм.

Вимірювання потужності ДНЧ (VLF), НЧ (LF), ВЧ (HF) коливань, а також (ЗПС) - (TP) здійснюється в абсолютних одиницях потужності (мс^2). Результати спектрального аналізу зазвичай подаються у вигляді графіка розподілу частот, за яким легко можна судити про функціональний стан ВНС і гуморальної ланки регуляції.

Згідно з основною системою спектрального аналізу ВСР у щурів [230, 234] були виділені і проаналізовані наступні показники:

TP, (мс^2) - загальна потужність спектра коливань кардіоритма;

HF, (мс^2) - потужність високочастотних коливань в діапазоні (1-3 Гц);

LF, (мс^2)- потужність низькочастотних коливань в діапазоні (0,04-1 Гц);

VLF, (мс^2) потужність спектра кардіоритма в області дуже низьких частот (0, 01-0, 04 Гц).

2.5. Електронно-мікроскопічні методи дослідження.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на 3-тю, 7-му, 30-ту добу після розвитку стійкої АГ та введення ЯВК КК, та підготовлювали шматочки тканин міокарда для електронно-мікроскопічного дослідження.

Попередню фіксацію проводили в глютарово-формальдегідном фіксаторі при температурі 4°C протягом 5-6 годин. Потім шматочки міокарда переносили в 1 % забуферений розчин чотириокису осмію на 3-4 години при температурі 4 °С для остаточної фіксації. Надалі тканину зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації і ацетоні, просочували в суміші епоксидних смол (Епон-аралдіт) і укладали в блоки за стандартними методиками. Полімеризацію блоків здійснювали в термостаті при 60 °С протягом двох діб.

З отриманих блоків, на ультрамікротомі УМТП – 3М («SELMІ», Україна), виготовляли ультратонкі зрізи, монтували їх на електролітичні

сіточки та, після контрастування цитратом свинцю, вивчали під електронним мікроскопом «ЕМВ-100 БР», (Україна) при прискореній напрузі 75 кВ [235]. Контролем якості гістологічної обробки служили шматочки міокарда інтактних щурів.

2.6. Гістологічні методи дослідження

Після декапітації тварин на 3-тю, 7-му і 30-ту добу після розвитку АГ та введення ЯВК КК серце розрізали в поперечному напрямку по вінцевій борозні. Виділену каудальну частину (шлуночки) досліджували гістологічними методами [236]. Матеріал фіксували в 10 %-му розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (від 50 до 100 °С), просочували сумішшю спирту з ксилолом (1:1), ксилолом, сумішшю ксилолу з парафіном (1:1), парафіном та заливали парафіном у блоки.

За допомогою санного мікротома «Reichert» (Австрія) виготовляли гістологічні зрізи (завтовшки 5–7мкм) в площині, перпендикулярній довгій осі серця. Після депарафінування в ксилолі зрізи фарбували гематоксиліном Ганзена та еозином та поміщали в полістирол під покривне скло.

Сполучну тканину фарбували за методом Ван Гізона із використанням барвника пікрофуксину (суміш насиченого розчину пікринової кислоти з 1%-м розчином кислого фуксину, 1:10).

Забарвлення клітинних ядер проводили залізним гематоксиліном Вейгерта, зрізи поміщали в полістирол під покривне скло.

Крім стандартних гістологічних досліджень, проводили забарвлення поперечних зрізів шлуночків серця гістохімічними методами для виявлення колагенових та еластичних волокон.

Для поляризаційно-оптичного оцінювання колагенових волокон використовували барвник піросиріус червоний (суміш насиченого розчину пікринової кислоти з 0,1 %-им розчином сиріуса червоного F3BA («Direct Red 80») США, 9:1). Забарвлення клітинних ядер проводили гематоксиліном

Ганзена, зрізи поміщали в канадський бальзам під покривне скло. Спектр кольору світіння колагенових волокон залежить від їх товщини: чим товще волокно, тим більший зсув кольору поляризації в бік довгих хвиль (тобто від зеленого кольору через жовтий до червоного кольору) [236, 237].

Методика забарвлення еластичних волокон орсеїном виконана відповідно до рекомендацій виробника набору «Orsein» («Bio-Optica Milano SpA», Італія).

Дослідження та мікрофотографування гістологічних зрізів проводили в світловому мікроскопі «AxioStar Plus» («Carl Zeiss», Німеччина) з використанням цифрової фотокамери («Canon Power Shot A610», Японія) та комп'ютерної програми «AxioVision Rel. 4.6» («Carl Zeiss Imaging Solution GmbH», Німеччина), а також в дослідницькому мікроскопі «Olympus BX63» («Olympus Corporation», Японія) за допомогою цифрової фотокамери «Olympus DP73» і комп'ютерної програми «CellSens Dimension» («Olympus Soft Imaging Solution GmbH», Німеччина) [238]. Роздільність отриманих цифрових зображень становила 898×673 та 1600×1200 пікселів під збільшенням мікроскопів $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$ (окуляр $10\times$, об'єктиви $10\times$, $20\times$, $40\times$).

2.7. Біохімічні методи дослідження.

2.7.1. Вивчення ліпідного профілю в сироватці крові.

У тварин, що виводились з експерименту на 3-тю, 7-му та 30-ту добу після розвитку АГ та введення ЯВК КК, забирали кров з якої отримували сироватку для біохімічних та імуноферментних досліджень. Визначали рівень глюкози, загального холестерину (ЗХ), тригліцеридів (ТГ), холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ), за допомогою стандартних комерційних наборів фірми «DAC-SpectoMed» (Молдова) згідно стандартної методики фірми виробника. Вимірювання оптичної щільності проводили на біохімічному аналізаторі «Stat Fax 1904 plus» (Awareness Technology inc., USA) [239, 240]. Розрахунок показників холестерину

ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЩ), холестерину ліпопротеїнів дуже низької щільності (ХСЛПДНЩ) та коефіцієнта атерогенності (КА) проводили за допомогою формули Friedwald W., [239].

$$\text{ХС ЛПДНЩ ммоль/л} = 0,45 * \text{ТГ},$$

$$\text{ХС ЛПНЩ ммоль/л} = 3\text{Х} - \text{ХС ЛПВЩ} - (0,45 * \text{ТГ}),$$

$$\text{КА} = (\text{ХСЛПНЩ} + \text{ХСЛПДНЩ}) / \text{ХСЛПВЩ}.$$

Методика визначення рівня 3Х в сироватці крові базується на використанні ензимного реагенту, до складу якого входять холестеринестераза, холестериноксидаза та пероксидаза. В процесі інкубації даний реагент перетворює ефіри холестерину і вільні жирні кислоти зразка в холестерин-3-ОН і в присутності 4-амінофеназону і хромогену утворюється хінонімін. Внаслідок, цього аналізований розчин набуває рожево-червоного забарвлення, яке прямо пропорційно концентрації холестерину в пробі.

Визначення рівня глюкози в сироватці крові проводили глюкозидазним методом, який полягає у тому, що глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, яка в присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном призводить до червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично. Забарвлення досліджуваного зразка прямо пропорційно концентрації глюкози в пробі.

Принцип методу визначення рівня ТГ у сироватці крові полягає в тому, що тригліцериди зразка при додаванні ензимного реагенту, до складу якого входять 4-амінофеназон, ліпаза, гліцерокіназа, гліцерофосфатоксидаза і пероксидаза, переходять в хінонімін в результаті чого зразки набувають червоно-коричневого забарвлення. Концентрацію хіноніміна визначають фотометрично при довжині хвилі 505 нм, при цьому інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації тригліцеридів в дослідному зразку.

Визначення рівня ХСЛПВЩ в сироватці крові, базується на використанні ензимного реагенту, до складу якого входять холестеринестераза, холестериноксидаза і пероксидаза. Спочатку до зразка

додають фосфорновольфрамову кислоту в присутності іонів магнію та центрифугують зразок. У супернатанті залишається тільки ХСЛПВЩ, а хіломікони, ХСЛПДНП та ХСЛПНЩ осідають. Далі проводять інкубацію супернатанта з ензимним реагентом. В процесі цього в присутності 4-амінофеназону і хромогену утворюється хінонімін і розчин набуває рожево-червоне забарвлення, яке прямо пропорційно концентрації ХСЛПВЩ в пробі.

2.7.2. Методика визначення концентрації тиреоїдних гормонів в сироватці крові.

Кількісне визначення концентрації трийодтироніну (Т3) і тироксину (Т4) в сироватці крові проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу за допомогою наборів реагентів «Т3-ІФА» і «Т4-ІФА» (АлкорБио, Росія) [240-242]. Вимірювання оптичної щільності проводили на планшетному імуноферментному аналізаторі «Stat Fax 3200» (Awareness Technology inc., USA)

Визначення рівня трийодтироніну та тироксину засноване на використанні конкурентного імуноферментного аналізу. На внутрішній поверхні лунок планшета знаходяться імобілізовані кролячі поліклональні антитіла до Т3 та Т4. Трийодтиронин і тироксин з зразка конкурує з кон'югованим Т3 і Т4 за зв'язування з антитілами на поверхні лунки. В результаті утворюється пов'язаний з пластиком «сендвіч», що містить пероксидазу хрому. Під час інкубації із розчином субстрату тетраметилбензидину відбувається фарбування розчинів в лунках. Інтенсивність забарвлення обернено пропорційна концентрації трийодтироніну або тироксину в досліджуваному зразку.

2.7.3. Методика визначення сумарних метаболітів NO в сироватці крові.

Для визначення сумарних метаболітів NO був використаний метод спектрофотометрії визначення нітрит-іона [243], заснований на реакції

нітритів з реактивом Грісса, який являє собою суміш рівних обсягів водного розчину 0,05 % N-нафтілетілендіаміна та 1 % розчину сульфаніламідів в оцтовій кислоті. Дана методика заснована на здатності первинних ароматичних амінів в присутності азотної кислоти, утворювати інтенсивно забарвлені діазосполуки.

Максимум смуги поглинання утворюваного з'єднання лежить при довжині хвилі 540 нм. Оскільки реактив Грісса, дозволяє виявляти тільки нітрит-іон, необхідною умовою аналізу є перехід нітрату в нітрит, за рахунок взаємодії нітрат-іонів із хлоридом ванадію. Одночасно в реакційному середовищі протікає реакція діазотування сульфаніламідів утвореним нітритом з подальшим виникненням рожевого забарвлення, інтенсивність якого визначається спектрофотометрично. Для побудови калібрувального графіку використовували 1М водний розчин NaNO_2 , різного ступеню розведення. Так як за попередньо отриманими даними лінійність кривої зберігається в діапазоні концентрації нітрит-іона від 5 до 100 мкМ, з 10^{-3} М розчину NaNO_2 готували розчини з концентраціями 5; 10; 20; 30; 50; 60; 70; 80; 90; 100 мкМ, по 0,7 мл розчинів NaNO_2 відповідної концентрації. Далі додавали по 0,7 мл приготованого розчину хлориду ванадію та по 0,7 мл реактиву Грісса. Дотримуючись зазначених умов, пробірки поміщали на 30 хвилин на водяну баню при температурі 37°C . Кожен розчин серії готували в 5 повторях. Вимірювали оптичну щільність на спектрофотометрі «СФ-80» (Росія) в кюветах з відстанню між світлопропускаючими гранями 0,5 см, при довжині хвилі 540 нм. Згідно отриманих показників оптичної щільності та відомих концентрацій розчинів, будували калібрувальний графік.

РОЗДІЛ 3

КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ: ОЦІНКА ЗБЕРЕЖЕННЯ, ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ТА КОЛОНІЄУТВОРЮЮЧОЇ АКТИВНОСТІ

Технологія кріоконсервування ядровісних клітин (ЯВК) включає в себе наступні етапи: виділення концентрату ядровісних клітин кордової крові (ЯВК КК), обробка кріопротекторними речовинами, заморожування-відігрівання клітин.

В даний час для сепарації ЯВК, в тому числі і стовбурових гемопоетичних клітин (ГСК) з цільної кордової крові (КК) використовуються в основному такі методи:

1. Виділення ЯВК в градієнті щільності фікола або перкола. Сепарація в градієнті щільності дозволяє отримувати переважно моноклеарні клітини, але призводить до значного зниження гемопоетичних попередників (30 – 50) % [182]. Тому використання даного методу вкрай не бажано для сепарації ГСК з кордової крові.

2. Седиментація еритроцитів та виділення ЯВК при використанні таких високомолекулярних сполук, як розчин желатину, гідроксиетилкрахмалу, поліглюкіну [182].

У зв'язку з необхідністю створення банків пуповинної крові та отриманих з неї клітинних препаратів розробка нових методів кріоконсервування є дуже актуальною проблемою [172, 183]. Для кріоконсервування ЯВК КК в даний час широко використовується в якості кріопротектора ДМСО в кінцевій концентрації (7,5 – 10) % [182, 185]. Однак в зв'язку з високою токсичністю, в такій концентрації ДМСО повинен видалятись перед трансфузією. Видалення кріопротектора після розморожування клітинної суспензії істотно ускладнює процедуру отримання якісних деконсервованих клітин та призводить до втрати частини

клітин, в тому числі і ГСК (до 20 %) [245] в процесі відмивання, що, в свою чергу, знижує клінічну ефективність препаратів КК.

Тому найбільш перспективними для кріоконсервування ЯВК КК являється розробка безвідмивних методів кріоконсервування шляхом максимально можливого зниження ефективних концентрацій ДМСО, що дозволить вводити клітинну суспензію реципієнтам без відмивання від кріопротектора [182, 187].

У зв'язку з цим для виготовлення препаратів ЯВК КК, які включають ГСК, нами була застосована розроблена в ІПКіК НАН України, технологія кріоконсервування ЯВК КК [218, 219], яка складається з декількох етапів: виділення ЯВК КК за допомогою поліглюкіну (ПГ), обробка проникаючим кріопротектором ДМСО до кінцевої концентрації 5 %, заморожування-відігрівання за спеціально розробленою багатоетапною програмою.

Відповідно до даної технології виділення фракції ЯВК з КК проводили методом седиментації еритроцитів за допомогою високомолекулярного з'єднання ПГ (декстран з молекулярною масою 60 кДа), так як він має ряд переваг перед іншими високомолекулярними речовинами (фіколом, желатином, гідроксиетилкрохмалем та ін.), що застосовуються для виділення ядровмісних клітин з цільної кордової крові. ПГ має дезагрегуючі властивості і, аналогічно аутологічній плазмі, є найбільш сприятливим середовищем для функціонування клітин. Також він легко доступний стандартний препарат, що широко використовується в трансфузіології і не вимагає відмивання клітин перед застосуванням [182]. Наступний етап технології кріоконсервування ЯВК КК полягав в попередньому концентруванні клітинної суспензії після виділення, в обсязі не більше 10 мл за допомогою центрифугування та повільному додаванні на холоді (щоб уникнути гіпертермії клітин) розчину ДМСО до кінцевої концентрації 5 %. Після цього суспензію клітин заморожували за спеціально розробленою програмою [218, 219].

Оскільки ефективність застосування препаратів КК в клінічній практиці визначається не тільки достатньою кількістю ЯВК та ГСК, але і їх структурно-функціональною повноцінністю після розморожування, нами була проведена оцінка структурно-функціональної повноцінності та життєздатності, одержуваного препарату до та після кріоконсервування за допомогою різних методів тестування.

Проведені дослідження по визначенню кількості збережених ЯВК після виділення за допомогою ПГ свідчать, що даний метод дозволяє виділяти із КК до 80 % ЯВК (CD45⁺-клітин) і до 90 % ГСК (CD34⁺-клітин). Після заморожування-відігрівання збереженість CD45⁺- клітин становила (81,2±3,7) % і (89,2±4,1) % – CD34⁺-клітин, від їх початкової кількості в концентраті. Результати нашого дослідження узгоджуються з літературними даними, де була також показана висока ефективність виділення ЯВК з використанням ПГ [174, 182].

Після заморожування-відігрівання збереження клітин становила (81,2±3,7) % для CD45⁺-клітин і (89,2±4,1) % для CD34⁺-клітин, від початкового їх кількості в концентраті. При цьому слід зазначити, що абсолютна кількість клітин в препараті після кріоконсервування становило (5–10⁹) кл/мл. ЯВК та 2–4 x 10⁵ ГСК в 1 кл/мл.

Таким чином аналіз збереження ЯВК КК (CD45⁺-клітин) та стовбурових гемопоетичних (CD34⁺-клітин) свідчить, що використана нами технологія кріоконсервування, що включає виділення ЯВК за допомогою ПГ та подальше заморожування їх з 5 %-им ДМСО, дозволяють отримувати високі показники збереження даних клітин.

Крім втрати певної кількості клітин після виділення і заморожування-відігрівання ці процеси можуть викликати порушення структурно-функціональних та метаболічних властивостей ЯВК, в тому числі і ГСК, що може привести як до неможливості клітин повноцінно виконувати свої функції так і до їх гибелі.

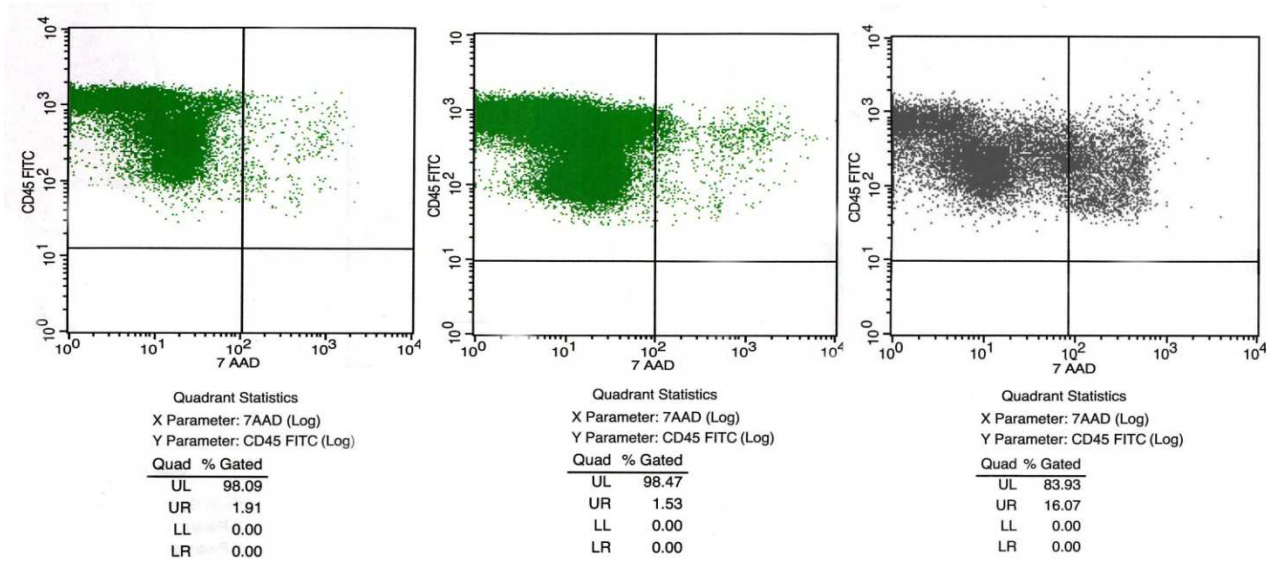
Важливим параметром оцінки ефективності методів кріоконсервування є визначення життєздатності клітин [164, 174]. У зв'язку з цим на наступному етапі наших досліджень був проведений аналіз життєздатності ЯВК, в тому числі і ГСК кордової крові.

У роботі ми визначали життєздатність клітин за допомогою вітального барвника 7-аміноактиноміцину D (7AAD), який є аналогом актиноміцину D і зв'язується з цитозиновими та гуаніновими основами ДНК [224]. При цьому даний барвник проникає в клітини, що знаходяться на пізній стадії апоптозу або некрозу що мають пошкодження мембрани, в той час як клітини з неушкодженою плазматичною мембраною для нього не доступні. Комплекс 7AAD-ДНК має максимум емісії при 647 нм.

Проведений аналіз життєздатності ЯВК КК після виділення та заморожування-відігрівання представлений на (рис. 3.1.) (дані типового експерименту).

Видно, що життєздатність ЯВК, виділених з використанням методу седиментації в ПГ практично не знижується, в порівнянні з цільної кордової кров'ю (рис. 3.1. Б та 3.2. Б). Оцінка життєздатності CD34⁺-клітин також свідчить, що виділення в ПГ не призводить до зниження показників життєздатності, в порівнянні з цільної кордової кров'ю (рис. 3.2. Б).

Таким чином, проведений аналіз ефективності виділення ЯВК та їх життєздатності показав, що використання методу седиментації в ПГ забезпечує не тільки високий відсоток виділених ЯВК та ГСК але й не призводить до зниження їх життєздатності. Отримані дані мають важливе значення для подальших етапів кріоконсервування, так як відомо, що стан клітин на етапі перед кріоконсервування багато в чому визначає результати заморожування-відігрівання.



А

Б

В

Рис. 1. Життєздатність ЯВК ($CD45^{+}$ -клітин) після кріоконсервування. А – контроль (цільна КК); Б – клітини після виділення; В – клітини після заморожування-відігрівання. Дані типового експерименту.

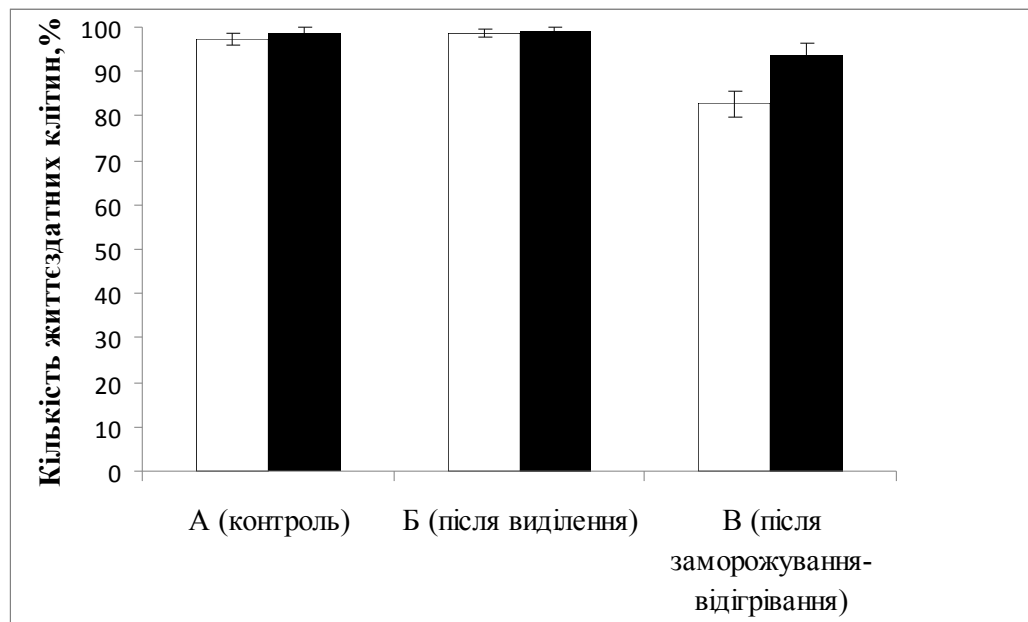


Рис. 2. Кількість життєздатних $CD45^{+}$ ($\square$) і $CD34^{+}$ ($\blacksquare$)-клітин після виділення, кріоконсервування та заморожування-відігрівання.

Оцінка життєздатності ЯВК КК, в тому числі й ГСК, після заморожування-відігрівання показала, що використана нами технологія кріоконсервування [218, 219, 220], яка включає виділення клітин у ПГ із подальшим заморожуванням під захистом 5 %-го ДМСО, забезпечує їх високу збереженість і життєздатність. При використанні даної технології кріоконсервування життєздатними залишаються $(82,7 \pm 2,9) \%$ $CD45^+$ -клітин (рис. 3.1. В, 3.2 В). Показник життєздатності $CD34^+$ -клітин був вище і становив $(93,5 \pm 2,9) \%$ (рис. 2, В), що свідчить про більшу їх кріостійкість.

На (рис. 3.3.) представлений цитофлуориметричний аналіз популяційного складу ЯВК КК, заснований на оцінці як відносних розмірних характеристик клітин (параметр FSC), так і ступеня внутрішньої неоднорідності внутрішньоклітинного вмісту (параметр SSC). Видно, що лімфоцити характеризуються мінімальними значеннями параметрів FSC і SSC, а гранулоцити - максимальними.

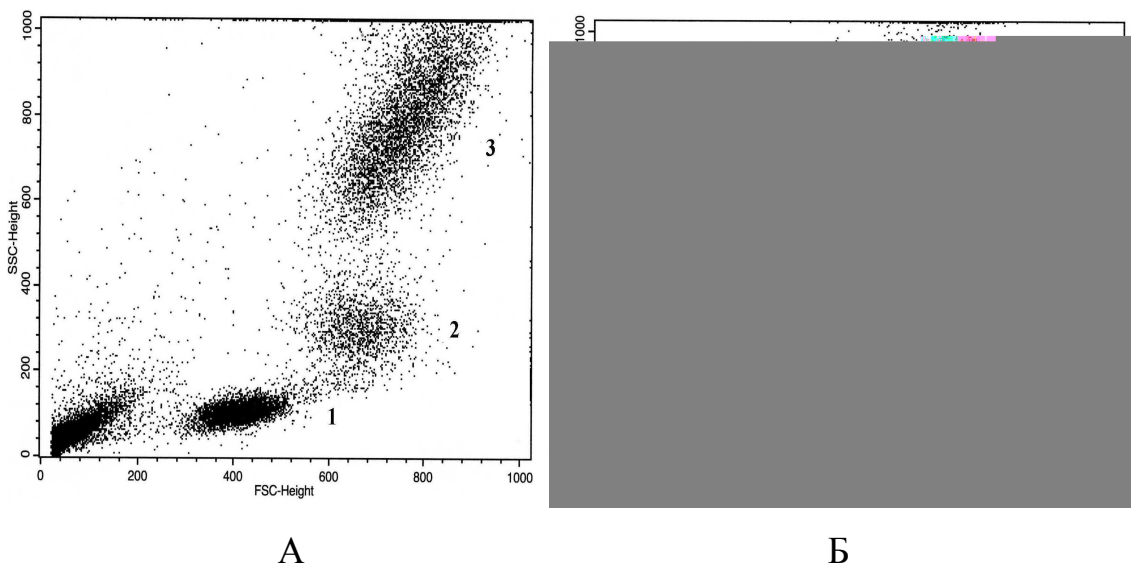


Рис. 3.3. Цитограми популяційного складу ЯВК КК: А – розподіл в координатах FSC/SSC; Б – розподіл в координатах SSC/CD45 FITC (1 – лімфоцити; 2 – моноцити; 3 – гранулоцити).

Оцінка популяційного складу ЯВК КК показала (табл. 3.1), що при виділенні клітин за допомогою ПГ процентне співвідношення моноцитів, лімфоцитів і гранулоцитів практично не змінюється в порівнянні з цільною кордовою кров'ю [246, 247, 248].

Таблиця 3.1.

Зміст популяцій ЯВК кордової крові після виділення та кріоконсервування, % ($M \pm SE$)

Клітини	Цільна КК	Виділення в ПГ	Кріоконсервування ПГ+ДМСО
Лімфоцити	34,8 $\pm$ 2,5	34,6 $\pm$ 1,7	46,9 $\pm$ 2,3
Моноцити	11,2 $\pm$ 2,1	11,1 $\pm$ 1,2	15,3 $\pm$ 2,1
Гранулоцити	53,4 $\pm$ 3,6	54,3 $\pm$ 2,6	37,7 $\pm$ 3,7

Дані представлені у відсотках, у вигляді $M \pm SE$.

Аналіз популяційного складу ЯВК після заморожування-відігрівання показав значні зміни співвідношення між лімфоцитами, моноцитами і гранулоцитами в сторону відносного збільшення кількості лімфоцитів і моноцитів та зменшення гранулоцитів (табл. 3.1.).

Дослідження кожної популяції ЯВК після заморожування-відігрівання встановило, що збереженими залишалися до (97 $\pm$ 4,2) % лімфоцитів і до (94 $\pm$ 3,9) %. моноцитів. Для гранулоцитів даний показник був значно меншим (67,8 $\pm$ 3,3) %.

Отримані результати свідчать, що втрати клітин при заморожуванні відбуваються в основному за рахунок гранулоцитів (табл. 3.1).

Також був проведений аналіз життєздатності різних популяцій ЯВК після виділення і заморожування-відігрівання (рис. 3.4., 3.5.). Встановлено, що виділення ЯВК за допомогою ПГ не знижує життєздатності лімфоцитів, моноцитів і гранулоцитів. Це підтверджує отримані раніше нами дані про те, що виділення в ПГ не впливає на життєздатність загальної популяції CD45⁺-клітин.

Результати оцінки життєздатності популяцій ЯВК після заморожування-відігрівання свідчать, що даний показник для лімфоцитів і моноцитів, кріоконсервованих за обраною нами технологією, залишався на

високому рівні і становив понад 95 % (рис. 3.4., 3.5.). Кількість життєздатних гранулоцитів зменшувалась і становила $(69,8 \pm 3,7)$ %. Це свідчить про те, що зниження життєздатності та збереження загальної популяції ЯВК відбувається в основному за рахунок гранулоцитів[164, 174, 182].

Аналізуючи експериментальні дані, можна зробити висновок, що використана нами технологія кріоконсервування ЯВК КК дозволяє зберігати на досить високому рівні не тільки кількість і життєздатність ГСК, які є найбільш важливими критеріями визначення терапевтичної дози препарату, але й забезпечують збереження та життєздатність їх клітинного мікрооточення.

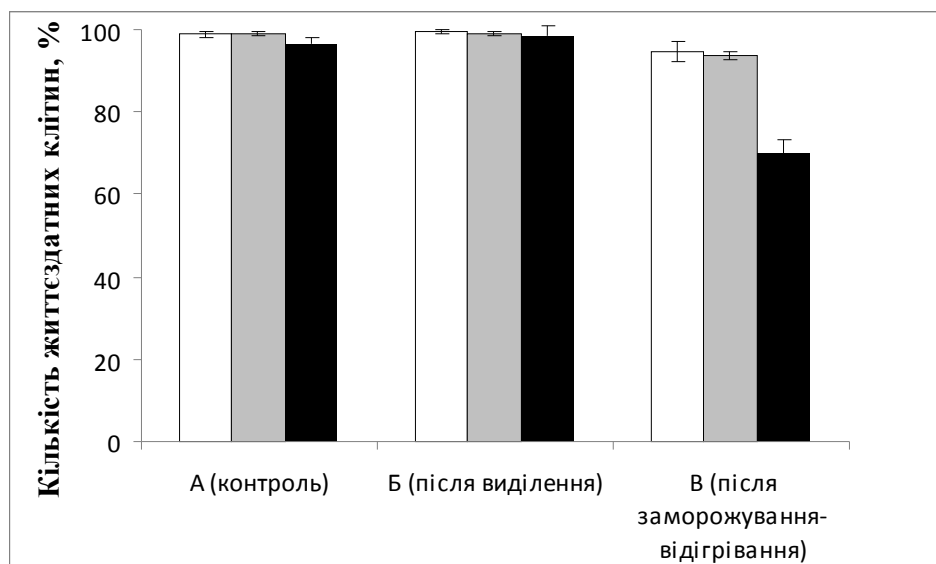


Рис. 3.4. Кількість життєздатних лімфоцитів (□), моноцитів (■) і гранулоцитів (■) після виділення та заморожування-відігрівання.

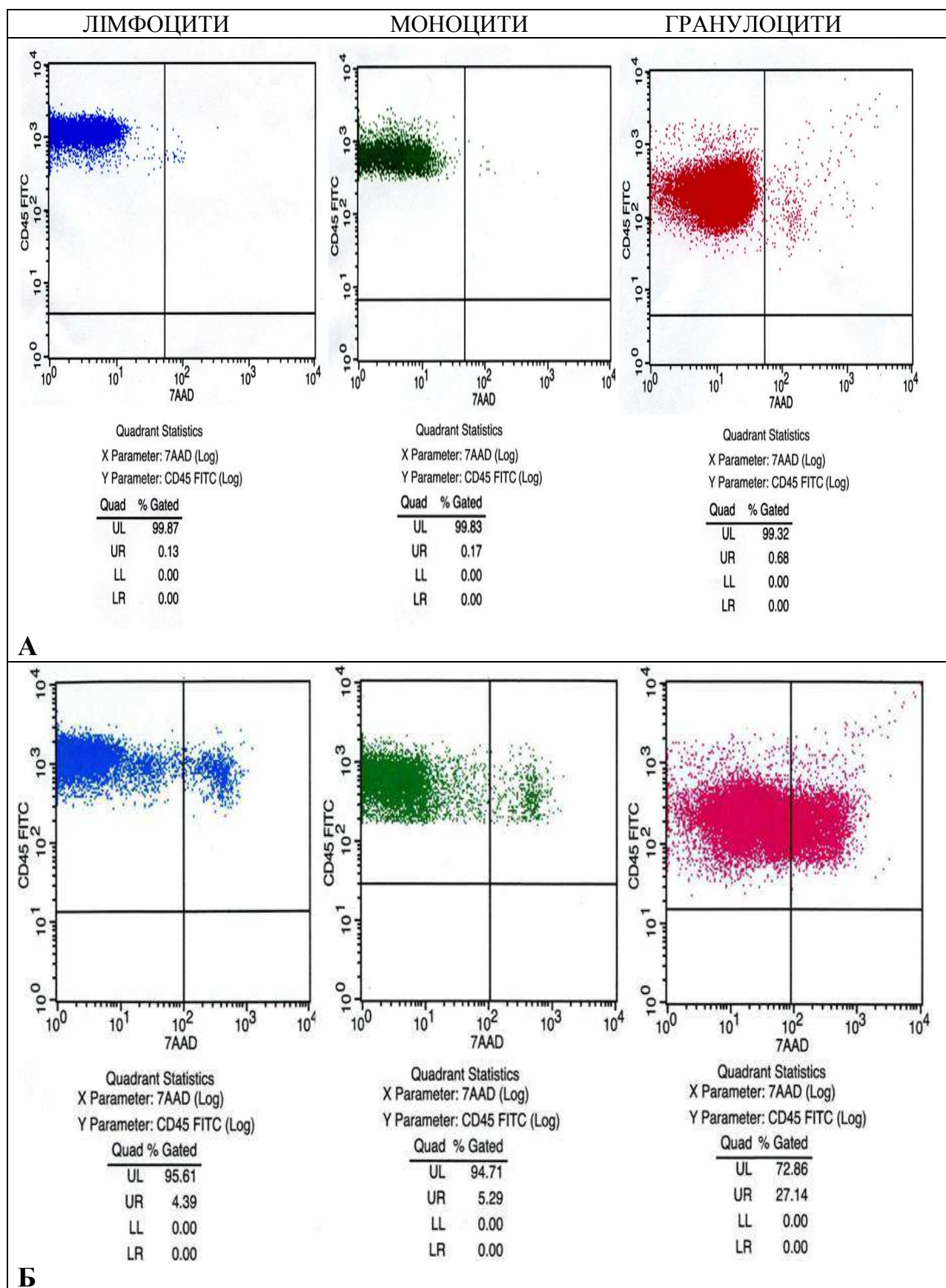


Рис. 3.5. Життєздатність популяцій CD45⁺ -клітин. А – після виділення; Б – кріоконсервування. Дані типового експерименту.

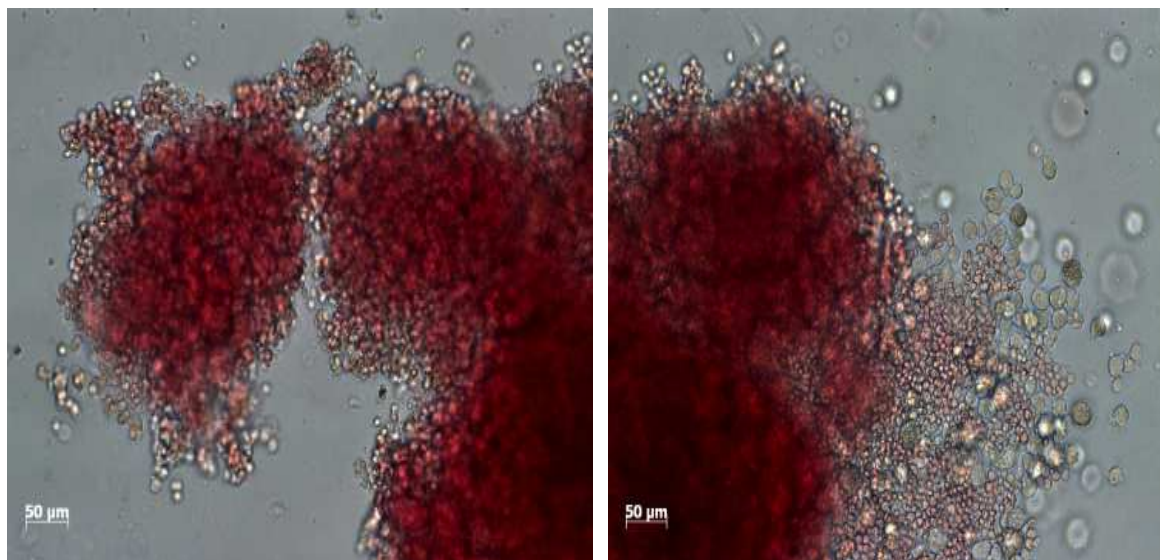
Клітинний препарат може зберігатися в замороженому стані при $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом тривалого часу. Процес кріоконсервування може викликати глибокі зміни в біологічних системах, тому важливо провести дослідження впливу кріоконсервування не тільки на структурну цілісність клітини, але й на її стан. Використання для тестування життєздатності флуоресцентного барвника 7 AAD не дає повної інформації про властивості клітин, оскільки не відображає їх функціональний стан та диференціувальний потенціал. Методом, що дозволяє визначати функціональний стан ГСК КК, є вивчення колонієутворюючої активності в культурі *in vitro* [148, 177, 225, 226]. Аналіз колонієутворюючої активності при культивуванні клітин може дати уявлення не тільки про структурної цілісності досліджуваних клітин, але й про їх функціональний стан, проліфераційний потенціал, що дуже важливо для оцінки як ефективності методу кріоконсервування, так і функціональної активності клітин після розморожування.

На підставі активності колоєутворювання та спектра отриманих CFU (колонієутворюючих одиниць) можна судити про функціональний стан даних клітин. Для визначення колонієутворюючих активності до та після кріоконсервування клітини культивували в середовищі «MethoCult H4434» [225, 226, 249] протягом 18–20 діб в наступних умовах: $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $5\text{ }\%\text{CO}_2$, $95\text{ }\%$ вологості. Умови культивування дуже важливі, щоб забезпечити оптимальний ріст гемопоетичних колоній. Після культивування клітин КК нами відзначена їх досить висока функціональна та клоногенна активність як до, так і після кріоконсервування.

Клітини утворювали колонії, що мають еритроїдну (CFU-E і BFU-E), гранулоцитарну (CFU-G), макрофагальну (CFU-M), гранулоцитарно-макрофагальну (CFU-GM) та змішану морфологію (CFU-GEMM). Це характерно для ГСК і клітин-попередників гемопоетичного ряду (рис. 3.6). Загальна кількість колоній до та після кріоконсервування змінювалася незначно і становила $(228,6 \pm 31,4)$ і $(247,6 \pm 36,8)$ відповідно.

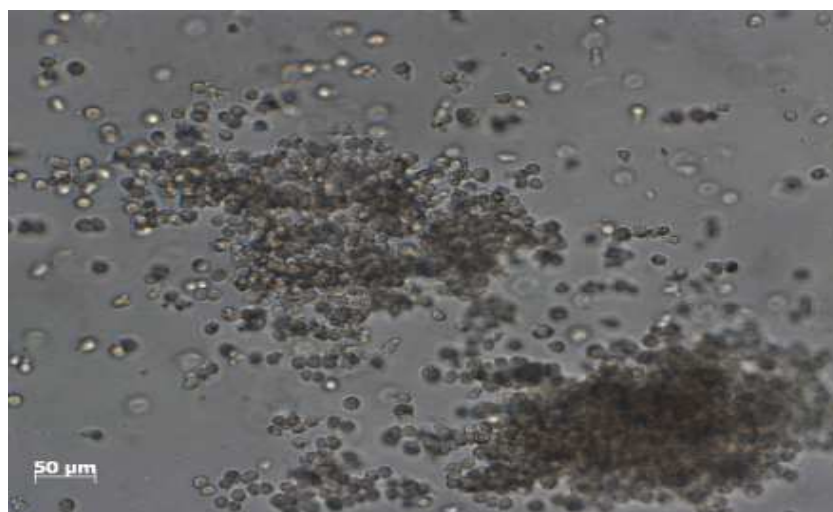
При культивуванні клітин кордової крові відзначена їх функціональна і клоногенна активність як до, так і після кріоконсервування (рис. 3.6).

Початок колонієутворення зазначався на 5–7 добу культивування. Першими в культурі з'являлися колонії гранулоцитарно-макрофагального типу.



А

Б



В

Рис. 3.6. Колонієутворююча активність кордової крові після кріоконсервування.

А – BFU-E бурстутворююча колонія; Б – CFU-GEMM змішана колонія; В – CFU-GM гранулоцитарно-макрофагальна колонія.

Колонії кріоконсервованих клітин по своїй морфології не відрізнялися від нативних клітин, не відзначалося суттєвих відмінностей в термінах

початку колонієутворення. Еритроїдні колонії BFU-E були переважаючими в культурах як до, так і після кріоконсервування. У культурах, отриманих з нативних та кріоконсервованих клітин кордової крові, співвідношення колоній різних типів достовірно не відрізнялося і становило CFU - E-5 %, BFU-E – 68 %, CFU-GM – 19 %, CFU-GEMM – 8 % (табл . 3.2).

Загальна кількість колоній до та після кріоконсервування значуще не відрізнялося та становило $228,6 \pm 31,4$ і $247,6 \pm 36,8$ відповідно.

Таблиця 3.2.

Процентне співвідношення колоній різних типів до і після кріоконсервування.

CFU-GM U

Експериментальні групи	Тип колоній			
	CFU-E	BFU-E	CFU-GM	CFU-GEMM
Контроль	5	66	19	10
Після виділення	5	68	19	8
Після кріоконсервування	5	72	18	5

Цікаво, що після кріоконсервування спостерігалось деяке збільшення числа колоній, що пов'язано із загибеллю частини гранулоцитів в процесі заморожування-відігрівання, в той час як відносна частка незрілих клітин-попередників, здатних утворювати колонії, збільшувалася. При дослідженні впливу кріопротектора ДМСО на колонієутворюючу активність клітин було виявлено, що присутність ДМСО в середовищі не призводить до зменшення кількості утворених колоній та зміни їх морфології.

Таким чином, результати досліджень свідчать про те, що використання технології кріоконсервування ЯВК, у тому числі й ГСК, яке включає виділення клітин ПГ із подальшим їх заморожуванням з 5 % ДМСО за

спеціальною багатоетапною програмою, дозволяє зберігати не тільки досить високу кількість ЯВК і ГСК КК, але й їх структурно-функціональну повноцінність [250-253].

Ці дані мають важливе значення для застосування отриманих препаратів в практичній медицині для лікування захворювань різної етіології.

За результатами даного дослідження опубліковані наступні роботи: [250, 251, 252, 253].

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ПЛАЗМИ

Згідно з концепцією гомеостазу, в постійно мінливих умовах зовнішнього середовища функціонування організму можливо тільки при стійкості життєво важливих параметрів його внутрішнього середовища, яке досягається за рахунок узгодженої діяльності безлічі регуляторних механізмів.

Варіабельність – це властивість всіх біологічних процесів, обумовлена необхідністю пристосування організму до мінливих умов навколишнього середовища. Мінливість тих чи інших параметрів, в тому числі і серцевого ритму, відображає вплив сигналів управління, перенастроювати клітини, органів або систем в інтересах збереження гомеостазу або адаптації організму до нових умов існування [254, 255]. Відповідно ВСР відображає роботу серцево-судинної системи та механізмів регуляції цілісного організму.

ВСР дає можливість оцінити ефективність взаємодії серцево-судинної та інших систем організму. На даний момент визначення показників ВСР визнано найбільш інформативним неінвазивним методом кількісної оцінки вегетативної регуляції серцевого ритму [256]. Параметри ВСР відображають життєво важливі показники управління фізіологічними функціями організму – вегетативний баланс та функціональні резерви механізмів його управління.

Аналізуючи ВСР, можна не тільки охарактеризувати поточний функціональний стан організму, але й стежити за його динамікою, аж до розвитку патологічних станів з різким зниженням ВСР і високою ймовірністю смерті [231, 257].

Виявлення перенапруги та виснаження регуляторних механізмів грає важливу роль в попередженні зриву адаптації та появи захворювань [24].

В даний час спектральні методи аналізу ВСР набули широкого поширення в медичній практиці [231, 234]. Застосування спектрального аналізу дає можливість кількісно оцінити різні частотні складові коливань ритму серця, що відображають активність певних ланок регуляторного механізму [258]. Найчастіше при аналізі коротких записів ЕКГ (від 2 до 5 хвилин) оцінюється площа під кривою спектра - загальна спектральна потужність нейрогуморальної регуляції (ТР) [230, 231, 259, 260].

Для вивчення деяких механізмів дії плазми кордової крові, а також кріоконсервованих ЯВК КК на основні показники спектрального аналізу ВСР кожна вікова група щурів (6 і 28-30 місячні) була підрозділена на 4 підгрупи:

- 1 – інтактні тварини;
- 2 – контрольні тварини, яким вводили 1 мл фізіологічного розчину;
- 3 – тварини, яким вводили плазму кордової крові в обсязі 1 мл;
- 4 – тварини, яким вводили кріоконсервовані ЯВК КК в 1 мл плазми з концентрацією 1×10^5 CD34⁺ клітин на кг маси тіла.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму у інтактних молодих тварин показав переважання швидкої (рефлекторної) системи регуляції серцевого ритму (рис. 4.1). У структурі загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції (ТР) переважала активність симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС (LF-компонент і HF-компонент), а також гуморальної ланки регуляції (VLF-компонент).

Введення контрольним 6-ти місячним щурам фізіологічного розчину не супроводжувалося істотною зміною основних показників спектрального аналізу ВСР (рис. 4.1) в різні терміни спостережень (на наступну добу, через 3 доби, тиждень і місяць). На даних етапах досліджень показники ТР достовірно не змінювалися по відношенню до контролю.

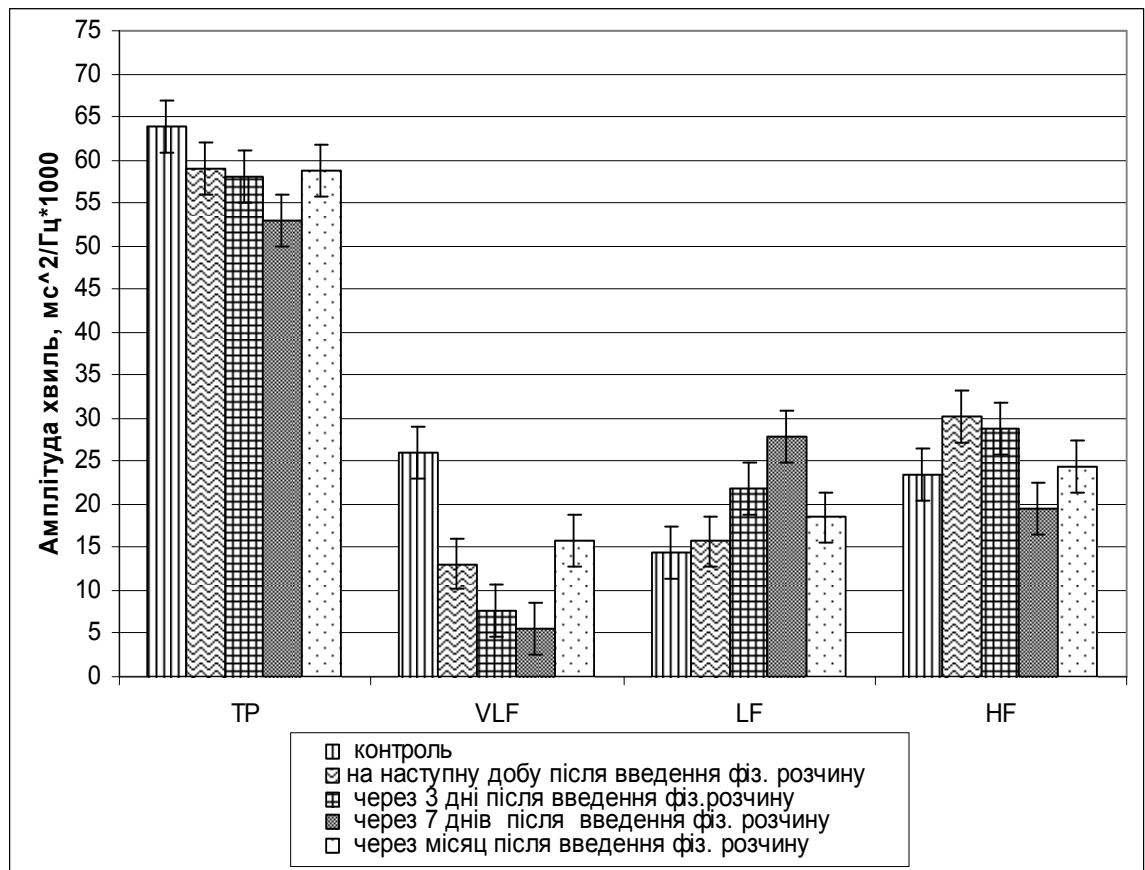


Рис. 4.1. Показники спектрального аналізу ВСР молодих щурів на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць після введення фізіологічного розчину.

На наступну добу та через 3 доби після застосування кріоконсервованих ЯВК КК у молодих щурів значення загальної спектральної потужності зростало у порівнянні з контролем (рис. 4.2). Підйом TP був результатом підвищення функціонального стану вегетативних центрів за рахунок активації симпатичного та парасимпатичного відділів ВНС, що на спектрограмі відмічалось збільшенням питомої ваги LF- та HF-хвиль, в той час як рівень активності гуморальної регуляції залишався незмінним [261].

Через тиждень після введення кріоконсервованих ЯВК КК незначно зростав внесок гуморальної ланки регуляції в структуру загальної потужності спектра (рис. 4.2). Тонус симпатичного та парасимпатичного відділу ВНС практично не змінювався, тому показники TP практично відповідали таким як і через 3 доби після введення препарату. Можна припустити, що на даних

етапах експериментальних досліджень одним з найважливіших механізмів дії ЯВК КК є значне збільшення функціональної активності ВНС, зокрема її парасимпатичного відділу.

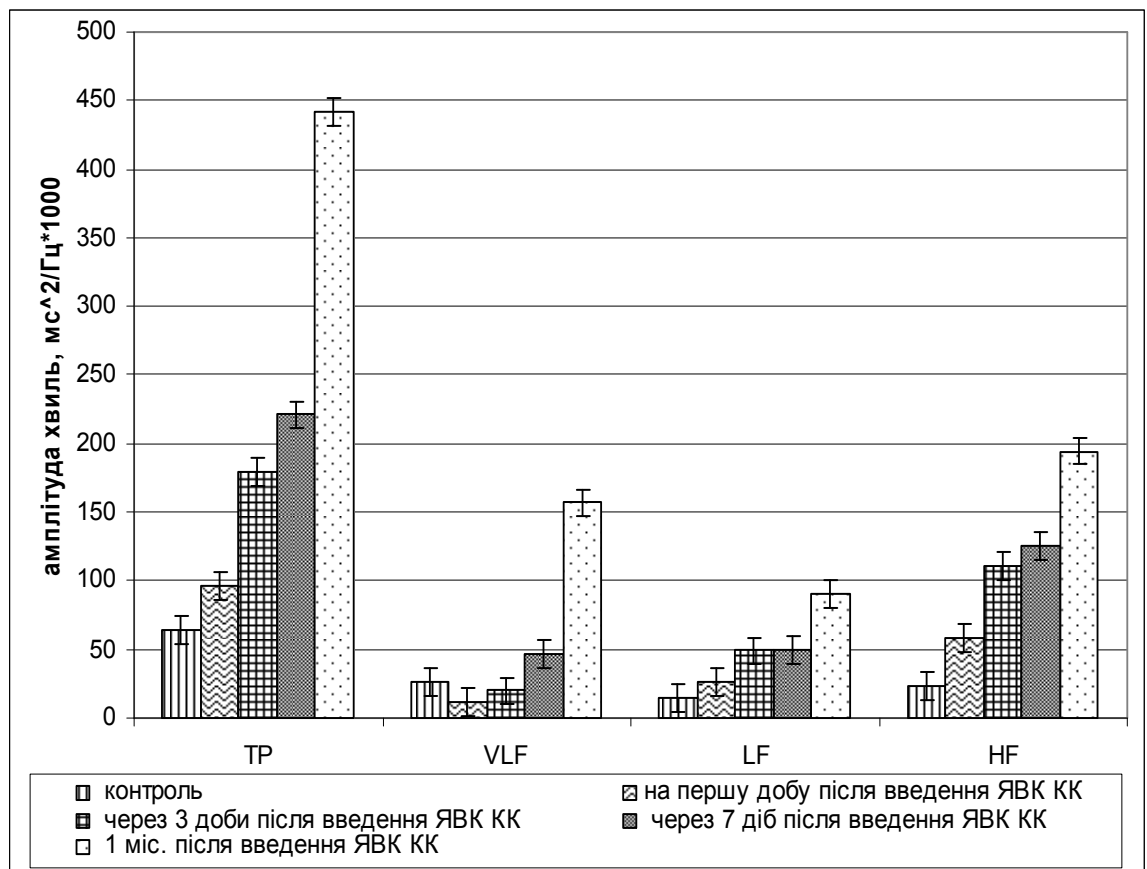


Рис. 4.2. Показники спектрального аналізу ВСР молодих щурів на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Цікаво, що у віддалені терміни спостереження (через місяць після використання ЯВК КК) у молодих тварин відмічається зростання загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції, що було наслідком активації гуморальної ланки регуляції за рахунок збільшення питомої ваги VLF-хвиль [262].

Відомо, що плазма кордової крові містить велику кількість біологічно активних речовин, в тому числі гормони, нейропептиди, цитокіни, амінокислоти. Це пояснює можливий механізм підвищення функціональної активності гуморального ланки регуляції після введення ЯВК КК.

Позитивним моментом, на нашу думку, є той факт, що підйом спектральної потужності, був результатом активації діяльності як вегетативних центрів (підвищення тонуусу симпатичного та парасимпатичного відділів ВНС), так і гуморальної ланки регуляції. Отримані експериментальні дані (такі, як високий рівень вагальних, симпатичних впливів в модуляції серцевого ритму) свідчать про наявність у молодих щурів розвиненої збалансованої вегетативної регуляції на тлі введення кріоконсервованих ЯВК КК [263].

Нами було також вивчено вплив плазми кордової крові на стан нейрогуморальної регуляції (зокрема, її вегетативного ланки) у 6-ти місячних щурів.

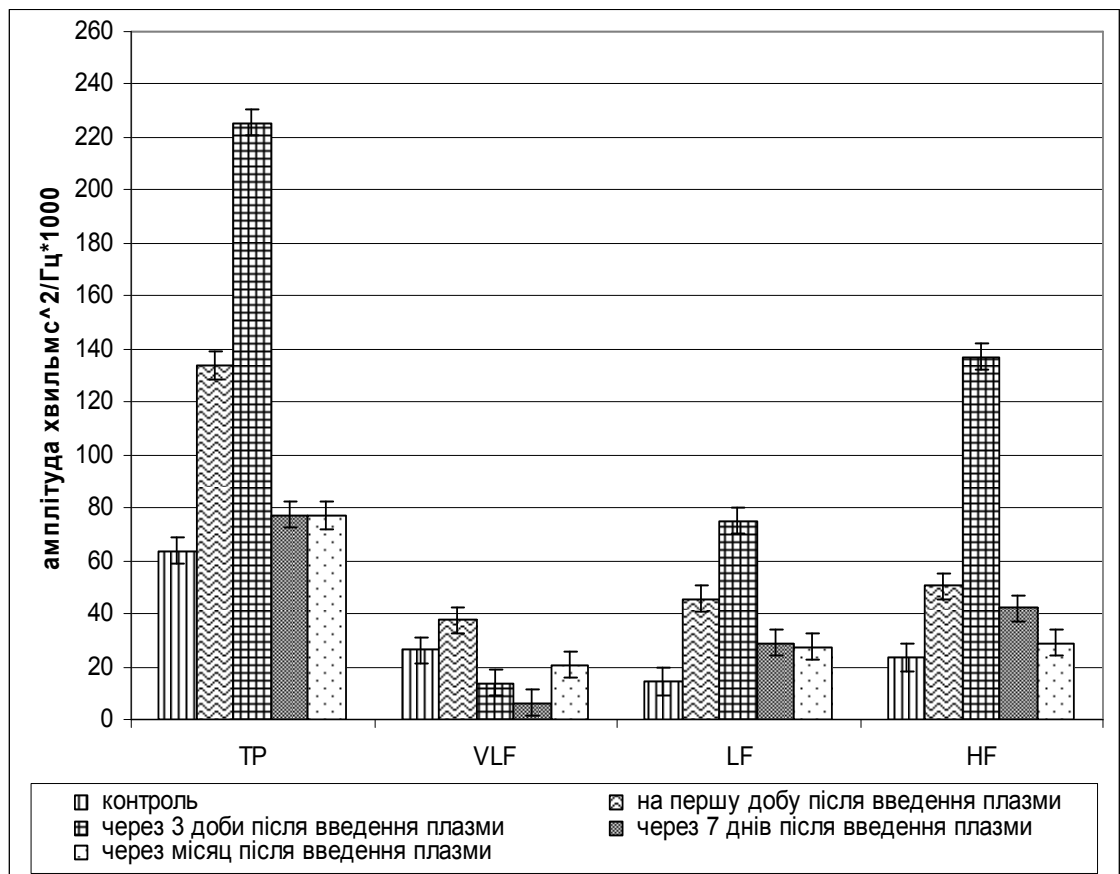


Рис. 4.3. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць після введення плазми кордової крові.

Встановлено, що на наступну добу і через 3 доби після введення плазми кордової крові значення загальної спектральної потужності зростали

в порівнянні з контролем (рис. 4.3). Відзначається значна активація симпатичної та парасимпатичної ланки регуляції, що на спектрограмі проявляється збільшенням питомої ваги LF- і HF-хвиль.

Звертає на себе увагу той факт, що поряд з вище зазначеними змінами питома вага VLF-хвиль практично не змінювалась, а рівень гуморально-метаболических відповідав вихідним показникам.

Через тиждень та місяць після застосування плазми кордової крові у молодих щурів загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції знижувалася в порівнянні з попередніми термінами спостережень і відповідала контрольним значенням (рис. 4.3). На даних етапах експериментальних досліджень зменшувалася активність вегетативних центрів.

Вік вносить значні зміни в варіабельність кровообігу. Оцінюючи показники спектрального аналізу ВСР у контрольних старих щурів, можна чітко відстежити характерний для даного вікового періоду перехід процесу управління ритмом серця за допомогою нервових структур з швидкого вегетативного рівня регуляції на менш специфічний і виборчий гуморально-метаболический (рис. 4.4). Підтвердженням цього є істотне зниження значень загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції за рахунок зменшення питомої ваги LF- і HF-хвиль.

У структурі спектра у цих тварин переважала активність гуморальної ланки регуляції. Отримані результати підтверджуються джерелами літератури, які свідчать про те, що в літньому організмі процес модулювання ритму серця за допомогою нервових структур замінюється менш специфічним і виборчим гуморальним регулюванням, тобто відбувається перехід з вегетативного або рефлекторного рівня регуляції, на більш повільний – гуморально-метаболический [230, 231, 264].

Після введення старим щурам фізіологічного розчину (рис. 4.4) спостерігалася аналогічна динаміка змін основних показників спектрального аналізу ВСР як і у молодих. Нами не зазначені достовірні зміни показників

ТР щодо вихідних значень на всіх етапах досліджень (на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць).

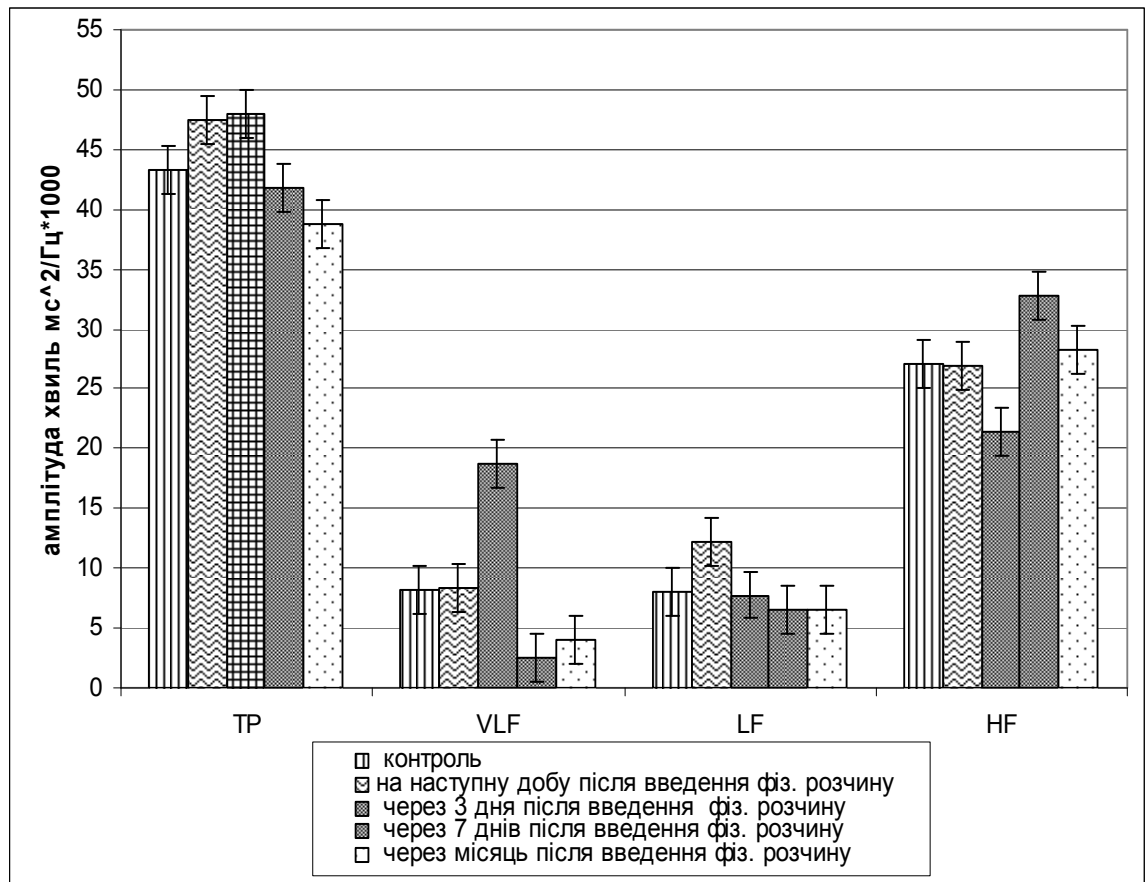


Рис. 4.4. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць після введення фізіологічного розчину.

На наступну добу та через 3 доби після введення кріоконсервованих ЯВК КК старим тваринам значення загальної спектральної потужності зростають (рис. 4.5). Цікавим, на нашу думку, є той факт, що в структурі спектра переважала активність вегетативних центрів, в той час як гуморально-метаболичні впливи на міокард (VLF-компонент) достовірно підвищувалися тільки на 3 добу після введення ЯВК КК. Збільшувався тонус симпатичного та ще більшою мірою парасимпатичного відділу ВНС (LF- і HF-хвилі).

Через тиждень після застосування кріоконсервованих ЯВК КК загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції істотно зростала у порівнянні, як з контролем, так і попередніми термінами експериментальних

досліджень (рис. 4.5). Її зростання було результатом активації гуморальної ланки регуляції, що проявляється в збільшенні питомої ваги VLF-хвиль. Крім того, підвищувалася активність парасимпатичного відділу ВНС. Збільшення питомої ваги VLF-хвиль можна пояснити впливом ендокринних і гуморальних факторів на синусовий вузол.

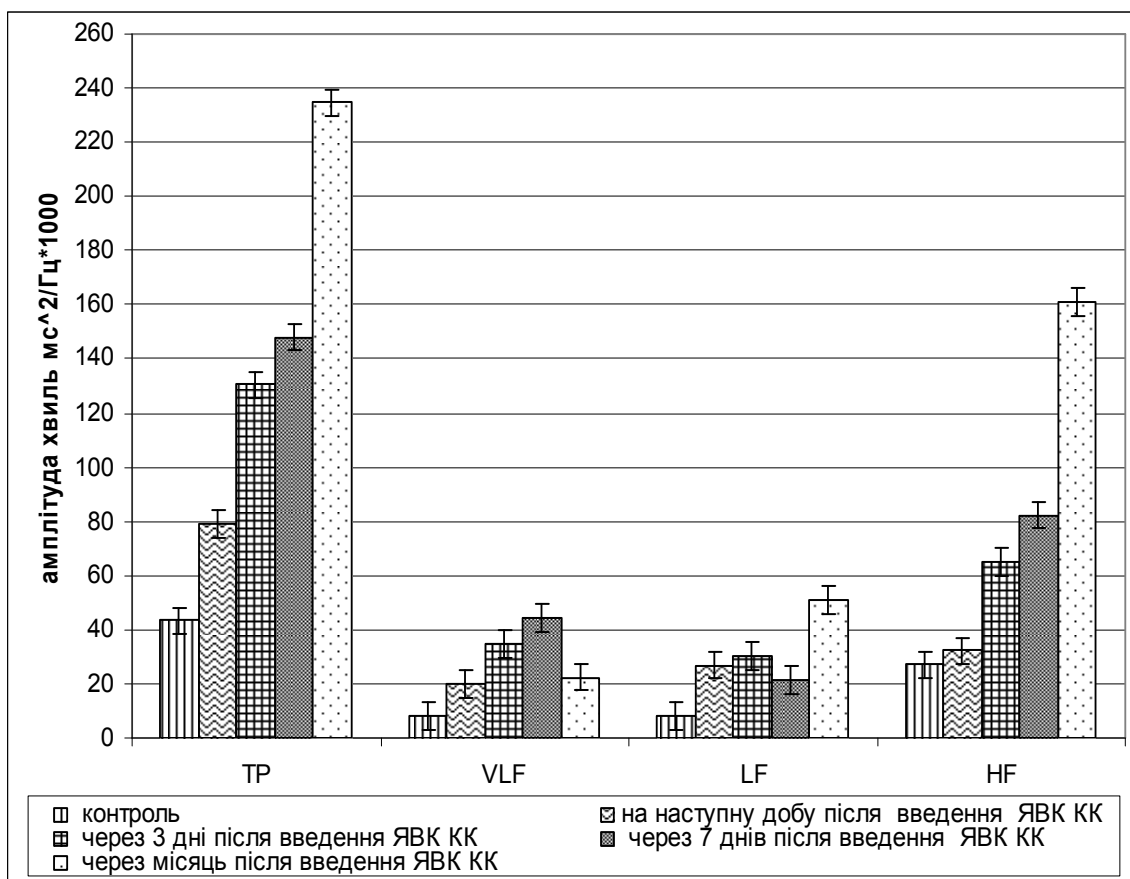


Рис. 4.5. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Через місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК показники TP зростали і значно перевершували контрольні значення (рис. 4.5). Відзначається значне підвищення функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС (збільшення питомої ваги LF- і HF-хвиль).

Цей факт дає можливість припустити, що у старих тварин на тлі введення ЯВК КК збільшується тонус вищих вегетативних центрів автономної нервової системи, яка є найбільш розвиненим і швидким шляхом реалізації ефектів нейрогуморальної регуляції.

Підйом загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції за рахунок активації парасимпатичного та симпатичного відділу ВНС у старих тварин після застосування кріоконсервованих ЯВК КК може свідчити про перехід процесу управління серцевим ритмом з повільного гуморально-метаболічного рівня регуляції на швидкий вегетативний рівень, не притаманний літньому організму [265].

Введення старим щурам плазми кордової крові супроводжувалося схожою динамікою зміни показників спектрального аналізу ВСР зазначеної нами у молодих тварин.

На наступну добу та через 3 доби після застосування плазми кордової крові (рис. 4.6) значення загальної спектральної потужності збільшувалися в порівнянні з контролем в основному за рахунок підвищення тону ВНС, а також гуморальної ланки регуляції.

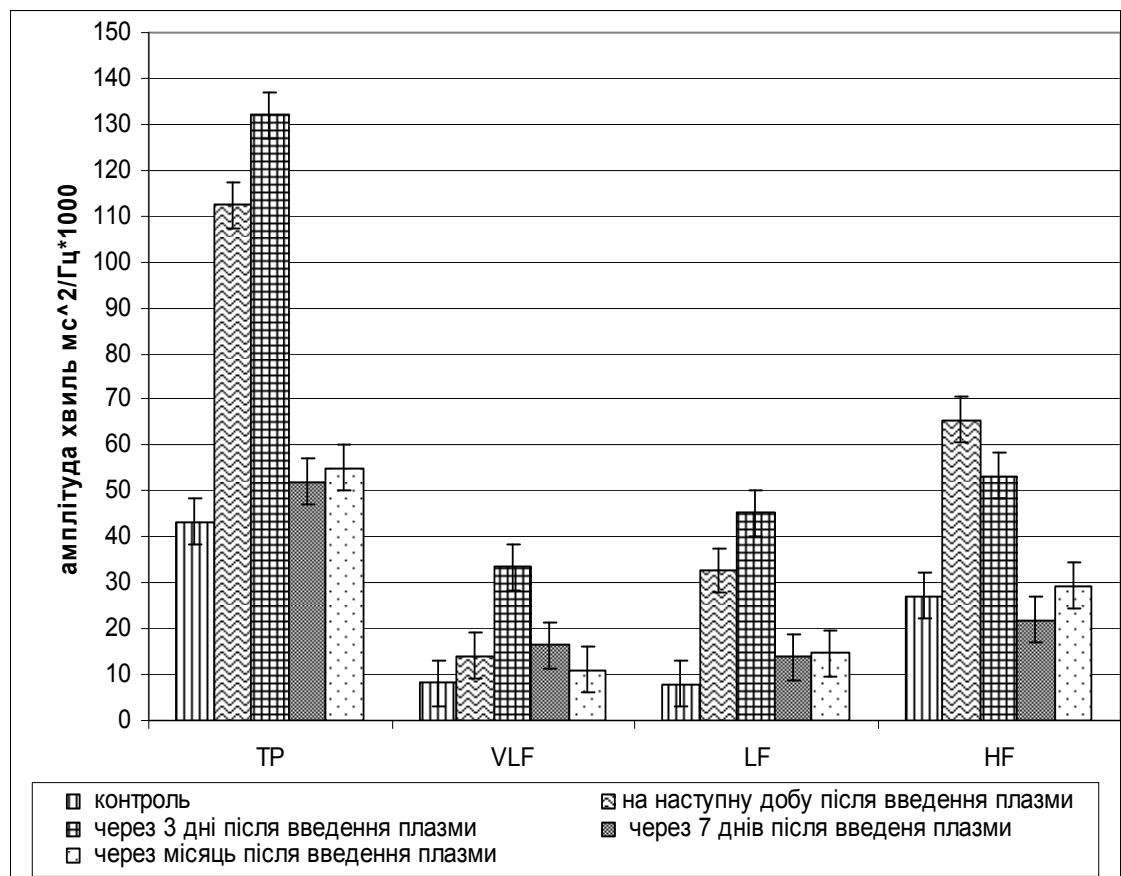


Рис. 4.6. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць після введення плазми кордової крові.

У віддалені терміни спостереження (через тиждень та місяць після введення плазми) загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції знижувалася до рівня вихідних показників (рис. 4.6). У цей період досліджень в її структурі зменшувалася активність вегетативних центрів і гуморальної ланки регуляції [262, 266].

Нами встановлено, що введення тваринам (6-ти і 28-30 місячним) фізіологічного розчину не супроводжувалося значними змінами основних параметрів спектрального аналізу ВСР. Показники ТР достовірно не змінювалися щодо контролю.

Експериментальні дані, отримані нами при дослідженні ВСР у щурів різних вікових груп на тлі застосування плазми кордової крові, дають можливість припустити, що на ранніх етапах експериментальних досліджень однією з основних особливостей дії плазми кордової крові є підвищення функціональної активності ВНС, в той час як активність гуморально-метаболічної ланки залишалася незмінною. У віддалені терміни спостережень значення загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції відповідали контрольним показникам.

На відміну від плазми введення кріоконсервованих ЯВК КК в усі терміни досліджень (на наступну добу, через 3 доби, тиждень та місяць) значно підвищувало адаптаційні можливості організму незалежно від віку. У молодих тварин на тлі застосування кріоконсервованих ЯВК КК підйом спектральної потужності, був результатом активації діяльності, як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції, що свідчить про наявність у них розвиненої збалансованої вегетативної регуляції [267].

Введення ЯВК КК старим щурам супроводжувалося зміною процесу управління серцевим ритмом з повільного гуморально-метаболічного рівня регуляції на швидкий вегетативний рівень, який не властивий літньому організму [268].

Таким чином, ефект дії плазми кордової крові найбільш розгорнуто проявляється на початкових етапах експериментальних досліджень та

нівелюється у віддалені терміни, в той час як кріоконсервовані ЯВК КК надають тривалий позитивний вплив на стан вегетативної регуляції серцевого ритму, тим самим істотно підвищуючи функціональні можливості організму тварин різних вікових груп.

За результатами даного дослідження опубліковані наступні роботи: [261, 262, 263, 265, 266, 267, 268].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СИСТЕМ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ТА ПОКАЗНИКИ АРТЕРІАЛЬНОГО ТИСКУ У МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ЗІ СТРЕСС-ІНДУКОВАНОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Вегетативні розлади є однією з актуальних проблем сучасної медицини. Вони виникають при порушенні функціонування церебральних адренергічних рецепторів, що впливають на еферентну регуляцію судинного тонусу [9, 60, 269]. ВНС має стимулюючий вплив на ССС [84].

Підвищення тонусу симпатичної іннервації стимулює роботу серця (підвищується ЧСС, швидкість проведення імпульсів, посилюються хронотропні, дромотропні та інотропні функції серця). Активація блукаючого нерва викликає зниження ЧСС та уповільнення атріовентрикулярної провідності.

Відомі дані про взаємозв'язок між вегетативною регуляцією серця та його структурно-функціональним станом. Так, симпатична стимуляція відіграє одну з важливих ролей у формуванні ремоделювання лівого шлуночка, а активація адренорецепторів призводить до значної стимуляції білкового синтезу в кардіоміоцитах [84]. У той же час гіпертрофія лівого шлуночка супроводжується змінами чутливості міокарда до вегетативних впливів та зниженням інтенсивності артеріального барорефлекса.

В даний час встановлено, що патогенез АГ, особливо на початкових етапах, тісно пов'язаний з розвитком вегетативних дисфункцій [12, 60, 84]. При АГ гіпертрофія лівого шлуночка є незалежним чинником ризику виникнення шлуночкових аритмій і раптової коронарної смерті [270-274].

В останні десятиліття для оцінки вегетативної регуляції серцевої діяльності, ризику виникнення летальних аритмій та раптової смерті широке

поширення отримав аналіз ВСР [275]. Пригнічення ВСР – сприятливий чинник аритмогенних ускладнень та смертності після гострого інфаркту міокарду [276]. Крім того, зниження параметрів ВСР сприяє більш високій ймовірності розвитку серцево-судинної патології та смертності [277, 278]. ВСР є маркером симпатичних та парасимпатичних модуляцій серцевого ритму [279]. Вегетативний дисбаланс серця або нейрогуморальні фактори, що впливають на зниження ВСР, сприяють розвитку ішемічної хвороби серця [280]. ВСР при АГ характеризується тенденцією до зниження загальної варіабельності за результатами тимчасового та спектрального аналізу на тлі згладжування циркадних коливань серцевого ритму [281-283], що свідчить про домінування симпатичних механізмів вегетативної регуляції серцевої діяльності та зниження вагусної активності.

Встановлено (рис. 5.1), що у молодих щурів зі стрес-індукованої АГ значення загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції істотно знижувалися в порівнянні з контрольними тваринами без гіпертензії. Дані зміни були чітко виражені як через 3 доби і тиждень від початку моделювання АГ, так і через тиждень та місяць після розвитку даного патологічного стану. У вищевказані терміни відзначалося значне зменшення активності вегетативної регуляції серцевого ритму, а також спостерігалася тенденція до зниження гуморально-метаболічних впливів. На спектрограмі це підтверджувалося зменшенням питомої ваги високо-, низько-та дуже низькочастотних хвиль (HF, LF, VLF- компонент). Через місяць після розвитку стійкої гіпертензії показники ТР зростали по відношенню до попередніх термінів, однак залишалися значно нижче контрольних.

Представлені результати дослідження показників спектрального аналізу ВСР у молодих щурів в динаміці дозволяють припустити, що психоемоційне напруження, викликане емоційним стресом на ранньому етапі може проявлятися надмірним тонусом симпатoadреналової системи. У міру її виснаження, а також розвитку та прогресування АГ вегетативне забезпечення серцевої діяльності все більшою мірою здійснюється за рахунок переходу

процесу регуляції на повільний, але більш стабільний, гуморально-метаболічний рівень. Крім того, отримані нами експериментальні дані узгоджуються з літературними [284, 285], що свідчать про те, що АГ есенціального генезу (в тому числі неврогенна), на відміну від симптоматичної, призводить до значного зниження досліджуваних параметрів ВСР.

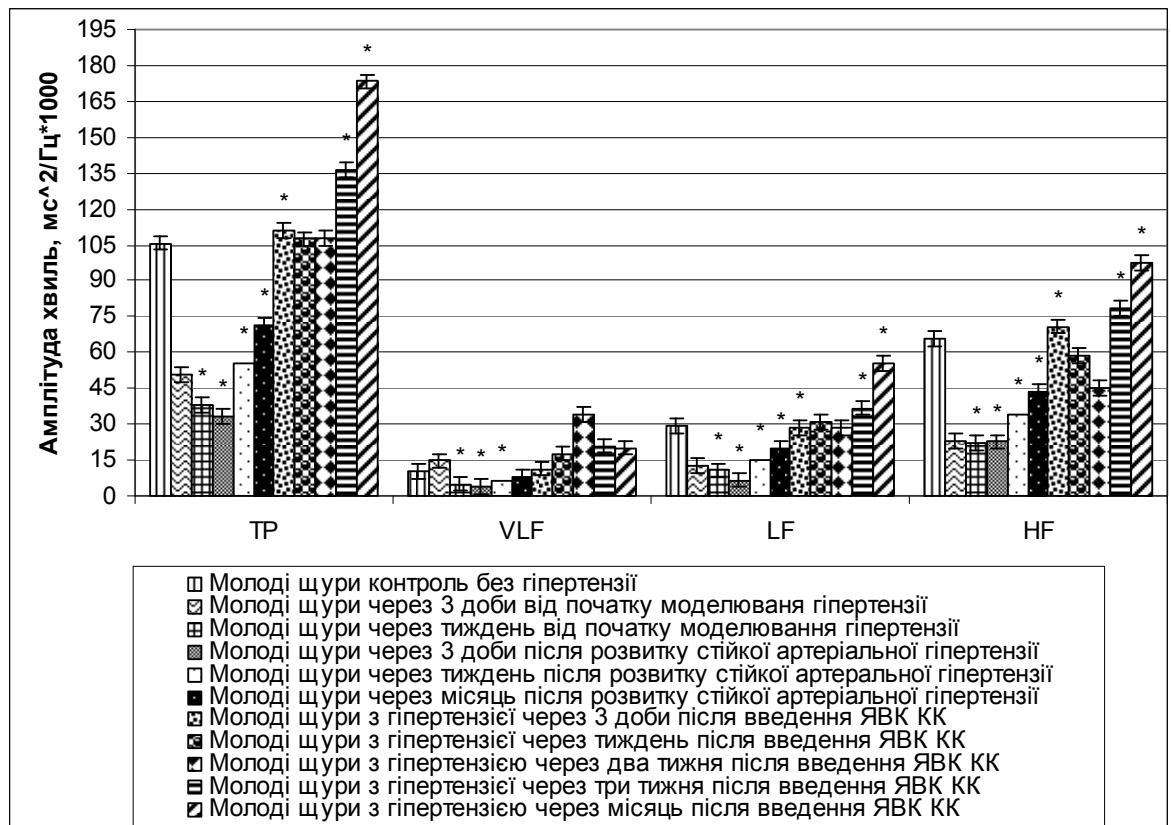


Рис. 5.1. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих гіпертензивних щурів до та після введення ЯВК КК.

Вже через 3 доби після введення молодим тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК (рис. 5.1) відзначалося збільшення загальної спектральної потужності до контрольних значень. Її зростання було результатом підвищення тону симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС на тлі практично не змінної активності гуморальної регуляції. Аналогічні показники TP мали місце через 1 і 2 тижні після введення ЯВК КК, однак, відзначалася динаміка збільшення гуморально-метаболічних впливів на серцевий ритм.

У віддалені терміни спостереження у молодих щурів з АГ (3 тижні і місяць після введення ЯВК КК) рівень загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції істотно зростав не тільки щодо попередніх етапів експериментальних досліджень, а й по відношенню до показників контролю. На нашу думку, сприятливим є той факт, що підйом спектральної потужності, був результатом активації діяльності, як ВНС, так і гуморальної ланки регуляції. Отримані дані, такі як високий рівень загальних, симпатичних впливів в модуляції серцевого ритму, на тлі введення кріоконсервованих ЯВК КК свідчать про наявність у молодих щурів з АГ розвиненої збалансованої вегетативної регуляції [286].

Проведений спектральний аналіз ВСР у старих контрольних щурів показав, що показники ТР у них були нижче ніж у молодих. Через 3 доби після початку моделювання АГ (рис. 5.2) достовірних відмінностей в її значеннях, по відношенню до контролю, відзначено не було.

Однак через тиждень від початку експерименту, а також через 3 доби, тиждень та місяць після розвитку стійкої гіпертензії рівень загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції зменшувався щодо інтактних старих тварин. Мало місце зниження симпатичної і гуморально-метаболічної регуляції відповідно (зменшувався питома вага LF і VLF хвиль). Різде падіння тонуусу парасимпатичного відділу ВНС у тварин даної вікової групи спостерігалось лише через 7 діб від початку моделювання стрес-індукованої АГ.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму у старих гіпертензивних щурів на тлі введення кріоконсервованих ЯВК КК (рис. 5.2) продемонстрував істотне зростання ТР завдяки синхронній активації всіх регуляторних ланок організму експериментальних тварин. У структурі спектра більшою мірою переважав тонус симпатичного та парасимпатичного відділів ВНС, а також простежувалася динаміка збільшення гуморально-метаболічних впливів. Дані зміни були яскраво виражені як через 3 доби та тиждень після введення ЯВК

КК, так і у віддалені терміни (через 2, 3 тижні та місяць після введення) [287].

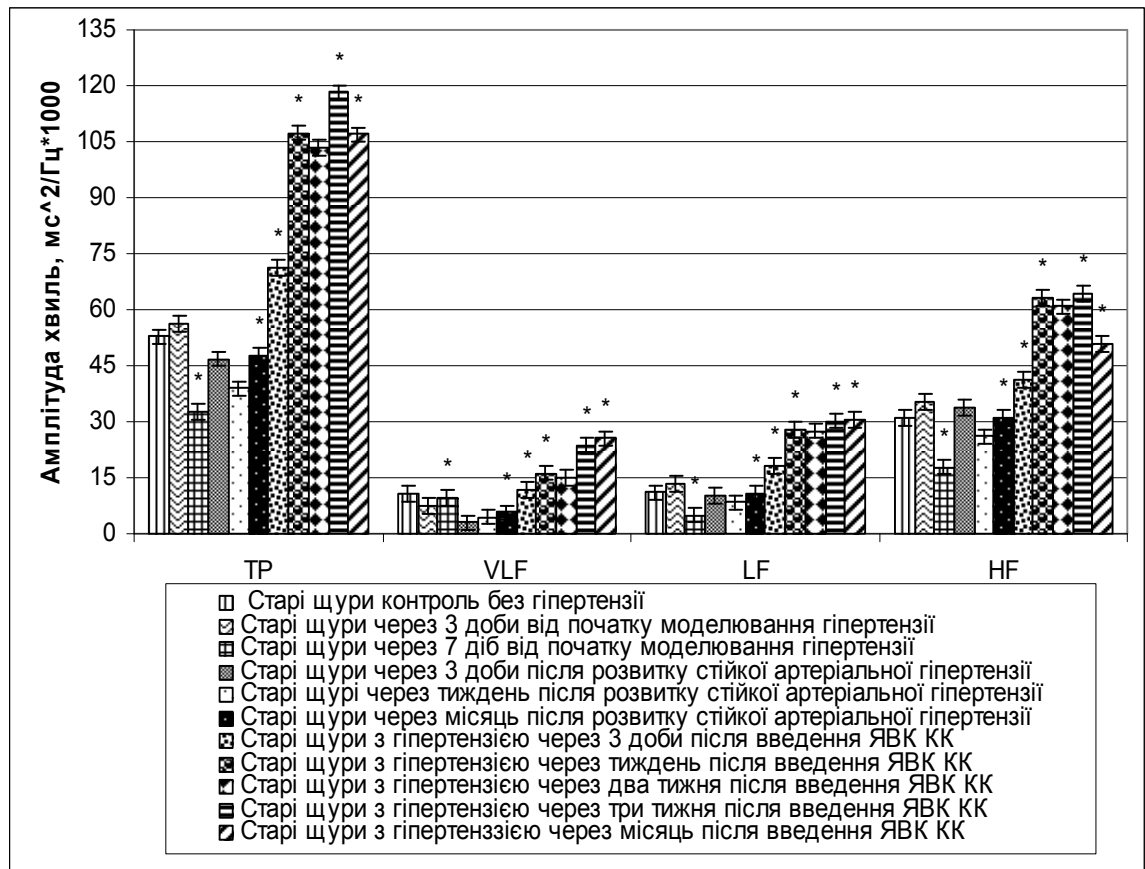


Рис 5.2. Показники спектрального аналізу ВСР у старих гіпертензивних щурів до та після введення ЯВК КК.

Таким чином, у старих тварин нами відзначена аналогічна динаміка зміни основних показників спектрального аналізу ВСР, як і у молодих. Розвиток патологічного стану супроводжується різким зниженням всіх досліджуваних параметрів ВСР. На початкових етапах експериментальних досліджень спостерігається надлишковий тонус симпатико-адреналової системи. У міру розвитку та прогресування АГ вегетативне забезпечення серцевої діяльності здійснюється за рахунок переходу регуляції на повільний гуморально-метаболічний рівень.

Після введення гіпертензивним щурам різних вікових груп кріоконсервованих ЯВК КК має місце активація ВНС та гуморальної ланки регуляції. Дані зміни, на нашу думку, є фізіологічно значимими, оскільки

гомеостатичні властивості цілісного організму є результатом одночасної дії багатьох складно організованих регуляторних механізмів, серед яких одне з важливих місць займає вегетативна регуляція, що забезпечує сталість рівнів обміну речовин та енергії в організмі [288].

В даний час чітко позначена роль стресу в патогенезі розвитку АГ. З огляду на той факт, що регуляція АТ при стресі, перш за все, обумовлена тісним взаємозв'язком нервових та гуморальних механізмів, нами було проаналізовано динаміку змін показників АТ у молодих і старих щурів зі стрес-індукованої АГ до та після введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Встановлено, що у контрольних молодих та старих щурів цифри АТ спостерігалися на рівні $(99,72 \pm 3,57)$ мм рт.ст. та $(103,92 \pm 2,96)$ мм рт.ст. відповідно (табл. 5.1). Через тиждень від початку моделювання АГ мали місце стабільно високі показники АТ $(161,98 \pm 5,47)$ мм рт.ст. у молодих, $(179,25 \pm 2,29)$ мм рт.ст. у старих тварин.

На 3 добу після розвитку стійкої АГ у молодих і старих тварин зберігався достовірно високий рівень АТ по відношенню до контролю, що на нашу думку пов'язано з підвищеним тонусом симпатoadреналової системи, яка має потужну вазопресорну дію (табл. 5.1).

Через тиждень та місяць після розвитку АГ, цифри АТ залишалися достовірно високими (як у молодих, так і у старих щурів), що підтверджує наявність стійкого патологічного процесу та адекватність обраної методики моделювання АГ.

Через 3 доби після введення молодим тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК (табл. 5.1) показники АТ мали тенденцію до зниження відносно групи гіпертензивних щурів, але залишалися достовірно вище контрольних значень.

На 7 добу та через місяць після введення ЯВК КК рівень АТ знижувався і відповідав контрольним значенням. Раніше нами було показано, що в дані терміни експериментальних досліджень відзначається істотне поліпшення метаболічної і репаративної активності кардіоміоцитів і

ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда, нормалізація ліпідного профілю сироватки щурів.

Таблиця 5.1.

Показники АТ у молодих та старих щурів з АГ до та після введення ЯВК КК.

Група	АД в мм рт.ст.	
	Молоді щури	Старі щури
Контроль	99,72 ± 3,57	103,92 ± 2,96
Після моделювання АГ	161,98 ± 5,47*	179,25 ± 2,29*
3 доби після розвитку АГ	154,11 ± 7,7*	177,3 ± 3,1*
7 діб після розвитку АГ	159,34 ± 7,34*	165,0 ± 5,4*
1 місяць після розвитку АГ	145,0 ± 2,89*	157,5 ± 2,5*
3 доби після введення ЯВК КК	139,23 ± 11,83*	153,63 ± 10,75*
7 діб після введення ЯВК КК	119,38 ± 15,63#	138,34 ± 6,67*#
Місяць після введення ЯВК КК	115 ± 2,89#	113,75 ± 3,75#

* – статистично значущі відмінності від контрольної групи; (p ± 0,05);

– статистично значущі відмінності від групи з АГ (p ± 0,05);

АГ – артеріальна гіпертензія; ЯВК КК – кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові.

У старих тварин через 3 доби після введення кріоконсервованих ЯВК КК, показники АТ були вище контрольних значень, та відповідали рівню гіпертензивних щурів (табл. 5.1).

На 7 добу після введення ЯВК КК цифри АТ залишаються вищими по відношенню до контролю та знижуються щодо тварин з АГ. У ці терміни при електронно-мікроскопічному дослідженні кардіоміоцитів і ендотеліоцитів спостерігається активація трансцеллюлярного транспорту речовин і електролітів через ендотеліальні клітини кровоносних капілярів, що структурно підтверджується появою в цитоплазмі відростків ендотеліоцитів мікропіноцитозних бульбашок.

Через місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК щурам даної вікової групи, рівень АТ достовірно знижувався щодо групи гіпертензивних тварин та практично відповідав контрольним показникам (табл. 5.1).

Отже, на підставі отриманих експериментальних даних, можна припустити, що введення молодим і старим тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК сприяє нормалізації показників АТ [289].

За результатами даного дослідження опубліковані наступні роботи: [286, 287, 288, 289].

РОЗДІЛ 6

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ПЕРЕБУДОВИ ТКАНИН І СУДИН МІОКАРДА ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ДО І ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ

6.1. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда молодих щурів у процесі розвитку і прогресування артеріальної гіпертензії

Ультраструктура міокарда молодих щурів контрольної групи мала характерну для норми будову [235, 238, 290, 291]. Ядра кардіоміоцитів були витягнутої форми з гладкою ядерною мембраною. Ядерний хроматин рівномірно розподілявся по площі зрізу ядра. Мембрана ядра мала переважно чітку контуровану структуру, але на окремих її ділянках спостерігали достатньо глибокі інвагінації. У навколядерній зоні знаходились цистерни саркоплазматичного ретикулума.

Скорочувальний апарат кардіоміоцитів був представлений у вигляді пучків міофібрил, паралельно яким розташовувалися рядами мітохондрії.

Відзначали поліморфізм форм та розмірів мітохондрій, а також різну електронну щільність їх вмісту: одні з них містили електронно-щільний матрикс, інші – електронно-прозорий. Дуже рідко в кардіоміцитах були присутні дрібні включення ліпідів.

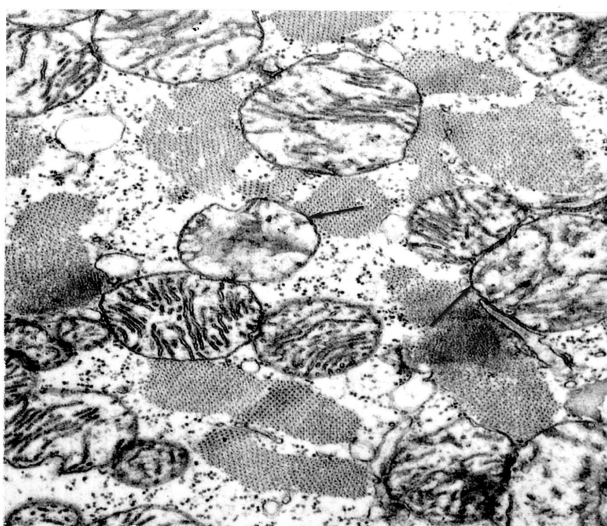
У навколядерній зоні локалізувався пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі, який складався зі стопок паралельно орієнтованих гладких мембран, оточених сплосченими електронно-прозорими везикулами.

Кровоносні капіляри були розташовані в безпосередній близькості до кардіоміоцитів та мали типову будову. Ядра ендотеліоцитів характеризувалися сильно «покресленою» ядерною мембраною. Хроматин знаходився в конденсованому стані. У цитоплазмі поблизу ядра розташовувалися мітохондрії, цистерни гранулярного ЕПР, пластинчастий комплекс Гольджі і численні рибосоми. Деструктивні порушення цих органел не виявлені.

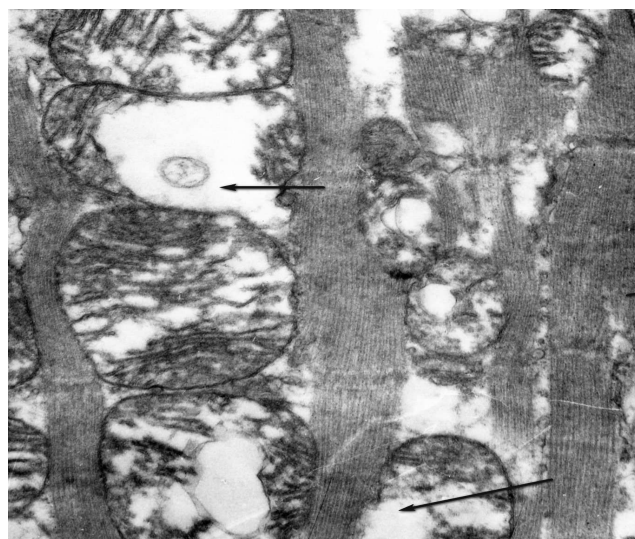
Спостерігали велику кількість мікропіноцитозних пухирців (везикул) у цитоплазмі відростків ендотеліоцитів. Цитоплазматична мембрана, що повернена до току крові, мала структуру властиву елементарній мембрані.

На 3 добу після розвитку стійкої АГ у субмікроскопічній архітектоніці міокарда молодих щурів були присутні дистрофічні і деструктивні зміни органел кардіоміоцитів та ендотеліоцитів кровоносних капілярів.

Матрикс ядер кардіоміоцитів був істотно просвітлений. Ядерний хроматин знаходився в конденсованій формі. Ядерна мембрана утворювала глибокі інвагінації і була розпушена. У значної кількості кардіоміоцитів виявлялися осередки деструкції ядерної мембрани. Перинуклеарний простір був нерівномірно розширений. Значна частина мітохондрій мала електронно-прозорий вигляд та незмінену зовнішню мембрану, а також містила паралельно орієнтовані кристи (рис. 6.1, А). Спостерігали мітохондрії з осередками лізису як зовнішніх мембран, так і крист. У препаратах присутні дегенеративно змінені мітохондрії з гомогенізованим матриксом та тотально зруйнованими кристами (рис. 6.1, Б).



А



Б

Рис. 6.1. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів на 3 добу після розвитку АГ: А – чітко контуровані зовнішні мембрани мітохондрій (стрілка), $\times 36\,000$; Б – зруйновані кристи мітохондрій (стрілка), $\times 38\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Міофібрили, в більшості, зберігали паралельну орієнтацію та поперечну смугастість. У значної кількості кардіоміоцитів спостерігали витончені та розщеплені скорочувальні елементи (рис. 6.2, А).

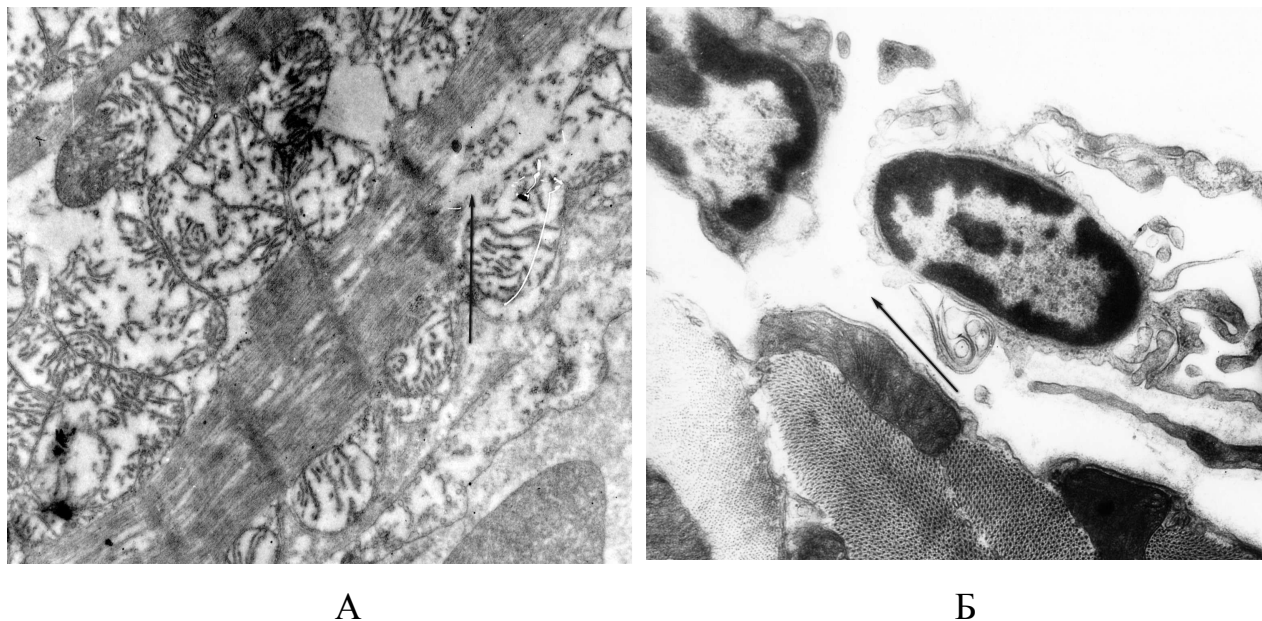


Рис. 6.2. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів на 3 добу після розвитку АГ: А – витончені міофібрили (стрілка), $\times 36\,000$; Б – розрихління цитоплазматичної мембрани (стрілка), $\times 36\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

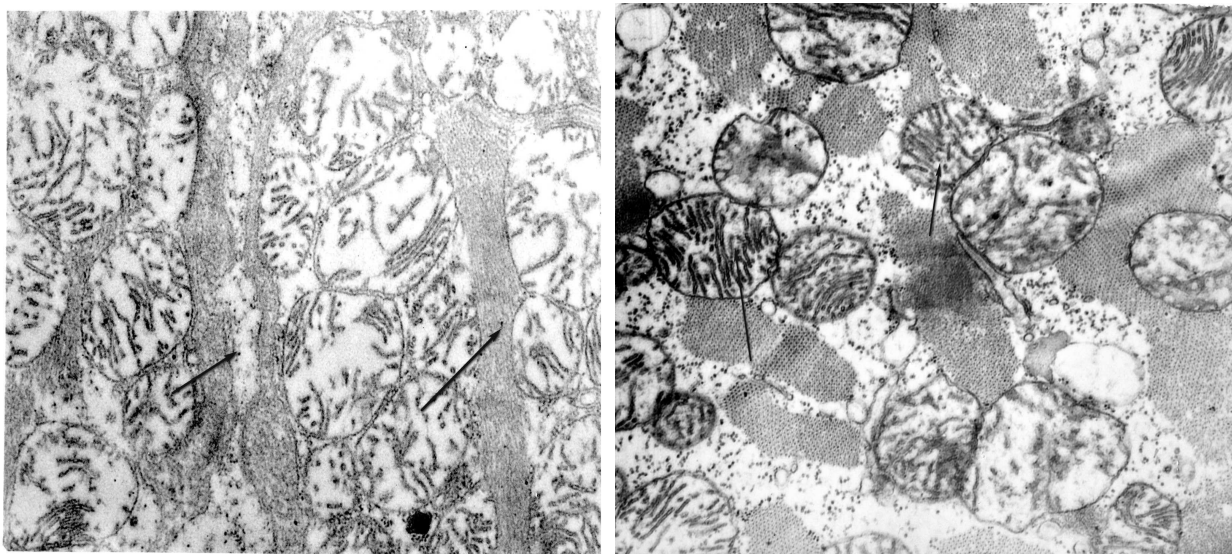
Саркоплазма кардіоміоцитів мала електронно-прозорий вигляд, низьку електронну щільність та містила невелику кількість органел, полісом, рибосом, гранул глікогену. На окремих препаратах виявлені включення ліпідів і вторинні лізосоми.

В даний термін експериментального дослідження у молодих тварин були значно виражені порушення субмікроскопічної організації ендотеліоцитів кровоносних капілярів. Ядра ендотеліальних клітин мали неправильну форму та містили конденсований хроматин. В ядерній мембрані спостерігали великі осередки лізису. Цитоплазматична мембрана була розпушена і потовщена (рис. 6.2, Б).

У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів спостерігали поодинокі мікропіноцитозні пухирці та невелику кількість полісом і рибосом. Сильно набряклі мітохондрії ендотеліоцитів містили електронно-прозорий матрикс і невелику кількість крист. Цистерни гранулярного ЕПР розширені, на його мембранах практично були відсутні рибосоми.

Зазнав редукції пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі, його гладкі мембрани були дезорганізовані. У цитоплазмі окремих ендотеліоцитів спостерігали вторинні лізосоми і включення ліпідів. У просвіті капілярів виявлені конгломерати дегенеративно змінених мембран і аморфна субстанція різної електронної щільності.

На 7 добу після розвитку стрес-індукованої АГ ядра кардіоміоцитів набули подовженої форми. Грудочки конденсованого хроматину були сконцентровані переважно поблизу ядерної мембрани, яка мала розпушений вигляд. Перинуклеарний простір місцями розширений.



А

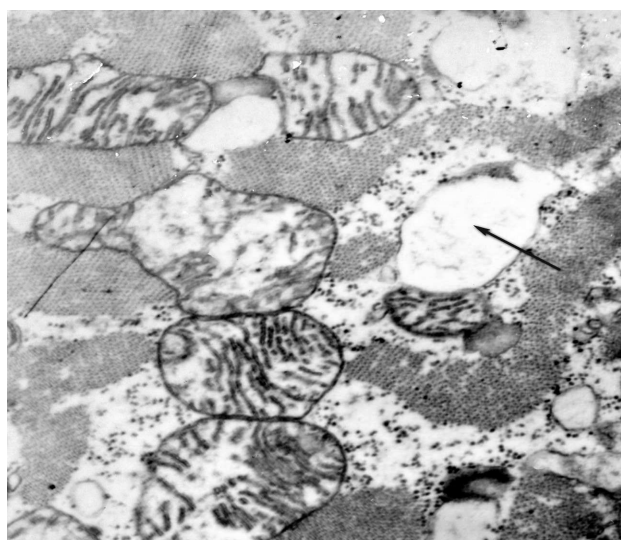
Б

Рис. 6.3. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – витончені та розщеплені міофібрили (стрілка), $\times 39\,000$; Б – паралельно орієнтовані кристи мітохондрій (стрілка), $\times 35\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

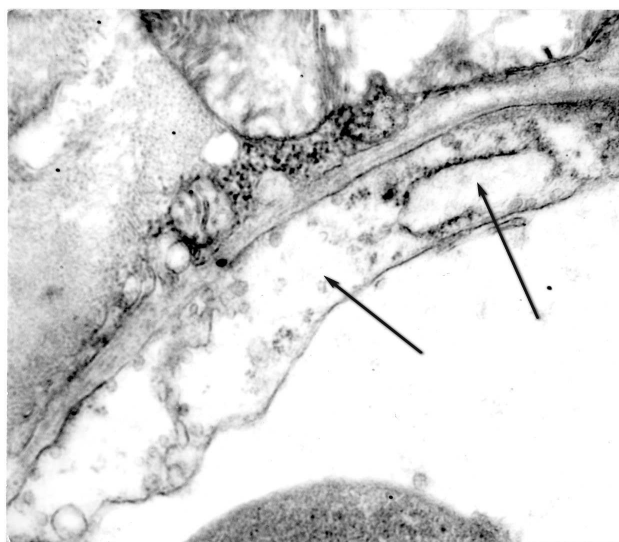
Саркоплазма кардіоміоцитів була електронно-прозорою. Зберігалася паралельна орієнтація пучків міофібрил і чітка поперечна смугастість. В окремих кардіоміоцитах спостерігали розщеплені і витончені пучки міофібрил (рис. 6.3, А).

Матрикс мітохондрій мав дрібногранулярну структуру і містив невелику кількість паралельно орієнтованих вкорочених крист (рис. 6.3, Б).

У саркоплазмі розташована невелика кількість рибосом, полісом, гранул глікогену, розширених цистерн саркоплазматичного ретикулума і Т-системи (рис. 6.4, А).



А



Б

Рис. 6.4. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – розширені цистерни саркоплазматичної сітки, $\times 36\,000$; Б – ділянки просвітлення цитоплазми (стрілка), $\times 43\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Ядра ендотеліальних клітин містили конденсований хроматин. Цитоплазма ендотеліоцитів мала електронно-прозорий вигляд (рис. 6.4, Б). Мітохондрії були набряклими з ділянками просвітлення матриксу. Цистерни гранулярного ЕПР розширені та заповнені електронно-прозорою субстанцією. У цитоплазмі виявлені поодинокі рибосоми і полісоми. Відростки ендотеліоцитів не містили мікропіноцитозних пухирців.

На 30 добу після розвитку АГ в ультраструктурній організації кардіоміоцитів та ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда були виявлені дистрофічні та деструктивні зміни органел. Матрикс ядер кардіоміоцитів мав низьку електронну щільність, збільшилась кількість конденсованого хроматину, сконцентрованого у прилеглій до ядерної мембрани області. Деконденсований хроматин був розташований у центральній частині ядра.

Ядерна мембрана утворювала дрібні інвагінації, а її структура була розпушеною. Достатньо часто спостерігали осередки лізису ядерної мембрани. Перинуклеарний простір був нерівномірно розширеним. У саркоплазмі спостерігали невелику кількість полісом, рибосом і гранул глікогену.

Зміни мітохондрій мали поліморфний характер. Частина з них містила електронно-прозорий матрикс. Спостерігали мітохондрії з осередками лізису зовнішніх мембран та крист. Окремі мітохондрії містили вкорочені і дезорганізовані кристи. Достатньо часто виявляли мітохондрії з гомогенізованим і дегенеративно зміненим матриксом, а також тотально зруйнованими кристами (рис. 6.5, А).

У саркоплазмі кардіоміоцитів подекуди були присутні включення ліпідів. Пучки міофібрил зберігали паралельну орієнтацію і поперечну смугастість. Окремі кардіоміоцити містили витончені пучки міофібрил (рис. 6.5, Б).

Субмікроскопічна організація ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів була істотно порушеною. Ядра ендотеліальних клітин мали неправильну форму. Конденсований хроматин ядра розташовувався по периферії матриксу, а в центральній області матриксу ядра локалізувалися гранули деконденсованого хроматину. Ядерна та цитоплазматична мембрани мали крупні осередки лізису. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлені поодинокі мікропіноцитозні пухирці. Мітохондрії містили незначну кількість дезорганізованих крист і електронно-

прозорий матрикс. Цистерни гранулярного ЕПР значно розширені, на мембранах практично відсутні рибосоми. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі знаходився у редукованому стані, його гладкі мембрани втратили паралельну орієнтацію. В області його локалізації присутні вторинні лізосоми та включення ліпідів [292].



А

Б

Рис. 6.5. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів на 30 добу після розвитку АГ: А – осередки лізису мембран мітохондрій (стрілка), $\times 34\,000$; Б – витончені пучки міофібрил (стрілка), $\times 32\,000$. Контрастовано цитратом свинцю

6.2. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда молодих щурів з артеріальною гіпертензією після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

На 3 добу після введення молодим тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК ультраструктура клітин міокарда практично відповідала картині експериментальних тварин на 30 добу після розвитку стійкої гіпертензії без застосування препарату.

Зберігалася конденсація хроматину на ядерній мембрані кардіоміоцитів. Матрикс ядра мав низьку електронну щільність. Водночас, у

перинуклеарній області саркоплазми була збільшена кількість саркоплазматичних органел.

Зменшився ступінь просвітлення саркоплазми, збільшилася кількість мітохондрій і крист в них. Матрикс мітохондрій набув дрібногранулярної структури і середньої електронної щільності. Знизився ступінь розпушення внутрішньоклітинних мембранних компонентів і набрякості мітохондрій, зменшилась територія осередків лізису зовнішніх мембран і крист. У саркоплазмі зростає кількість вільних рибосом, полісом і гранул глікогену. Спостерігали гіпертрофію пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі, однак дезорганізація гладких його мембран зберігалася. Цистерни саркоплазматичного ретикулума були значно розширені та електронно-прозорі.

У саркоплазмі кардіоміоцитів зустрічали дрібні включення ліпідів (рис. 6.6, А), мітохондрії у стані поділу (рис. 6.6, Б).

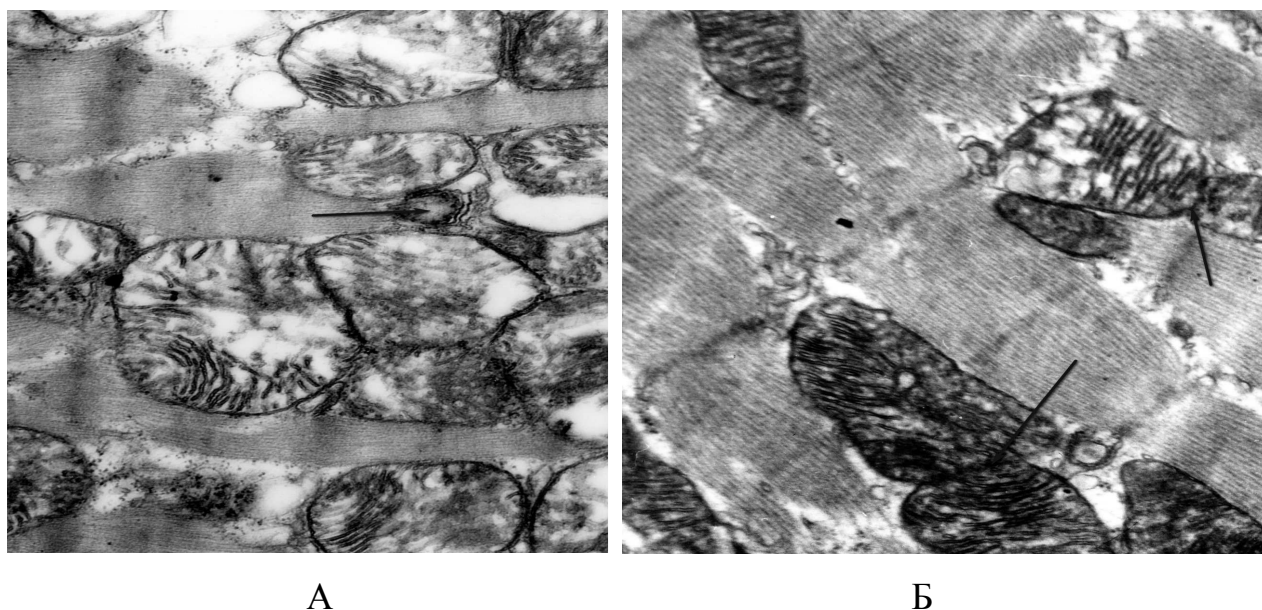


Рис. 6.6. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК: А – включення ліпідів у саркоплазмі кардіоміоцитів (стрілка), $\times 30\,000$; Б – мітохондрії з перегородками (стрілка), $\times 31\,000$. Контрастовано цитратом свинцю

У цій групі експериментальних тварин ультраструктурна організація ендотеліоцитів кровоносних капілярів залишалася дистрофічно зміненою, але в цитоплазмі було значно менше осередків лізису мембранних структур, ніж у молодих щурів контрольної групи з АГ.

Ядра ендотеліоцитів містили просвітлений матрикс і конденсований хроматин. Перинуклеарний простір був нерівномірно розширений. Спостерігали дещо менший ступінь розпушення ядерної мембрани та території осередків її лізису.

Мітохондрії мали електронно-прозорий матрикс, розпушену зовнішню мембрану і дезорганізовані кристи. Цистерни гранулярного ЕПР були значно розширені. На його мембранах виявлена невелика кількість рибосом. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів збільшувалася кількість мікропіноцитозних пухирців (рис. 6.7).



Рис. 6.7. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК. Численні мікропіноцитозні пухирці в цитоплазмі відростків ендотеліоцитів (стрілка), $\times 37\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Через 7 днів після введення кріоконсервованих ЯВК КК експериментальним молодим тваринам з АГ спостерігали зміни

субмікроскопічної архітектоніки органел клітин міокарда, які характерні для підвищення активності внутрішньоклітинних метаболічних процесів.

Істотно знижувалася ступінь конденсації хроматину в ядрах кардіоміоцитів, порівняно з групою гіпертензивних тварин. Значна частина гранул деконденсованого хроматину рівномірно розподілялася по площі зрізу ядра. Ядерна мембрана мала чітко контуровану структуру. Перинуклеарний простір був рівномірно розширений. Матрикс ядра залишався просвітленим.

Поряд з цим, зустрічалися кардіоміоцити з набряклими мітохондріями, частина яких зазнала осередкового лізису зовнішніх мембран і крист. У більшості мітохондрій зростала кількість крист, їх матрикс мав помірну електронну щільність і дрібнозернисту структуру (рис. 6.8).

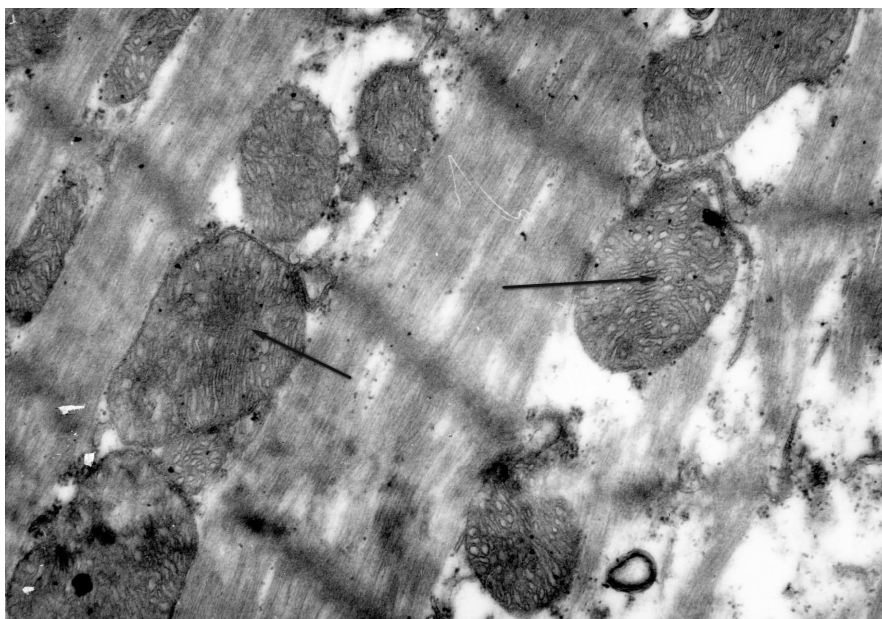


Рис. 6.8. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з АГ на 7 добу після введення ЯВК КК. Мітохондрії середньої електронної щільності (стрілка), $\times 36\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

У препаратах виявлені кардіоміоцити, в саркоплазмі яких були присутні мітохондрії у стані поділу, тобто мали «гантельоподібну» форму і характерні перетяжки.

Саркоплазма залишалася істотно просвітленою, в ній зростала кількість гранул глікогену, рибосом і полісом.

Цистерни саркоплазматичного ретикулума і Т-системи були помірно розширеними. Пучки міофібрил розташовані паралельними рядами і мали поперечну смугастість.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі гіпертрофований, його гладкі мембрани зібрані в стопки, які паралельно орієнтовані та оточені великою кількістю дрібних, електронно-прозорих везикул.

Ядра ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда мали подовжену форму. Ядерна мембрана помірно розпушена, однак осередки її лізису не виявлені. Перинуклеарний простір рівномірно розширений. У центральній області ядра спостерігали зону дуже низької електронної щільності. Грудочки конденсованого хроматину розташовувалися поблизу ядерної мембрани. В ядрах ендотеліальних клітин місцями виявлялися осміофільні ядерця. Матрикс мітохондрій мав дрібнозернисту структуру і невелику кількість крист. Осередки лізису зовнішніх мембран і крист зустрічалися рідко. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів істотно зростала кількість мікропіноцитозних пухирців. Цитоплазматична мембрана не мала осередків лізису, однак залишалася помірно розпушеною, потовщеною і характеризувалася підвищеним ступенем осміофілії.

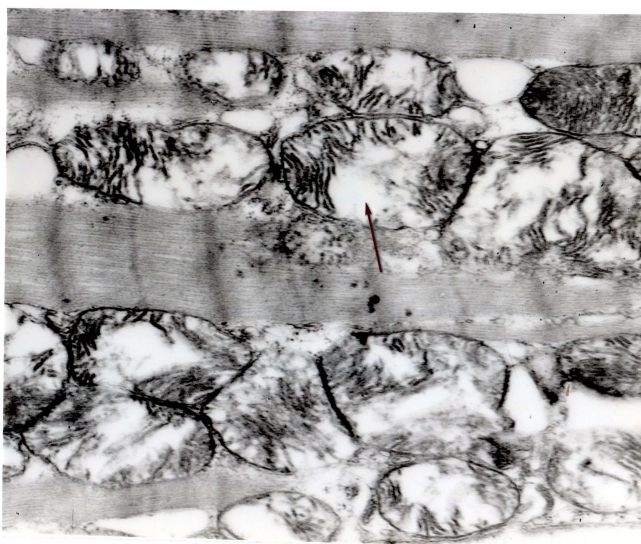
Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі помірно гіпертрофований, в області його локалізації були відсутні, як вторинні лізосоми, так і включення ліпідів.

На 30 добу після введення ЯВК КК у молодих щурів з АГ ультраструктурна організація клітин міокарда в основному набувала типову будову.

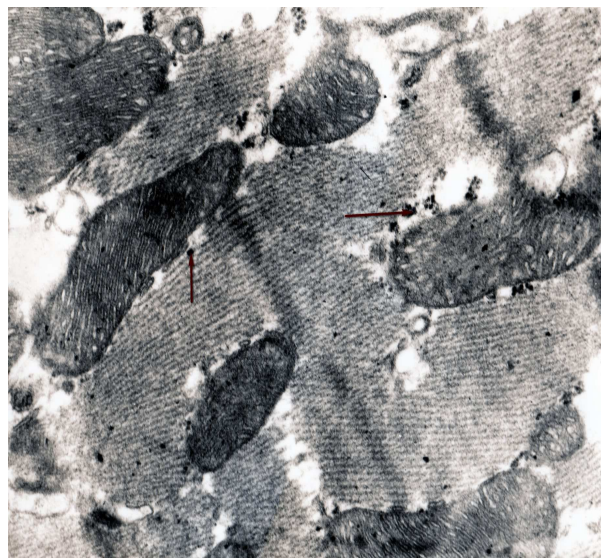
Міофібрили мали паралельну орієнтацію і добре виражену поперечну смугастість. Ядра кардіоміоцитів містили переважно деконденсований хроматин, гранули якого були дифузно розсіяними по матриксу ядра. Ядерна мембрана чітко контурована без осередків лізису. Місцями спостерігали

ядерні мембрани з осередками розпушення. Перинуклеарний простір зберігав постійну ширину на території всього зрізу.

Мітохондрії були набряклими, з поліморфним матриксом і містили численні паралельно орієнтовані кристи. Окремі з них мали осередкове просвітлення матриксу і розпушені зовнішні мембрани і кристи (рис. 6.9, А).



А



Б

Рис. 6.9. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з АГ на 30 добу після введення ЯВК КК: А – осередкове просвітлення матриксу мітохондрій (стрілка), $\times 36\,000$; Б – гранули глікогену в саркоплазмі (стрілка), $\times 32\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Цистерни саркоплазматичного ретикулума і Т-системи були помірно розширеними. У порівнянні з попередніми термінами експериментального дослідження в саркоплазмі кардіоміоцитів були відсутні включення ліпідів, зростала кількість гранул глікогену, рибосом і полісом (рис. 6. 9, Б).

В ядрах ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда різко знижувалася ступінь конденсації хроматину, велика частина його переходила в неконденсовану форму. В мітохондріях не виявлено деструкції зовнішніх мембран і крист, але при цьому зберігався їх набряк. У цитоплазмі окремих ендотеліоцитів виявлені численні мікропіноцитозні пухирці (рис. 6.10),

спостерігалася гіперплазія мембран гранулярного ЕПР і гіпертрофія пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі [235, 293, 294, 295].

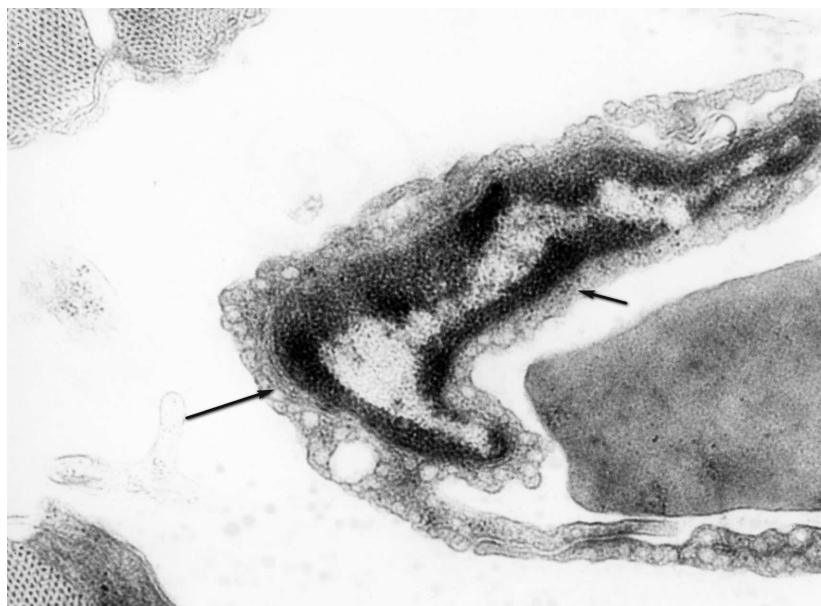


Рис. 6.10. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з АГ на 30 добу після введення ЯВК КК. Численні мікропіноцитозні пухирці в цитоплазмі (стрілка), $\times 38\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

6.3. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда старих щурів в процесі розвитку і прогресування артеріальної гіпертензії

Ультраструктурна організація кардіоміоцитів та ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих інтактних щурів перебувала в межах вікових особливостей [235, 238, 290, 291]. Зруйнованих мембранних структур не виявлено.

Ядра кардіоміоцитів мали округлу, злегка витягнуту форму. Ядерний хроматин знаходився в частково конденсованому стані і рівномірно розподілявся по площі зрізу ядра. Між пучками міофібрил розташовувалися

розширені цистерни саркоплазматичного ретикулума, заповнені електронно-прозорою субстанцією.

Найбільшим поліморфізмом характеризувалися мітохондрії. Зустрічалися мітохондрії з просвітленим, майже електронно-прозорим матриксом, що містить численні кристи. Інша частина мала лізовані кристи.

У саркоплазмі присутні ліпідні включення і вторинні лізосомы, заповнені електронно-щільним ліпофусцином, а також незначна кількість рибосом і гранул глікогену.

Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів істотно не змінювалася.

На 3 добу після розвитку стійкої АГ, ядра кардіоміоцитів міокарда мали витягнуту форму і типову розташування в саркоплазмі (рис. 6.11).

Ядерний хроматин, який перебував у конденсованій формі, у вигляді грудочок, концентрувався не тільки уздовж ядерної мембрани, але і виявлявся в інших відділах матриксу ядра. Гранули деконденсованого хроматину локалізувалися в центрі ядра. Ядерна мембрана була істотно розпушеною і потовщеною, зустрічалися осередки лізису. Перинуклеарний простір помірно та нерівномірно розширювався.

Міофібрили були розташовані паралельно рядами та мали типову будову і чітку поперечну смугастість. Між пучками міофібрил знаходились мітохондрії сферичної форми. Матрикс мітохондрій характеризувався підвищеною електронною щільністю і гомогенною структурою. Зовнішні мембрани і кристи були розпушеними та містили осередки лізису.

Саркоплазма мала низьку електронну щільність. На відміну від старих тварин контрольної групи, кількість рибосом і полісом істотно зменшувалася. Місцями в саркоплазмі виявлялися дрібні включення ліпідів.

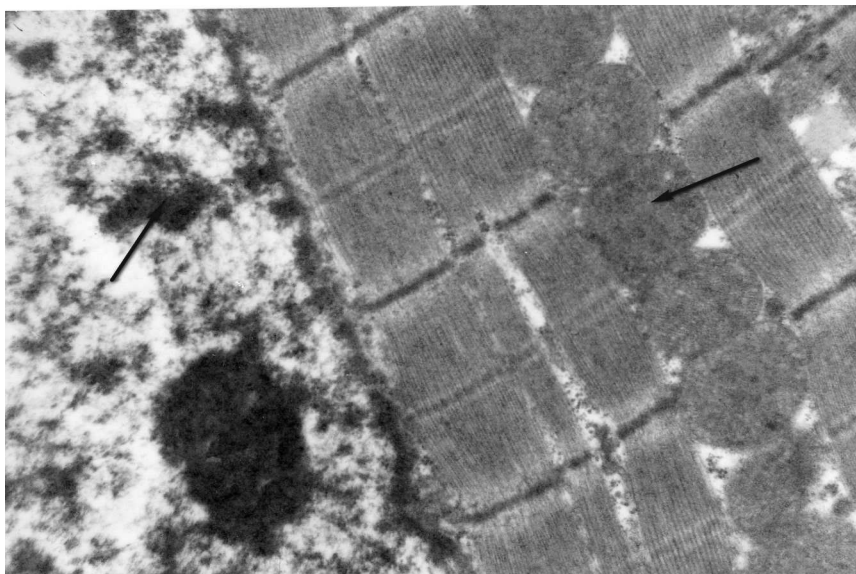


Рис. 6.11. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів на 3 добу після розвитку АГ. Конденсація ядерного хроматину, гомогенізація і осередковий лізис мітохондрій, $\times 26\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Ендотеліальні клітини кровоносних капілярів містили електронно-прозору цитоплазму. Хроматин в ядрах був переважно конденсованим. Ядерна мембрана утворювала глибокі інвагінації і мала осередки лізису (рис. 6.12).

У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів містилися мікропіноцитозні пухирці.

На 7 добу після розвитку АГ, в ультраструктурній організації кардіоміоцитів старих щурів спостерігали ознаки подальшого розвитку і поглиблення дистрофічного процесу. Ядерний хроматин кардіоміоцитів знаходився переважно в конденсованому стані. Його грудочки були розташовані як на периферії ядра, так і в центральній області каріоплазми. Вміст деконденсованого хроматину був істотно меншим у порівнянні з інтактними тваринами. Каріоплазма мала низьку електронну щільність. Перинуклеарний простір місцями був розширений і заповнений електронно-прозорою субстанцією. З'являлися осередки лізису ядерної мембрани, яка втрачала чітко контуровану структуру і ставала розпушеною.

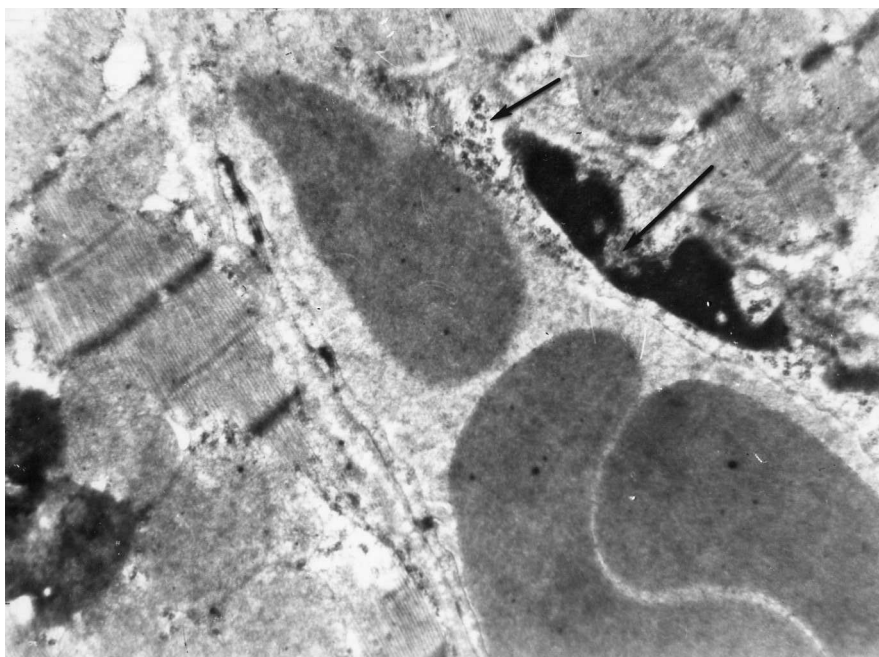


Рис. 6.12. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих щурів на 3 добу після розвитку АГ. Деструкція ядерної мембрани, конденсація хроматину, $\times 38\ 000$. Контрастовано цитратом свинцю.

В даний термін експериментального дослідження мітохондрії кардіоміоцитів були сильно набряклими, збільшеними за розміром, водночас кількість крист зменшувалася. Зовнішні мембрани і кристи мітохондрій піддавалися осередковому лізису (рис. 6.13, А).

Пучки міофібрил були потоншені і втрачали паралельну орієнтацію. У саркоплазмі кардіоміоцитів спостерігали вторинні лізосоми і включення ліпідів (рис. 6.13, Б). Саркоплазма була електронно-прозора, містила невелику кількість гранул глікогену, рибосом і полісом. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі розташовувався в перинуклеарній області і піддавався редукції. В області його локалізації виявлені великі електронно-прозорі вакуолі.

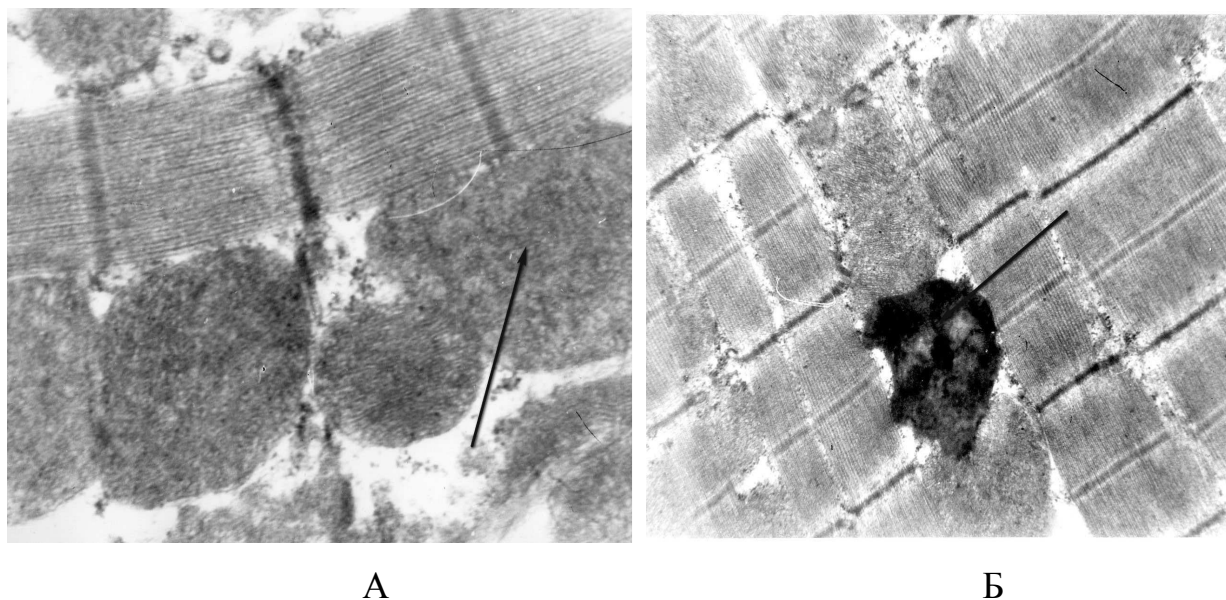


Рис. 6.13. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – гомогенізований матрикс мітохондрій (стрілка), $\times 34\,000$; Б – включення ліпідів в саркоплазмі (стрілка), $\times 35\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

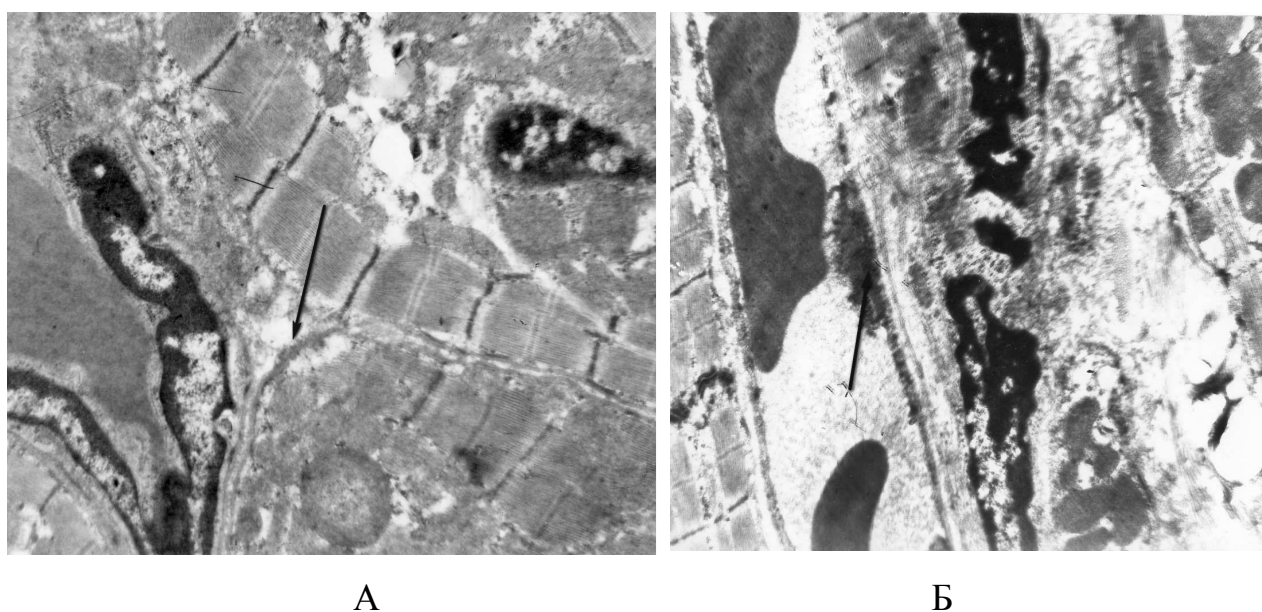


Рис. 6.14. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – осередковий лізис саркоплазматичної мембрани (стрілка), $\times 33\,000$; Б – конденсований хроматин та скупчення осміофільної субстанції на цитоплазматичній мембрані з боку контакту з кров'ю (стрілка), $\times 39\,000$. Контрастовано цитратом свинцю

Саркоплазматична мембрана була розпушеною та містила осередки лізису (рис. 6.14, А).

Деструктивні зміни зазнали і ендотеліоцити кровоносних капілярів міокарда. Ядра були заповнені конденсованим хроматином, грудочки якого локалізувалися на ядерній мембрані (рис. 6.14, Б).

Ядерна мембрана мала численні осередки лізису. Мітохондрії піддавалися дегенеративним змінам. Досить часто зустрічалися осередки некробіозу цитоплазми. Цитоплазматична мембрана була розпушеною і містила осередки руйнації. На поверхні цитоплазматичної мембрани, яка межує з просвітом капіляра, виявлені скупчення осміофільної субстанції.

На 30 добу після розвитку АГ в субмікроскопічній структурі кардіоміоцитів виявлені як дистрофічно, так і деструктивно змінені органели.

Ядерна мембрана була сильно розпушеною і містила крупні осередки лізису. Перинуклеарний простір нерівномірно розширювався. Ядерний хроматин перебував переважно в конденсованому стані. Його осміофільні грудочки розташовувалися як поблизу ядерної мембрани, так і в інших ділянках матриксу ядра. Центральна область ядра мала низьку електронну щільність. Саркоплазма кардіоміоцитів була просвітленою, мала низьку електронну щільність, а також містила поодинокі гранули глікогену і невелику кількість полісом і рибосом.

Найбільш виражені зміни дистрофічного і деструктивного характеру спостерігали в мітохондріях, які містили електронно прозорий матрикс і поодинокі зруйновані кристи. Значна кількість мітохондрій мала й зруйновані зовнішні мембрани. В окремих з них виявляли початкову фазу розвитку дегенеративних змін (рис. 6.15, А).

Саркоплазматична мембрана була сильно потовщена і містила осередки руйнування. У саркоплазмі кардіоміоцитів спостерігали потоншені пучки міофібрил (рис. 6.15, Б).

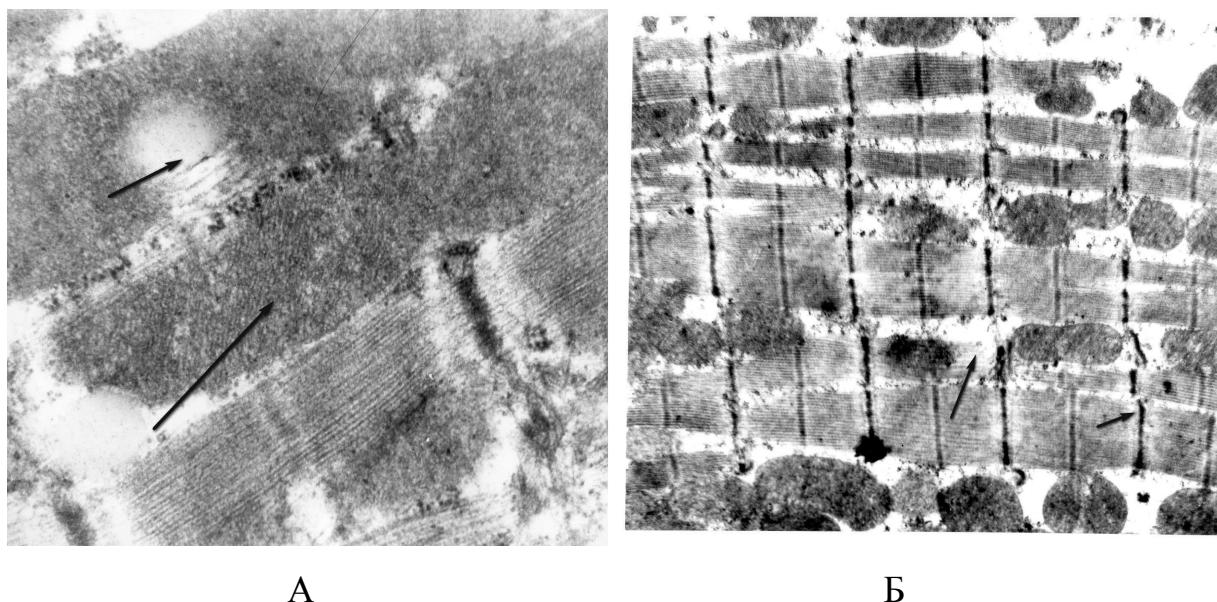
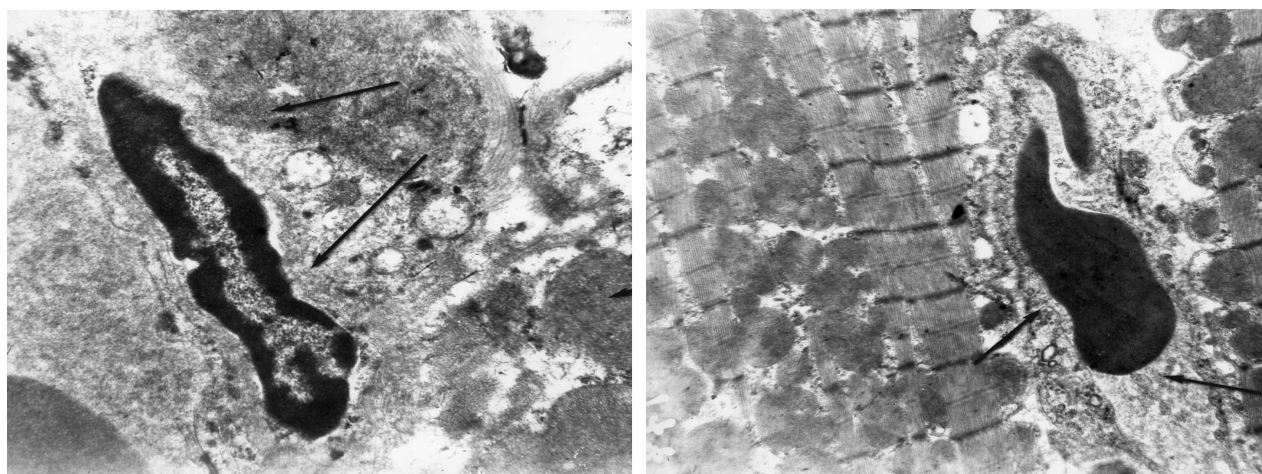


Рис. 6.15. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів на 30 добу після розвитку АГ: А – лізис зовнішніх мембран і дегенеративні зміни мітохондрій (стрілка), $\times 39\,000$; Б – потоншені пучки міофібрил (стрілка), $\times 35\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був скорочений і представлений поодинокими хаотично розташованими гладкими мембранами і крупними електронно-прозорими вакуолями. Саркоплазматичний ретикулум характеризувався слабким розвитком, його цистерни були розширеними. Достатньо часто зустрічали кардіоміоцити з деструктивно зміненими мембранами саркоплазматичної сітки і Т-системи.

Ендотеліоцити кровоносних капілярів міокарда на цей термін експериментального дослідження зазнавали суттєвих, значно виражених деструктивних змін (рис. 6.16, А).

Ядра ендотеліоцитів мали витягнуту форму. Ядерна мембрана утворювала велику кількість неглибоких інвагінацій. Конденсований хроматин щільним кільцем концентрувався на ядерній мембрані. Перинуклеарний простір був розширеним.



А

Б

Рис. 6.16. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих щурів на 30 добу після розвитку АГ: А – конденсація хроматину, розширення перинуклеарного простору, набухання мітохондрій, $\times 39\,000$; Б – скупчення безструктурної субстанції в просвіті капіляра (стрілка), $\times 38\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

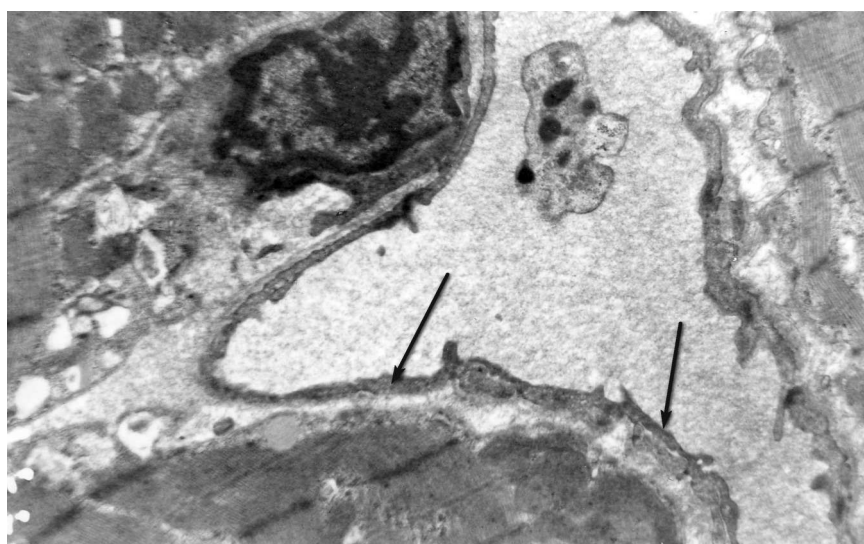


Рис. 6.17. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих щурів на 30 добу після розвитку артеріальної гіпертензії. Відсутність мікропіноцитозних пухирців в цитоплазмі відростків ендотеліоцитів (стрілка), $\times 40\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Мітохондрії сильно набрякли, матрикс мав дуже низьку електронну щільність, кристи в них практично повністю зруйновані, а зовнішні мембрани містили осередки лізису. Гранулярний ЕПР більшості ендотеліальних клітин піддавався фрагментації, на його мембранах були відсутні рибосоми. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був редукований. В окремих ендотеліоцитах виявлені включення ліпідів.

В просвіті кровоносного капіляра розташовувалися еритроцити, які мали розпушену оболонку, а також безструктурну аморфну субстанцію середньої електронної щільності (рис. 6.16, Б).

Цитоплазматична мембрана була сильно розпушеною. У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин мікропіноцитозні пухирці не виявлені (рис. 6. 17) [296].

6.4. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів міокарда старих щурів з артеріальною гіпертензією після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

На 3 добу після введення старим щурам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК ультраструктурна організація кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда практично не відрізнялась у разі порівняння з групою тварин старого віку на 30 добу після розвитку АГ.

Зберігалася конденсація ядерного хроматину і розпушення ядерної мембрани, однак було менше осередків лізису ядерної мембрани. Відзначали низьку електронну щільність матриксу ядра і невелику кількість гранул деконденсованого хроматину. Перинуклеарний простір мав постійну ширину.

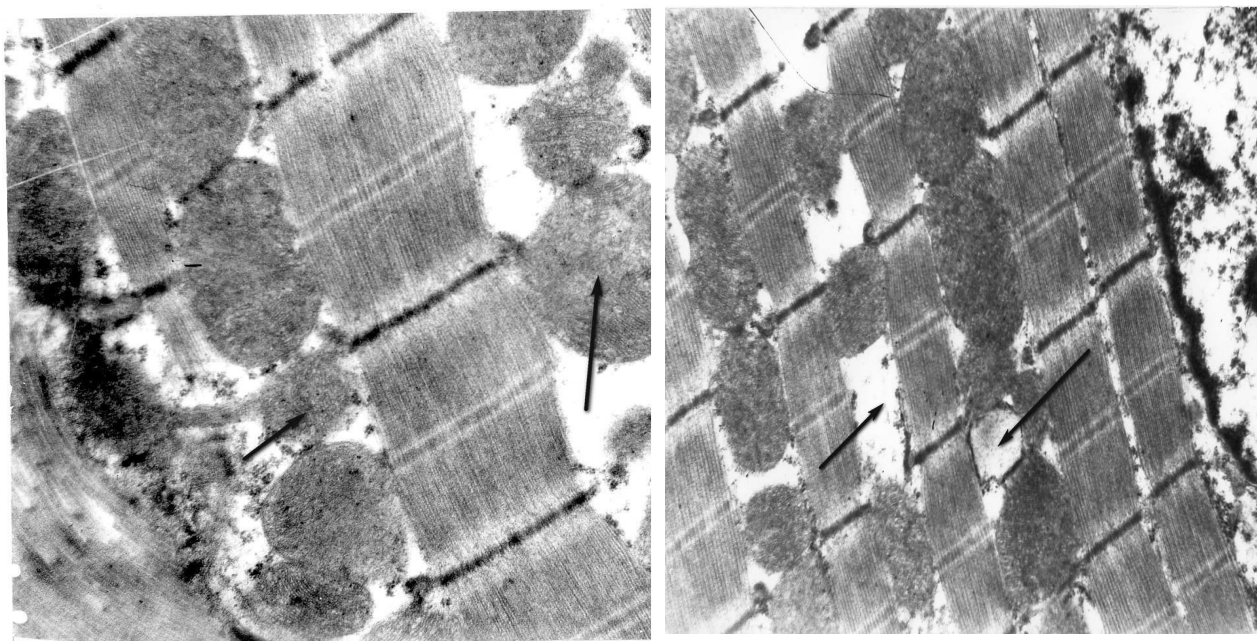
Мітохондрії кардіоміоцитів були переважно округлої форми, матрикс містив щільну гомогенну структуру, кристи практично відсутні. Деструкції зовнішніх мембран мітохондрій виявлялися рідко.

Пучки міофібрил, між якими розташовувалися мітохондрії, паралельно орієнтувалися і мали чітко виражену смугастість (рис. 6.18, А).

Саркоплазма зберігала дуже низьку електронну щільність, в ній практично відсутні рибосоми, полісоми, гранули глікогену, а іноді виявлялися включення ліпідів (рис. 6.18, Б).

Цистерни саркоплазматичного ретикулума сильно розширилися, були електронно-прозорими, а мембрани піддавалися осередковому лізису.

Ядра ендотеліальних клітин кровоносних капілярів міокарда старих щурів з АГ на 3 добу після введення кріоконсервованих ЯВК КК, містили переважно деконденсований хроматин, гранули якого були дифузно розсіяні по матриксу ядра. Ядерна мембрана утворювала численні, досить глибокі інвагінації та була помірно розпушеною, проте осередки її деструкції зустрічалися вкрай рідко. Цитоплазма в перинуклеарній області ендотеліоцитів практично не містила органел.



А

Б

Рис. 6.18. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК: А – гомогенізація матриксу мітохондрій, лізис крист (стрілка), $\times 37\,000$; Б – просвітлення саркоплазми і включення ліпідів (стрілка), $\times 34\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі помірно гіпертрофований, його гладкі мембрани були дезорганізовані і оточені великою кількістю дрібних везикул.

Цитоплазма відростків ендотеліоцитів мала високу електронну щільність і не містила мікропіноцитозних пухирців. Цитоплазматична мембрана ендотеліальних клітин, яка межувала з просвітом капіляра, була сильно розпушеною, потовщеною і мала осередки лізису. У просвіті капілярів виявлялися еритроцити з лізованими цитоплазматичними мембранами.

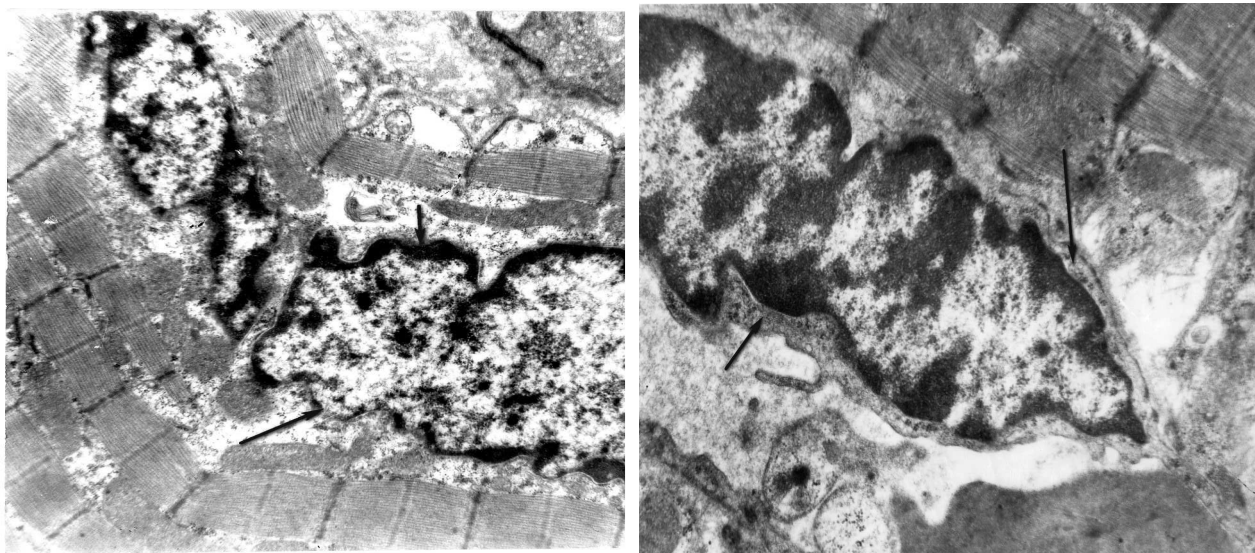
На 7 добу після застосування кріоконсервованих ЯВК КК старим гіпертензивним тваринам в кардіоміocyтах спостерігали помірно виражену активацію репаративних внутрішньоклітинних процесів.

Матрикс ядра мав середню електронну щільність, створювану дисперсно розташованими гранулами деконденсованого хроматину. Перинуклеарний простір мав постійну ширину. Ядерна мембрана залишалася розпушеною без осередків лізису (рис. 6.19, А).

Матрикс мітохондрій мав дрібногранулярну структуру і середню електронну щільність. У порівнянні з попереднім терміном дослідження, кількість крист в мітохондріях збільшена. Осередки деструкції крист і зовнішніх мембран у більшості мітохондрій були відсутні.

Поряд з цим, на окремих препаратах виявлені кардіоміocyти, мітохондрії яких мали електронно прозорий матрикс, зруйновані зовнішні мембрани і тотально лізовані кристи. Міофібрили в них були потоншеними, поперечна смугастість зберігалася.

Поряд з цим, на окремих препаратах виявлені кардіоміocyти, мітохондрії яких мали електронно прозорий матрикс, зруйновані зовнішні мембрани і тотально лізовані кристи. Міофібрили в них були потоншеними, поперечна смугастість зберігалася.



А

Б

Рис. 6.19. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з АГ на 7 добу після введення ЯВК КК: А – розпушення ядерної мембрани (стрілка), $\times 39\,000$; Б – мікропіноцитозні пухирці в цитоплазмі, $\times 52\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

В окремих кардіоміцитах присутні включення ліпідів. Саркоплазма містила досить велику кількість гранул глікогену. Цистерни саркоплазматичного ретикулума і Т-системи були помірно розширеними і заповнені електронно-прозорою субстанцією.

У порівнянні з попереднім терміном дослідження, знижувалася ступінь прояву дистрофічних змін ендотеліоцитів кровоносних капілярів. Зберігалася конденсація хроматину, перинуклеарний простір звужувався, мітохондрії помірно набухали. Зменшувався ступінь розширення цистерн гранулярного ЕПР. У цитоплазмі з'являлася велика кількість дрібних мікропіноцитозних пухирців, заповнених субстанцією середньої і високої електронної щільності. Цитоплазматична мембрана не мала осередків розпушення і лізису (рис. 6.19, Б).

Через місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК, в ультраструктурній організації кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих щурів з АГ спостерігалися зміни, глибина і ступінь прояву яких перебували в межах фізіологічної компенсації.

Ядра кардіоміоцитів мали типову субмікроскопічну організацію і локалізацію в саркоплазмі. Ядерний хроматин перебував переважно в деконденсованій формі, його гранули були рівномірно розсіяні по матриксу. Ядерна мембрана була чітко контурованою, без осередків розпушення і лізису. Перинуклеарний простір мав постійну ширину.

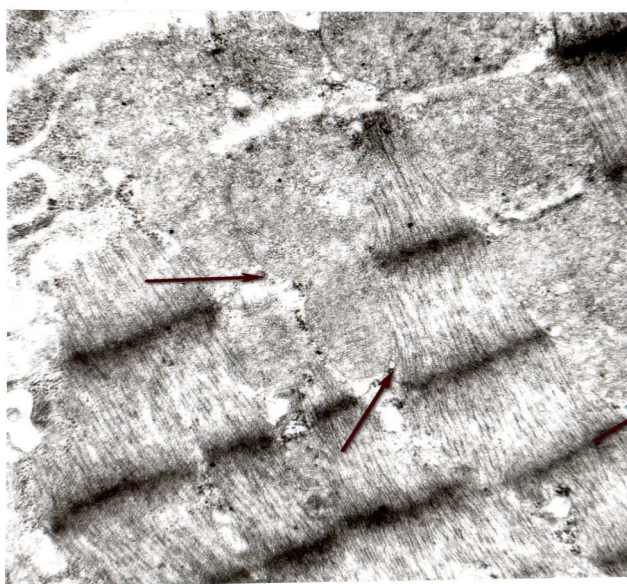
Мітохондрії кардіоміоцитів містили дрібногранулярний матрикс, в якому розташовувалися численні, щільно упаковані і паралельно орієнтовані кристи. Порушень структури зовнішніх мембран і крист мітохондрій не виявлено. У саркоплазмі кардіоміоцитів визначали велику кількість рибосом, полісом і гранул глікогену (рис. 6.20, А). Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі мав типову будову. Ядра ендотеліоцитів, кровоносних капілярів цієї групи експериментальних тварин, містили як конденсований, так і деконденсований хроматин. Ядерна мембрана не мала осередків розпушення та лізису. Перинуклеарний простір був рівномірно розширеним.

Ядра ендотеліоцитів, кровоносних капілярів цієї групи експериментальних тварин, містили як конденсований, так і деконденсований хроматин. Ядерна мембрана не мала осередків розпушення та лізису. Перинуклеарний простір був рівномірно розширений.

У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин виявлені численні мікропіноцитозні везикули, які характеризуються різною електронною щільністю (рис. 6.20, Б).

Окремі ендотеліоцити містили крупні електронно-прозорі вакуолі. Цитоплазматична мембрана, що контактує з кров'ю, утворювала мікро ворсинки [297, 298, 299, 300].

Аналіз отриманих експериментальних даних дозволяє констатувати, що у молодих тварин після формування стійкої стрес-індукованої АГ в кардіоміоцитах і ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда розвивалися дистрофічні процеси з елементами деструкції мембран.



А



Б

Рис. 6.20. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з АГ на 30 добу після введення ЯВК КК: А – скупчення рибосом, полісом і гранул глікогену в саркоплазмі (стрілка), $\times 36\,000$; Б – мікропіноцитозні пухирці в цитоплазмі (стрілка), $\times 49\,000$. Контрастовано цитратом свинцю.

На початкових термінах розвитку АГ зміни органел відбувалися за компенсаторно-адаптаційним типом. Порухення типової архітекτονіки мітохондрій були різноманітними. Матрикс мав різну електронну щільність, а зовнішні мембрани були розпушеними, що свідчить про розвиток мітохондріальної дисфункції. Біоенергетична недостатність істотно впливала на метаболізм кардіоміоцитів, що підтверджувалося зменшенням кількості рибосом, полісом і гранул глікогену в саркоплазмі.

Розвивалися дистрофічні зміни ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда. Знижувалася активність внутрішньоклітинних метаболічних процесів. Це структурно проявлялося набряком мітохондрій, розширенням цистерн гранулярного ЕПР, зменшенням кількості рибосом і полісом, а також редукцією пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі.

У цитоплазмі ендотеліальних клітин зменшувалася кількість мікропіноцитозних пухирців, що пов'язано зі зниженням активності трансцеллюлярного транспорту речовин і електролітів.

Через місяць дистрофічні процеси в окремих кардіоміоцитах переходили в деструктивну фазу. З'являлися осередки деструкції зовнішніх мембран і крист мітохондрій, саркоплазматичного ретикулума, саркоплазматичної мембрани.

Оцінюючи динаміку змін субмікроскопічної організації кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів зі стрес-індукованої АГ, слід зазначити, що на 3 та 7 добу після введення кріоконсервованих ЯВК КК виявлена тенденція до відновлення їх типової ультраструктури. Стабілізувалося біоенергетичне забезпечення скорочувальної функції кардіоміоцитів. Структурно це підтверджувалося зниженням ступеня набухання мітохондрій і збільшенням чисельності крист. У цитоплазмі ендотеліоцитів з'являлися численні мікропіноцитозні пухирці, що є ознакою підвищення активності трансцеллюлярного транспорту.

Через місяць після введення ЯВК КК істотно підвищувалася метаболічна і репаративна активність в кардіоміоцитах і ендотеліоцитах. Доказом вище сказаного служить поява в саркоплазмі мітохондрій у стані поділу, збільшення кількості полісом, рибосом і гранул глікогену, а також позитивні перебудови внутрішньоклітинних мембран [235, 291, 295].

Електронно-мікроскопічні дослідження динаміки субмікроскопічних перебудов органел кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих щурів в процесі розвитку стрес-індукованої АГ виявили поступове зростання деструктивних і дистрофічних порушень, провідною ланкою яких є порушення типової архітекtonіки мітохондрій.

На 3–7 добу після розвитку АГ мітохондрії набрякали, зовнішні мембрани і кристи піддавалися розпушенню, з'являлися осередки лізису їх мембран. Ці зміни віддзеркалюють ультраструктурні процеси, пов'язані з розвитком мітохондріальної дисфункції.

До 30 діб в мітохондріях кардіоміоцитів починали превалювати катаболічні процеси, структурним проявом яких є осередковий, а іноді і тотальний лізис мембран і крист.

Водночас, катаболічні процеси позначились на ультраструктурній організації кардіоміоцитів в цілому, що частково підтверджувалося зникненням в саркоплазмі гранул глікогену, рибосом, появою включень ліпідів, редукцією пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі, деструкцією саркоплазматичної мембрани, перехід деконденсованого ядерного хроматину в конденсовану форму, потоншення пучків міофібрил.

Всі ці порушення істотно знижують скорочувальну здатність кардіоміоцитів.

Другим негативним фактором є розвиток дистрофічних і деструктивних порушень субмікроскопічної архітекtonіки ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда на фоні прогресування АГ. Зміни у вигляді конденсації хроматину ядер ендотеліоцитів, осередкова деструкція ядерних мембран, мембран мітохондрій і цитоплазматичної мембрани пов'язані з порушенням трасцелюлярного транспорту речовин і електролітів, що структурно проявлялося прогресуючим у часі зменшенням кількості мікропіноцитозних пухирців в цитоплазмі відростків цих клітин.

Можна припустити, що АГ супроводжується поглибленням ступеня прояву дистрофічного процесу і переходом його в деструктивну фазу, як в кардіоміоцитах, так і ендотеліоцитах кровоносних капілярів.

У групі старих експериментальних тварин, яким після розвитку стійкої неврогенної стрес-індукованої АГ вводили кріоконсервовані ЯВК КК, істотних змін в ультраструктурі кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів на 3 та 7 добу дослідження не виявлено. Їх ультраструктурна організація залишалася порушеною. Проте, в кардіоміоцитах спостерігали тенденцію до нормалізації структури мітохондрій у вигляді зменшення території осередків деструкції зовнішніх мембран і крист. Дещо

збільшувалася в саркоплазмі чисельність рибосом, полісом і гранул глікогену. Практично відсутні в саркоплазмі включення ліпідів.

У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин з'являлися мікропіноцитозні пухирці, що є ознакою активації трансцеллюлярного транспорту речовин і електролітів.

На 30 добу після введення старим щурам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК в кардіоміцитах і ендотеліоцитах розвивалися перебудови, що свідчать про активацію метаболічних процесів на субмікроскопічному рівні. Знижувався ступінь конденсації ядерного хроматину і зменшувалось розширення перинуклеарних просторів, практично були відсутні осередки лізису ядерної мембрани.

Позитивні перебудови виявлені в ультраструктурі мітохондрій. Їх матрикс набував дрібногранулярної структури та середньої електронної щільності, збільшувалося число крист. У саркоплазмі з'являлася велика кількість рибосом, полісом і гранул глікогену. Дані зміни свідчать про збільшення біоенергетичного забезпечення скорочувальної здатності кардіоміоцитів.

Істотним фактором підвищення функціональної активності міокарда є позитивні зміни субмікроскопічної архітекtonіки ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда. В їх відростках з'явилися численні мікропіноцитозні пухирці, що свідчить про активацію трансцеллюлярного транспорту речовин і електролітів. У тварин цієї групи в кардіоміоцитах і ендотеліальних клітинах кровоносних капілярів були відсутні осередки лізису внутрішньоклітинних мембранних структур.

Таким чином, введення молодим і старим гіпертензивним тваринам кріоконсервованих ЯВК КК призводить до підвищення скорочувальної здатності міокарда за рахунок нормалізації внутрішньоклітинної біоенергетики, тісно пов'язаної з мітохондріями.

За результатами даного дослідження опубліковані наступні роботи: [292, 293, 294, 296, 297, 298, 299, 300].

РОЗДІЛ 7

ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРИ СЕРЦЯ МОЛОДИХ І СТАРИХ ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ

В основі розвитку АГ лежить порушення функціонального стану центральної нервової системи та інших систем організму, що регулюють тонус судин. В результаті змінюється судинний тонус, відбувається спазм дрібних артерій і підвищується артеріальний тиск. Тривалий спастичний стан артеріол призводить до плазматичного просочування судинної стінки і склерозу. На фоні цих змін розвивається гіпертензія і, як наслідок, порушується живлення тканин і органів [301].

АГ часто супроводжується структурно-функціональними перебудовами тканин і судин серця [302], оцінювання стану яких є необхідним для визначення ступеня ризику виникнення ССЗ [303].

У процесі формування «гіпертензивного серця» відбувається структурна ресистематизація компонентів стінки нормального шлуночка, яка проявляється гіпертрофією кардіоміоцитів, проліферацією фібробластів і фіброзом, що може призводити до клітинної смерті [304].

У разі тривалого перебігу АГ відбувається ремоделювання лівого шлуночка, прогресуюче збільшення маси міокарда, дилатація порожнин і ураження коронарних артерій [113, 305]. В міокарді відзначають проліферацію фібробластів і розвиток дисбалансу в процесі синтезу і деградації колагену екстрацелюлярного матриксу з надмірним його накопиченням. В результаті підвищується жорсткість міокарда, виникає його діастолічна дисфункція [104, 105, 303].

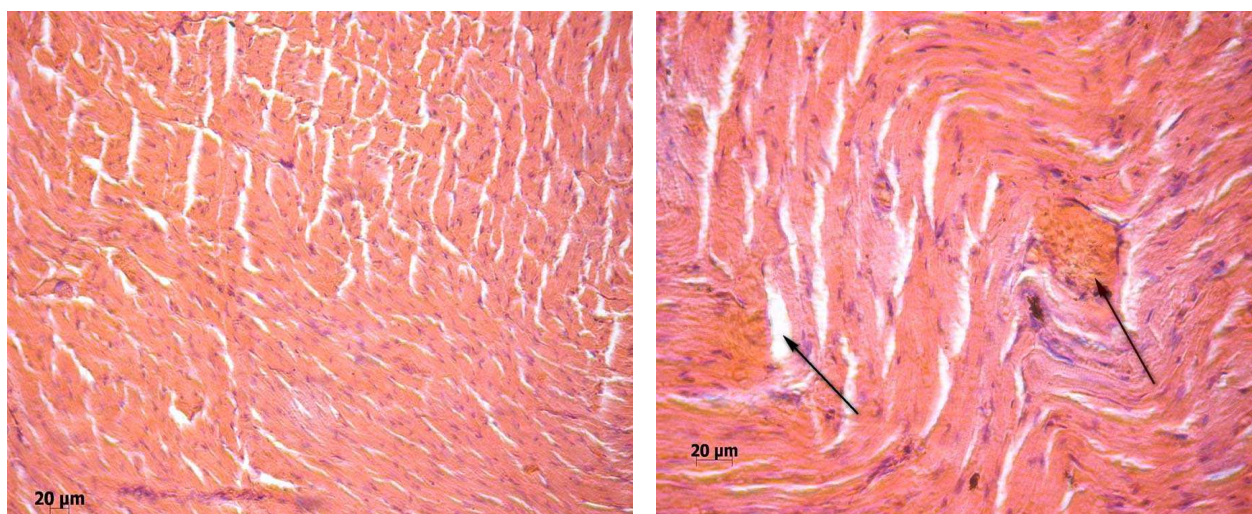
Ускладнення, що виникають після ураження ССС, є однією з головних причин інвалідності та смертності [60, 105].

7.1. Структурна характеристика міокарда молодих гіпертензивних щурів

Результати гістологічного дослідження тканин серця інтактних тварин підтвердили адекватність застосовуваних методик.

Структурна організація міокарда відповідала нормі [306]. За результатами морфометричного дослідження встановлено, що в міокарді інтактних щурів кількість капілярів становила (720 ± 120) на мм^2 , площа ядер кардіоміоцитів – $(15,3 \pm 5,8)$ мкм^2 , а їх кількість – (7600 ± 1200) на мм^2 (табл. 7.1).

На 3 добу після розвитку АГ в міокарді були виявлені ділянки з тонкими м'язовими волокнами звивистої форми (рис. 7.1), а також нерівномірно гіпертрофовані волокна. Поперечна смугастість м'язових волокон місцями була відсутньою. Спостерігали поліморфізм кардіоміоцитів і їх ядер, візуалізувались поодинокі кардіоміоцити з пікнотичним ядром.



А

Б

Рис. 7.1. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 3 добу після розвитку АГ: А – поздовжньо і поперечно-зрізані м'язові волокна, розділені сполучною тканиною; Б – нерівномірно гіпертрофовані кардіоміоцити, інтерстиціальний набряк, повнокров'я судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$.

Таблиця 7.1.

Морфометричні показники міокарда лівого шлуночка у молодих щурів з артеріальною гіпертензією до і після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

Група	Строк дослідження, доба	Кількість ядер кардіоміоцитів на мм ²	Площа ядер кардіоміоцитів, мкм ²	Кількість капілярів на мм ²
Інтактні щури (контроль)	–	7600 ± 1200	15,3 ± 5,8	720 ± 120
Щури з моделлю АГ	3	6900 ± 720	19,8 ± 3,9 ¹⁾	750 ± 80
	7	6500 ± 720 ¹⁾	15,5 ± 5,0 ²⁾	1100 ± 106 ^{1), 2)}
	30	6500 ± 580 ¹⁾	12,5 ± 4,0 ¹⁾	900 ± 112 ¹⁾
Щури з АГ після введення ЯВК КК	3	8400 ± 1200 ^{1), 2)}	20,2 ± 4,2 ¹⁾	720 ± 86
	7	8600 ± 872 ¹⁾	29,1 ± 7,8 ^{1), 2)}	1000 ± 123 ^{1), 2)}
	30	7800 ± 886	17,5 ± 5,0 ²⁾	800 ± 83 ²⁾

Примітки:

¹⁾ – статистично значущі відмінності від контрольної групи ($p \leq 0,05$);

²⁾ – статистично значущі відмінності від попереднього строку дослідження ($p \leq 0,05$).

Більшість капілярів були розширеними та переповненими еритроцитами, особливо в субепікардіальних ділянках. Спостерігали осередки периваскулярного набряку і поодинокі клітинні інфільтрати, що складаються з лімфоїдно-гістіоцитарних елементів. Навколо окремих судин, а також на невеликих ділянках серцевого м'яза в інтерстиціальній сполучній тканині виявляли підвищену щільність фіброblastів з крупним гіпохромним ядром (рис. 7.2). В інтерстиціальній сполучній тканині (уздовж м'язових волокон) візуалізувалися тонкі колагенові волокна, які в поляризованому

світлі проявляли жовте світіння. Навколо судин концентрувалися крупні пучки колагенових волокон (рис. 7.3, А.Б.).

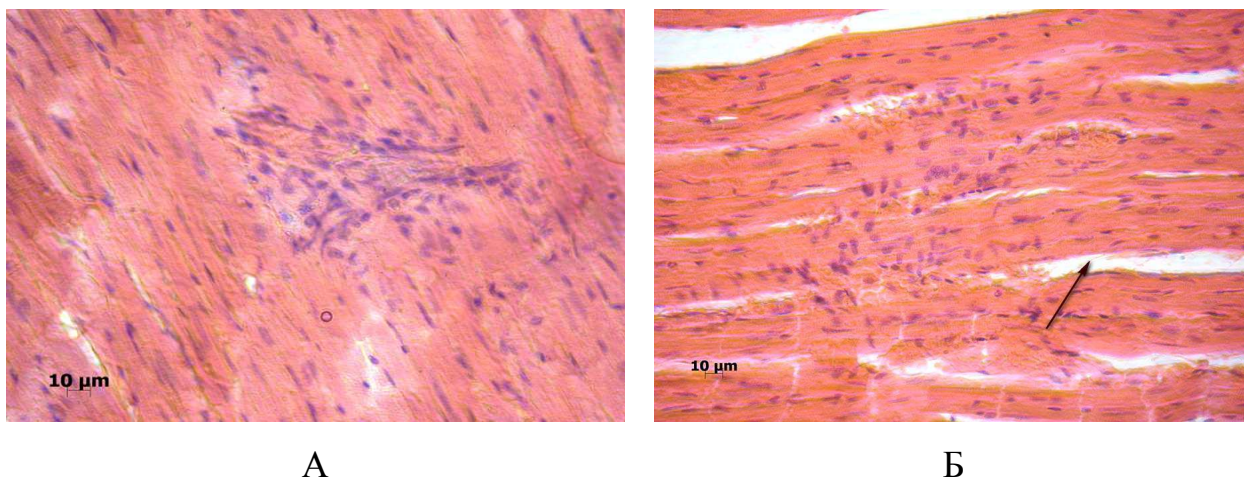


Рис. 7.2. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 3 добу після розвитку АГ. Підвищена щільність фібробластів, проліферація ендотеліоцитів: А – периваскулярна локалізація фібробластів; Б – розростання інтерстиціальної сполучної тканини. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

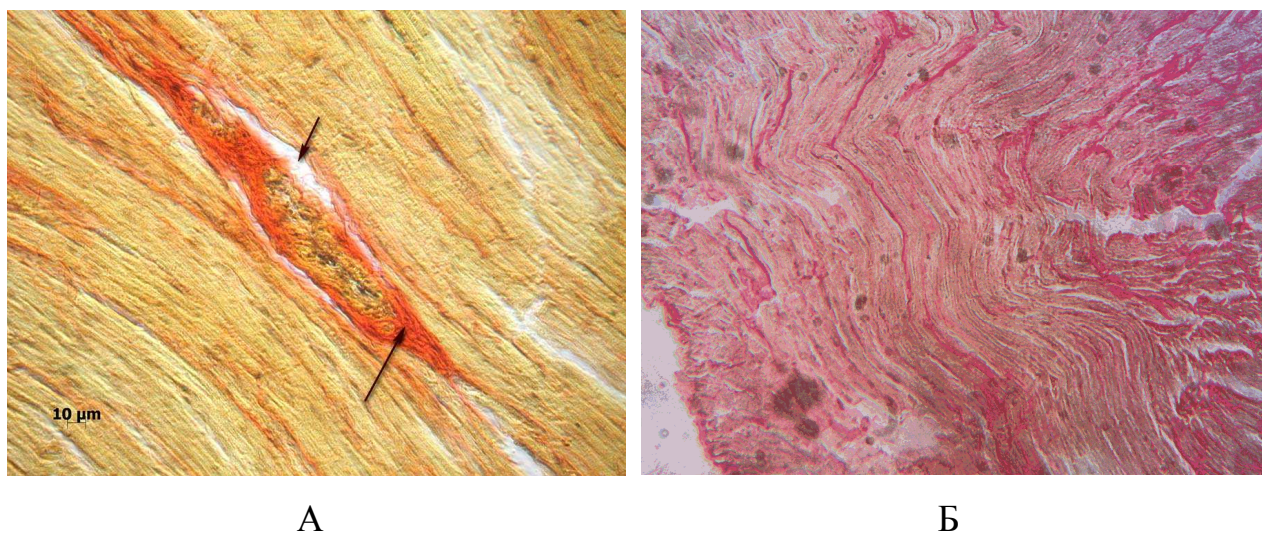


Рис. 7.3. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 3 добу після розвитку АГ: А – помірний периваскулярний набряк і периваскулярна локалізація колагенових волокон. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 200$; Б – кардіосклероз. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$.

В судинах визначали зміни, пов'язані з вираженим периваскулярним набряком, нерівномірним потовщенням та порушенням цілісності судинної стінки. Для артеріальних судин був характерний звужений просвіт неправильної або щілинної форми. На гістологічних зрізах, забарвлених орсеїном, внутрішня еластична мембрана судин мала звивисту форму і переривчасті контури.

Результати морфометричних досліджень показали, що на 3 добу після розвитку АГ у щурів кількість капілярів становила (750 ± 80) на мм^2 (приблизно як у інтактних тварин, 720 ± 120), водночас спостерігали зменшення кількості ядер кардіоміоцитів порівняно з контролем від (7600 ± 1200) до (6900 ± 720) на мм^2 , що, ймовірно, компенсувалося збільшенням їх площі від $(15,3 \pm 5,8)$ до $(19,8 \pm 3,9)$ мкм^2 (див. табл. 7.1).

У порівнянні з 3 добою на 7 добу після розвитку АГ виявляли більш виражені зміни структурної організації міокарда, викликані набряком, кровонаповненням судин і деструкцією м'язових волокон. Серед м'язових волокон рівномірної товщини розташовувалися групи стоншених волокон звивистої форми, оточені інтерстиціальною сполучною тканиною з ознаками набряку (рис. 7.4, А.Б.). В усіх прошарках міокарда спостерігали повнокров'я судин і капілярів [306], порушення цілісності стінок окремих судин і діapedезні крововиливи (рис. 7.5).

Виявлені осередки ушкодження міокарда з фрагментацією пучків м'язових волокон (рис. 7.5, А). У субепікардіальних зонах спостерігали м'язові волокна з ділянками слабо вираженої еозинофілії, на яких була відсутня поперечна смугастість і не візуалізувалися ядра, що свідчило про їх некроз (рис. 7.5, Б). У демаркаційній зоні переважав набряк, мали місце поодинокі, дифузно розташовані макрофаги і лімфоцити. Поблизу ділянок некрозу м'язові волокна були гіпертрофованими, в інтерстиціальній сполучній тканині відзначали низьку щільність фібробластів.

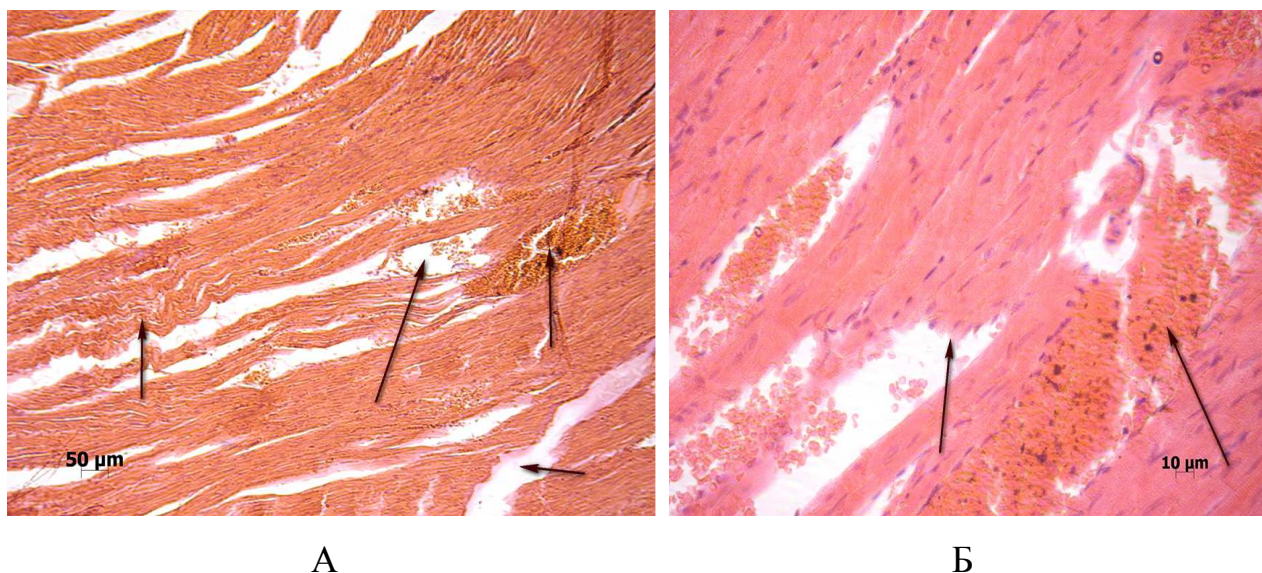


Рис. 7.4. Ділянки міокарда міжшлуночкової перегородки молодих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – нерівномірна товщина м'язових волокон зі звивистими контурами, виражений набряк інтерстиціальної сполучної тканини, розширена повнокровна судина; Б – венозний застій, фрагментація м'язових волокон. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

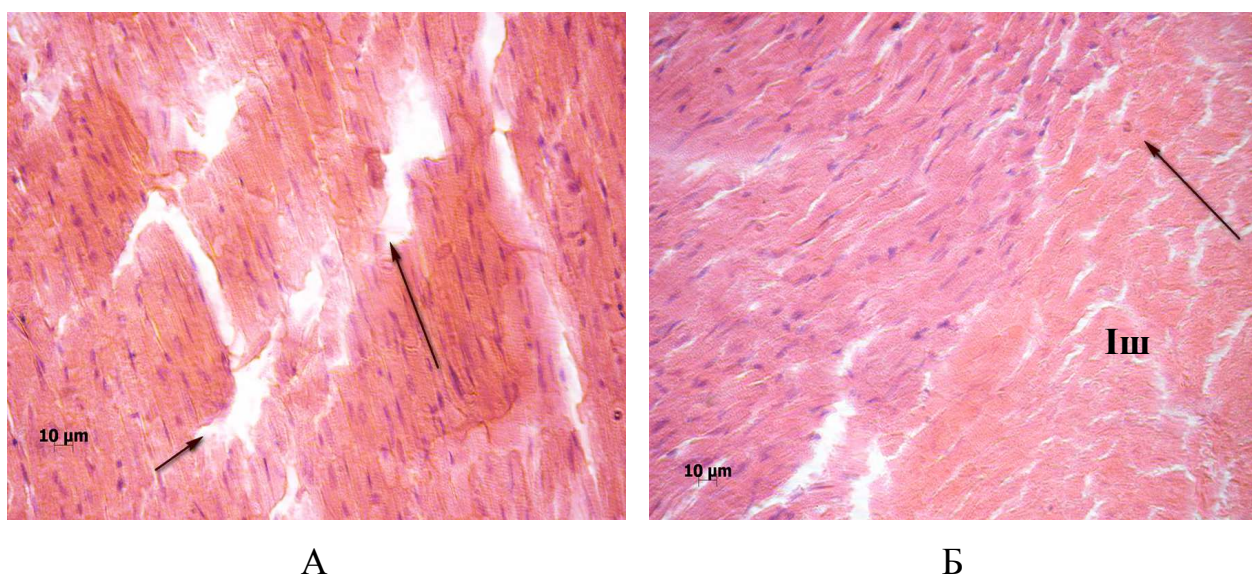


Рис. 7.5. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – фрагментовані м'язові волокна; Б – осередок ішемічно змінених м'язових волокон (Іш), набряк інтерстиціальної сполучної тканини. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

Після забарвлення гістологічних зрізів пікросиріусом червоним у серцевому м'язі виявлені ділянки щільно розташованих м'язових волокон з вузькими прошарками сполучної тканини, яка містила тонкі колагенові волокна (рис. 7.6, А). У субепікардіальній зоні міокарда навколо крупних повнокровних судин спостерігали широкі прошарки сполучної тканини зі зкупченням пучків колагенових волокон, що свідчило про периваскулярний кардіосклероз [60]. Поблизу таких судин наявні ознаки дифузного кардіосклерозу (рис. 7.6, Б).

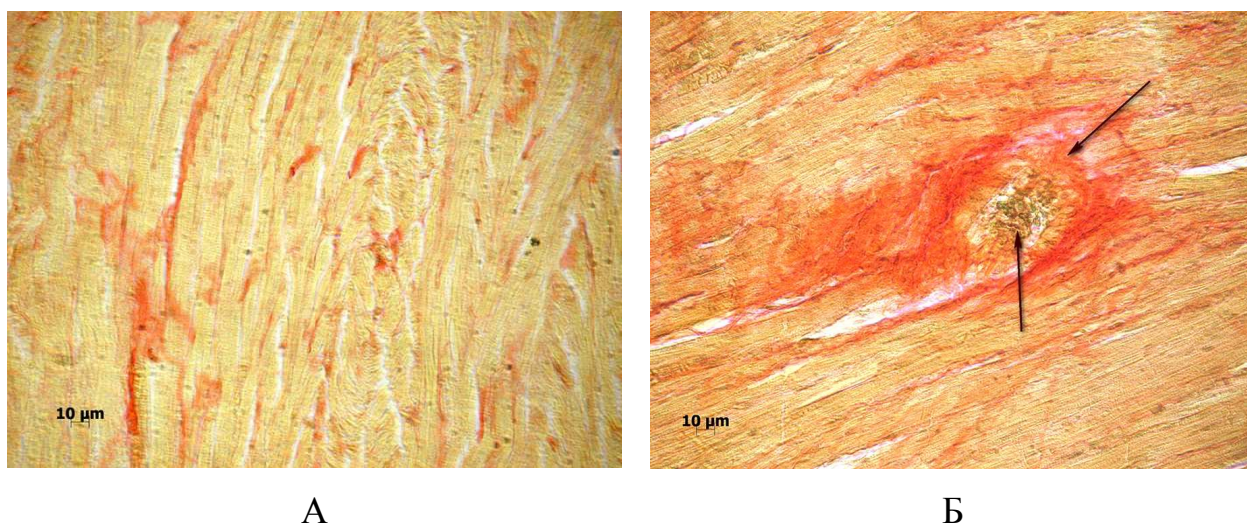


Рис. 7.6. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – тонкі колагенові волокна (забарвлені червоним кольором) у вузьких прошарках інтерстиціальної сполучної тканини, розташовані уздовж м'язових волокон; Б – периваскулярний і дифузний кардіосклероз. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 200$.

Для всіх крупних судин були характерні змінена форма судинного просвіту, нерівномірно потовщені стінки, звивисті та переривчасті контури внутрішньої еластичної мембрани. Навколо них формувалася периваскулярний набряк (рис. 7.7).

Аналіз морфометричних показників на даному етапі дослідження виявив ще більше зменшення кількості ядер кардіоміоцитів від (6900 ± 720) до (6500 ± 720) на мм^2 з тенденцією до зменшення їх площі від $(19,8 \pm 3,9)$ до $(15,5 \pm 5,0)$ мкм^2 у порівнянні з попереднім строком експерименту. Кількість

капілярів в міокарді значно збільшувалася в порівнянні як з контролем, так і попереднім строком дослідження (див. табл. 7.1).

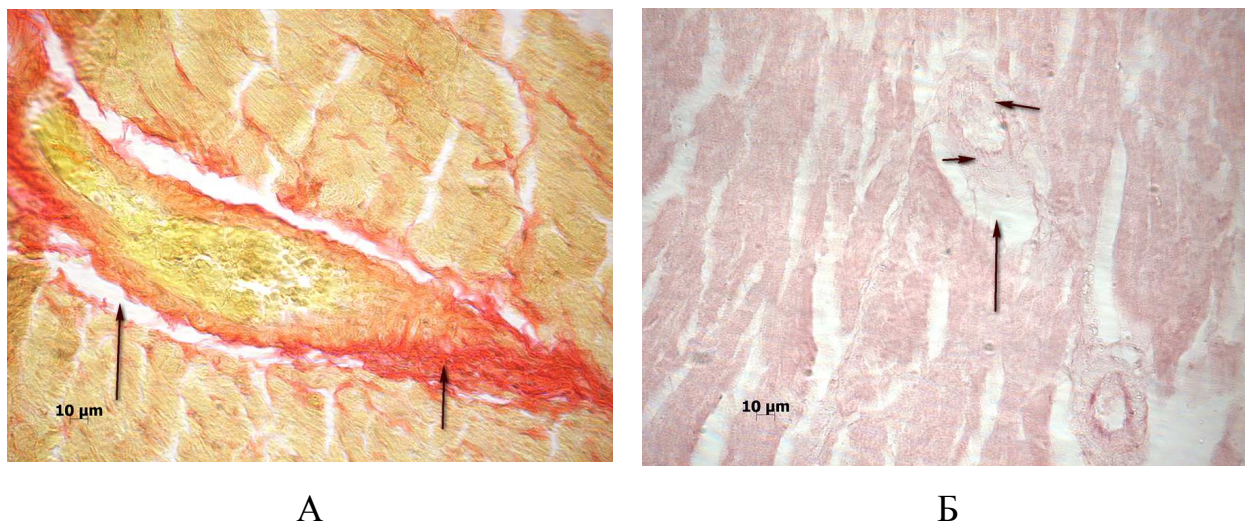
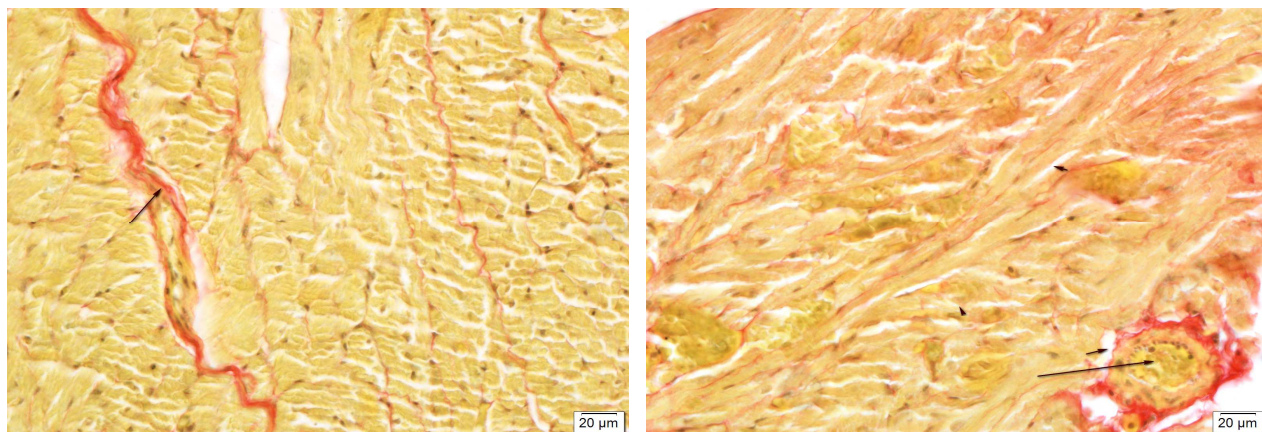


Рис. 7.7. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А –пучки колагенових волокон, сконцентрованих навколо повнокрової судини, периваскулярний набряк. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 200$; Б – нерівномірно потовщені стінки судин, звивисті контури внутрішньої еластичної мембрани, периваскулярний набряк. Забарвлення орсеїном, $\times 200$.

На 30 добу після розвитку АГ у серцевому м'язі молодих щурів спостерігали ділянки з вираженими структурними змінами (рис. 7.8). У тканинах міокарда зберігалися периваскулярний набряк, кардіосклероз і повнокров'я крупних судин (рис. 7.9, А). Розширені капіляри були переповнені форменими елементами крові, виявлені ознаки перикапілярного набряку та осередки діapedезних крововиливів. Частина судин мала потовщені стінки, судинний просвіт мав неправильну форму, ендотеліальні клітини розташовувалися у вигляді «частоколу», що свідчило про розвиток спазму судин (рис. 7.9, Б) [306].

За результатами аналізу морфометричних даних встановлено, що кількість ядер кардіоміоцитів у порівнянні з попереднім строком дослідження не змінювалась, однак різко і значимо зменшилася їх площа від

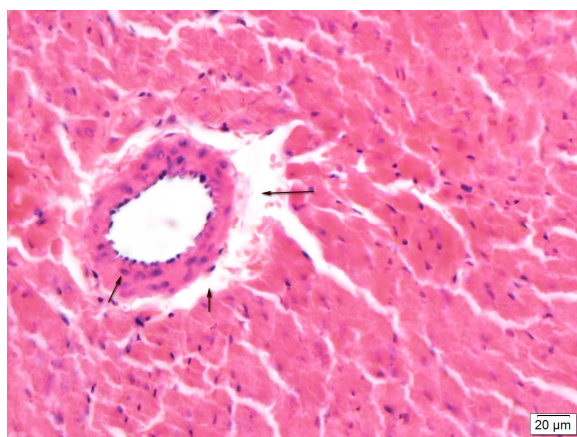
($15,5 \pm 5,0$) до ($12,5 \pm 4,0$) мкм^2 . При цьому, кількість капілярів (900 ± 112) на мм^2 залишалася вище нормальних значень (720 ± 120) на мм^2 (див. табл. 7.1).



А

Б

Рис. 7.8. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 30 добу після розвитку АГ: А – периваскулярний кардіосклероз; Б – повнокров'я артеріальної судини, вихід еритроцитів у периваскулярний простір, периваскулярний та інтерстиціальний набряки. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 400$.



А



Б

Рис. 7.9. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів на 30 добу після розвитку АГ. Артеріальні судини зі звуженими просвітами: А – периваскулярний набряк, потовщення судинної стінки. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$; Б – нерівномірно потовщені стінки судини, звивисті контури внутрішньої еластичної мембрани, просвіт судини неправильної форми. Забарвлення орсеїном, $\times 200$.

Таким чином, у молодих щурів протягом місяця після розвитку АГ спостерігали прогресуюче порушення кровообігу, дистрофічні і деструктивні зміни м'язових волокон міокарда. Підвищення артеріального тиску супроводжувалося плазматичним просочуванням стінок артерій і артеріол, потім розвивалося мукоїдне набухання (різновид стромально-судинної дистрофії), яке до 30 доби після виникнення АГ трансформувалося в фібриноїдне набухання і фібриноїдний некроз стінок судин з наступними крововиливами. Виявлені морфологічні ознаки осередкової ішемії міокарда, а також спазму артеріальних судин, парезу венозних судин і капілярів, периваскулярного набряку і склерозу. Здатність міокарда компенсувати скорочувальну функцію серця в умовах порушеної трофіки шляхом внутрішньоклітинної гіпертрофії (збільшення розміру ядер кардіоміоцитів) до 30 доби після розвитку АГ поглиблювала розвиток патологічного процесу.

7.2. Гістологічні зміни структури міокарда молодих гіпертензивних щурів після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

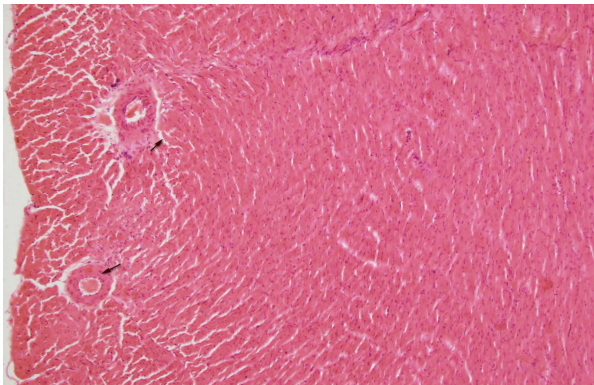
Незважаючи на успіхи, досягнуті в лікуванні захворювань серцево-судинної системи, спостерігаються випадки, при яких традиційні фармакологічні методи виявляються неефективними. Альтернативним терапевтичним підходом для пацієнтів даної категорії може бути клітинна терапія [307].

Для лікування кардіологічних захворювань у регенеративній медицині широко застосовують як власні стовбурні клітини пацієнта, так і стовбурові клітини донора або клітинні культури, а також специфічні фактори росту, які стимулюють вихід стовбурових клітин до периферичного кровотоку [308, 309].

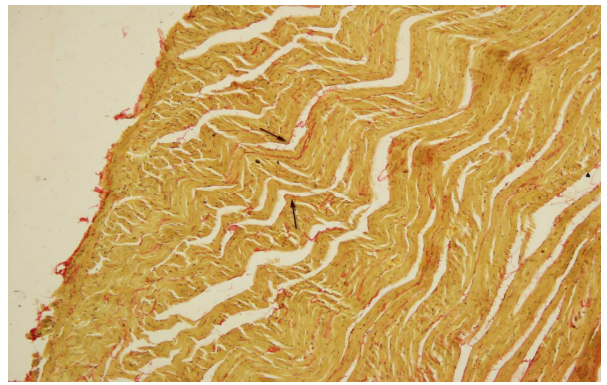
Вивчення впливу біологічно активних препаратів, отриманих із кордової крові, на структурно-функціональний стан тканин міокарда при АГ

надасть можливість більш поглиблено досліджувати механізми їхньої дії у разі даної патології.

У групі експериментальних тварин з АГ на 3 добу після введення кріоконсервованих ЯВК КК істотних структурних перебудов міокарда в порівнянні з гіпертензивними щурами без застосування препарату не відзначалося. М'язові волокна (інтрамуральна частина) розташовувалися щільними пучками, розділеними вузькими прошарками інтерстиціальної сполучної тканини з низькою щільністю клітин (рис. 7.10, А). Визначали поперечну смугастість скорочувальних волокон і поліморфні гіпохромні ядра кардіоміоцитів. У субепікардіальній зоні виявлені ділянки м'язових волокон з нерівномірною гіпертрофією і звивистою формою, в інтерстиціальній сполучній тканини знаходились тонкі колагенові волокна і невелика кількість фібробластів з щільним базофільним ядром (рис. 7.10, Б).



А



Б

Рис. 7.10. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК: А – щільне розташування інтрамуральних м'язових волокон, периваскулярний і інтерстиціальний набряки в субепікардіальній зоні. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$; Б – звивисте розташування пучків м'язових волокон. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 100$.

В субепікардіальній зоні виявлені розширені повнокровні венозні судини з периваскулярним набряком і набряком інтерстиціальної сполучної

тканини (рис. 7.11, А). Кардіоміоцити характеризувалися вираженою еозинофілією, що свідчило про дистрофічні зміни в них.

Навколо великих судин міокарда був виражений набряк, проте на відміну від гіпертензивних тварин, яким не вводили кріоконсервовані ЯВК КК, в периваскулярній зоні поблизу пошкоджених м'язових волокон візуалізувалися макрофаги (гістіоцити), розташовані дифузно або невеликими групами. Спостерігали підвищену щільність фібробластів з крупним ядром (рис. 7.11, Б). Даний клітинний склад характерний як для асептичного запалення від початку проліферативної (продуктивної) фази, так і для процесу неоангіогенезу [306].

Виявляли артеріальні судини з потовщеною судинною стінкою і ендотеліальними клітинами, які «випирають» у просвіт судини. Після забарвлення гістологічних зрізів орсеїном візуалізувалася звивиста, з переривчастими контурами внутрішня еластична мембрана судин.

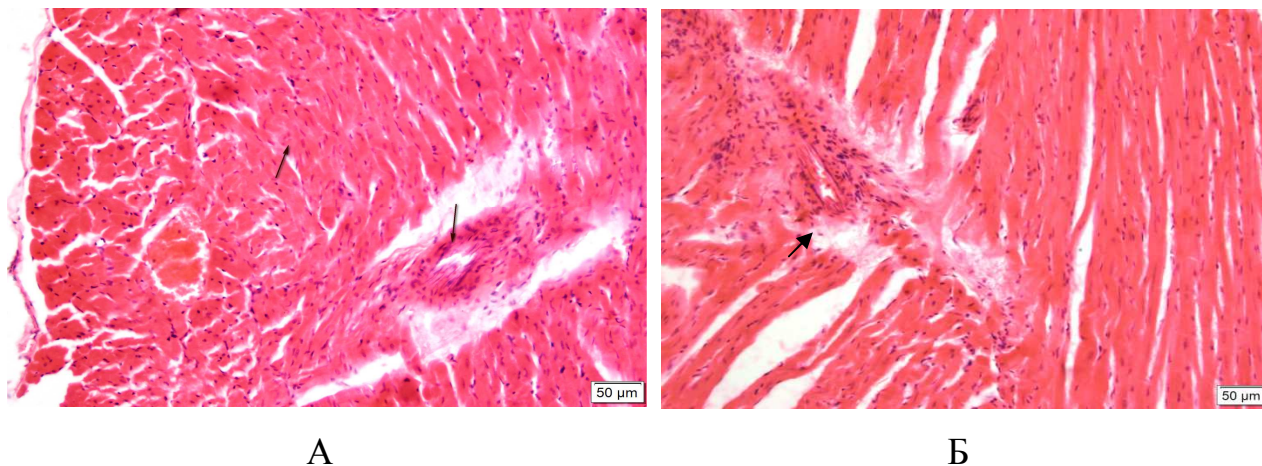


Рис. 7.11. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК: А – виражений періартеріальний набряк, дистрофічно змінені кардіоміоцити, набряк і виражена базофілія ядер клітин інтерстиціальної сполучної тканини субепікардіальної зони; Б – периваскулярна проліферація фібробластів та дифузно розташовані макрофаги. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

Результати морфометричного аналізу даних показали збільшення кількості ядер кардіоміоцитів як у порівнянні з інтактними тваринами, так і щурами з АГ. Площа ядер кардіоміоцитів збільшувалася, при цьому кількість капілярів не змінювалася (див. табл. 7.1).

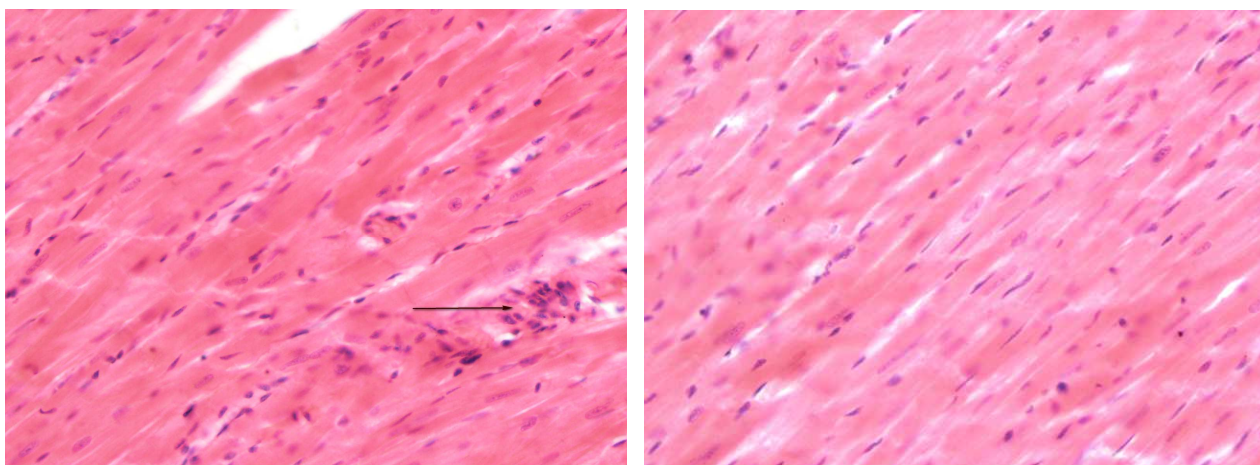
На 7 добу після введення тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК структурні ушкодження серцевого м'яза і патологічний процес були менш вираженими в порівнянні з групою без введення ЯВК КК.

Інтрамуральна зона міокарда характеризувалася щільно розташованими м'язовими волокнами, визначали кардіоміоцити з дистрофічними змінами. Окремі з них мали ділянки з підвищеною еозинофілією, на яких не візуалізувалися ядра і поперечна смугастість кардіоміоцитів (рис. 7.12). Відзначали збільшення кількості та розмірів ядер кардіоміоцитів (рис. 7.13, А), зберігалася їх гіпертрофія [13]. Ядра кардіоміоцитів характеризувалися поліморфізмом – округлі, паличкоподібні, значно витягнуті (поліплоїдні). Більшість ядер були гіпохромними, водночас виявляли і дрібні пікнотично змінені (рис. 7.13, А).

В інтерстиціальній сполучної тканини (поблизу ушкоджених ділянок м'язових волокон) присутні макрофаги, розташовані дифузно або невеликими групами, а також велика кількість фібробластів. В інтерстиції міокарда навколо інтрамуральних судин відмічали судинні бруньки, представлені 2-3 відгалуженнями, утвореними молодими ендотеліальними клітинами (рис. 7.13, Б) [306].

У ендокардіальній зоні виявляли ділянки звивистого розташування м'язових волокон. Вени і капіляри були розширеними та повнокровними.

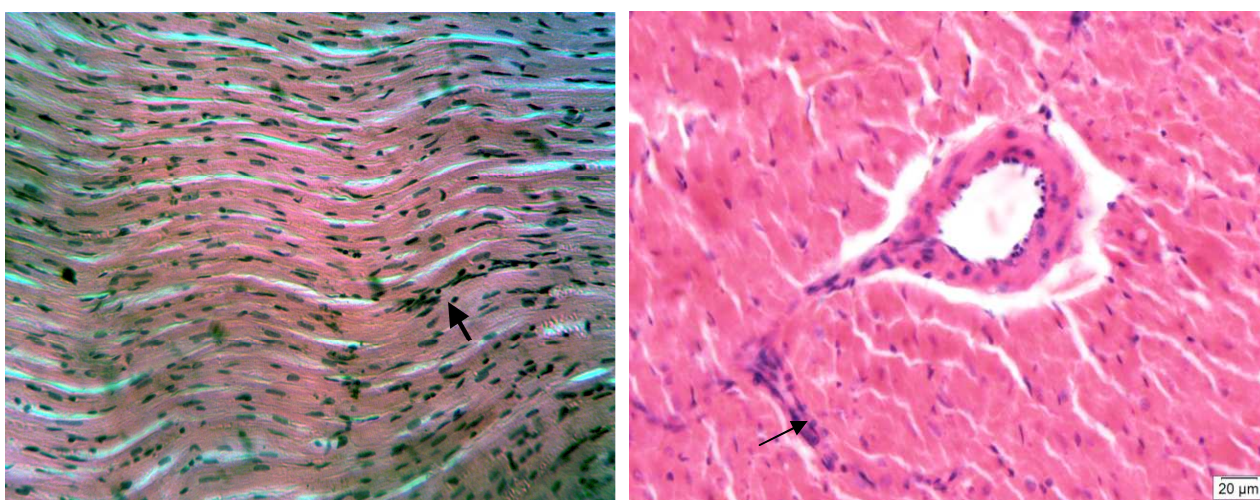
Артеріальні судини були звуженими і мали потовщені стінки з підвищеною щільністю фібробластів, водночас окремі судини були повнокровними, периваскулярний набряк менш виражений.



А

Б

Рис. 7.12. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів з АГ на 7 добу після введення ЯВК КК: А – окремі дистрофічно змінені м'язові волокна; Б – поліморфізм ядер кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.



А

Б

Рис. 7.13. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів з АГ на 7 добу після введення ЯВК КК: А – збільшені кількість та розміри ядер кардіоміоцитів; Б – периваскулярний набряк, потовщена стінка судини, судинна брунька з проліферуючих ендотеліоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$.

Результати морфометричного дослідження показали збільшення кількості ядер кардіоміоцитів від (8400 ± 1200) до (8600 ± 872) на мм^2 та їх площі до $(29,1 \pm 7,8)$ мкм^2 у порівнянні з групою контролю і групою щурів на 3 добу після введення ЯВК КК. Кількість капілярів в тканині цих тварин була більшою в порівнянні з контролем і тваринами, яких досліджували на 3 добу після введення ЯВК КК (див. табл. 7.1).

На 30 добу після введення тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК в міокарді відзначали щільно розташовані м'язові волокна і тонкі прошарки інтерстиціальної сполучної тканини. Морфологічні ознаки інтерстиціального набряку і кардіосклерозу були слабо вираженими.

Спостерігали ділянки з фрагментованими м'язовими волокнами, а також окремі волокна з підвищеною еозинофілією, проте вони зустрічалися значно рідше, ніж у гіпертензивних щурів, яким не вводилися ЯВК КК в даний термін дослідження (рис. 7.14, А). Підвищувалася щільність фібробластів як в інтерстиціальній сполучній тканині, так і навколо кровоносних судин, що є морфологічною ознакою неоангіогенезу шляхом брунькування та аутологічним шляхом (рис. 7.14, Б) [306].

У ендокардіальній зоні відзначали розширені повнокровні венозні судини і капіляри, поодинокі осередки діapedезних крововиливів. Морфологічні ознаки осередкової ішемії м'язових волокон у субепікардіальній зоні відсутні. В інтерстиціальній тканині візуалізувалися клітини з щільними базofilьними ядрами і помірний набряк.

Після забарвлення гістологічних зрізів піросиріусом червоним виявлено, що колагенові волокна сконцентровані товстими пучками навколо артеріальних судин, тоді як навколо дрібних артерій і венозних судин товщина шару колагенових волокон була значно меншою, склероз інтерстиціальної сполучної тканини був ще менш вираженим. Внутрішні еластичні мембрани більшості кровоносних судин мали безперервний контур і різну ступінь звивистості.

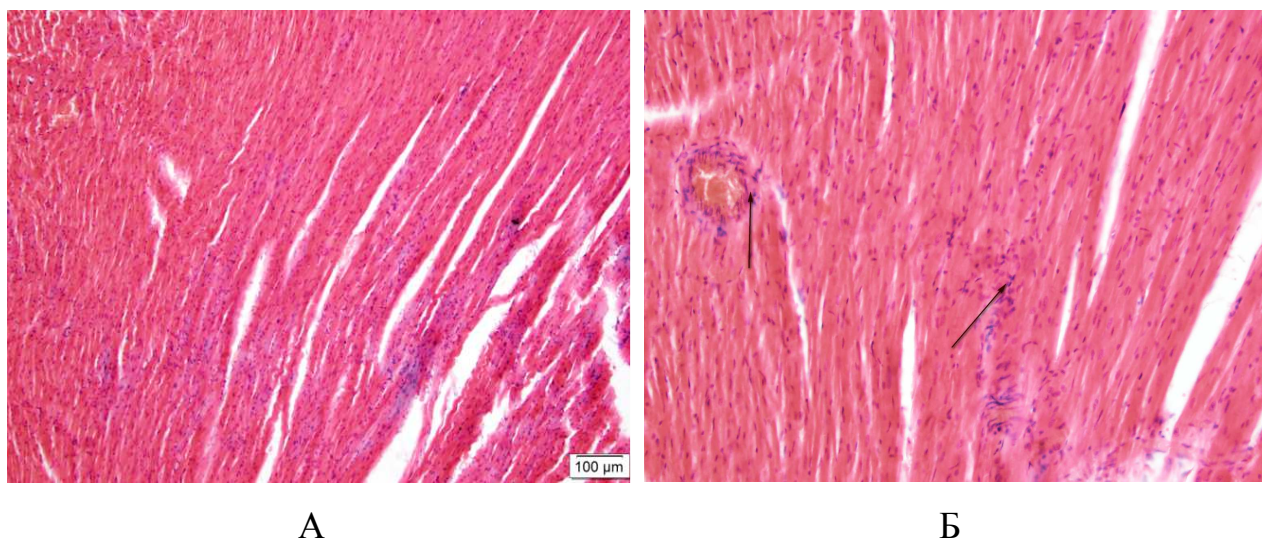


Рис. 7.14. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих щурів з АГ на 30 добу після введення ЯВК КК: А – набряк і підвищена щільність клітин в інтерстиціальній сполучній тканини, в зоні деструкції м'язових волокон, $\times 100$; Б – підвищена щільність фіброblastів у стінці повнокрової судини і в інтерстиціальній сполучної тканини. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

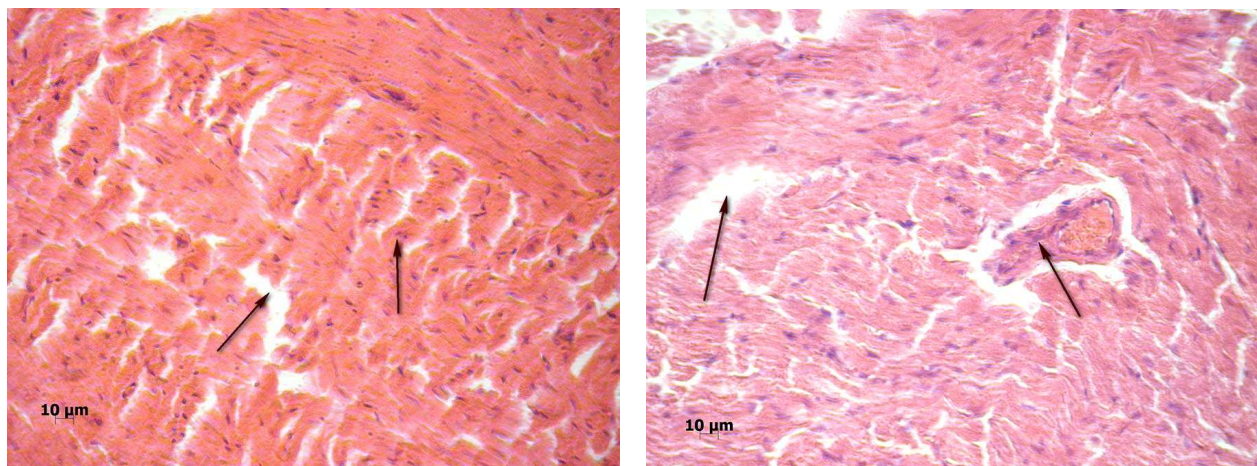
Аналіз морфометричних даних на 30 добу після введення молодим щурам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК показав зменшення кількості ядер кардіоміоцитів та їх площі до показників інтактних тварин (7800 ± 886) на мм^2 та $(17,5 \pm 5)$ мкм^2 , відповідно. Кількість капілярів відповідала нормі – (800 ± 83) на мм^2 (див. табл. 7.1).

Таким чином, на 30 добу після введення ЯВК КК в міокарді молодих гіпертензивних щурів спостерігали менш виражений периваскулярний і інтерстиціальний набряки в порівнянні з групою гіпертензивних тварин без введення препарату та щурами на 7 добу після введення ЯВК КК. Підвищувалася щільність фіброblastів в інтерстиціальній сполучній тканині і навколо кровоносних судин, були відсутні ділянки з ознаками осередкової ішемії міокарда та кардіосклерозу. На відміну від молодих тварин з моделлю АГ кількість ядер кардіоміоцитів і їх площа збільшувалися вже на 3 добу

після застосування препарату. Ці компенсаторні процеси супроводжувалися неоангіогенезом як шляхом брунькування, так і шляхом аутогенеза [310].

7.3. Структурна характеристика міокарда старих гіпертензивних щурів

На 3 добу після розвитку АГ у старих тварин частина скорочувальних волокон міокарда нерівномірно гіпертрофована. При поперечній їх орієнтації на гістологічних зрізах міофібрили були контуровані звивистими лініями, при поздовжньої – поряд з рівним розташуванням волокон виявлені ділянки їх хвилястої будови з відсутністю або нечітко вираженою поперечною смугастістю і нерівномірною еозинофілією цитоплазми кардіоміоцитів (рис. 7.15). Більшість кровоносних судин та капілярів були повнокровні з помірно вираженими ознаками периваскулярного набряку.



А

Б

Рис. 7.15. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 3 добу після розвитку АГ: А – нерівномірне забарвлення і звивисті контури м'язових волокон, низька щільність клітин і помірний набряк інтерстицію; Б – повнокров'я судини, м'язові волокна звивистої форми, периваскулярний і інтерстиціальний набряки. Забарвлення гематоксилином та еозином, $\times 100$.

Інтерстиційна сполучна тканина на ділянках міокарда розташовувалася між м'язовими волокнами у вигляді вузьких прошарків з одиничними фібробластами та тонкими колагеновими волокнами (рис. 7.16). При цьому, виявляли ділянки розростання інтерстиціальної сполучної тканини, яка містила крупні пучки колагенових волокон, особливо навколо кровоносних судин з потовщеною судинною стінкою. Відзначали ознаки перикапілярного набряку та осередки діapedезних крововиливів.

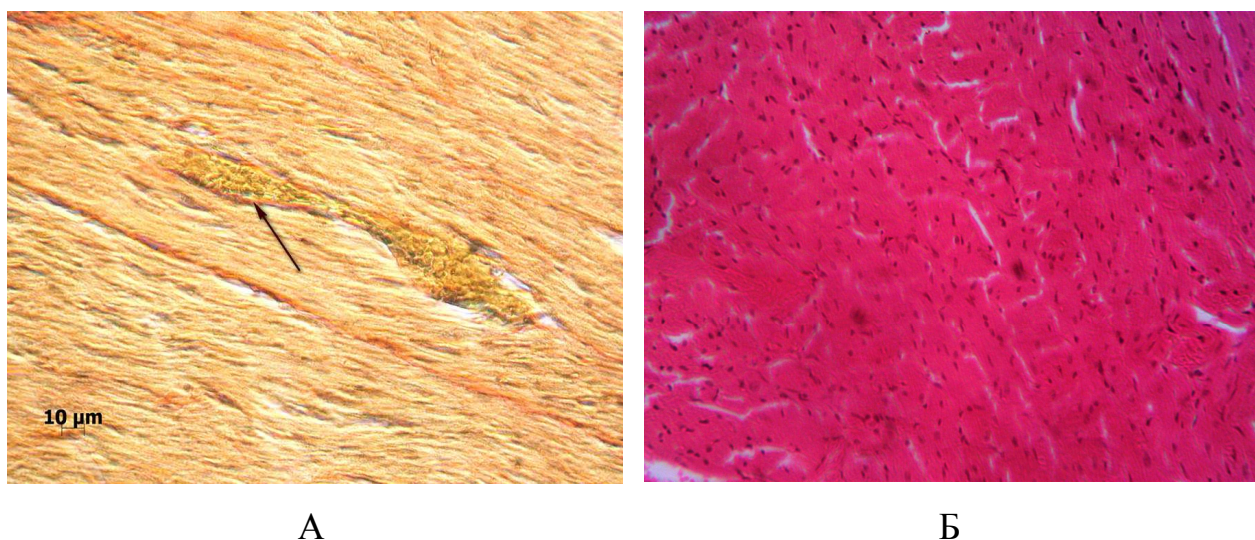


Рис. 7.16. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 3 добу після розвитку АГ: А – тонкі колагенові волокна в вузьких прошарках інтерстиціальної сполучної тканини і навколо повнокровних судин. Забарвлення пікросиріусом червоним; Б – низька щільність ядер кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

Аналіз морфометричних даних показав, що кількість ядер кардіоміоцитів у порівнянні з інтактними тваринами не змінилася (7850 ± 1110) на мм^2 , проте істотно збільшувалася площа ядер кардіоміоцитів від ($12,8 \pm 5,7$) до ($19,0 \pm 4,2$) мкм^2 та кількість капілярів – від 600 ± 72 до (750 ± 108) на мм^2 (табл. 7.2).

Таблиця 7.2.

Морфометричні показники міокарда лівого шлуночка у старих щурів з артеріальною гіпертензією до і після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

Група	Строк дослідження, доба	Кількість ядер кардіоміоцитів на мм ²	Площа ядер кардіоміоцитів, мкм ²	Кількість капілярів на мм ²
Інтактні щури	—	6100 ± 970	12,8 ± 5,7	600 ± 72
Щури з моделлю АГ	3	7850 ± 1110	19,0 ± 4,2 ^{1), 2)}	750 ± 108 ¹⁾
	7	7200 ± 843 ¹⁾	15,3 ± 4,8 ^{1), 2)}	720 ± 86 ¹⁾
	30	6350 ± 780 ^{1), 2)}	12,4 ± 4,0 ²⁾	900 ± 83 ^{1), 2)}
Щури з АГ після введення ЯВК КК	3	7200 ± 863 ¹⁾	16,7 ± 4,2 ¹⁾	760 ± 73 ¹⁾
	7	7100 ± 718 ¹⁾	14,5 ± 5,0 ¹⁾	665 ± 58
	30	6400 ± 720 ¹⁾	14,5 ± 4,0 ¹⁾	620 ± 66

Примітки:

¹⁾ – статистично значущі відмінності від контрольної групи ($p \leq 0,05$);

²⁾ – статистично значущі відмінності від попереднього строку дослідження ($p \leq 0,05$).

На 7 добу після розвитку АГ в інтерстиціальній сполучній тканині міокарда між анастомозуючими м'язовими волокнами формувалися більш широкі прошарки інтерстиціального набряку в порівнянні з міокардом контрольних старих щурів та тваринами на 3 добу після розвитку АГ (рис. 7.17, А). У сполучній тканині виявляли низьку щільність фібробластів з подовженим базофільно забарвленим ядром та поодинокі макрофаги, спостерігали помірний інтерстиціальний набряк і більш виражений

периваскулярний та перикапілярний набряки. Зрілі колагенові волокна концентрувалися переважно навколо кровоносних судин, що свідчило про прогресування кардіоваскулярного склерозу (рис. 7.17, Б).

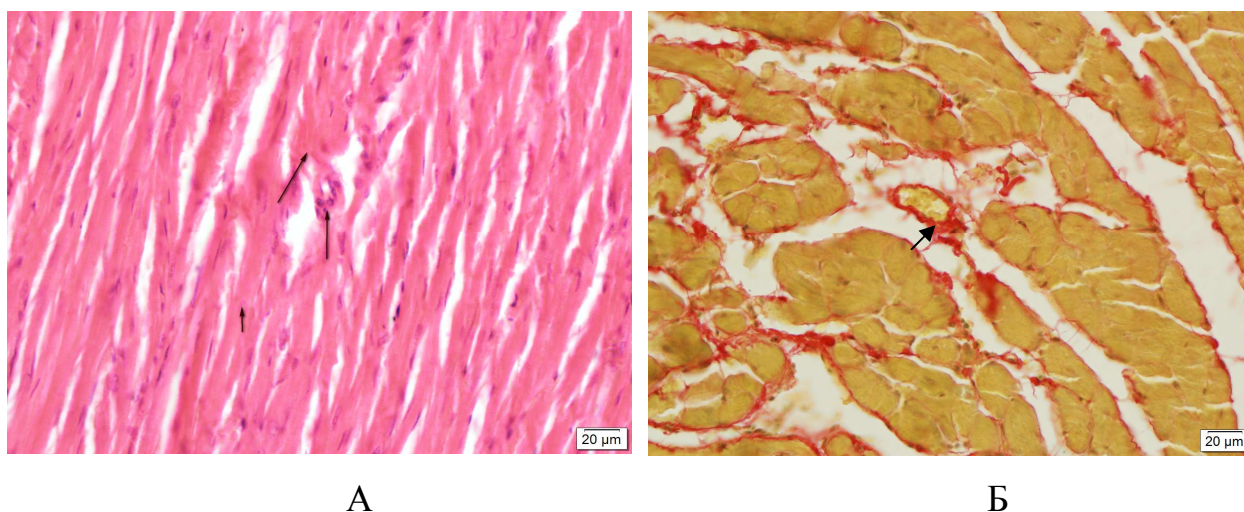


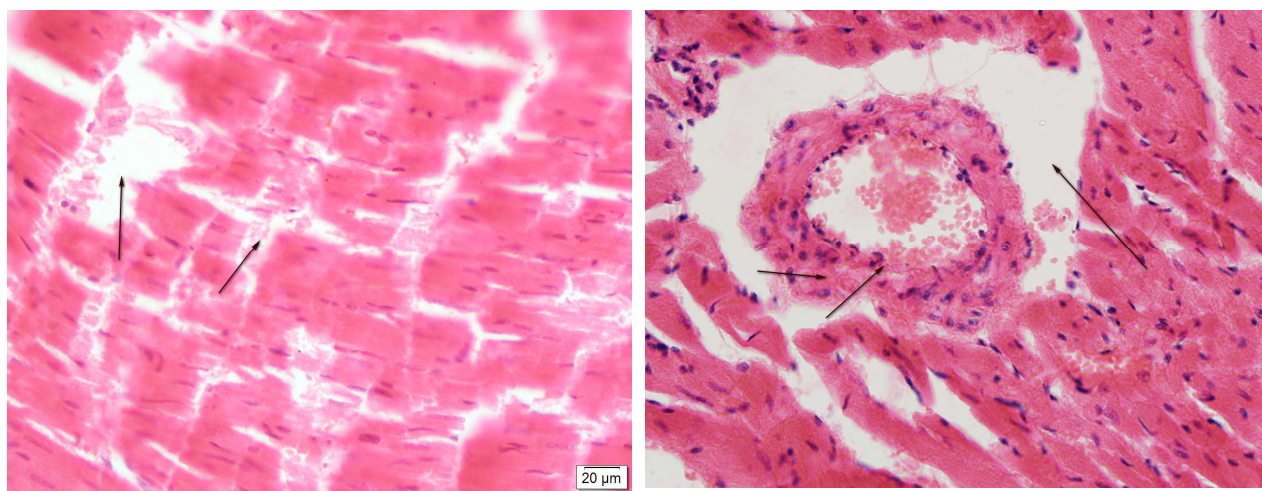
Рис. 7.17. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А –анастомозуючі м'язові волокна, інтерстиціальний і периваскулярний набряк, гіпертрофія і підвищена еозинофілія окремих волокон. Забарвлення гематоксиліном та еозином; Б – периваскулярна локалізація зрілих колагенових волокон. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 400$.

У міокарді виявляли поля нерівномірно гіпертрофованих м'язових волокон, в яких була відсутня поперечна смугастість. Ядра кардіоміоцитів були слабо забарвлені або не візуалізувалися, а їх цитоплазма мала зернисту структуру або характеризувалася підвищеною еозинофілією. Крім цього, виявляли невеликі осередки, що охоплюють групу м'язових волокон, з більш вираженими деструктивними змінами і некрозом окремих кардіоміоцитів без наявності запально-клітинних інфільтратів і проліферуючих фібробластів (рис. 7.18, А).

Структурні зміни кровоносних судин, розташованих поблизу пошкоджених м'язових волокон, свідчили про порушення кровообігу. Артеріальні судини знаходилися в стані спазму: спостерігали звужений просвіт судини, виражено звивистий контур внутрішньої еластичної

мембрани, «частокіл» ендотеліоцитів звернений убік просвіту судини. Крім цього, в них виявлені зміни, пов'язані з нерівномірною товщиною судинної стінки, осередковою десквамацією ендотеліального шару, а також порушенням цілісності стінки судини і діapedезними крововиливами (рис. 7.18, Б). Структурні порушення в міокарді, виявлені у старих щурів на 7 добу розвитку АГ, мали тенденцію до прогресування і були більш вираженими у порівнянні з молодими гіпертензивними тваринами в аналогічні терміни дослідження.

За результатами морфометричного дослідження виявлено незначне зниження кількості і розмірів ядер кардіоміоцитів у порівнянні з попереднім терміном експерименту від (7850 ± 1110) до (7200 ± 843) на мм^2 і від $(19,0 \pm 4,2)$ до $(15,3 \pm 4,8)$ мкм^2 , відповідно. Кількість капілярів становила (720 ± 86) на мм^2 , що статистично значуще перевищувала показники контрольних тварин (див. табл. 7.2).



А

Б

Рис. 7.18. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 7 добу після розвитку АГ: А – міоцитоліз окремих кардіоміоцитів в осередку фрагментованих по вставним дискам м'язових волокон; Б – виражений периваскулярний набряк і порушена структура стінки судини. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$.

На 30 добу після розвитку АГ в тканинах міокарда старих щурів виявляли структурні порушення, які свідчать про прогресування деструктивних процесів. На поздовжніх зрізах м'язових волокон були помітними ділянки звивистої будови як окремих волокон в межах пучка, так і групи м'язових пучків (рис. 7.19). При цьому виявляли зони гіпертрофованих і зруйнованих м'язових волокон. Характер руйнувань був пов'язаний з їх дисоціацією і фрагментацією по вставним дискам, а також з осередковим некрозом кардіоміоцитів. В інтерстиціальній сполучній тканині, поблизу зруйнованих ділянок міокарда, відзначали низьку щільність фібробластів; осередки запалення, які розташовувалися дифузно, набряк тканин був значно вираженим (рис. 7.20, А). Місцями спостерігали морфологічні ознаки репаративного процесу, пов'язані з високою щільністю фібробластів, формуванням пухкої сполучної тканини, виявляли дифузно розташовані макрофаги (рис. 7.20, Б).

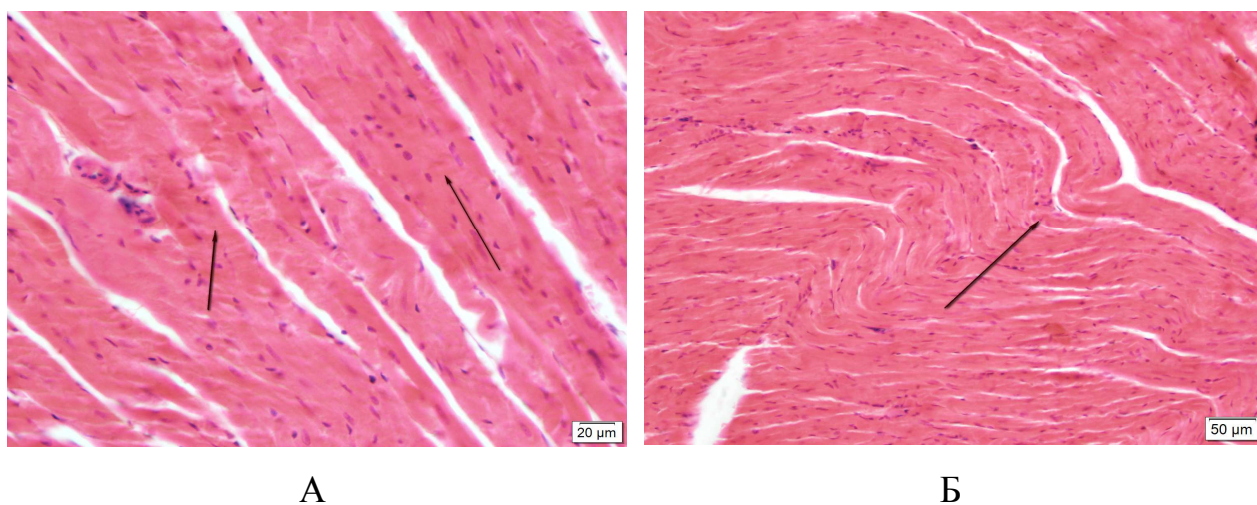


Рис. 7.19. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 30 добу після розвитку АГ: А – пилкоподібна будова м'язового волокна в межах пучка, $\times 400$; Б – звивисте розташування групи м'язових пучків. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

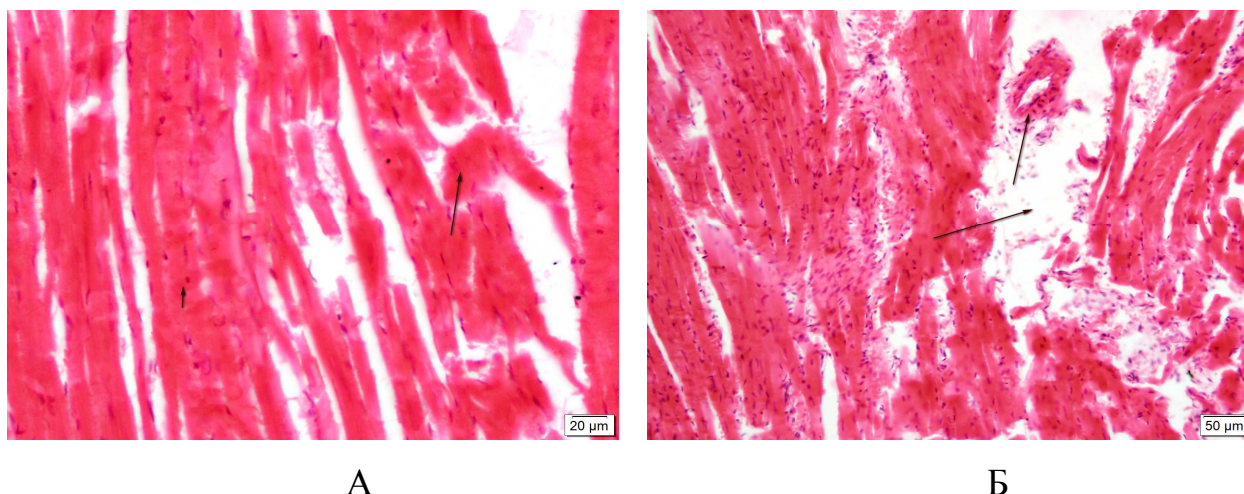


Рис. 7.20. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 30 добу після розвитку АГ. Осередки зруйнованих кардіоміоцитів: А – низька щільність фіброblastів та клітин запалення в інтерстиціальній сполучній тканині, $\times 400$; Б – виражений периваскулярний набряк і висока щільність фіброblastів. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

По периферії осередків некрозу була чітко видна зона демаркаційного запалення, яка представлена переважно набряковою рідиною, клітинами запалення лімфоцитарно-гістіоцитарного ряду, що розташовані дифузно або невеликими скупченнями, спазмованими кровоносними судинами з потовщеною судинною стінкою, вузьким просвітом та «вибухаючими» в нього ендотеліальними клітинами з (рис. 7.21, А). М'язові волокна поблизу таких судин були нерівномірно гіпертрофованими, містили ділянки деструкції, яка проявлялася підвищеної еозинофілією або зернистою структурою.

Спостерігали виражені кардіоваскулярні зміни в субепікардіальній та інтрамуральній областях міокарда. Практично всі артеріальні судини характеризувалися ознаками периваскулярного склерозу, їх просвіт був звуженим, а стінки потовщеними (рис. 7.21, Б).

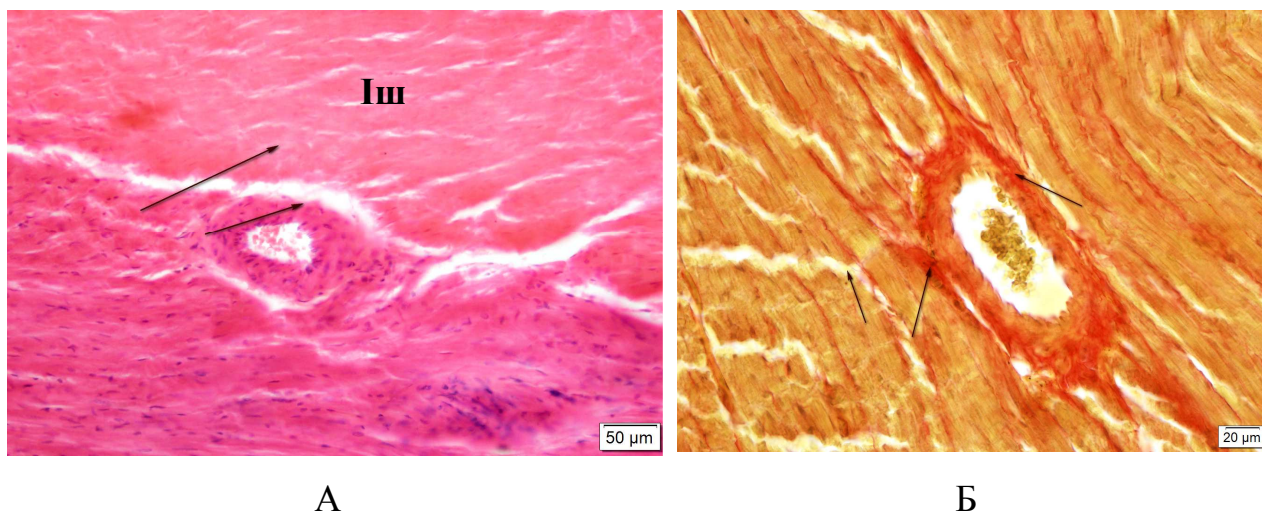
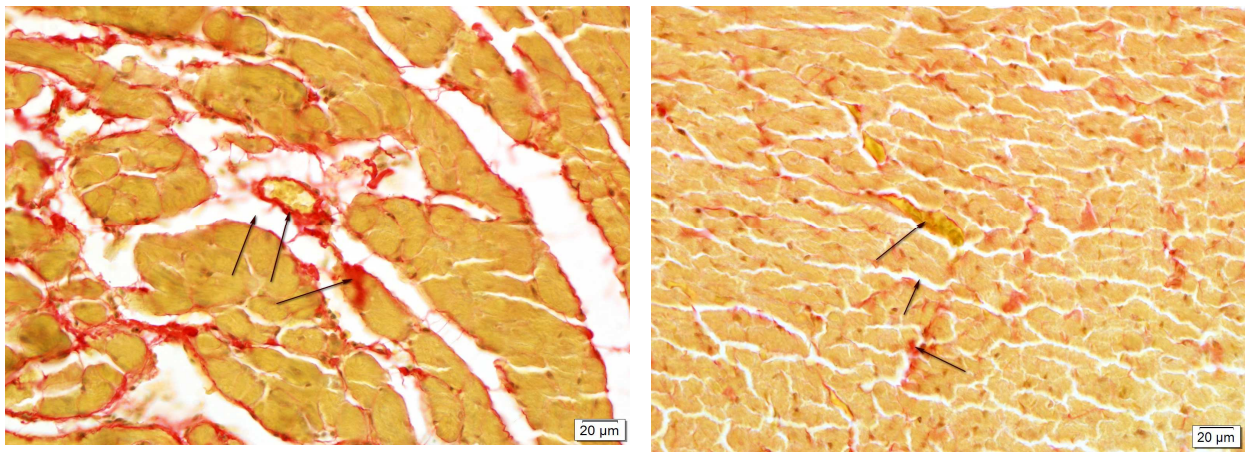


Рис. 7.21. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 30 добу після розвитку АГ: А – крупний осередок ішемічно змінених м'язових волокон (Іш), спазмована судина з потовщеною стінкою на межі демаркаційного запалення. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$; Б – периваскулярний склероз, фрагментація м'язових волокон. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 400$.

Відзначали набряк стінок артеріол з різким вибуханням в їх просвіт ендотеліоцитів у вигляді «частоколу», в результаті чого артеріоли мали нерівномірно звужені просвіти, а в окремих з них просвіт практично повністю перекривався. Венозні судини та капіляри були повнокровними, паретично розширеними. Виявляли судини з порушеною цілісністю стінки і виходом плазми і клітин крові за межі судинної стінки. Ступінь розвитку набряку і склерозу (як периваскулярного, так і інтерстиціального), на різних ділянках міокарда, варіював від помірних до виражених змін (рис. 7.22).



А

Б

Рис. 7.22. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів на 30 добу після розвитку АГ: А – виражені периваскулярний та інтерстиціальний кардіосклероз і набряк; Б – розширені повнокровні капіляри, помірні набряк і склероз інтерстиціальної сполучної тканини. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 400$.

За результатами морфометричного дослідження визначено статистично значиме зменшення кількості та площі ядер кардіоміоцитів в у порівнянні з попереднім терміном дослідження від (7200 ± 843) до (6350 ± 780) на мм^2 , і від $(15,3 \pm 4,8)$ до $(12,4 \pm 4,0)$ мкм^2 , відповідно, тоді як кількість капілярів становила (900 ± 83) на мм^2 , що статистично значуще перевищувало показники контролю попереднього строку дослідження (див. табл. 7.2).

Таким чином, в міокарді старих щурів через місяць після розвитку АГ гістологічні та морфометричні порушення вказували на прогресуючий характер деструктивних змін. За поширеністю і ступенем прояву вони значно перевершували ушкодження серцевого м'яза, які мали місце у молодих тварин на даний термін дослідження. Зберігалися дистрофічні і некротичні зміни, що свідчать про порушення коронарного кровообігу. Це підтверджувалося спазмом артеріальних судин, парезом венозних судин і капілярів, порушенням цілісності судинної стінки з виходом плазми і клітин крові за межі судинного русла, периваскулярним та інтерстиціальним набряками, склерозом. Спостерігали структурні ознаки порушення

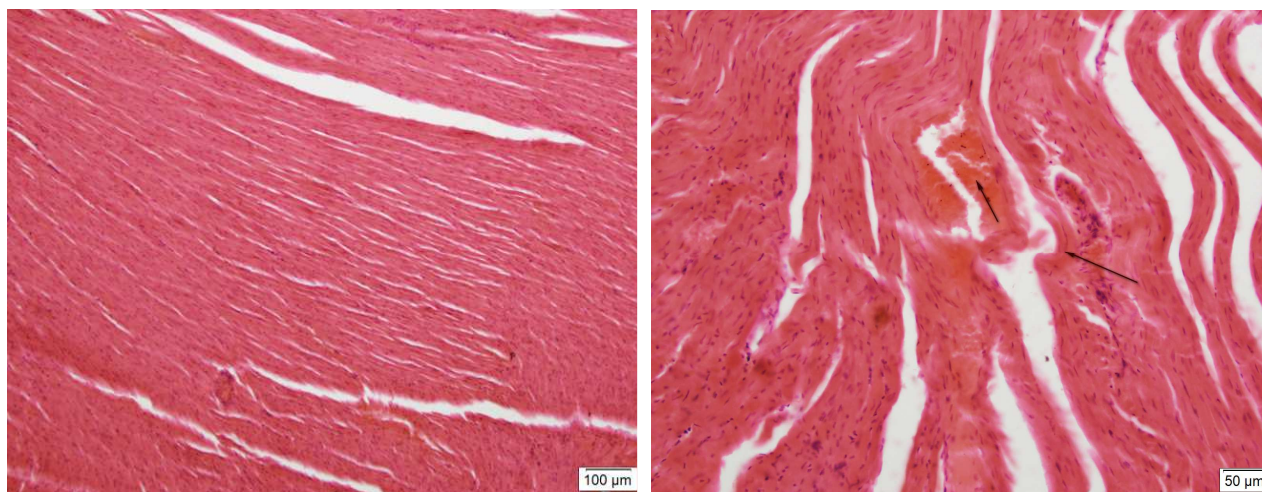
функціонування скорочувальних м'язових волокон, а саме: некроз кардіоміоцитів, перерозтягнення, фрагментація, осередкова ішемічна дистрофія м'язових волокон.

Морфологічні ознаки репаративних процесів в ушкоджених ділянках міокарда були слабо вираженими. Компенсація функції міокарда в обох групах тварин (молоді та старі) мала місце на ранніх термінах розвитку АГ (3 та 7 доба дослідження) тільки за рахунок збільшення кількості і розмірів ядер кардіоміоцитів. До 30 доби ці прояви зменшувалися і компенсація досягалася тільки завдяки збільшенню кількості новостворених капілярів. Виявлені структурні патологічні зміни у щурів підтверджували адекватність даної моделі стрес-індукованої АГ.

7.4. Гістологічні зміни структури міокарда старих гіпертензивних щурів після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

У старих щурів з АГ на 3 добу після введення кріоконсервованих ЯВК КК в тканинах міокарда зберігався інтерстиціальний набряк і венозне повнокров'я судин. Інтерстиційна сполучна тканина мала вигляд вузьких прошарків з поодинокими фібробластами і тонкими колагеновими волокнами (рис. 7.23). Відзначали ознаки перикапілярного набряку та осередки діapedезних крововиливів.

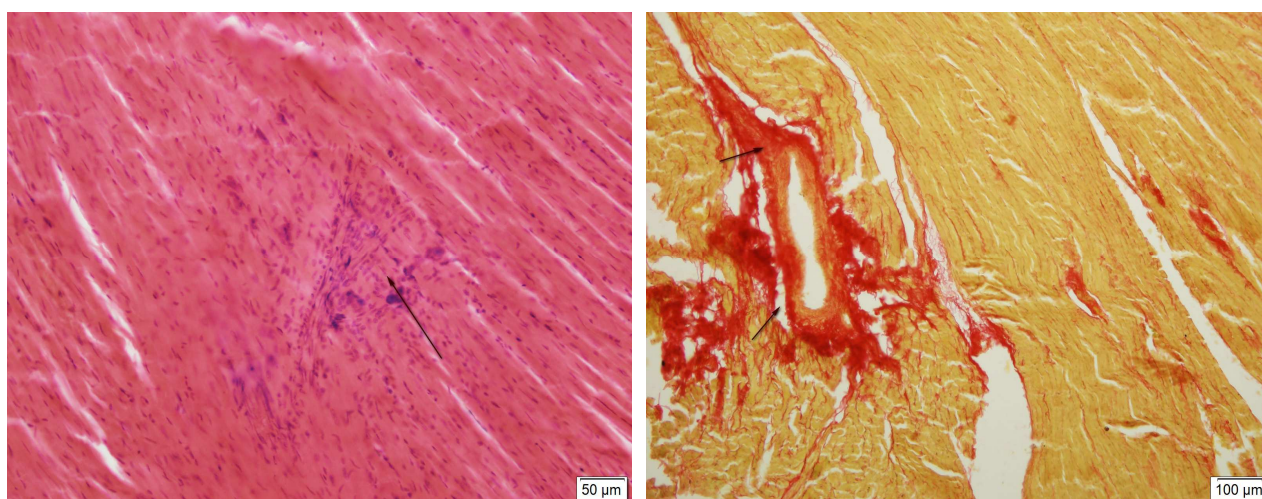
У сполучній тканині виявляли високу щільність фібробластів з подовженими базофільно забарвленими ядрами. Спостерігали помірний інтерстиціальний набряк і виражені периваскулярний і перикапілярний набряки (рис. 7.24, А). Зрілі колагенові волокна концентрувалися переважно навколо кровоносних судин (рис. 7.24, Б).



А

Б

Рис. 7.23. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК. А – набряк і венозне повнокров'я, $\times 100$; Б – діapedезні крововиливи. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.



А

Б

Рис. 7.24. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК: А – проліферація фібробластів. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$; Б – периваскулярний набряк і склероз. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 100$.

У міокарді виявляли поля нерівномірно гіпертрофованих м'язових волокон, в яких була відсутня поперечна смугастість. Ядра кардіоміоцитів були слабо забарвлені або не візуалізувалися, а їх цитоплазма мала зернисту структуру або характеризувалася підвищеною еозинофілією. Спостерігали невеликі осередки, які охоплювали групу м'язових волокон, з більш вираженими деструктивними змінами і некрозом окремих кардіоміоцитів без наявності запально-клітинних інфільтратів і проліферуючих фібробластів.

Структурні зміни кровоносних судин, розташованих поблизу пошкоджених м'язових волокон, свідчили про порушення кровообігу. Артеріальні судини знаходилися в стані спазму: звужений просвіт судини, виражено звивистий контур внутрішньої еластичної мембрани, «частокіл» ендотеліоцитів, звернений убік просвіту судини. Крім цього, в них виявляли зміни, пов'язані з нерівномірною товщиною судинної стінки, осередковою десквамацією ендотеліального шару, порушенням цілісності стінки судин і діapedезними крововиливами (рис. 7.25).

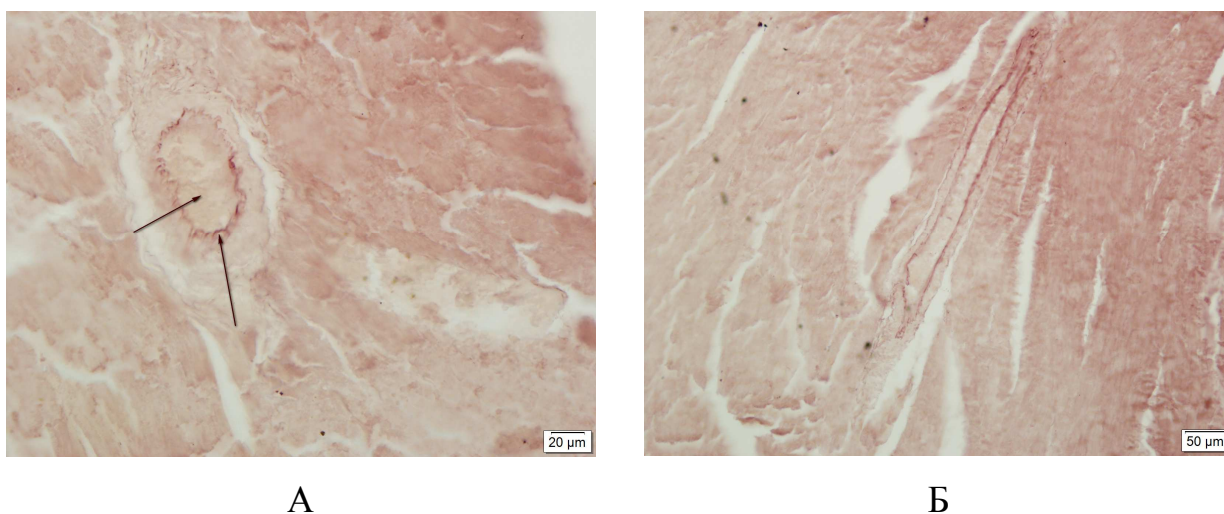
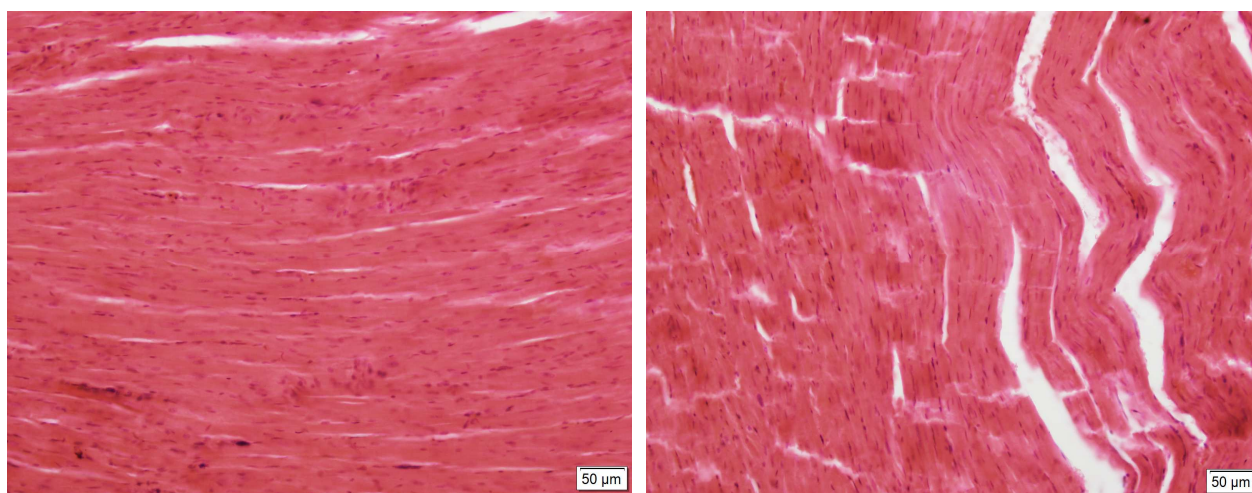


Рис. 7.25. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 3 добу після введення ЯВК КК. Звужені крупні судини зі звивистим контуром еластичної мембрани і нерівномірною товщиною судинної стінки. Забарвлення орсеїном: а) $\times 400$; б) $\times 200$.

За результатами морфометричного дослідження визначено різке збільшення кількості ядер і площі кардіоміоцитів відносно контролю.

Кількість капілярів залишалася вище нормальних значень і становила (760 ± 73) на мм^2 (див. табл. 7.2).

На 7 добу після введення ЯВК КК в інтерстиціальній сполучній тканині між анастомозуючими м'язовими волокнами міокарда відмічалися широкі прошарки такі як і в попередній термін дослідження (рис. 7.26, А). Зустрічалася фрагментація кардіоміоцитів (рис. 7.26, Б). У сполучній тканині виявляли низьку щільність фібробластів з подовженим базофільно забарвленим ядром, поодинокі макрофаги, помірний інтерстиціальний набряк і виражені периваскулярні та перикапілярні набряки.



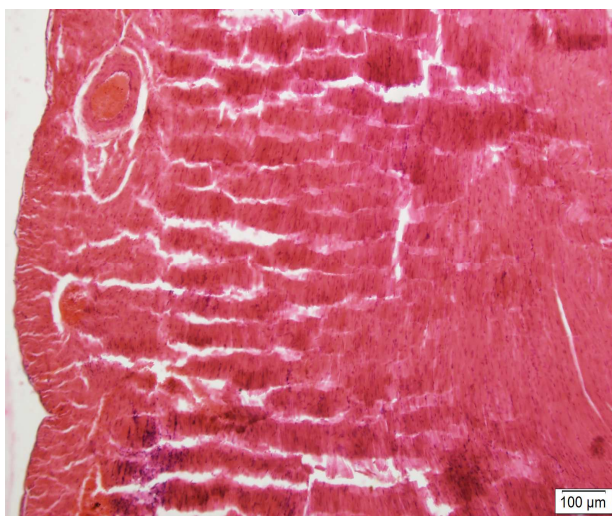
А

Б

Рис. 7.26. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 7 добу після введення ЯВК КК: А – помірний набряк інтерстиціальної сполучної тканини, поліморфізм ядер; Б – фрагментовані м'язові волокна, осередок ішемічно змінених м'язових волокон. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

Серед міофібрил рівномірної товщини розташовані групи стоншених волокон звивистої форми, навколо яких інтерстиціальна сполучна тканина мала ознаки набряку (рис. 27, А). У шарах міокарда виявляли повнокров'я судин і капілярів. Цілісність стінок окремих судин на ділянках була не порушеною, місцями зустрічали діapedезні крововиливи. Зрілі колагенові

волокна концентрувалися переважно навколо кровоносних судин (рис. 7.27, Б).

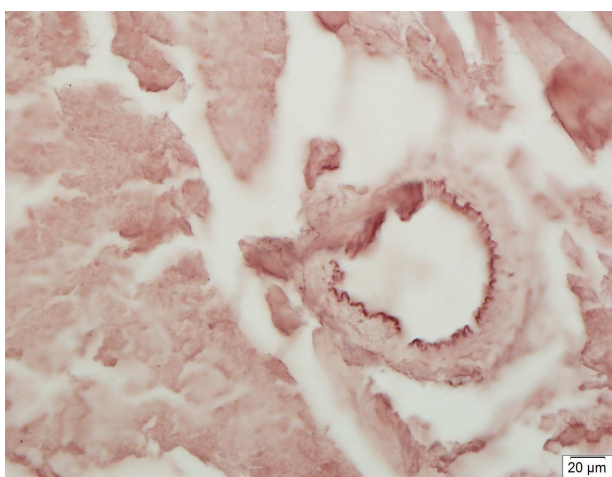


А

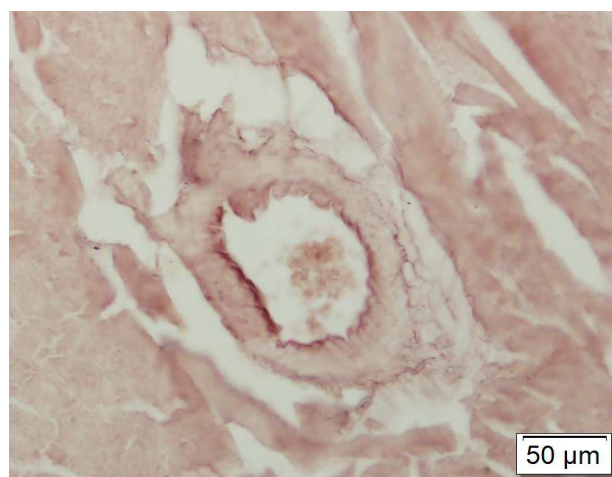


Б

Рис. 7.27. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 7 добу після введення ЯВК КК: А, – повнокров'я судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$; Б – периваскулярна локалізація зрілих колагенових волокон. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 100$.



А



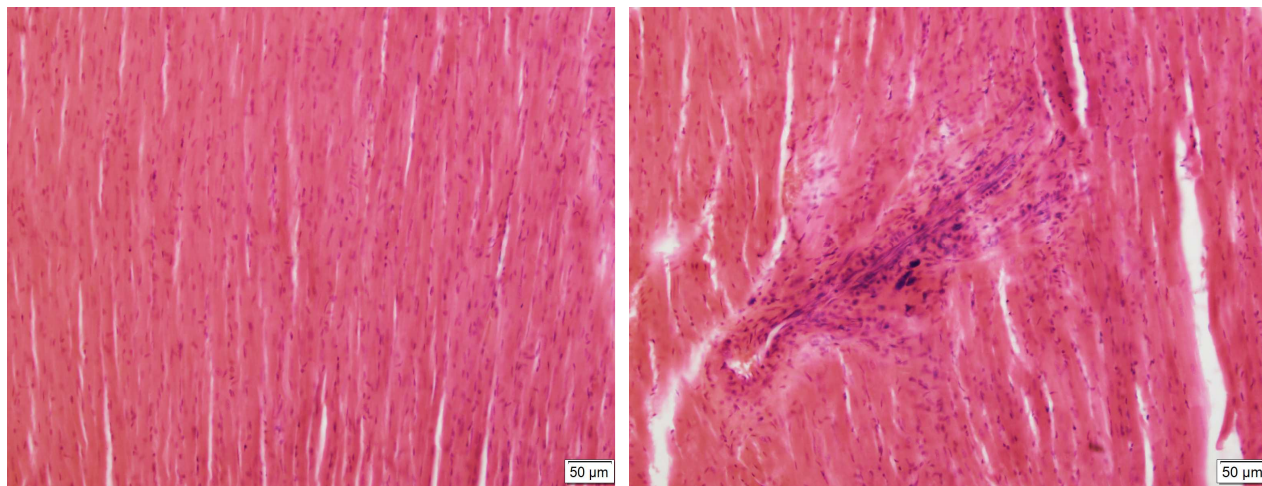
Б

Рис. 7.28. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 7 добу після введення ЯВК КК: А – еластична мембрана крупної судини зі звивистим і переривчастим контуром, $\times 400$; Б – звужений просвіт і нерівномірно потовщені стінки судини, периваскулярний набряк. Забарвлення орсеїном, $\times 200$.

Крупні судини характеризувалися зміненою формою судинного просвіту, нерівномірно потовщеними стінками, звивистими і переривчастими контурами внутрішньої еластичної мембрани. Навколо таких судин мав місце периваскулярний набряк (рис. 7.28).

При морфометричному дослідженні відзначали зниження кількості та площі ядер кардіоміоцитів в порівнянні з попереднім терміном експерименту від (7200 ± 863) до (7100 ± 718) на мм^2 і від $(16,7 \pm 4,2)$ до $(14,5 \pm 5)$ мкм^2 , відповідно. Кількість капілярів становила (720 ± 86) на мм^2 , що статистично значуще перевищувало показники інтактних старих тварин (див. табл. 7.2).

Через місяць після введення старим гіпертензивним тваринам кріоконсервованих ЯВК КК в міокарді спостерігали щільно розташовані м'язові волокна і тонкі прошарки інтерстиціальної сполучної тканини (рис. 7.29, А). Відзначали підвищену щільність фібробластів як в інтерстиції міокарда, так і навколо кровоносних судин, що є однією з ознак неогенезу як шляхом брунькування, так і аутологічним шляхом (рис. 7.29, Б).



А

Б

Рис. 7.29. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 30 добу після введення ЯВК КК: А – щільно розташовані м'язові волокна, висока щільність фібробластів; Б – набряк міокарда, новоутворення судин аутогенним шляхом. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

В ендокардіальній зоні зустрічали повнокровні венозні судини і капіляри, мали місце діapedезні крововиливи. Після забарвлення пікросиріусом червоним виявлено, що колагенові волокна концентрувалися як навколо артеріальних судин, так і навколо дрібних артерій і венозних судин (рис. 7.30).

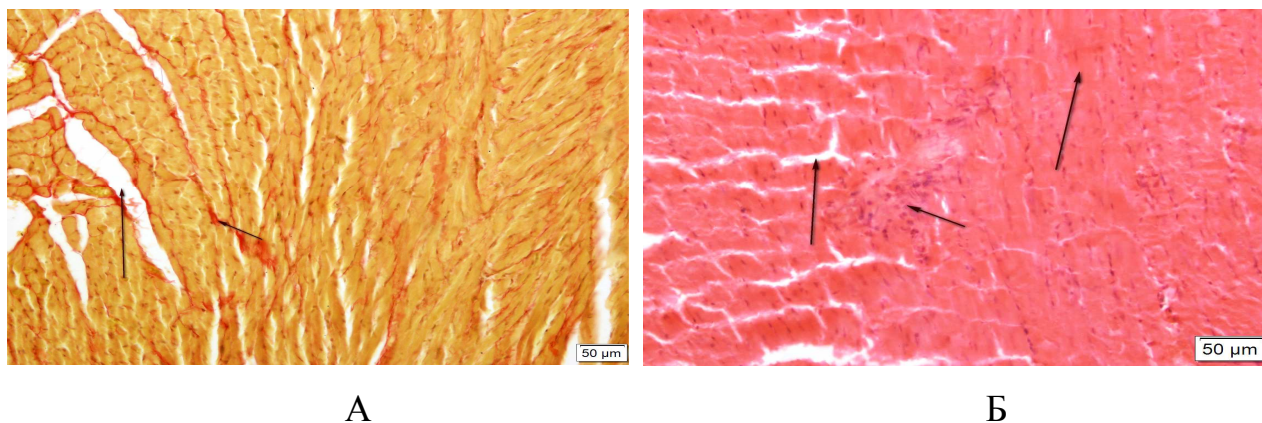


Рис. 7.30. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 30 добу після введення ЯВК КК: А – набряк інтерстиціальної тканини, ознаки кардіосклерозу. Забарвлення пікросиріусом червоним, 200; Б – фрагментація м'язових волокон, поліморфізм ядер кардіоміоцитів, повнокров'я судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

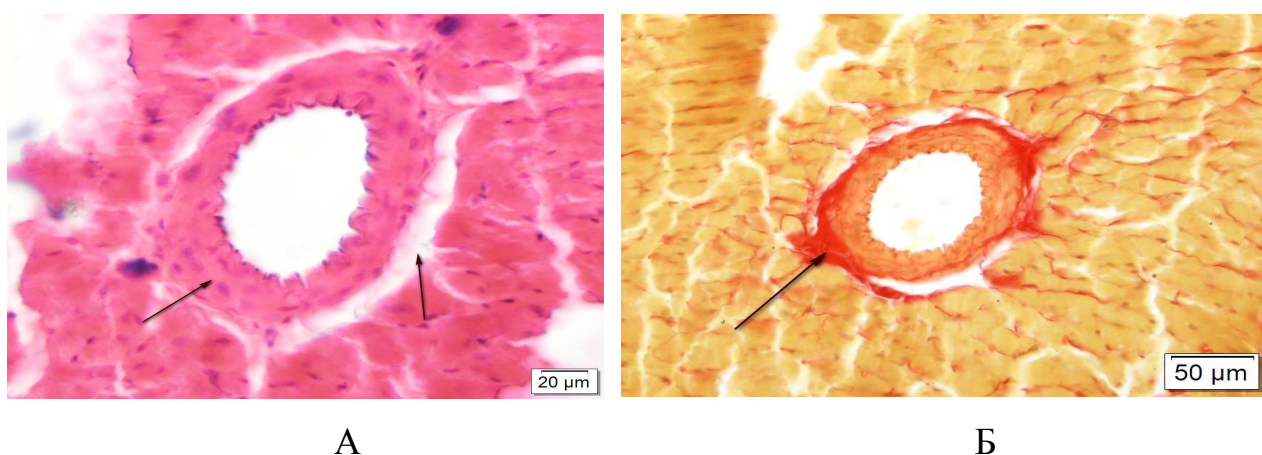


Рис. 7.31. Ділянки міокарда лівого шлуночка старих щурів з АГ на 30 добу після введення ЯВК КК: А – потовщена стінка судини і периваскулярний набряк. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$; Б – осередковий кардіосклероз. Забарвлення пікросиріусом червоним, $\times 200$.

Крім того, в міокарді виявляли ділянки з незначними структурними судинними змінами (рис. 7.31, А). Спостерігали периваскулярний набряк і кардіосклероз, повнокров'я крупних судин (рис. 7.31, Б). Судинний просвіт мав правильну форму, про що свідчила будова внутрішньої еластичної мембрани.

Аналіз морфометричних даних на 30 добу після введення старим щурам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК показав, що параметри кількості і розмірів ядер кардіоміоцитів, а також кількість капілярів поверталися до показників контрольних тварин (див. табл. 7.2) [311, 312].

Таким чином, гістоморфометричні ознаки розвитку репаративних процесів в ушкоджених ділянках міокарда старих гіпертензивних щурів на фоні введення кріоконсервованих ЯВК КК були більш вираженими в порівнянні зі старими гіпертензивними тваринами. Компенсація функції міокарда досягалася не тільки за рахунок збільшення кількості і розмірів ядер кардіоміоцитів, а й завдяки активації процесів утворення нових судин шляхом неоангіогенезу. Це підтверджувалося підвищенням щільності фіброblastів в інтерстиції міокарда і навколо кровоносних судин. Морфометричні параметри кількості і розмірів ядер кардіоміоцитів і кількості капілярів поверталися до показників контрольних тварин.

З огляду на вищевикладене можна припустити, що гістологічні прояви морфофункціональних порушень, які спостерігали у молодих і старих гіпертензивних щурів, повністю підтверджують адекватність обраної методики моделювання АГ. На фоні введення кріоконсервованих ЯВК КК структура міокарда відновлюється. Покращується трофіка тканин, зникають дистрофічні і деструктивні зміни як в результаті неоангіогенезу, так і за рахунок активації репаративних процесів.

За результатами даного дослідження опубліковані такі роботи: [310, 311, 312].

РОЗДІЛ 8

ОЦІНКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ЗІ СТРЕС ІНДУКОВАНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ

8.1. Оцінка ліпідного профілю сироватки крові експериментальних тварин.

Прогноз хворих АГ в значній мірі визначається наявністю додаткових факторів ризику, серед яких велику роль грає дисліпідемія. Згідно зі статистикою порушення ліпідного обміну зустрічаються у 40-85 % пацієнтів із АГ [313, 314]. При поєднанні АГ та дисліпідемії ризик розвитку ішемічної хвороби серця збільшується в 8 разів, а раптової смерті в 10 раз [315]. Встановлено прямий зв'язок між рівнем загального холестерину та смертністю від серцево-судинної патології у хворих АГ [316]. Можна не сумніватися наявності тісного взаємозв'язку між метаболічними порушеннями та кардіоваскулярними захворюваннями [317, 318].

Холестерин виводиться з жовчю в незміненому вигляді або у вигляді продуктів його метаболізму - жовчних кислот.

Ліпіди нерозчинні у воді, вони транспортуються плазмою в комплексі із білками. Основним переносником жирних кислот є альбумін, інші ліпіди циркулюють у вигляді комплексів із специфічними білками (апобілки або апопротеїни) і називаються ліпопротеїнами. За своїми фізичними властивостями ліпопротеїни сироватки крові поділяються на фракції, які розрізняються по щільності. Це – хіломікрони (ХМ), холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності (ХСЛПДНЩ), холестерин ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ), холестерин ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЩ), тригліцериди (ТГ).

ХМ переносять екзогенні, тобто харчові жири з кишковика в периферичні тканини. Вони потрапляють в лімфу та досягають системної циркуляції через грудну протоку.

Тригліцериди складають приблизно 90 %, що входять до їх складу ліпідів. Вони звільняються з ХМ під дією ферменту ліпопротеїдліпази ендотелію капілярів жирової тканини, серцевої і скелетних м'язів і лактуючої молочної залози, надходять в ці тканини, де служать джерелом вільних жирних кислот, які використовуються як енергетичні субстрати або депонуються як енергетичні запаси.

ХСЛПНЩ («поганий холестерин») - транспортують холестерин з печінки в периферичні тканини. Вони є головними переносниками загального холестерину (ЗХ) в формі його ефірів, який відіграє певну роль у патогенезі розвитку атеросклерозу.

ХСЛПВЩ («хороший холестерин») - синтезуються в печінці і пов'язаний зі зворотним транспортом холестерину від периферичних тканин в печінку, звідки він може виводитися.

Важливе діагностичне значення має визначення коефіцієнта атерогенності (КА), який показує співвідношення «шкідливого» і «корисного» холестерина в сироватці крові.

Як зазначалося, тяжкість перебігу АГ тісно пов'язана з розвитком дисліпідемії. У хворих з АГ вона проявляється підвищенням рівня ХСЛПДНЩ та зниженням рівня ХСЛПВЩ. Зміст ХСЛПНЩ зазвичай залишається в межах норми або злегка підвищеним [314]. Однак, навіть незначне підвищення концентрації фракції ХСЛПНЩ, є фактором для атерогенного процесу і збільшує ризик розвитку серцево-судинних ускладнень у хворих з АГ [316].

Визначення рівня ліпідів у молодих щурів через 3 доби після розвитку АГ (табл. 8.1.), показало достовірне збільшення ТГ, ДГ, ХСЛПНЩ і КА. Причому на тлі збільшення атерогенних фракцій ліпідів одночасно підвищувався і рівень ХСЛПВЩ. Збільшення вмісту вільних жирів в

сироватці крові молодих тварин призводило до негайного підвищення їх переносника (ХСЛПВЩ) до місця трансформації, тобто до печінки. КА був достовірно вище, ніж у контрольних тварин. Це вказує на те, що стрес-індукована АГ посилює атерогенний ризик.

Таблиця 8.1.

Ліпідний профіль молодих щурів з АГ до і після введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Група	Стат. показ.	ХСЛПВЩ ммоль/л	ТГ ммоль/л	Холестерин ммоль/л	КА	ХСЛПДНЩ ммоль/л	ХСЛПНЩ ммоль/л
Контроль (інтакт)	X S _x	1,11 0,19	0,53 0,03	3,67 0,08	2,67 0,08	0,24 0,01	2,33 0,18
3 доби з АГ	X S _x	2,29 0,14*	0,87 0,09*	5,98 0,82*	4,98 0,82*	0,39 0,04	3,30 0,95*
7 діб з АГ	X S _x	1,27 0,42	0,90 0,25*	4,35 0,22*	3,35 0,22*	0,41 0,11*	2,68 0,46
1 місяць з АГ	X S _x	2,00 0,13*	2,52 0,29*	4,43 0,08*	3,43 0,08*	1,13 0,13*	1,30 0,05
3 доби після введення ЯВК КК	X S _x	1,49 0,29	1,16 0,25*	3,48 0,11	2,48 0,11	0,52 0,11	1,47 0,39
7 діб після введення ЯВК КК	X S _x	1,19 0,27	1,13 0,14*	4,14 0,12	3,14 0,12	0,51 0,06	2,45 0,11
Місяць після введення ЯВК КК	X S _x	1,61 0,37	0,67 0,09	4,14 0,10	3,14 0,10	0,30 0,04	2,22 0,47

Примітка. * – статистично значущі відмінності від контрольної групи

($p \leq 0,05$); АГ – артеріальна гіпертензія; ЯВК КК – кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові; ХСЛПВЩ – холестерин ліпопротеїнів високої щільності; ТГ – тригліцериди; КА – коефіцієнт атерогенності; ХСЛПДНЩ – холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності; ХСЛПНЩ – холестерин ліпопротеїнів низької щільності.

На 7 добу відбувалося наростання рівня ТГ, знижувався ХСЛПВЩ, вміст інших фракцій ліпідів відповідав попередньому терміну спостереження. Через місяць показники ліпідогамми мали аналогічну тенденцію як на 3-тю так і на 7-му добу після розвитку стійкої АГ.

На 3-тю і 7-му доби після введення молодим щурам кріоконсервованих ЯВК КК (табл. 8.1.), спостерігалось достовірне зниження рівня ТГ. Нормалізувався КА і зміст ЗХ в сироватці крові. Через місяць ліпідний профіль молодих тварин з АГ відповідав показникам контрольних щурів.

На 3 добу після розвитку стрес-індукованої АГ у старих тварин (табл. 8.2.) відзначалися достовірні зміни ліпідного складу сироватки крові. Спостерігалось підвищення рівня ТГ, ХСЛПДНЩ та ХСЛПНЩ, що може вказувати на активацію енергетичного забезпечення організму при стресі. Також мало місце достовірне підвищення ЗХ. Такі зміни ліпідного складу крові в стані стреса цілком зрозумілі [316]. Рівень ХСЛПВЩ був достовірно нижче, ніж у інтактних тварин. Ця фракція ліпідів крові відповідає за зворотний транспорт холестерину від периферичних тканин в печінку. При стресі цей процес менш активний. Відповідно таке співвідношення ліпідів в сироватці крові призводить до підвищення КА і зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності.

Через 7 діб після розвитку АГ рівень ТГ залишався достовірно високим, так само відбувалося достовірне підвищення ЗХ, ХСЛПНЩ, ХСЛПДНЩ та КА [318], тобто збільшувалася кількість ліпідів і тих фракцій ліпопротеїнів, які беруть участь в перенесенні холестерину та тригліцеридів від печінки до периферичних тканин.

Рівень ХСЛПВЩ підвищувався, однак, по відношенню до інших фракцій це збільшення було істотним. Відзначалася патологічна гіперліпідемія, яка згодом може приводити до атеросклеротичних змін в судинах.

Таблиця 8.2.

Ліпідний профіль старих щурів з АГ до і після введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Група	Стат. показ	ХСЛП ВП ммоль/ л	ТГ ммоль/ л	Холе- стерин ммоль/л	КА	ХСЛПД НЩ ммоль/л	ХСЛПН Щ ммоль/л
Контроль (інтакт)	X	1,69	0,67	3,65	2,65	0,30	1,65
	S _x	0,14	0,03	0,27	0,27	0,01	0,17
3 доби з АГ	X	0,40	1,24	4,40	3,40	0,56	3,45
	S _x	0,08*	0,06*	0,18*	0,18*	0,03*	0,27*
7 діб з АГ	X	2,04	2,48	5,27	4,27	1,12	2,12
	S _x	0,13*	0,27*	0,1*	0,14*	0,12*	0,17*
1 місяць з АГ	X	1,47	1,34	4,48	3,48	0,60	2,40
	S _x	0,11	0,06*	0,09*	0,09	0,03*	0,12*
3 доби після введення ЯВК КК	X	1,36	1,26	2,82	1,82	0,57	0,90
	S _x	0,23	0,30*	0,24	0,24	0,13*	0,35
7 діб після введення ЯВК КК	X	1,97	0,91	3,79	2,79	0,41	1,41
	S _x	0,35	0,12	0,19	0,19	0,05	0,38
Місяць після введення ЯВК КК	X	3,23	0,54	4,15	3,15	0,24	0,68
	S _x	0,41*	0,09	0,21	0,21	0,04	0,21*

Примітка. * – статистично значущі відмінності від контрольної групи

($p \leq 0,05$); АГ – артеріальна гіпертензія; ЯВК КК – кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові; ХСЛПВЩ – холестерин ліпопротеїнів високої щільності; ТГ – тригліцериди; КА – коефіцієнт атерогенності; ХСЛПДНЩ – холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності; ХСЛПНЩ – холестерин ліпопротеїнів низької щільності.

Через місяць після розвитку АГ рівень атерогенних фракцій ліпідів в крові тварин залишався достовірно високим, що підтверджує прогресування патологічного процесу.

Введення ЯВК КК експериментальним старим тваринам на тлі стрес-індукованої АГ супроводжувалося змінами ліпідного профілю сироватки крові (табл. 8.2).

На 3 добу після введення ЯВК КК залишався високим рівень тільки ТГ, інші показники ліпідного гомеостазу наближалися до показників контрольних тварин. Через 7 днів стан ліпідного профілю повністю відповідав значенням контрольних тварин. Через місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК зазначалося достовірне підвищення ХСЛПВЩ та зниження ХСЛПНЩ щодо контролю.

При впливі на організм стресових факторів, його відповідні неспецифічні реакції, перш за все, спрямовані на стимуляцію енергетичного забезпечення пристосувальних процесів [32]. Провідну роль в цих реакціях відіграють катехоламіни і глюкокортикоїди, які в значних кількостях виділяються в кров. Активуючи катаболічні процеси, ці гормони ведуть до гіперглікемії, однієї з початкових реакцій субстратного енергозабезпечення. Як наслідок гіперглікемії на деякий час відбувається і підвищення рівня інсуліну в крові [319].

У зв'язку з вище сказаним, була проведена оцінка динаміки зміни вмісту глюкози в сироватці крові молодих і старих щурів на тлі із АГ та після застосування кріоконсервованих ЯВК КК.

У тварин з АГ не було виявлено статистично значущих змін концентрації глюкози в жодній з вікових груп (табл. 8.3.). Ймовірно, стрес-індукована гіперглікемія виникала значно раніше, ніж на 3 добу після розвитку патології (точка першого забору крові), а в подальшому спостерігалось незначне зниження її рівня, що пов'язано з підвищенням рівня інсуліну при стресі, у відповідь на підвищення глюкози і відповідно посиленням її утилізації [32].

Таблиця 8.3.

Вміст глюкози в сироватці крові молодих і старих щурів з АГ до та після введення ЯВК КК.

Група	Глюкоза ммоль/л	
	Старі щури	Молоді щури
Контроль (інтактні тварини)	4,99±0,32	4,44±0,04
3 доби - модель АГ	3,23±0,10	3,93±0,54
7 діб - модель АГ	3,66±0,19	3,94±0,35
1 місяць - модель АГ	3,91±0,12	3,32±0,25
3 доби після введення ЯВК КК	3,99±0,10	4,03±0,05
7 діб після введення ЯВК КК	4,29±0,18	4,49±0,28
Місяць після введення ЯВК КК	3,79±0,27	3,69±0,21

Примітка. АГ – артеріальна гіпертензія; ЯВК КК – кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові.

Введення кріоконсервованих ЯВК КК так само не змінювало рівень глюкози в сироватці крові щурів різних вікових груп з АГ (табл. 8.3.). У молодих тварин показники залишалися близькими до рівня контрольних. Деякі коливання не мали суттєвих відмінностей і знаходилися в межах фізіологічної норми. Вірогідно, використана нами методика моделювання АГ супроводжується виникненням первинної (есенціальної) АГ та не призводить до розвитку стійкої гіперглікемії у тварин.

Таким чином, у молодих і старих тварин при стрес-індукованій АГ відбувається зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності. Знижується рівень ліпопротеїнів високої щільності на тлі підвищення рівнів загального холестерину, ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності, коефіцієнта атерогенності. При цьому АГ не призводить до гіперглікемії у експериментальних тварин в досліджувані терміни і не залежить від віку. Введення кріоконсервованих ЯВК КК супроводжується нормалізацією концентрації ліпідів в сироватці крові щурів з АГ. Має місце підвищення рівня ліпопротеїнів високої щільності при зниженні ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності. Дані зміни найбільш виражені в групі старих тварин.

На підставі отриманих результатів можна припустити, що застосування кріоконсервованих ЯВК КК нівелювало зміни показників ліпідного профілю, які спостерігалися на тлі стрес-індукованої АГ, а самі клітини мають антиатерогенну дію і здатні суттєво покращувати реологічні властивості крові [320, 321, 322, 323].

Дані проведених нами експериментальних досліджень узгоджуються з даними літератури про ефективність застосування кордової крові людини з метою зниження прояву ураження ССС і відновлення функції нервової системи [23].

8.2. Рівень тиреоїдних гормонів і зміст кінцевих продуктів обміну NO в сироватці крові щурів при стрес-індукованій артеріальній гіпертензії та після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові.

В даний час вивчено більшість молекулярних і клітинних механізмів, відповідальних за серцево-судинні ефекти гормонів щитоподібної залози.

Біологічний вплив гормонів щитоподібної залози здійснюється шляхом регуляції білкового синтезу. Першим етапом в механізмі дії є зв'язування гормону з відповідними рецепторами, які були виявлені на мембранах міокардіальних клітин [324]. Основні ефекти впливу на кардіоміоцити

забезпечуються на рівні ядра клітини. Активна форма трийодтироніна здатна безпосередньо посилювати синтез кардіоспецифічних білків і тим самим забезпечувати посилення скорочувальної функції серця. Також є відомості і про позаядерні дії гормонів безпосередньо на цитоплазматичну мембрану і органели клітини. Встановлено, що трийодтиронін (Т3) і в меншій мірі тироксин (Т4) здатні збільшувати щільність β -адреноблокаторів на поверхні клітин серцевого м'яза [325]. Одне з перших проявів впливу гормонів щитоподібної залози на серце та периферичні судини включає зменшення загального периферичного судинного опору, збільшення частоти серцевих скорочень в спокої, лівошлуночкової скоротливості та об'єму крові [326]. Стрес як неспецифічна реакція пристосування і компенсації, може супроводжуватися активацією гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи, приводячи до зростання в крові концентрації тиреоїдних гормонів.

При підвищеному рівні гормонів збільшується серцевий викид, систолічний тиск крові, частота серцевих скорочень, скоротність міокарда. Тому в наших експериментальних дослідженнях доцільним уявлялося було вивчено яким чином, АГ викликана емоційним стресом, впливає на концентрацію тиреоїдних гормонів в сироватці крові тварин різних вікових груп.

На початкових етапах розвитку АГ (через 3 доби) нами не виявлено достовірних відмінностей у змісті гормонів щитоподібної залози в сироватці крові 6 і 28-30 місячних щурів. У ці терміни концентрація Т3 і Т4 відповідала контрольним значенням (табл. 8.4).

Встановлено (табл. 8.4.), що стрес-індукована АГ призводить до підвищення рівня тиреоїдних гормонів у старих щурів на сьому добу і через місяць після виникнення патології. У молодих тварин таке збільшення спостерігається у віддалені терміни (через місяць після розвитку АГ).

Очевидно, гіперфункція щитоподібної залози, що виникає у відповідь на пошкодження тканин і судин на тлі АГ викликаного стресом, є неспецифічною реакцією компенсації, оскільки тиреоїдні гормони, завдяки

стимуляції синтезу білків, сприяють клітинним регенеративним процесам і репарації пошкоджених структур.

Таблиця 8.4.

Рівень тиреоїдних гормонів в сироватці крові молодих і старих щурів з АГ до та після введення ЯВК КК

Група	Т3 нмоль/л	Т4 нмоль/л	Т3 нмоль/л	Т4 нмоль/л
	Старі щури		Молоді щури	
Контроль (інтактні тварини)	1,21±0,07	55,94±0,85	1,42±0,07	57,34±2,13
3 доби - модель АГ	2,74±0,18	54,36±1,42	1,86±0,29	68,92±2,97
7 діб - модель АГ	3,16±0,07*	71,00±2,71*	1,60±0,23	69,18±2,88
1 місяць - модель АГ	2,10±0,28*	69,14±0,67*	2,64±0,07	72,24±2,56*
3 доби після введення ЯВК КК	1,02±0,07	54,46±1,63	2,32±0,18	60,82±4,67
7 діб після введення ЯВК КК	1,72±0,20	61,74±3,05	2,40±0,29	61,30±1,79
Місяць після введення ЯВК КК	1,26±0,10	60,28±2,96	1,74±1,18	65,84±4,72

Примітка. * – статистично значущі відмінності від контрольної групи ($p \leq 0,05$); АГ – артеріальна гіпертензія; ЯВК КК – кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові.

Після введення молодим і старим щурам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК (через 3 доби, тиждень і місяць) спостерігається нівелювання змін

тиреоїдного статусу. Молоді гіпертензивні тварини, після застосування кріоконсервованих ЯВК КК, реагують незначним підвищенням тиреоїдних гормонів в рамках фізіологічної норми.

Таким чином, розвиток стрес-індукованої АГ пов'язане з порушеннями тиреоїдного статусу, які мають ряд особливостей в залежності від стадії захворювання та віку експериментальних тварин. Для старих щурів характерно найбільш виражене в порівнянні з контролем збільшення вмісту в крові обох форм тиреоїдних гормонів. У міру прогресування АГ відзначається підвищення концентрації Т4 в сироватці молодих щурів за рахунок компенсаторного зростання секреції гормонів щитоподібної залози. Введення тваринам з АГ різних вікових груп кріоконсервованих ЯВК КК супроводжувалося нормалізацією гормонального гомеостазу. З огляду на провідну роль тиреоїдних гормонів в регуляції загального гомеостазу та адаптації організму, корекція виявлених порушень гормонального статусу після застосування препарату може бути одним із значущих чинників, що сприяють підвищенню функціональних резервів і адаптаційних можливостей гіпертензивних щурів.

Оксид азоту (NO) є універсальним фактором регуляції фізіологічних систем і генетичного апарату клітин і грає виключно важливу роль в механізмах формування стрес-реакції і адаптації організму до стресу [327-330].

При системній дії стресу на організм надзвичайно необхідним є адаптивний ефект, здатний забезпечувати передачу енергетичних і структурних ресурсів функціональній системі, яка здійснює цю адаптаційну реакцію. Одним з найбільш важливих факторів перерозподілу ресурсів є локальна за своєю формою «робоча гіперемія» в органах, відповідальних за адаптацію, яка веде одночасно до звуження судин «неактивних органів» [75, 331-333]. Домінуюча роль у розвитку даного адаптивного ефекту належить синтезу NO в стінках судин.

При короткочасних і помірних стресорних впливах продукція NO збільшується, що сприяє нівелюванню констрикторного ефекту гормонів [327]. На тлі надмірної та тривалої стрес-реакції (особливо викликаній емоційним стресом) вироблення NO істотно знижується, підвищується концентрація адреналіну, вазопресину, що може викликати десенсибілізацію β -адреноблокаторів, активувати α -адренорецептори та інші кальцій мобілізуючі рецептори [334-337]. Дані зміни супроводжуються виникненням спазмів коронарних судин, а також розвитком стресогенних гіпертензивних станів.

NO є основним вазоділататором, що перешкоджає тонічному скороченню судин нейронального, ендокринного або локального походження [79, 338, 339]. У фізіологічних умовах переважає звільнення релаксуючих факторів. Різні ССЗ знижують здатність ендотеліальних клітин виділяти дані фактори, тоді як реакція судинозвужувальних факторів зберігається або збільшується, тобто формується стан, обумовлений як дисфункція ендотелію [106, 111, 340-342]. Ендотеліальна дисфункція виявляється вже на ранніх стадіях хвороби. Ендотелій відіграє важливу роль в регуляції судинної архітекτονіки і тривалі зміни судинного стресу можуть опосередковувати судинне ремоделювання. У цей процес втягується перебудову компонентів судинної стінки, тобто ендотеліальних і гладком'язових клітин, колагенового матриксу [17].

NO дуже лабільна молекула, час напіврозпаду якого становить всього декілька секунд. Він регулює нирковий та кардіоваскулярний гомеостаз, є есенціальним агентом для зв'язку між різними типами клітин, складових ССС.

У нормі NO постійно залучений в адаптацію судинної системи до підвищених метаболічних потреб, фізичних навантажень. При патологічних станах надлишок NO відповідає за збільшення периферичної вазоділяції, а нестача призводить до важких захворювань, включаючи АГ, ішемічну хворобу серця та атеросклероз.

Визначення кінцевих метаболітів - нітритів і нітратів, які розглядаються як стійкі кінцеві продукти NO, набуло широкого поширення в експериментальних і клінічних роботах для оцінки загального синтезу NO.

Нами встановлено, що у молодих щурів на 3 добу після розвитку стійкої АГ в сироватці крові спостерігалось підвищення вмісту сумарних метаболітів NO (СМ NO) (табл. 8.5.). Можна припустити, що початкове підвищення СМ NO є компенсаторною реакцією організму тварин на стрес.

Через сім діб та місяць після розвитку АГ мало місце достовірне зниження рівня СМ NO.

Таблиця 8.5.

Концентрація сумарних метаболітів NO в сироватці крові молодих і старих щурів з АГ до і після введення ЯВК КК (мкМ/л).

Група	старі	молоді
Контроль (інтактні тварни)	14,13±0,69	17,12±1,23
3 доби з АГ	33,9±4,24*	19,90±0,75*
7 діб з АГ	13,00±0,86*	14,40±1,65*
1 місяць з АГ	12,80±0,88	13,70±0,97
3 доби після введення ЯВК КК	18,77±2,60*	20,29±1,23*
7 діб після введення ЯВК КК	19,83±3,39	17,87±0,86
Місяць після введення ЯВК КК	17,94±1,74*	17,51±1,90

Примітка. * – статистично значущі відмінності від контрольної групи ($p \leq 0,05$); АГ – артеріальна гіпертензія; ЯВК КК – кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові.

Вже через 3 доби після введення молодим тваринам зі стрес-індукованої АГ кріоконсервованих ЯВК КК (табл. 8.5.) значно підвищувався вміст СМ NO в сироватці крові.

На 7 добу і через місяць після введення ЯВК КК рівень NO відповідав контрольним показникам.

При дослідженні рівня СМ NO в сироватці крові було виявлено, що у старих тварин через 3 доби після розвитку АГ відбувалося більш істотне, в порівнянні з молодими щурами, достовірне підвищення цього показника (практично в два рази) (табл. 8.5.).

На 7 добу після розвитку АГ рівень СМ NO різко знижувався, що може свідчити про інгібування NO-синтази внаслідок прогресування патологічного стану та масованого утворення NO в ранні терміни виникнення захворювання.

Через місяць концентрація СМ NO в сироватці крові старих тварин зі стрес-індукованої АГ була достовірно нижче значень контрольних тварин (табл.8.5.). Отримані експериментальні дані свідчать про наявність стійкого патологічного процесу і неможливості організму реагувати за допомогою утворення NO на вазодилатацію судин.

Через 3 доби після введення старим гіпертензивним тваринам кріоконсервованих ЯВК КК кількість СМ NO в сироватці крові були достовірно вище контрольних показників (табл.8.5.).

На 7 добу і через місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК, рівень СМ NO в сироватці крові старих щурів був достовірно вище по відношенню до контролю (табл.8.5.). На підставі отриманих експериментальних даних можна припустити, що введення старим тваринам з АГ кріоконсервованого препарату ЯВК КК здатне стимулювати вироблення NO-синтази, у відповідь на стресорні впливи, внаслідок чого утворення NO відбувається поступово, не виснажуючи резерви судинного ендотелію [343, 344,345].

Таким чином, активність оксиду азоту, який є патогенетичним регуляторним фактором, істотно знижується у молодих і старих щурів на тлі невrogenної стрес–індукованої АГ. Очевидно, що в зв'язку з розвиваючимися дистрофічними процесами ендотелію судин у тварин з АГ здатність клітин до синтезу NO знижена.

Встановлено, що введення експериментальним тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК супроводжується підвищенням вмісту нітритів в сироватці крові, що на нашу думку є позитивним фактором, оскільки спрямоване на корекцію дисбалансу системи локальної регуляції гомеостазу та судинного тону́су. Виявлені зміни є фізіологічно значимими, оскільки необхідні для поліпшення функцій та трофіки судин міокарда.

За результатами даного дослідження опубліковані наступні роботи: [320, 321, 322, 323, 343, 344, 345].

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Кріотехнології в даний час знайшли широке застосування для вирішення ряду важливих медико-біологічних задач і дозволили розробити унікальні методи довгострокового зберігання в низькотемпературних банках клітин, тканин і інших біологічних об'єктів зі збереженням їх життєздатності і функціональної повноцінності. У регенеративної медицини для відновлення функцій органів і тканин використовуються клітинні препарати плацентарного комплексу [1-4]. Особливий інтерес представляє КК та її компоненти. КК є унікальною субстанцією з різноспрямованою біологічною активністю. Відмінною особливістю КК є те, що вона багата стовбуровими гемопоетичними клітинами-попередниками (ГСК). Застосування КК ефективно при лікуванні ряду захворювань, в патогенезі яких провідну роль відіграє зниження компенсаторно-захисних механізмів організму [5-8].

У науковій і клінічній практиці накопичена значна інформація про позитивний вплив КК як на різні органи, системи, так і на організм в цілому [9-11]. Встановлено плюріпотентність і висока пластичність гемопоетичних стовбурових клітин кордової крові (ГСК КК), що дозволило розглядати їх як потенційне джерело для клітинної терапії широкого спектра захворювань, в тому числі і кардіологічних.

Есенціальна АГ відноситься до числа найбільш поширених захворювань серцево-судинної системи. Вона є одним з провідних факторів, що призводять до інвалідизації та зменшення тривалості життя людей працездатного віку.

Незважаючи на існування великої кількості препаратів, призначених для зниження АТ, на певних етапах медикаментозної терапії виникають значні перешкоди в досягненні очікуваного лікувального ефекту, пов'язані з побічною їх дією, наявністю факторів навколишнього середовища, які потенціюють прогресування АГ. Тому актуальним залишається пошук нових методів терапевтичного впливу на організм як цілісну систему. Особливий

інтерес представляє можливість корекції вище описаних порушень за допомогою застосування препаратів отриманих з КК.

Оскільки ефективність застосування препаратів КК в клінічній практиці визначається не тільки достатньою кількістю ЯВК та ГСК, але і їх структурно-функціональною повноцінністю після розморожування, нами була проведена оцінка структурно-функціональної повноцінності та життєздатності ЯВК КК до та після кріоконсервування.

Результати досліджень по визначенню кількості збережених ЯВК після виділення за допомогою поліглюкіну (ПГ) свідчать, що даний метод дозволяє виділяти із КК до 80 % ЯВК (CD45⁺-клітин) і до 90 % ГСК (CD34⁺-клітин). Після заморожування-відігрівання збереженість CD45⁺-клітин становила $(81,2 \pm 3,7) \%$ і CD34⁺ $(89,2 \pm 4,1) \%$ від їх початкової кількості в концентраті.

Оцінка життєздатності ЯВК КК, у тому числі й ГСК, після заморожування-відігрівання показали, що використана нами технологія кріоконсервування, яка включає виділення клітин у ПГ із подальшим заморожуванням під захистом 5 %-го ДМСО, забезпечує їх високу збереженість і життєздатність. При використанні даної технології кріоконсервування життєздатними залишалося $(82,7 \pm 2,9) \%$ CD45⁺-клітин (рис. 1, Б; 2, В). Показник життєздатності CD34⁺-клітин був вище і становив $(93,5 \pm 2,9) \%$ (рис. 2, В), що свідчить про більшу їх кріостійкість.

Оцінка популяційного складу ЯВК КК показала, що після виділення клітин за допомогою ПГ процентне співвідношення моноцитів, лімфоцитів і гранулоцитів практично не змінювалося порівняно з показником цільної кордової крові. Дослідження кожної популяції ЯВК після заморожування-відігрівання встановило, що збереженими залишалося до $(97 \pm 4,2) \%$ лімфоцитів і до $(94 \pm 3,9) \%$ моноцитів. Для гранулоцитів даний показник був значно меншим $(67,8 \pm 3,3) \%$.

Результати оцінки життєздатності популяцій ЯВК після заморожування-відігрівання свідчать, що даний показник для лімфоцитів і

моноцитів, кріоконсервованих за обраною нами технологією, залишався на високому рівні і був понад 95 % (рис. 3). Кількість життєздатних гранулоцитів зменшувалася і становила $(69,8 \pm 3,7)$ %. Це свідчить про те, що зниження життєздатності і збереження загальної популяції ЯВК відбувається в основному за рахунок гранулоцитів.

Після культивування клітин КК нами відзначена досить висока їх функціональна і клоногенна активність як до, так і після кріоконсервування. Клітини утворювали колонії, що мають еритроїдну (CFU-E і BFU-E), гранулоцитарну (CFU-G), макрофагальну (CFU-M), гранулоцитарно-макрофагальну (CFU-GM) і змішану (CFU-GEMM) морфологію. Це характерно для ГСК і клітин-попередників гемопоетичного ряду (рис. 4). Загальна кількість колоній до та після кріоконсервування змінювалася незначно і становила $(228,6 \pm 31,4)$ і $(247,6 \pm 36,8)$ відповідно.

Таким чином, результати досліджень свідчать про те, що використання технології кріоконсервування ЯВК, у тому числі й ГСК, яка включає виділення клітин ПГ із подальшим їх заморожуванням з 5 %-м ДМСО за спеціальною багатоетапною програмою, дозволяє зберігати не тільки досить високу кількість ЯВК КК і ГСК КК, але й їх структурно-функціональну повноцінність.

При вивченні особливостей дії кріоконсервованих ЯВК КК і плазми КК на стан вегетативної регуляції серцевого ритму у молодих і старих щурів нами показано, що на наступну добу і через 3 дні після застосування ЯВК КК у молодих щурів значення загальної спектральної потужності значно зростали в порівнянні з контролем. Підйом ТР був результатом підвищення функціонального стану вегетативних центрів за рахунок активації симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, в той час як рівень активності гуморальної регуляції залишався незмінним.

Через тиждень після введення кріоконсервованих ЯВК КК незначно зростав внесок гуморального ланки регуляції в структуру загальної потужності спектра. Тонус симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС

практично не змінювався. У віддалені терміни спостереження ще більш істотне зростання загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції був наслідком активації гуморальної ланки регуляції.

Позитивним моментом, на нашу думку, є той факт, що підйом спектральної потужності, був результатом активації діяльності як вегетативних центрів (підвищення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС), так і гуморальної ланки регуляції.

На наступну добу і через 3 дні після введення молодим тваринам плазми кордової крові значення загальної спектральної потужності зростали в порівнянні з контролем. Відзначалася значна активація симпатичної і парасимпатичної ланки регуляції. Поряд із зазначеними змінами рівень гуморально-метаболических впливів відповідав вихідним показникам.

Через тиждень і місяць після застосування плазми КК загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції знижувалася в порівнянні з попередніми термінами спостережень і відповідала контрольним значенням. На даних етапах експериментальних досліджень зменшувалася активність вегетативних центрів.

У старих щурів на наступну добу і через 3 дні після введення кріоконсервованих ЯВК КК значення загальної спектральної потужності зростали. У структурі спектра переважала активність вегетативних центрів, в той час як гуморально-метаболический вплив на міокард достовірно підвищувався тільки на 3 добу після введення ЯВК КК. Збільшувався тонуус симпатичного і ще більшою мірою парасимпатичного відділу ВНС.

Через тиждень після застосування кріоконсервованих ЯВК КК загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції істотно зростала у порівнянні, як з контролем, так і попередніми термінами експериментальних досліджень. Її зростання було результатом активації гуморальної ланки регуляції. Крім того, підвищувалася активність парасимпатичного відділу ВНС.

Через місяць після введення ЯВК КК показники ТР зростали і значно перевищували контрольні значення. Відзначалося істотне підвищення функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС.

Цей факт дає можливість припустити, що у старих тварин на тлі введення ЯВК КК збільшується тонус вищих вегетативних центрів автономної нервової системи, яка є найбільш розвиненим і швидким шляхом реалізації ефектів нейрогуморальної регуляції.

Введення старим щурам плазми кордової крові супроводжувалося схожою динамікою зміни показників спектрального аналізу ВСР зазначеної нами у молодих тварин.

На наступну добу і через 3 доби після застосування плазми значення загальної спектральної потужності збільшувалося в порівнянні з контролем в основному за рахунок підвищення тону ВНС, а також гуморальної ланки регуляції.

У віддалені терміни спостереження (через тиждень і місяць після введення плазми) загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції знижувалася до рівня вихідних показників. У цей період досліджень в її структурі зменшувалася активність вегетативних центрів і гуморальної ланки регуляції.

Таким чином, ефект дії плазми кордової крові найбільш розгорнуто проявляється на початкових етапах експериментальних досліджень і нівелюється у віддалені терміни, в той час як кріоконсервовані ЯВК КК надають тривалий позитивний вплив на стан вегетативної регуляції серцевого ритму, тим самим істотно підвищуючи функціональні можливості організму тварин незалежно від їх віку.

Оскільки патогенез АГ, особливо на початкових етапах, тісно пов'язаний з розвитком вегетативних дисфункцій, вивчено вплив кріоконсервованих ЯВК КК на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції і показники АТ у молодих і старих щурів з АГ.

Встановлено, що у молодих щурів зі стрес-індукованою АГ значення загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції істотно знижувалося в порівнянні з контрольними тваринами без гіпертензії. Дані зміни були чітко виражені як через 3 доби і тиждень від початку моделювання АГ, так і через тиждень і місяць після розвитку даного патологічного стану. У вищевказані терміни відзначалося значне зменшення активності вегетативної регуляції серцевого ритму, а також спостерігалася тенденція до зниження гуморально-метаболических впливів. Через місяць після розвитку стійкої гіпертензії показники ТР зростали по відношенню до попередніх термінів, однак залишалися значно нижче контрольних.

Через 3 доби після введення молодим тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК відзначалося збільшення загальної спектральної потужності до контрольних значень. Її зростання було результатом підвищення тону симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС на тлі практично не змінної гуморальної регуляції. Аналогічні показники ТР мали місце через 1 і 2 тижні після введення ЯВК КК, однак, відзначалася динаміка збільшення гуморально-метаболических впливів на серцевий ритм.

У віддалені терміни спостереження у молодих щурів з АГ (3 тижні і місяць після введення ЯВК КК) рівень загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції істотно зростав не тільки щодо попередніх етапів експериментальних досліджень, а й по відношенню до показників контролю.

Проведений спектральний аналіз ВСР у старих щурів через 3 доби, тиждень і місяць після розвитку стійкої гіпертензії показав, що рівень загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції зменшувався щодо інтактних старих тварин. Мало місце зниження симпатичної і гуморально-метаболическої регуляції відповідно.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму у старих гіпертензивних щурів на тлі введення кріоконсервованих ЯВК КК продемонстрував істотне зростання ТР завдяки синхронній активації всіх регуляторних ланок організму експериментальних тварин. У структурі спектра більшою мірою

переважав тонус симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС, а також простежувалася динаміка збільшення гуморально-метаболических впливів. Дані зміни були яскраво виражені як через 3 доби і тиждень після введення ЯВК КК, так і у віддалені терміни (через 2, 3 тижні і місяць після введення).

Таким чином, як у молодих, так і у старих тварин розвиток патологічного стану супроводжується різким зниженням всіх досліджуваних параметрів ВСР. На початкових етапах експериментальних досліджень спостерігається надлишковий тонус симпатико-адреналової системи. У міру прогресування АГ вегетативне забезпечення серцевої діяльності здійснюється за рахунок переходу регуляції на повільний гуморально-метаболический рівень.

Після введення гіпертензивним щурам різних вікових груп кріоконсервованих ЯВК КК має місце активація ВНС і гуморальної ланки регуляції. Дані зміни, на нашу думку, є фізіологічно значимими, оскільки гомеостатичні властивості цілісного організму є результатом одночасної дії багатьох складно організованих регуляторних механізмів, серед яких одне з важливих місць займає вегетативна регуляція, що забезпечує сталість рівнів обміну речовин і енергії в організмі, окремих органах і тканинах.

З огляду на той факт, що регуляція АТ при стресі, перш за все, обумовлена тісним взаємозв'язком нервових і гуморальних механізмів, нами проаналізовано динаміку змін показників АТ у молодих і старих щурів зі стрес-індукованої АГ до і після введення кріоконсервованих ЯВК КК.

Встановлено, що у контрольних молодих і старих тварин значення АТ відповідало $(99,72 \pm 3,57)$ та $(103,92 \pm 2,96)$ мм рт.ст. відповідно. Через тиждень від початку моделювання АГ у молодих та старих тварин показник АТ був стабільно високим $(161,98 \pm 5,47)$ та $(179,25 \pm 2,29)$ мм рт.ст. відповідно

На 3 добу після розвитку стійкої АГ у молодих і старих тварин зберігався достовірно високий рівень АТ по відношенню до контролю, що на

нашу думку пов'язано з підвищеним тонусом симпатoadреналової системи, яка має потужну вазопресорну дію.

Через тиждень і місяць після розвитку АГ, цифри АТ залишалися достовірно високими (як у молодих, так і у старих щурів), що підтверджує наявність стійкого патологічного процесу і адекватність обраної методики моделювання АГ.

Через 3 доби після введення молодим тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК показники АТ мали тенденцію до зниження відносно групи гіпертензивних щурів, але залишалися достовірно вище контрольних значень.

На 7 добу і через місяць після введення ЯВК КК рівень АТ знижувався і відповідав контрольним значенням.

У старих тварин через 3 доби після введення кріоконсервованих ЯВК КК, показники АТ були вище контрольних значень, і відповідали рівню гіпертензивних щурів.

На 7 добу після введення ЯВК КК цифри АТ залишалися вище контрольних і знижувалися щодо тварин з АГ.

Через місяць після введення кріоконсервованих ЯВК КК щурам даної вікової групи, рівень АТ достовірно знижувався щодо групи гіпертензивних тварин і практично відповідав контрольним показникам.

При електронно-мікроскопічному дослідженні кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих тварин з АГ виявлялися дистрофічні і деструктивні зміни органел, які в початковий термін розвитку АГ протікали по компенсаторно-адаптаційному типу.

Через місяць дистрофічні процеси в окремих кардіоміоцитах переходили в деструктивну фазу. Ядерна мембрана утворювала дрібні інвагінації, її структура була розпушена. Виявлялися осередки лізису ядерної мембрани. У саркоплазмі були присутні включення ліпідів, спостерігалася невелика кількість полісом, рибосом і гранул глікогену. Окремі кардіоміоцити містили витончені пучки міофібрил. Зустрічалися мітохондрії

з осередками лізису зовнішніх мембран і крист. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів були присутні поодинокі мікропіноцитозні пухирці, вторинні лізосоми і включення ліпідів. Виявлені особливості свідчили про розвиток біоенергетичної недостатності і порушення скоротливої здатності кардіоміоцитів.

Після введення молодим і старим гіпертензивним щурам кріоконсервованих ЯВК КК спостерігалася тенденція до відновлення типової ультраструктури кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів. Були відсутні осередки лізису ядерної мембрани, збільшувалася кількість крист в мітохондріях, підвищувався число рибосом, полісом, і гранул глікогену. У відростках ендотеліоцитів з'являлися мікропіноцитозні пухирці, що свідчило про підвищення функціональної активності міокарда і трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів. Таким чином, введення молодим і старим гіпертензивним тваринам кріоконсервованих ЯВК КК здатне підвищувати скоротливу здатність міокарда за рахунок нормалізації внутрішньоклітинної біоенергетики, тісно пов'язаної з мітохондріями.

Під час гістологічного дослідження структури серця молодих гіпертензивних щурів встановлено, що протягом місяця після розвитку АГ мало місце прогресуюче порушення кровообігу, дистрофічні і деструктивні зміни м'язових волокон міокарда. Підвищення АТ супроводжувалося плазматичним пропитуванням стінок артерій і артеріол, розвивалося мукоїдне набухання (різновид стромально-судинної дистрофії) яке до 30 діб трансформувалося в фібриноїдне набухання і фібриноїдний некроз стінок судин з наступними крововиливами. Виявлялися морфологічні ознаки осередкової ішемії міокарда, а також спазм артеріальних судин, парез венозних судин і капілярів, периваскулярний набряк і склероз.

Після введення кріоконсервованих ЯВК КК в міокарді молодих щурів з АГ структурні прояви периваскулярного і інтерстиціального набряку зменшувалися. Підвищувалася щільність фіброblastів в інтерстиціальній

сполучній тканини і навколо кровоносних судин, були відсутні ділянки з ознаками осередкової ішемії міокарда та кардіосклерозу. Ці компенсаторні процеси супроводжувалися неоангіогенезом як шляхом брунькування, так і шляхом аутогенеза.

У міокарді старих гіпертензивних щурів структурні порушення вказували на прогресуючий характер деструктивних змін. За поширеністю і ступенем прояву вони значно перевершували пошкодження серцевого м'яза, які спостерігалися у молодих тварин. Наявність дистрофічних і некротичних змін, які свідчать про порушення коронарного кровообігу, що підтверджувалося: спазмом артеріальних судин, парезом венозних судин і капілярів, порушенням цілісності судинної стінки з виходом плазми і клітин крові за межі судинного русла, периваскулярним і інтерстиціальним набряками, склерозом. Зазначалося порушення функціонування скорочувальних м'язових волокон.

На фоні введення старим тваринам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК виявлялися ознаки розвитку і репаративних процесів в пошкоджених ділянках міокарда. Компенсація функції міокарда досягалася не тільки за рахунок збільшення кількості і розмірів ядер кардіоміоцитів, а й завдяки активації процесів утворення нових судин шляхом неоангіогенезу. Це підтверджувалося підвищенням щільності фібробластів, в інтерстиції міокарда і навколо кровоносних судин. Отже, гістологічні прояви морфофункціональних порушень, які спостерігаються у молодих і старих гіпертензивних щурів, повністю підтверджують адекватність обраної методики моделювання АГ. Після введення кріоконсервованих ЯВК КК структура міокарда відновлюється. Поліпшується трофіка тканин, зникають дистрофічні і деструктивні зміни як в результаті неоангіогенезу, так і за рахунок активації репаративних процесів.

Тяжкість перебігу АГ в значній мірі визначається наявністю додаткових факторів ризику серед яких велику роль грає дисліпідемія.

У молодих і старих тварин при стрес-індукованої АГ відбувається зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності. Знижується рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності на тлі підвищення рівня загального холестерину, тригліцеридів, холестерину ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності, коефіцієнта атерогенності. Відзначається патологічна гіперліпідемія, яка згодом може приводити до атеросклеротичних змін судин.

Введення молодим і старим гіпертензивним щурам кріоконсервованих ЯВК КК нівелює зміни показників ліпідного профілю, які спостерігаються при АГ, а самі клітини мають антиатерогенну дію.

Стрес як неспецифічна реакція пристосування і компенсації, може супроводжуватися активацією гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи, приводячи до зростання в крові концентрації тиреоїдних гормонів.

Показано, що стрес-індукована АГ призводить до підвищення рівня тиреоїдних гормонів в сироватці крові молодих тварин через місяць, а у старих щурів вже на 7 добу після виникнення патології. Очевидно, гіперфункція щитоподібної залози, що виникає у відповідь на пошкодження тканин і судин при гіпертензії викликаній стресом, є неспецифічною реакцією компенсації, оскільки тиреоїдні гормони, завдяки стимуляції синтезу білків, сприяють клітинним регенеративним процесам і репарації пошкоджених структур.

Через місяць після введення молодим і старим щурам з АГ кріоконсервованих ЯВК КК зазначається нормалізація тиреоїдного статусу. Тварини реагують незначним збільшенням концентрації тиреоїдних гормонів сироватки крові в рамках фізіологічної норми. З огляду на провідну роль гормонів щитоподібної залози в регуляції загального гомеостазу організму, корекція виявлених порушень гормонального статусу після використання ЯВК КК є одним із значущих чинників, що сприяють підвищенню функціональних резервів і адаптаційних можливостей гіпертензивних щурів.

Оксид азоту NO є універсальним фактором регуляції фізіологічних систем і генетичного апарату клітин і грає виключно важливу роль в механізмах формування стрес-реакції і адаптації організму до стресу. Безліч захворювань серцево-судинної системи, у розвитку яких стрес відіграє ключову роль, характеризуються зниженням вироблення NO ендотелієм.

Нами встановлено, що активність оксиду азоту, як патогенетичного регуляторного фактора, істотно знижується у молодих і старих щурів на тлі стрес - індукованої АГ. Очевидно, що в зв'язку з розвитком дистрофічних процесів ендотелія судин у гіпертензивних тварин здатність клітин до синтезу NO зменшується.

Застосування кріоконсервованих ЯВК КК призводить до збільшення вмісту нітритів в сироватці крові експериментальних тварин, що доцільно для нормалізації дисбалансу системи локальної регуляції гомеостазу та судинного тонусу.

Таким чином, проведені експериментальні дослідження по вивченню механізмів впливу кріоконсервованих ЯВК КК на структурно-функціональний стан серцево-судинної системи обґрунтовують доцільність їх застосування з метою корекції порушеного гомеостазу у тварин різних вікових груп при експериментальній стрес-індукованій АГ.

Введення тваринам з АГ незалежно від їх віку кріоконсервованих ЯВК КК підвищує тонус симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, активує метаболічні процеси на субмікроскопічному рівні, покращує реологічні властивості і біохімічні показники сироватки крові, що сприяє нормалізації показників АТ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання – розробка нових методів корекції структурно-функціональних порушень ССС на моделі стрес-індукованої АГ у молодих і старих щурів.

На підставі результатів аналізу електрофізіологічних, морфофункціональних, гістологічних, біохімічних показників тварин різних вікових груп зі стрес-індукованою АГ обґрунтовано доцільність і ефективність застосування кЯВК КК з метою відновлення структурно-функціональних порушень ССС.

1. Показано, що кріоконсервування ЯВК КК, в тому числі й стовбурових гемопоетичних, під захистом кріопротектора ДМСО в концентрації 5 % після виділення в поліглюкіні дозволяє зберігати у життєздатному стані більше 80 % $CD45^{+}$ і більше 90 % $CD34^{+}$ -клітин. Колонієутворююча активність клітин після кріоконсервування за даним методом була на досить високому рівні і не відрізнялася від контрольних значень, що свідчить про їх функціональну повноцінність. Зміни популяційного складу ЯВК КК до та після кріоконсервування свідчать про високу кріостійкість лімфоцитів і моноцитів (життєздатність більше 95 %), а зменшення основної кількості загальної популяції ЯВК КК та показника їх життєздатності відбувалося за рахунок гранулоцитів.

2. Використання у експериментальних тварин модифікованої методики моделювання стрес-індукованої АГ призводить до стійкого підвищення показників АТ, розвитку виражених структурних і ультраструктурних змін ССС, порушень вегетативної регуляції серцевого ритму, ліпідного профілю, тиреоїдного статусу та активності оксиду азоту.

3. При порівняльному аналізі ефективності застосування кЯВК КК і плазми КК встановлено, що введення кЯВК КК має тривалий позитивний вплив на стан вегетативної регуляції серцевого ритму, тим самим істотно підвищуючи функціональні можливості організму тварин незалежно від віку.

Ефект дії плазми КК найбільш виражено проявляється на початкових етапах після введення і нівелюється у віддалені терміни спостережень. Показано, що внаслідок розвитку АГ різко знижуються всі досліджувані параметри ВСР. Під час прогресування патології вегетативне забезпечення серцевої діяльності здійснюється за рахунок переходу регуляції на повільний гуморально-метаболічний рівень. Після введення гіпертензивним щурам кЯВК КК активується ВНС і гуморальна ланка регуляції та нормалізуються показники АТ.

4. Результати електронно-мікроскопічного дослідження кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих тварин із моделлю стрес-індукованої АГ свідчать про наявність дистрофічних процесів в органелах із елементами деструкції мембран. Після застосування кЯВК КК на електронограмах відзначаються перебудови компенсаторного характеру: підвищується скорочувальна здатність міокарда за рахунок нормалізації внутрішньоклітинної біоенергетики, яка тісно пов'язана з мітохондріями. Зменшується ступінь прояву дегенеративних змін у тканинах і судинах міокарда.

5. Під час гістологічного дослідження тканин і судин міокарда молодих і старих тварин з АГ виявлено ознаки розвитку дистрофічних і деструктивних змін м'язових волокон: спазм артеріальних судин, парез венозних судин і капілярів, порушення цілісності судинної стінки, периваскулярний та інтерстиціальний набряк, кардіосклероз. Після введення кЯВК КК виявляються ознаки відновлення структури міокарда: покращення трофіки тканин, зникнення дистрофічних і деструктивних змін як в результаті процесу неоангіогенезу, так і за рахунок активації репаративних процесів.

6. Встановлено, що у щурів різних вікових груп внаслідок стрес-індукованої АГ зміщується ліпідний профіль в бік атерогенності, спостерігаються порушення тиреоїдного статусу. Після введення кЯВК КК нормалізуються ліпідний гомеостаз, рівень тиреоїдних гормонів,

підвищується вміст нітритів у сироватці крові, що сприяє відновленню балансу системи локальної регуляції гомеостазу та судинного тону.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбрио-фетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения. *Проблемы криобиологии*. 2002. № 1. С. 54–58.
2. Гольцев А.Н., Калиниченко Т.А. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть II. Иммунологическая характеристика. *Проблемы криобиологии*. 1998. № 1. С. 3–24.
3. Грищенко В.И., Прокопюк О.С. Перспективы и возможности использования плацентарной крови. *Медицинские вести*. 1997. № 4. С. 26–27.
4. Гемопоэтические стволовые клетки кордовой крови: новые методы выделения и криоконсервирования. Л.А. Бабийчук, В.В. Рязанцев, О.Л.Зубова и др. *Трансплантологія*. 2007. Т. 9, № 1. С. 13–15.
5. Mayani H. Biological differences between neonatal and adult human hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cells Dev*. 2010. Т. 3, Vol. 19. P. 285–298.
6. Gluckman E. History of cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2009. Vol. 10. P. 621–626.
7. Смолянинов А.Б. Клеточные и генные технологии в кардиологии. СПб.: СпецЛит, 2009. 175 с.
8. Ballen K.K., Gluckman E., Broxmeyer H.E. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. *Blood*. 2013. V.122, № 4. P.491–498.
9. Глюкман Э.Д. Пуповинная кровь как альтернативный источник гемопоэтических стволовых клеток для трансплантации. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011. Т.6, № 1. С. 12–14.
10. Клеточная терапия сердечной недостаточности: клинический опыт, проблемы и перспективы / Т.Н. Кочегура, А.Ю. Ефименко, Ж.А. Акопян и

др. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010. Т. 5, № 2. С. 11–18.

11. Сурков К.Г., Белова Л.А., Красников В.К. Доклиническое исследование отечественного препарата стволовых клеток пуповинной крови «Криоцелл». *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006. Т.3, № 1. С. 74–78.

12. Чазов Е.И. Руководство по кардиологии. Болезни сердца и сосудов. Т. 4. Издат.: Медицина, 1982. 608с.

13. Малая Л.Т., Горб К.Г. Хроническая сердечная недостаточность. Достижения, проблемы, перспективы. Харьков: Торсинг, 2002. 768 с.

14. Коваль С.Н., Божко В.В., Снегурская И.А. Современные представления о возможности прогнозирования течения артериальной гипертензии при метаболическом синдроме. *Артериальная гипертензия*. 2012. Т. 26, № 6. С. 34–39.

15. Ланг Г.Ф. Гипертоническая болезнь. Л.: Медгиз, 1950. 496 с.

16. Мясников А.Л. Гипертоническая болезнь. М.: Медгиз., 1954. 392 с.

17. Дроздова И.В., Дроздов В. А. Психозэмоциональный стресс как фактор риска у больных с артериальной гипертензией. *Международный медицинский журнал*. 2008. Т. 14, № 3. С. 39–44.

18. Коваленко В.М., Сіренко Ю.М., Радченко Г.Д. Стрес та виникнення артеріальної гіпертензії: що відомо. *Артериальная гипертензия*. 2014. Т. 36, № 4. С. 9–20.

19. Mancia G., Parati G. Reactivity to physical and behavioral stress and blood pressure variability in hypertension. *Handbook of hypertension*. 1987. Vol. 9. P. 104–122.

20. Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса. М.: 1981. 254с.

21. Смулевич А.Б., Сыркин А.Л. Психокardiология. МИА, 2005. 778 с

22. Шляхто Е.В., Конради А.О., Цырлин В.А. Вегетативная нервная система и артериальная гипертензия. Санкт-Петербург: Мед. изд-во, 2008. 312 с.
23. Барабой В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы. К.: Фитосоциоцентр, 2006. 424 с.
24. Виноградов В.В. Стресс и патология. Издат.: РУП «Издательский дом», 2007. 352 с.
25. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, 1936. Vol. 138. 32 p.
26. Селье Г. На уровне целого организма: Пер. с англ. Москва: Наука, 1972. 123 с.
27. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. *Пат. физиол. и эксперим. терапия*. 2000. № 3. С. 20–26.
28. Теряева Н.Б. Стресс: метаболические основы адаптации и патология сердечно-сосудистой системы. *Креативная кардиология*. 2008. № 1. С. 24–30.
29. Chikanza I.C., Grossman A.B. Reciprocal interaction between the neuroendocrine and immune system during inflammation. *Rheumatic Dis. Clinics North Amer.* 2000. Vol. 26, № 4. P. 1240–1254.
30. Epstein J., Breslow M.J. The stress response of critical illness. *Crit. Care Clin.* 1999. Vol. 15. P. 17–33.
31. Weinmann M. Stress-induced hormonal alterations. *Crit. Care Clin.* 2001. Vol. 17, № 1. P. 33–49.
32. Эверли Дж.С., Розенфельд Р. Стресс: природа и лечение. М.: Медицина. 1985. 224 с.
33. Селье Г. Концепция стресса как мы ее представляем в 1976 году. Новое о гормонах и механизме их действия / Под ред. Р. Е. Кавецкого и др. – К.: Наукова думка, 1977. С. 27–51.
34. Резников Г. Эндокринологические аспекты стресса. *Международный эндокринологический журнал*. 2007. Т. 10, № 4. С.103–111.

35. Кеннон В. Телесные изменения при боли, голоде, страхе и ярости / пер. с англ. Л.: Рабочее изд-во «Прибой», 1927. 175 с.
36. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии / СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2000. 677 с.
37. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. Актуальные проблемы патофизиологии: Избр. лекции. Москва, 2001. С. 220–353.
38. Судаков К.В., Юматов Е.А. Эмоциональный стресс в современной жизни. Москва, 1991. 216 с.
39. Селье Г. Стресс без дистресса. Рига.: Виета, 1992. 109с.
40. Бажанова Е.Д. Старение и морфофункциональные изменения гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 1995. Т. 31, № 1. С. 92–102.
41. Бажанова Е.Д., Данилова О.А., Черниговская Е.В. Реакция на стресс нонапептидергических центров у старых и молодых крыс. *Морфология*. 1996. Т. 110, № 5. С. 30–33.
42. Бажанова Е.Д., Черниговская Е.В., Данилова О.А. Гипоталамическая регуляция функций коры надпочечника у старых и молодых крыс. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 1998. Т.34, № 2. С. 233–239.
43. Aguilera G. Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress. *Neuroendocrinol.* 1994. Vol. 15. P. 321–350.
44. Гладкова А.І., Сидорова І.В., Істоміна Н.Є. Гормональний механізм порушення статеві поведінки щурів, зумовленої стресом у пубертатному періоді розвитку. *Фізіологічн. журн.* 1998. Т. 44, № 3. С.207–211.
45. Анищенко Т.Г. Половые аспекты стресса и адаптации. *Успехи современной биологии*. 1991. Т. 111. № 4. С. 460–475.
46. Активность моноаминергических систем гипоталамуса крыс при остром стрессе после хронического стрессирования / Д.В. Зарецкий, М.В.

Зарецкая, Л.М. Ливанова и др. *Ж. Высш. нерв. деят.* 1999. Т. 49, № 2. С. 313–320.

47. Хронический стресс увеличивает реактивность центральных депрессорных механизмов / Д.В.Зарецкий, М.В.Зарецкая, Л.М. Ливанова и др. *Рос. Физиол. Журн. им. И.М.Сеченова*. 1999. Т. 85, № 6. С. 819–825.

48. Бунова С.С. Влияние психоэмоциональной и нейрогуморальной дисфункции на течение гипертонической болезни. *Омский научный вестник*. 2008. Т. 65, № 1. С.41–48.

49. Судаков К.В. Доминирующая мотивация в механизмах условного рефлекса. *Журнал высш. нервн. деят.* 1999. Т. 49, № .6. С. 883–892.

50. Ведяев Ф.П., Воробьева Ф.П. Модели и механизмы эмоциональных стрессов. К.: Здоров'я, 1983. 136 с.

51. Профессиональный стресс и развитие стресс-индуцированной гипертонии / О.Н. Антропова, И.В.Осипова, Г.И. Симонова и др. *Кардиология*. 2009. Т. 49, № 6. С. 27–30.

52. Смулевич А.Б., Сыркин А.Л. Психокardiология. МИА, 2005. 778 с.

53. Медведев В.Э. Психические расстройства при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Медицина неотложных состояний*. 2011. Т. 32–33, №. 1–2.

54. Психосоматические соотношения при кризовом течении гипертонической болезни / В.Э. Медведев, Ф.Ю. Копылов, А.П. Троснова и др. *Психические расстройства в общей медицине*. 2007. Т.2, № 1. С. 10–13.

55. Погосова Г.В. Признание значимости психоэмоционального стресса в качестве сердечно-сосудистого риска первого порядка. *Кардиология*. 2007. Т. 47, № 2. С. 62–72.

56. Сидоров П.И., Соловьев А.Г., Новикова И.А. Психосоматическая медицина: Руководство для врачей. М.: МЕД пресс. – информ, 2006. 568 с.

57. Физиология человека: учебник / под ред. В.М. Покровского, Г.Ф. Коротько. М.: Медицина, 2003. 656 с

58. Julius S., Nesbitt S. Sympathetic overactivity in Hypertension. A moving target. *Am. J. Hypertens.* 1996. Vol. 9. P. 113–120.

59. Фролькис В.В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. Издат: Киев: «Наукова думка», 1981. 320 с.
60. Коваленко В.Н. Руководство по кардиологии. Издат: Морион, 2008. 1424 с.
61. Безруков В.В, Купраш Л.П. Фармакологический справочник по кардиологии. Издат: Киев, 2005. 144 с.
62. Ена Л.М., Ахаладзе Н.Г. Артериальная гипертензия в старости. *Артериальная гипертензия*. 2013. Т. 29, № 3. С.10–15.
63. Фролькис В.В. Стресс-возраст-синдром. *Физиол. журн*. 1991. № 3. С. 3–10.
64. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (4-й пересмотр). / Системные гипертензии. 2010. № 3. С. 3–25.
65. Сиренко Ю.Н. Гипертоническая болезнь и артериальные гипертензии. Донецк: Издат. Заславский А. Ю. 2011. 352 с.
66. Воронков Л.Г. Хроническая сердечная недостаточность. Киев; издат. ТОВ "Инфо-Ф, 2002. 136 с.
67. Chikanza I.C., Grossman A.B. Reciprocal interaction between the neuroendocrine and immune system during inflammation. *Reumatic Dis. Clinics North Amer*. 2000. Vol. 26, № 4. P. 1240–1254.
68. Desborough J.P. The stress response to trauma and surgery. *Brit. J. Anaesth*. 2000. Vol. 85, № 1. P. 109–117.
69. Weinmann M. Stress-induced hormonal alterations. *Crit. Care Clin*. 2001. Vol. 17, № 1. P. 33–49.
70. Epstein J., Breslow M.J. The stress response of critical illness. *Crit. Care Clin*. 1999. Vol. 15. P. 17–33.
71. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина, 1988. 252 с.
72. Теряев Н.Б. Стресс: метаболические основы адаптации и патология сердечно-сосудистой системы. *Креативная кардиология*. 2008. № 1. С. 24–30.

73. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Опиоидные пептиды, стресс и адаптационная защита сердца. Томск: Издат. Томского университета, 1994. 352 с.
74. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 272 с.
75. Пшенникова М.Г. Адаптация к физическим нагрузкам. Руководство по физиологии. Физиология адаптационных процессов. М. 1986. С. 124–221.
76. Малышев И.Ю., Манухин Е.Б. Стресс, адаптация оксид азота. *Биохимия*. 1998. Т. 63, № 7. С. 992–1006.
77. Рябов Г.А. Синдромы критических состояний. М.: Медицина, 1994.-351 с.
78. Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса. АМН СССР. М.: Медицина, 1981. 231 с.
79. Боярчук О.Д. Біохімія стресу. Луганськ. Вид-во «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2013. 177 с.
80. Серцево-судинні захворювання. Рекомендації з діагностики, профілактики та лікування. В.М. Коваленко, М.І. Лутая. – К.: МОРІОН, 2011. 400 с.
81. Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертонии и Всероссийского научного общества кардиологов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2010. Т.6, №7 прил. 2.
82. Кобалева Ж.Д., Котовская Ю.В., Моисеев В.С. Артериальная гипертензия. Ключи к диагностике и лечению. М.: ГЭОТАР. Медиа, 2009. 864 с.
83. Свищенко Е.П., Коваленко В. Н. Гипертоническая болезнь, вторичные гипертензии. Киев: «Либідь», 2002. 504 с.
84. Шляхто Е.В. Гипертоническая болезнь. Патогенез и прогрессирование с позиции нейрогенных механизмов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2003. № 2. С. 22–26.

85. Кобалёва Ж.Д., Моисеева В.С., Карпова Р.С. Артериальное давление в исследовательской и клинической практике. М.: Реафарм, 2004. 243 с.
86. Амосова Е.Н. Клиническая кардиология. Изд.: Здоров'я, 1998. 704 с.
87. Постнов Ю.В. К развитию мембранной концепции патогенеза первичной гипертензии. *Кардиология*. 2000. № 10. С. 4–10.
88. Волков В.С., Поселюгина О.Б. Эссенциальная артериальная гипертензия и артериальная гипертензия при метаболическом синдроме. *Клиническая медицина*. 2011. № 2. С.64–65.
89. Этиологические патогенетические факторы в развитии гипертензивных кризов у больных с первичной артериальной гипертензией / В.А. Люсов, Е.М. Евсеков, Ю.Я. Машукова и др. *Российский кардиологический журнал*. 2008. № 4. С.5–15.
90. Роль генетических факторов в развитии и патогенезе первичной артериальной гипертензии у молодых мужчин призывного возраста / В.А. Люсов, Е.М. Евсеков, Ю.Я. Машукова и др. *Российский кардиологический журнал*. 2007. № 3. С.6–17.
91. Коваль С.М., Снігурська І.О. Стрес-індукована артеріальна гіпертензія та артеріальна гіпертензія військового часу – грізні виклики сучасній Україні. *Артеріальна гипертензия*. 2015. Т. 43, № 5. С. 13–18.
92. Сидоров П.И., Новикова И.А. Ментальная медицина. М.: ГЭОТАР. Медиа, 2014. 728 с.
93. Мясников А.Л. Гипертензивная болезнь и атеросклероз. М.: Медицина, 1965 . - 615 с.
94. Черниговский В. Н. Прогнозы развития науки. Физиология висцеральных систем и механизмы регулирования их деятельности. Москва, 1972. 70 с.
95. Пат. 2409872 Российская Федерация, МПК G098B23/08 Способы моделирования стресс-индуцированной гипертензии / Анищенко Т.Г.; заявитель и патентообладатель Саратовский государственный университет

им. Н.Г.Чернышевского; заяв.09.07.09; опубл.20.01.11, Бюл. эксперим. биол. мед., 2007, Т. 143. № 2, С. 136–140.

96. Кобалева Ж.Д., Гудков К.М. Эволюция представлений о стресс-индуцированной артериальной гипертензии и применение антагонистов рецепторов ангиотензина 2. *Кардиоваскулярная патология и профилактика*. 2002. № 1. С. 4–15.

97. Зуйкова А.А. Динамика показателей математического анализа ритма и вторичных показателей вариационной пульсометрии с патологией сердечно-сосудистой системы. *Системный анализ и управление в биомедицинских системах*. 2005. Т.4, № 2. С. 94–98.

98. Основы кардиологии. Принципы и практика / Под ред. проф. Клива Розенфорда. – 2-е изд. Львов: Медицина світу, 2007. С. 735–761.

99. Sims A.S., Paton F.R., Pickering A.E. Pickering Hierarchical recruitment of the sympathetic and parasympathetic limbs of the baroreflex in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J. Physiol.* 2007. Vol. 579, № 2. P. 473–486.

100. Mann S.J. Neurogenic essential hypertension revisited the case for increased clinical and research attention. *Am. J. Hypertens.* 2003. № 16. P. 881–888.

101. Mann S.J. Psychosomatic research in hypertension the lack of impact of decades of research and new directions to consider. *J. Clin. Hypertens.* 2012. Vol. 10, № 4. P. 657–664.

102. Милославский Д.К. Эволюция взглядов на механизмы регуляции артериального давления и патогенетические факторы возникновения гипертонической болезни. *Український терапевтичний журнал*. 2015. № 4. С. 78–88.

103. Визир В.А., Волошина И.Н. Прогностическая значимость элевации нейроиммунных маркеров у больных с эссенциальной артериальной гипертензией и последствиями инфаркта мозга. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012. Т.15, № 4 (60). С. 85–90.

104. Герасимова А.С., Олейников В.Э., Елисеева И.В. Особенности течения артериальной гипертензии и поражение органов-мишеней при метаболическом синдроме. *Международный медицинский журнал*. 2008. № 3. С. 22–29.
105. Влияние гипертензии и метаболического синдрома на структуру и функции артерий / В.Э. Олейников, И.Б. Матросова, Е.И. Ястребова и др. *Международный медицинский журнал*. 2008. № 1. С. 56–62.
106. Функциональное состояние эндотелия у больных артериальной гипертензией и ИБС / Д.А. Затейщиков, Л.О. Минушкина, О.Ю. Кудряшова и др. *Кардиология*. 2000. № 6. С. 14–17.
107. Сторожаков Г.И., Верещагина Г.С., Малышева Н.В. Эндотелиальная дисфункция при артериальной гипертензии у пациентов пожилого возраста. *Клиническая геронтология*. 2003. № 1. С. 23–28.
108. Bachetti T. Endothelial dysfunction in chronic heart failure: some new basic mechanisms. *Ital. Heart J.* 2000. Vol. 10. P. 656–661.
109. Behrendt D., Gans P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am. J. Cardiol.* 2002. Vol. 21. P. 40–48.
110. Истощение репаративных процессов эндотелия как фактор развития атеросклероза / Ю.Ш. Шалимов, А.В. Бабак, В.В. Зацепин и др. *Клеточная и тканевая инженерия*. 2013. Т. 8, № 4. С. 29–32.
111. Корж А.Н. Значение эндотелиальной дисфункции в развитии заболеваний сердечно-сосудистой системы. *Международный медицинский журнал*. 2003. Т. 9, № 3. С. 10–14.
112. Безруков В.В., Сикало Н.В., Паримонова Г.И. Особливості розвитку вазоактивних реакцій у щурів з різною резистентністю до гіпоксії. *Кровообіг та гемостаз*. 2015. Т. 47-48, № 1-2. С. 62–64.
113. Белая Н.В. Механизмы ремоделирования миокарда при артериальной гипертензии. *Международный медицинский журнал*. 2006. № 2. С. 15–18.

114. Manabe I., Shindo T., Nagai R. Gene Expression in Fibroblasts and fibrosis. Involvement in Cardiac Hypertrony. *Circ. Res.* 2002. № 91. P.1103–1127.
115. D'Amiento J. Matrix metalloproteinase disruption of the extracellular matrix and cardiac dysfunction. *Trends Cardiovasc. Med.* 2002. № 12. P. 97–101.
116. Колесник М.Ю. Нарушения в системе оксида азота кардиомиоцитов у крыс со спонтанной гипертензией на фоне экспериментальной гипергликемии и атеросклероза. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012. Т.15, № 3 (ч. 1). С. 154–158.
117. Maisch B. Extracellular matrix and cardiac interstitium restriction is not a restricted phenomenon. *Herz.* 1995. № 20. P. 75–80.
118. Myofibroblast and mechano-regulation of connective tissue remodelling / J.J Tomasek, G. Gabbiani, B. Hins et al. *Nat.Rev.Mol.Cell.Biol.* 2002. № 3. P. 349–363.
119. Springer M.A. Therapeutic approaches for the modulation of angiogenesis. *Curr. Opin. Invest. Drugs.* 2006. № 7. P. 243–250.
120. Tirziu D., Simons M. Angiogenesis in the human heart: Gene and cell therapy. *Angiogenesis.* 2005. № 8. P. 241–251.
121. Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Перспективы генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. *Вопр. мед. хим.* 2000. № 46. P. 293–310.
122. Поиск новых "инструментов" для терапевтического ангиогенеза / Е.В. Парфенова, З.И. Цоколаева, Д.О. Трактеев и др. *Молекулярная медицина*. 2006. № 2. С. 10–23.
123. Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы. *Кардиологический вестник*. 2007. Т.2, № 2. С. 5–15.
124. Стромальные клетки жировой ткани – мультипотентные клетки с терапевтическим потенциалом для стимуляции ангиогенеза при ишемии тканей / Д.О. Трактеев, К.П. Марч, В.А. Ткачук и др. *Кардиология*. 2006. Т. 48, № 2. С. 53–63.

125. Коваль С.Н., Снегурская И.А., Мысниченко О.В. Семейство васкулоэндотелиального фактора роста и его возможная роль в патогенезе артериальных гипертензий. *Артериальная гипертензия*. 2012. Т.24, № 4. С. 85–93.
126. Вплив чинників серцево-судинного ризику на рівні васкулоендотеліального фактору росту у хворих на артеріальну гіпертензію з абдомінальним ожирінням та гіперурикемією / С.М. Коваль, І.О.Снігурська, М.Ю. Пенькова та ін. *Український терапевтичний журнал*. 2014. № 3. С.42–50.
127. Взаємозв'язки васкулоендотеліального фактору росту з клінічними, гемодинамічними та метаболічними показниками у хворих на гіпертонічну хворобу / С.М. Коваль, І.О. Снігурська, О.В. Мисниченко та ін. *Український терапевтичний журнал*. 2013. № 3. С. 46–51.
128. Shi Y., Clegg D. Stem cells research and therapeutics. *Springer*. 2008. 326 p.
129. Зуева Е.Е., Куртова А.В., Немков А.С. Постинфарктная клеточная регенерационная терапия сердечной мышцы. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006. Т.1, № 2. С. 35–43.
130. Бойцов С.А. Десять лет поиска генетической основы гипертонической болезни: трудности и перспективы. *Артериальная гипертензия*. 2002. Т. 8, № 5. С. 157–160.
131. Щепотин И.Б. Стволовые клетки: достижения, проблемы, перспективы. *Журнал НАМН України*. 2011. Т.17, № 1. С. 54–61.
132. Исаев А.А., Мелихова В.С. Применение клеток пуповинной крови в клинической практике. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2008. Т. 3, № 1. С. 34–43.
133. Knudtson S. In vitro growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood*. 1974. Vol. 43, № 3. P. 357–361.
134. Broxmeyer H.E. Insights into the biology of cord blood stem/progenitor cells. *Cell Prolif*. 2011. Suppl. 1. P. 55–59.

135. Coplan E.A. Hematopoietic stem cell transplantation. *N. Eng. J. Med.* 2006. № 354. P. 1813–1826.
136. Лечение рефрактерной стенокардии с использованием аутологичных стромальных стволовых клеток / В.К. Гринь, С.И. Эстрин, А.Г. Попандопало и др. *Журнал АМН України*. 2010. 16. Додаток. С. 43–44.
137. Медведєв С.П., Шевченко А.И., Закиян С.М. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: проблемы и перспективы применения в заместительной клеточной терапии. *Acta Naturae*. 2010. Т. 2. № 2. С. 18–28.
138. Застосування препарату «Гемокорд» у терапії хронічного гепатиту / І.І. Ломакін, В.Г.Бабійчук, О.В. Гайовий та ін. *Трансплантологія*. 2004. Т. 7, № 3. С. 311–313.
139. Abeliovich D., Doege C. Reprogramming therapeutics: Ips cell prospects for Neurodegenetative. *Neuron*. 2009. Vol. 61. P. 337–339.
140. Application of induced pluripotent stem cells in periodontal tissue regeneration / X. Duan, X. Tu, J. Zhang et al. *J. Cell Physiol.* 2011. Vol. 226, № 1. P. 150–157.
141. Generation of rat and human induced pluripotent stem cells combining genetic reprogramming and chemical inhibitors / W. Li, W. Wei, S.Z. Hui et al. *Stem Cell*. 2009. Vol. 4. P. 16–19.
142. Solanki A., Lee K. A step closer to complete chemical reprogramming for generating induced pluripotent stem cells nature. *Chembiochem*. 2010. Vol. 11, № 6. P. 755–757.
143. Wu J., Abraham M., Kraitchman D. Current perspectives on imaging cardiac stem cell therapy. *J. Nucl. Med.* 2010. Vol. 51, № 5. P. 128–136.
144. Myocardial substrate and route of administration determine acute cardiac retention and lung bio-distribution of cardiosphere-derived cells / M. Bonios, J. Terrovitis, Y. Connie et al. *J. of Nuclear cardiology*. 2011. T.3, Vol.18. P. 443–450.

145. Новицкий А.В., Фоминых М.С. Аллогенная трансплантация клеток пуповинной крови у больных с неходжкинскими лимфомами. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011. Т. 6, № 1. С. 31–35.
146. Владимирская Е.Б., Майорова О.А., Румянцев С.А. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками. М.: Медицина и здоровье, 2007. 392 с.
147. Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М. Эксперимент, теория, клиника. Эмбриональные, мезенхимальные, нейрональные и гемопоэтические стволовые клетки. Черновцы: Золоті литаври, 2004. 505 с.
148. Уфимцева А.И., Канов Е.В. Характеристика и ex vivo экспансия гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток пуповинной крови. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2012. Т. 7, № 4. С. 21–26.
149. Петренко А.Ю., Грищенко В.И. Трансплантация стволовых клеток – терапия XXI века. Характеристика и свойства стволовых клеток. *Проблемы криобиологии*. 2001. № 2. С. 3–12.
150. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 1995. 224 с.
151. Мадригал А. Иммунологические свойства пуповинной крови. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011. Т. 6, № 1. С. 17–19.
152. Blood Pressure Variability. Importance in Research and in Clinical Hypertension / P. Gianfranco, F. Alessandra, R. Marco et al. *Arq. Bras. Cardiol*. 1996. Vol. 67, № 2. P. 131–133.
153. Петренко А.Ю., Грищенко В.И. Трансплантация стволовых клеток – перспективное направление терапии XXI. Стволовые кроветворные клетки из разных источников. *Международный медицинский журнал*. 2003. № 1. С. 123–129.
154. Delaney C., Ratajczak M.Z., Laughlin M.J. Strategies to enhance umbilical cord blood stem cell engraftment in adult patients. *Exper.Rev. Hematol*. 2010. Т. 3, Vol. 3. P. 273–283.

155. Chao N.J., Emerson S.G., Weinberg M. Stem cell transplantation (cord blood transplant). Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. 2004. P. 354–371.
156. Searching for unrelated donor hematopoietic stem cells: availability and speed of umbilical cord blood versus bone marrow / J.N. Barker, T.P. Krepski, T.E. DeFor et al. *Biol. blood Marrow Transplant.* 2002. Vol.8. P. 257–262.
157. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells / H.E. Broxmeyer, G.W. Douglas, G. Hangoc et al. *PNAS USA.* 1989. T. 10, Vol. 86. P. 3828–3832.
158. Mayani H. Biological differences between neonatal and adult human hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cells Dev.* 2010. T.3, Vol.19. P. 285–298.
159. Elevated telomerase activity and minimal telomere loss in cord blood long-term cultures with extensive stem cell replication / L. Gammaioni, K.C. Weisel, M. Gunetti et al. *Blood.* 2004. T. 103, № 12. P. 4440–4448.
160. Phenotypic for functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes / D.T. Harris, M.J. Schumacher, J. Locascio et al. *PNAS USA.* 1992. T.21, Vol.89. P. 10006–10010.
161. Coexistent naïve phenotype and higher cycling rate of cord blood T cells as compared to adult peripheral blood / P. Szabolcs, K.D. Park, M. Reese et al. *Exp. Hematol.* 2003. Vol. 31. P. 708–714.
162. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors: Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group / E. Gluckman, V. Rocha, A. Boyer-Chammard et al. *N. Engl. J. Med.* 1997. Vol. 337. P. 373–381.
163. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD 34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival / J.E. Wagner, J.N. Barker, T.E. De For et al. *Blood.* 2002. Vol. 100.P. 161–168.

164. Структурно-функциональное состояние и жизнеспособность ядродержащих клеток кордовой крови после криоконсервирования / Л.А. Бабийчук, П.М. Зубов, О.А. Михайлова и др. *Научные ведомости БелГУ. Медицина. Фармация*. 2013. Т. 18, № 161. С.120–125.
165. Плацента – источник биологически активных веществ / Р.П. Морозова, Е.П. Козулина, И.А. Николенко и др. *Укр.биохим.журнал*. 1999. Т. 71, № 4. С. 21–29.
166. Говалло А.Н. Иммунологическая репродукция. М.: Медицина, 1987. – 304 с.
167. Лебедева Е.А., Беляевский А.Д., Белоусова М.Е. Эффекты эритропоэтина в клинике и эксперимента. *Фундаментальные исследования*. 2012. № 10. С. 157–161.
168. Павлов А.Д. Эритропоэтин: достижения и перспективы. *Гематология и трансфузиология*. 1997. № 1. С. 25–29.
169. Cord Blood Characteristics: Role in Stem Cell Transplantation / Shara B.A. Cohen, E. Glucman, P. Rubinstein, J.A. Madrigal et al. CRC. Press. 2000. 296 p.
170. Ширшев С.В. Белки фетоплацентарного комплекса в регуляции иммунных реакций. *Успехи современной биологии*. 1993. Т. 113. С. 230–237.
171. Гольцев А.Н., Калиниченко Т.А. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть II. Иммунологическая характеристика. *Проблемы криобиологии*. 1998. № 1. С. 3–24.
172. Создание криобанка пуповинной крови на основе новых технологий криоконсервирования / Л.А. Бабийчук, В.И. Грищенко, О.В. Кудогоцева и др. *Трансплантология*. 2007. Т. 9, № 1. С. 16–18.
173. Абдулкадыров К.М., Романенко Н.А. Организационные проблемы создания банка пуповинной крови. *Український журнал гематології та трансфузіології*. 2003. Т. 2, № 3. С. 49–53.

174. Blood pressure variability / G. Mancia, G. Parati, Di Rienzo et al. *Pathophysiology of hypertension*. 1997. Vol.17. P. 117–169.
175. Абдулкадыров К.М., Романенко Н.А. Заготовка плацентарной крови. Особенности ее клеточного состава и гемопоэтического потенциала. *Трансфузиология*. 2003. Т.4, № 1. С. 15–33.
176. Исследование образцов пуповинной крови общественного регистра доноров на наличие маркеров инфекционных агентов / А.Б. Смолянинов, О.Г. Хурцилава, Д.А. Иволгин и др. *Журнал инфектологии*. 2012. Т.4, № 2. С. 46–50.
177. Мелихова В.С., Исаев А.А. Клеточные популяции, выделяемые из пуповинно-плацентарного комплекса и перспективы их научно-практического использования. *Клеточная и тканевая инженерия*. 2007. Т. 2, №4. С. 31–38.
178. Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults / H.E Broxmeyer, G. Hangos, S. Cooperson et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992. Vol. 89. P. 4109–4113.
179. Hematopoietic transplant potential of unrelated cord blood critical issues / G. Kogler, J. Callejas, P. Hakenberg et al. *J. Hematother*. 1996. Vol. 5, № 2. P. 105–116.
180. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cell / H.E Broxmeyer, G.W. Douglas, G. Hangos et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. Vol. 86. P.3828–3832.
181. Umbilical cord blood separation: CD 34+ selection following the use of hetastrarch and soy bean agglutination / R. Agarwal, R. Meagher, P. Hurtubise et al. *Blood*. 1993. Vol. 82, Suppl.1. P. 14–20.
182. Гришина В.В. Разработка оптимальных методов криоконсервирования кроветворных клеток пуповинной крови человека для трансплантации. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006. Т. 3, № 1. С. 52–59.

183. Аблулкадыров К.М., Романенко Н.А., Старков Н.И. Получение и клиническое применение гемопоэтических стволовых клеток из пуповинной крови. *Вопросы онкологии*. 2000. Т. 46, № 3. С. 513–520.
184. Ограждающие растворы для криоконсервирования костного мозга / А.Г. Федотенков, И.Д. Шишкина, Л.Д. Данилова и др. *Гематология и трансфузиология*. 1992. Т. 46, № 7. С. 12–15.
185. Чуйков В.А. Механизм криозащитной эффективности и фармакологические свойства диметилсульфоксида. *Криобиология*. 1989. № 1. С. 3–10.
186. Campos L., Roubi N., Guyotal D. Definition of optimal conditions for collection and cryopreservation of umbilical cord hematopoietic cell. *Cryobiology*. 1995. Vol. 32, № 6. P. 511–515.
187. Optimal cryopreservation of human Umbilical cord blood / C. Donaldson, W.J. Armitage, P.A. Denning Kendale et al. *Bone Marrow Transplant*. 1996. Vol. 18, № 4. P. 725–731.
188. Мадригал А. Иммунологические свойства пуповинной крови. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011. Т. 6, № 1. С. 17–19.
189. Системный подход к обеспечению качества гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови для клинического применения / Е.В. Скоробогатова, Н.К. Шахпазян, Т.А. Астрелина и др. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2011. Т. 6, № 1. С. 11–12.
190. Новик А.А. Клеточная терапия. Москва: Медицинское информационное агентство, 2008. – 239 с.
191. Стволовые клетки и их применение для регенерации миокарда / Ю.Н. Беленков, Ф.Т. Агеев, В.Ю. Мареев и др. *Сердечная недостаточность*. 2003. Т. 4, № 4. С. 168–173.
192. Фундаментальные и прикладные аспекты клеточных технологий в кардиологии и кардиохирургии / С.В. Попов, В.В. Рябов, Т.Е. Суслова и др. *Бюллетень СО РАМН*. 2008. Т. 132, № 4. С. 5–15.

193. Бокерия Л.Я., Лищук В.А., Мосткова Е.В. Клеточные технологии в медицине. *Клиническая физиология кровообращения*. НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. 2005. № 2. С. 5–19.
194. Маслов Л.Н., Рябов В.В., Сазонова С.И. Клеточная трансплантология в лечении инфаркта миокарда, проблемы и перспективы. *Вестник и трансплантации и искусственных органов*. 2003. № 4. С. 78 –86.
195. Стволовые клетки и регенерация миокарда человека / А.В. Казаков, П. Мюллер, А.П. Бельтрани и др. *Кардиология*. 2005. № 11. С. 65–75.
196. Mathur F., Martin A. Stem cells and repair of the heart. *Lancet*. 2004. V. 364, № 9429. P.183–192.
197. Heart infarct in NOD-SCID mice: therapeutic vasculogenesis by transplantation of human CD34+ cells ad low dose D34+KDR+ cells / R. Botta, E. Gao, G. Stassi et al. *FASEB J*. 2004. Vol. 18. P.1392–1394.
198. Human umbilical cord blood mononuclear cells for treatment of acute myocardial infarction size / R.J. Henning, H. Abu-Ali, J.U. Balis et al. *Cell Transplant*. 2004. Vol. 13. P. 729–739.
199. Human umbilical cord blood cells improve cardiac function after myocardial infarction / Y. Hirata, M. Sata, N. Motomura et al. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005. Vol. 327. P. 609–614.
200. Cell transplantation improves ventricular function after a myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model. / B.O. Kim, H. Tian, K. Prasongsukarn et al. *Circulation*. 2006. T. 112, № 9. P. 196–1104.
201. Human umbilical cord blood-derived CD133+ cells enhance function and repair of the infarcted myocardium. / J. Leor, E. Guetta, M.S. Feinberg et al. *Stem Cells*. 2006. Vol. 24, № 3. P.772–780.
202. Embolization of the first diagonal branch of the left anterior descending coronary artery as a porcine model of chronic trans-mural myocardial

infarction / D.W. Hanes, Maelene L. Wong, W. Jenny Chang et al. *Journal of Translational Medicine*. 2015. № 13. P. 160–187.

203. Kinnaird T., Stabile E, Epstein S.E. Current perspectives in therapeutic myocardial angiogenesis. *J. Interv. Cardiol.* 2003. Vol. 16, № 4. P. 289–297.

204. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms / T. Kinnaird, E. Stabile, M.S. Burnett et al. *Circ. Res.* 2004. № 94. P. 25–31.

205. Granulocyte colony stimulating factor directly inhibits myocardial ischemia-reperfusion injury through Akt-endothelial NO synthase pathway / K. Veda, H. Takano, H. Hasegawa et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol 26, № 6. – P. 108–113.

206. Cell transplantation improves ventricular function after a myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model / B.O. Kim, H. Tian, K. Prasongsukarn et al. *Circulation*. 2006. Vol. 112, № 9. P. 196–204.

207. Combined cord blood cells and gene therapy enhances angiogenesis and improves cardiac performance in mouse after acute myocardial infarction. / H.K. Chen, H.F. Hung, K.G. Shyu et al. *Eur. J. Clin. Invest.* 2005. № 35. P. 677–686.

208. Клеточная терапия сердечной недостаточности: клинический опыт, проблемы и перспективы / Т.Н. Кочегура, А.Ю. Ефименко, Ж.А. Акопян и др. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010. Т. 5, № 2. С. 11–18.

209. Куртова А.В., Зуева Е.Е., Немков А.С. Постинфарктная клеточная регенерационная терапия сердечной мышцы. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006. Т. 2, № 4. С. 35–43.

210. Fukuda K. Development of regenerative cardiomyocytes from mesenchymal stem cells for cardiovascular tissue engineering. *Artificial. Organs.* – 2001. Т. 3, № 25. Р. 187–193.

211. Cardiac regeneration by resident stem and progenitor cell in the adult heart. / S. Lyngbaek, M. Scheider, J. L. Hansen et al. *Basic Res. Cardiol.* 2007. № 102. Р. 101–114.

212. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захарин, Б.В. Западнюк. Киев: Вища школа, 1983. 3-е изд. 383 с.

213. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. Москва: Практика, 1998. 459 с.

214. Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии. Горловка: ЧП «Видавництво ліхтар». 2008. 248 с.

215. Пат. № 67200 Україна, МПК⁷ G09B 23/28 Пристрій для моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії / Козлов О.В., Бабійчук Л.В., Бабійчук В.Г., Мамонтов В.В.; заявник та патентовласник ІПК і К НАН України. – № u20110821, заяв.: 29.06.2011, опубл. 10.02.2012. Бюл. № 3.

216. Шош Й. Неврогенная гипертензия. Моделирование заболеваний. М: Медицина, 1981. С. 246–247.

217. Пат. № 67199 Україна, МПК⁷ G09B 23/28 Спосіб моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії / Бабійчук Л.В., Бабійчук В.Г., Козлов О.В., Мамонтов В.В.; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. – № u201108117, заяв.: 29.06.2011, опубл. 10.02.2012. Бюл. № 3.

218. Пат. № 23499, Україна, МПК С 12 N 5/00. Спосіб виділення ядровмісних клітин кордової крові / Л.А. Бабійчук, В.І. Грищенко, В.В. Рязанцев та ін.; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. – № 200700585; заявл. 22.01.07; опубл. 25.05.07, Бюл. № 7.

219. Пат. № 92227, Україна, МПК А 01 N 1/02. Спосіб кріоконсервування ядровмісних клітин кордової крові, у тому числі

стовбурових гемопоетичних клітин / Л.О. Бабійчук, В.І. Грищенко, Т.М. Гуріна та ін.; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. – №200814009 заявл. 05.12.2008; опубл. 11.10.2010, Бюл. № 19.

220. Новые подходы к проблеме криоконсервирования гемопоэтических клеток кордовой крови человека / Л.А.Бабийчук, В.И. Грищенко, В.В. Рязанцев и др. *Укр. журнал гематології і трансфузіології*. 2005. №4(д). С. 122–123.

221. Basic Cell Culture. A Practical Approach / (Ed.by J.M. Davis). Oxford: Oxford University Press. 2002. 382 p.

222. Single platform flow cytometric absolute CD34+ cell count based on the ISHAGE guidelines / M. Keeney, I. Chin, Y.K. Weir et al. *J. Cytometry*. 1998. Vol. 34, № 2. P. 61–70.

223. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering / D.R. Sutherland, E. Anderson, M. Keeney et al. *J. of Hematotherapy*. 1996. Vol. 35. № 3. P. 213–226.

224. Dead cell discrimination with 7 – amino-actinomycin D in combination with dual color laser flow cytometry / I. Schmid, W.J. Krall, C.H. Uittenbogaart et al. *Cytometry*. 1992. Vol.13. P. 204–208.

225. Eaves C.J. Anatomy and physiology of hematopoiesis. In *Childhood leukemias* (2nd Edition) (CH Pui, ed.), Cambridge University Press. – Cambridge, 2006. P. 69–105.

226. Eaves C.J., Lambie K. Atlas of Human Hematopoietic Colonies, Stemcell Technologies Inc. Vancouver. 1995 (Catalog #28700) P. 20–72.

227. Кордовая кровь – альтернативный источник стволовых клеток для регенеративной медицины: новые подходы к проблеме криоконсервирования / Л.А.Бабийчук, О.В. Кудокочева, В.В. Рязанцев и др. *Буковинский медицинский вісник*. 2009. № 4.С. 23–26.

228. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. Руководство для врачей / А.Г.Румянцев, А.А. Масчан. М.: Медицинское информационное агентство «МИА», 2003. 910 с.
229. Куртова А.В., Зуева Е.Е. Количественный учет CD34+ гемопоэтических стволовых клеток в цельной пуповинной крови. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006. Т. 3. № 1. С. 66–71.
230. Михайлов В.М. Вариабельность ритма сердца: опыт практического применения метода. Иваново, 2002. 288 с.
231. Яблучанский Н.И., Мартыненко А.В., Исаева А.С. Основы практического применения неинвазивной технологии исследования регуляторных систем человека. Харьков: Основа, 2000. 86 с.
232. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of pacing and electro-physiology. *Eur. Heart J.* 1996. Vol. 17. P. 354–381.
233. Соболев А.В. Проблема количественной оценки ВРС при холтеровском мониторинговании. *Вест. аритмологии*. 2002. № 26. С. 21–25.
234. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat / M. Kuwahara, K. Yayou, K. Ishii et al. *J. Electrocardiol.* 1994. Т. 27, № 4 . P. 333–337.
235. Боголепов Н.Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга. М.: Медицина. 1976. 187 с.
236. Аминева Х.К., Митрофанова Л.Б. Номенклатура и атлас гистопатологии миокарда. Методическое пособие. Ст.-Петербург, 1994. 15 с.
237. Горбунов А.А. Соединительнотканый компонент миокарда: новый этап изучения давней проблемы. *Морфология*. 2007. Т. 1, № 4. С. 6–12.
238. Микроскопическая техника: Руководство / Под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. М.: Медицина, 1996. 544 с.

239. Friedewald W., Levy R., Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972. T.18, № 6. С. 499–502.

240. Тица Н.У. Энциклопедия клинических лабораторных тестов (пер. с англ. под редак. В.В. Меншикова), Москва: «Лабинформ», 1997. 128 с.

241. Physiology of thyroid hormones. IN: Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association: Drug Evaluations Annual 1995. Amer Med Assn, Chicago, 1995. T. 47. P. 1039–1040.

242. Cooper D.S. Subclinical thyroid disease a clinicians perspective. *Ann Intern Med.* 1998. Vol. 129. P. 135–138.

243. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке. Клиническая лабораторная диагностика. 2005. № 6. С. 15–18.

244. До клінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). За ред. О.В. Стефанова. Київ: Авіцена, 2001. 528 с.

245. Cell loss and recovery in umbilical cord blood processing: a comparison of postthaw and postwash samples / V. Laroche, D. McKenna, G. Moroff, T. Schierman et al. *Transfusion.* 2005. Vol. 45, T. 12. P. 1909–1916.

246. Гольцев А.Н., Луценко Е.Д. Криоконсервирование как возможный метод оценки роли компонентного состава миелотрансплантата в проявлении функциональной активности кроветворных клеток. *Проблемы криобиологии.* 1994. № 1. С. 3–13.

247. Cicuttini F.M., Loudovaris M., Boyd A.W. Interactions between purified human cord blood haematopoietic progenitor cells and accessory cells. *Br. J. Haematol.* – 1993. – Vol. 4, № 1. – P. 365–373.

248. Recovery of CFU-GM from cryopreserved marrow and in vivo evaluation after autologous bone marrow transplantation are predictive of engraftment / L. Douay, N.C. Gorin, J.J. Mary et al. *Exp. Hematol.* 1986. Vol. 14. P. 358–365.

249. Виявлення та характеристика плоских еритроїдних колоній у напівтвердих культуральних середовищах / М.Д. Кучма, В.А. Шаблій, В.М. Кирик, Г.М. Світіна та ін. *BIOTEXNOLOGIA ACNA*. 2014. V. 7. № 3. Р. 60–68.

250. Структурно-функциональное состояние и жизнеспособность ядродержащих клеток пуповинной крови после криоконсервирования / Л.А. Бабийчук, В.И. Грищенко, П.М. Зубов и др. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010. Т. 5, № 3. С. 77–81.

251. Оценка функционального состояния стволовых гемопоэтических клеток кордовой крови в препарате «криоцелл-гемоклетки» / Л.В. Бабийчук, С.А. Любич, Т.Ф. Петренко и др. *Ліки-людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів: матеріали 28 Всеукр. наук.-практ. конференції з міжнар. участю Харків, 03 січня 2011р.* Харків, 2011. С. 8–10.

252. Криоконсервирование гемопоэтических клеток кордовой крови: комплексная оценка структурно-функциональной полноценности / Л.А. Бабийчук, П.М. Зубов, В.В. Рязанцев и др. *Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участ. Київ, 27-28 жовтня 2011р.* К. 2011. С. 19–21.

253. Клоногенная активность препаратов кордовой крови после криоконсервирования / Л.В. Бабийчук, Т.Ф. Петренко, Л.А. Бабийчук *Щорічні терапевтичні читання: нові технології та міждисциплінарні питання у загально терапевтичній практиці: матеріали наук.-практич. конференції Харків, 14-15 квітня 2011р.* Харків, 2011. С. 16.

254. Reliability of heart rate variability measure ments inpatients with a history of myocardial infarction / R. Maestry, G. Racza, L. Danilowicz-Symanowicz et al. *Clinical Sciense*. 2009, Т. 3, № 118. Р. 195–201.

255. Агоджанян Н.А., Баевский Р. М., Берсенева А.П. Проблемы адаптации и учение о здоровье. Изд. Российский университет дружбы народов, 2006. 288 с.

256. Анализ variability сердечного ритма использование различных электрокардиологических систем / Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов, Л.В. Чирейкин и др. *Вестник аритмологии*. 2001. № 24. С. 65–87.

257. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation*. 1996. Vol. 93. P. 1043–1065.

258. Сметнев А.С., Жаринов О.И., Чубучный В.Н. Variability ритма сердца, желудочковые аритмии и риск внезапной смерти. *Кардиология*. 1995. Т. 35, № 4. С. 49–52.

259. Анализ variability сердечного ритма в оценке состояний больных инфарктом миокарда / В.И. Борисов, Н.А. Елизарова, А.П. Матусова и др. Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 1997. 15 с.

260. Малиани А. Физиологическая интерпретация спектральных компонентов variability сердечного ритма. *Вестник аритмологии*. 1998. Т. 9. С. 47–57.

261. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у молодых крыс / Л.В. Бабийчук, В.Г. Бабийчук *Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины: науч. конференция с международным участием, посвящённая 40-летию ИПКиК НАНУ 18-19.жовтня 2012, Харків. Проблемы криобиологии*. 2012. Т. 22, № 3. С. 308.

262. Бабийчук Л.В., Бабийчук В.Г., Мамонтов В.В. Влияние гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс разного *Проблемы старения и долголетия*. 2012. Т. 21, № 1. С. 14–23.

263. Бабийчук Л.В., Мамонтов В.В. Влияние гемопоэтических стволовых клеток на показатели спектрального анализа variability сердечного ритма у экспериментальных животных. *Медицина XXI століття: матеріали наук.-практ. конференції молодих вчених, присвяченій 200-річчю*

від дня народження М.І. Пирогова, Харків, 30 листопада 2010 р. Харків, 2010. С. 6–7.

264. Швалев В.Н., Тарский Н.А. Феномен ранней возрастной инволюции симпатического отдела вегетативной нервной системы. *Кардиология*. 2001. Т. 41, № 2. С. 10–14.

265. Бабийчук Л.А., Грищенко В.И., Бабийчук Л.В. Действие препарата стволовых гемопоэтических клеток кордовой крови человека на некоторые показатели вегетативной регуляции у старых крыс. *Буковинський медичний вісник*. 2009. Т. 13, № 4. С. 20–23.

266. Влияние плазмы кордовой крови на функциональное состояние систем нейрогуморальной регуляции у старых крыс / Л.В. Бабийчук, П.М. Зубов, В.Г. Бабийчук, В.В. Мамонтов. *Медична наука і клінічна практика: минуле, сьогодення, майбутнє: матеріали наук.- практич. конференції, присвяченої 150 річчю Харківського медичного тов-ва, Харків, 20 жовтня 2011р.* Харків, 2011. С. 19.

267. Бабийчук Л.В. Влияние гемопоэтических стволовых клеток на состояние систем нейрогуморальной регуляции. *Перспективні технології діагностики і лікування терапевтичних захворювань: матеріали наук.- практ. конференції з міжнарод. участю, Харків, 21 жовтня 2010 р.* Харків, 2010. С. 9.

268. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечным ритмом у животных различных возрастных групп в норме и при алиментарном ожирении / Ю.В. Руднева, В.Г. Бабийчук, Е.А. Чернявская, В.В. Кулик, Л. В. Бабийчук и др. *Криоконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы: материалы науч.- практич. конференции с междунар. участием 28-30 октября 2014, Пуццино.* Биофизика живой клетки. 2014. Т. 10. С. 171–173.

269. Вегетативные расстройства: клиника, диагностика, лечение / Под ред. А. М. Вейна. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2001. – 752 с.

270. Ибрапилов М.М., Геращенко Ю.С., Т.В. Фофанова Т.В. Гипертрофия миокарда и коронарная недостаточность как причина нарушений ритма у больных гипертонической болезнью. *Тер. архив.* 1999. № 4. С. 35–40.

271. Шляхто Е.В., Конради А.О. Ремоделирование сердца при гипертонической болезни – патогенетические факторы и прогностическое значение. *Кардиология СНГ.* 2003. № 1. С. 20–25.

272. Дзяк Г.В., Татьянако А.В. Вариабельность сердечного ритма у больных с артериальной гипертензией с гипертрофией левого желудочка. *Український терапевтичний журнал.* 2004. № 4. С. 24–28.

273. Vakili B.A., Okin P.M., Devereux R.B. Prognostic implications of left ventricular hypertrophy. *Am. Heart J.* 2001. № 141. P. 334–341.

274. Left ventricular mass and cardiovascular morbidity in essential hypertension: the MAVI study / P. Verdecchia, G. Carini, A. Circo et al. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001. № 38. P. 1829–1835.

275. Вариабельность сердечного ритма. Стандарты измерения, физиологической интерпретации и клинического использования. Рабочая группа Европейского кардиологического общества и Северо_Американского общества стимуляции и электрофизиологии. *Вестник . аритмологии.* 1999. № 11. С. 53–78.

276. Baroreflex sensitivity and heart_rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction / M.T. La Rovere, J.T. Bigger , F.I. Marcus et al. *Lancet.* 1998. № 351. P. 478–484.

277. Low Heart Rate Variability in a 2_Minute Rhythm Strip Predicts Risk of Coronary Heart Disease and Mortality From Several Causes: The ARIC Study / J.M. Dekker, R.S. Crow, A.R. Folsom et al. *Circulation.* 2000. № 102. P. 1239–1244.

278. Impact of reduced heart rate variability on risk for cardiac events. The Framingham heart study / H. Tsuji, M.G. Larson, F.J. Venditti et al. *Circulation*. – 1996. № 94. P. 2850–2855.
279. Goldberger J.J. Sympathovagal balance: how should we measure it? *Am. J. Physiol.* 1999. № 276. P. 1273–1280.
280. Heart Rate Variability and Progression of Coronary Atherosclerosis / H. V. Huikuri, V. Jokinen, M. Syvanne et al. *Arterioscler. Thromb.* 1999. № 19. P. 1979–1985.
281. Потешкина Н.Г., Туев А.В, Григориади Н.Е. Временной анализ вариабельности сердечного ритма у больных с артериальной гипертензией. *Вестник аритмологии*. 2002. № 30. С. 54–57.
282. Heart rate variability and its determinants in patients with severe or mild essential hypertension / H. Mussalo, E. Vanninen, R. Ikaheimo et al. *Clin. Physiol.* 2001. № 21. P. 594–604.
283. Heart rate variability in hypertensive subjects / G. Piccirillo, M.R. Munizzi, F.L. Fimognari et al. *Int. J. Cardiol.* 1996. Т. 53, № 3. P. 291–298.
284. Каверина Н.В., Попова Е.П. Влияние антиаритмика III класса кардиоциклида на вариабельность ритма сердца у крыс в условиях эмоционального стресса. *Вестник аритмологии*. 2010. № 62. С. 47–51.
285. Рябыкина Г.В., Соболев А.В. Вариабельность ритма сердца. Москва: Издательство «Старко», 1998. 171 с.
286. Вариабельность сердечного ритма молодых крыс на фоне стресс-индуцированной АГ / Л.В. Бабийчук, С.Н. Коваль, В.Г. Бабийчук. *Щорічні терапевтичні читання: профілактика неінфекційних захворювань на перехресті терапевтичних наук: матеріали наук.-практич. конференції з між нар. участю, Харків, 21 квітня 2016 р.* Харків, 2016. – С. 19.
287. Влияние криоконсервированного препарата кордовой крови на некоторые показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у старых крыс с артериальной гипертензией / Л.В. Бабийчук, В.В. Мамонтов, В.Г. Бабийчук *Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии:*

от теории к практик: науч.-практ. конференция и школа, посвященная памяти академика В.В.Фролькиса (16-17 мая 2013, Киев). Проблемы старения и долголетия. 2013. Т. 22. С. 9–10.

288. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток пуповинной крови на состояние гомеостаза у животных разных возрастных групп при стресс-индуцированной артериальной гипертензии / Л.В. Бабийчук, В.Г. Бабийчук, Л.А. Сиротенко, Н.Г. Малова, С.Н. Коваль. *Гены и Клетки. 2014. Т. IX, № 4. С.88–94.*

289. Пат. № 86886 МПК⁷ А61К 35/14, А61Р 9/12 Спосіб корекції артеріальних дисфункцій організму експериментальних тварин при стрес-індукованій артеріальній гіпертензії / Л.В. Бабійчук, В.Г. Бабійчук, В.В. Мамонтов, П.М. Зубов.; заявник та патентовласник ІПК і К НАН України. – №u201309719; заяв: 05.08.2013; опубл. 10.01.2014. Бюл. № 1.

290. Коржевский Д.Э. Морфологическая диагностика. Подготовка подготовка материала для гистологического исследования электронной микроскопии. СПб.: СпецЛит, 2013. 127 с.

291. Подольская Н.Ю., Егорова О.В. Основы цитологической диагностики и микроскопическая техника. М.: Академия, 2005. 154 с.

292. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии / Л.В. Бабийчук, В.П. Невзоров, О.Ф. Невзорова, В.Г. Бабийчук. *Харківська хірургічна школа 2012. Т. 56, № 5. С. 24–29.*

293. Влияние криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на ультраструктурную архитектуру миокарда молодых крыс с неврогенной стресс-индуцированной артериальной гипертензией / Л.В. Бабийчук, В.П. Невзоров, О.Ф. Невзорова, В.Г. Бабийчук. *Харківська хірургічна школа. 2012. Т. 57, № 6. С. 50–55.*

294. Бабийчук Л.В., Коваль С.Н., Бабийчук В.Г. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на

ультраструктурную архитектуру миокарда молодых крыс с неврогенной стресс-индуцированной артериальной гипертензией. *Щорічні терапевтичні читання: лікувально-діагностичні технології сучасної терапії: матеріали наук.- практ. конференції з міжн. участю, Харків, 25-26 квітня 2013 р, Харків, 2013. С. 20.*

295. Довгань Р.С. Ультраструктура міокарду лівого шлуночка серця щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією за умов застосування небівілолу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2013. Т.1(104), № 4. С. 263–266.

296. Бабийчук Л.В., Невзоров В.П., Невзорова О.Ф. Динамика изменений ультраструктуры кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 54, № 3. С. 86–91.

297. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с неврогенной артериальной гипертензией после введения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови / Л.В. Бабийчук, В.Г. Бабийчук, В.П. Невзоров и др.] *Харківська хірургічна школа* 2012. Т. 55, № 4. С 47–52.

298. Бабийчук Л.В., Коваль С.Н., Бабийчук В.Г. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов миокарда старых крыс с экспериментальной неврогенной артериальной гипертензией до и после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Биотехнологии в клинической медицине: материалы междунар. науч.практич. конф., 19-20 сентября 2012, Донецк. Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2012. Т. 13, № 1. С. 23–26.

299. Бабийчук Л.В., Бабийчук В.Г., Невзоров В.П. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии. *Щорічні терапевтичні читання: оптимізація профілактики, діагностики та*

лікування в клініці внутрішніх хвороб: матеріали наук.-практич. конференції Харків, 19-20 квітня 2012р. Харків, 2012. С. 10.

300. Бабийчук Л.В., Коваль С.Н. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с неврогенной артериальной гипертензией после введения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови. *Мультидисциплінарний підхід – ключ до успішної терапевтичної науки та практики: матеріали наук.-практич. конференції Харків, 18.жовтня 2012р.* Харків, 2012. С. 11.

301. Куловский В.И., Сероухова О.П. Расстройство микроциркуляции у больных артериальной гипертензией. *Вестник Витебского гос. мед. ун-та.* 2008. Т. 7, № 11. С. 1–11.

302. Гаврилюк В.А. Структурно-функциональное ремоделирование сердца и сосудов у больных с эссенциальной артериальной гипертензией с различной массой тела. *Международ. мед. журнал.* 2012. Т. 18, № 1. С. 39–41.

303. Копица Н.П, Белая Н.Б., Титаренко Н.В. Методы диагностики миокардиального фиброза у больных артериальной гипертензией. *Артериальная гипертензия.* 2008. Т. 2, № 2. С. 10–15.

304. Berk C., Fujjwara S., Lehoux S. ECM remodeling in hypertensive heart disease. *The Journal of Clinical Investigation.* 2007. Vol. 117, № 3. P. 568–575.

305. Сиренко Ю.Н. Диагностика, профилактика и лечение артериальной гипертензии. *Ліки України.* 2004. Т. 79, № 3. С. 6–9.

306. Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия. М.: Медицина, 1993. 688 с.

307. Беленков Ю.Н., Привалова Е. В., Чекнева И.С. Клеточная терапия в лечении хронической сердечной недостаточности: виды применяемых стволовых клеток, результаты последних клинических исследований. *Кардиология и сердечно-сосудистой хирургия.* 2008. Т. 15, № 5. С. 4–18.

308. Насадюк Х.М. Стівбурові клітини пуповинної крові в регенеративній терапії хвороб серцево-судинної системи. *Жіночий лікар*. 2009. № 6. С. 12–15.

309. Лікування стабільної стенокардії із застосуванням кріоконсервованої фетоплацентарної тканинної трансплантації / К.В. Шепітько, С.О. Гаєвський, М.М. Потяженко та ін. *Проблеми кріобіології*. 2001. № 3. С. 43.

310. Бабійчук Л.В., Коваль С.Н., Бабійчук Г.А Структура миокарда молодых гипертензивных крыс после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Проблемы кріобіології и кріомедицини*. 2016. Т. 27, № 3. С. 271–288.

311. Бабійчук Л.В., Нікольченко О.А. Морфологічні зміни міокарда у щурів різного віку в умовах моделювання артеріальної гіпертензії. Зб. тез 4 з'їзду Українського товариства клітинної біології з міжнародним представництвом Ужгородський нац. ун., Ужгород, 17-20 вересня 2014 р., Ужгород, 2014. С. 95.

312. Бабійчук Л.В., Коваль С.Н., Бабійчук В.Г. Гистологические изменения ультраструктуры миокарда старых крыс при стресс-индуцированной артериальной гипертензии. *Матеріали науково-практич. конференції за участю міжнародних спеціалістів. Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє Харків, 4 листопада 2016 р.* Харків, 2016. С. 10.

313. Lipids and CVD managemet towards a global consensus / C. Balantyne, B. Arroll, J. Shepherd et al. *Eur. Heart. J.* 2005. № 26. 2664–2672.

314. Kannel W. Hypertension as a risk for cardiac events: epidemiologic results of long-term studies. *J. Cardiovasc Pharmac.* 1993. Т. 21, № 2. Р. 27–37.

315. The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe / S. Sans, H. Kesteloor, D. Kromhout et al. *Eur. Heart J.* 1997. № 18. Р. 1231–1248.

316. Чазова И.Е. Лечение дислипидемий у больных артериальной гипертонией. *Терапевт. арх.* 2007. Т. 79, № 4. С. 53–57.

317. Reaven G.M. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrin.* 2003. Т. 88. С. 2399–2403.

318. Артериальная гипертензия и метаболический синдром. Международный медицинский журнал / А.М. Шилов, М.В. Чубаров, М.В. Мельник и др. *Международный медицинский журнал.* 2002. Т. 11, № 21. С. 1145–1149.

319. Insulin resistance and vascular function / M. Naruse, A. Tanabe, S. Takagi et al. *Nippon Rinsho.* 2000. Т. 58 № 2. С.34–47.

320. Влияние криоконсервированной кордовой крови на динамику изменения липидов в сыворотке молодых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / Л.В. Бабийчук, С.Н. Коваль, В. Г. Бабийчук, И. В. Комарова. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і боротьби з ускладненнями»: матеріали наук.-практич. конференції з міжнар. участю Харків, 5 листопада 2015 р.* Харків, 2015, С.15.

321. Бабийчук Л. В. Коваль С.Н., Бабийчук В.Г. Изменение уровня липидов в сыворотке крови старых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии. *Наукові та практичні аспекти хронізації неінфекційних захворювань внутрішніх органів: матеріали наук.- практич. конференції з міжнар. участю, Харків, 06 листопада. 2014 р.* Харків, 2014. С. 19.

322. Влияние криоконсервированной кордовой крови на динамику изменения уровня липидов в сыворотке старых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / Л.В. Бабийчук, С.Н. Коваль, В.Г. Бабийчук, И.В. Комарова // *Щорічні терапевтичні читання: від досліджень до реалій клінічної практики XXI століття: матеріали наук.-*

практич. конференції з міжнар. участю, Харків, 23–24 квітня 2015 р, Харків С. 22.

323. Уровни липидов и глюкозы в сыворотке крови крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии и после введения криоконсервированной кордовой крови / Л.В. Бабийчук, Л.А. Сиротенко, Н.Г. Малова, С.Н. Коваль, В.Г. Бабийчук, В.В. Мамонтов // *Проблеми ендокринної патології*. 2014. № 3. С. 89–96.

324. Браверманн Л.И. Болезни щитовидной железы. М.: Медицина, 2000. 432 с.

325. Захаренко Р.В. Клинические аспекты заболеваний щитовидной железы у пациентов с кардиальной патологией. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2010. № 3. С. 18–22.

326. Klein I.K. Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 344. P. 501–509.

327. Малышев И. Ю. Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота. *Биохимия*. 1998. Т. 63, № 7. С. 992–1006.

328. Addicks K., Bloch W., Feelisch M. Nitric oxide modulates sympathetic neurotransmission at the prejunctional level. *Microscopy Res. Tech.* 1994. Vol. 29. P. 161–168.

329. Bredt D.S., Snyder S.H. Nitric oxide, a novel neuronal messenger *Neuron*. 1992. Vol. 8. P. 3–11.

330. Kanner J., Harel S. Nitric oxide as an antioxidant. *Arch. bio-chem. Biophys.* 1991. Vol. 289. P. 130–136.

331. Culman J.K. Itoi K., Th. Unger Th. / Hypothalamic tachykinins. Mediators of stress responses ? *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1995. Vol. 771. P. 204–218.

332. Harbuz M., Lightman S.L. Stress and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis: acute, chronic and immunological activation. *J. Endocrinol.* 1992. Vol. 134. P. 327–339.

333. The renin angiotensin system and the stress response / G. Aguilera, A. Kiss, Xun Luo, B.S. Akbasak et al. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1995. Vol. 771. P. 173–186.
334. Вазопрессин и сердечно-сосудистая система / В.В. Фролькис, С.Ф. Головаченко, В.И. Медведь и др. *Успехи физиол. наук.* 1983. Т. 14, № 2. С. 56–81.
335. Role of coronary spasm in different anginal syndromes / H. Yasue, A. Takizawa, M. Nagao et al. *Actamed. Scand.* 1984. Vol. 694, suppl. P. 83–90.
336. Young M. A., Vatner S. F. Regulation of large coronary arteries *Circ. Res.* 1986. Vol. 59. P. 579–596.
337. Manukhina E. B., Lapshin A.V., Meerson F. Z. Physical training limits the fall of blood pressure and the endothelium overactivation in acute myocardial infarction. *Physiol. Res.* 1996. Vol. 45. P. 261–266.
338. Коркушко О.В., Лишневская В.Ю. Эндотелиальная дисфункция. Клинические аспекты проблемы. *Кровообіг та гемостаз.* 2003. № 2. С. 4–14.
339. Faraci F.M., Heistad D.D. Regulation of the cerebral circulation: role of endothelium and potassium channels. *Physiol Rev.* 1998. Vol. 78, № 1. P. 53–97.
340. Endothelium and the regulation of vascular tone with emphasis on the role of nitric oxide. Physiology, pathophysiology and clinical implications / G.A Rongen, P. Smits, T. Thien et al. *Neth. J. Med.* 1994. Vol. 44, № 1. P. 26–35.
341. Малая Л.Т., Корж А.Н., Балковая Л.Б. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы. Торсинг, Харьков, 1999. 432 с.
342. Гаврилюк В.А. Структурно-функциональное ремоделирование сердца и сосудов у больных с эссенциальной артериальной гипертензией с различной массой тела. *Международный медицинский журнал.* 2012. № 1. С. 39–41.
343. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на уровень конечных продуктов обмена оксида азота в

сыворотке крови крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / Л.В. Бабийчук, В.Г. Бабийчук, Л.А. Сиротенко, Н.Г. Малова, С.Н. Коваль. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2015. Т. 68, №3 С. 5–9.

344. Особенности развития эндотелиальной дисфункции у крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / Л.В. Бабийчук, В.Г. Бабийчук, С.Н. Коваль, И.В. Комарова. *Ендотеліальна дисфункція: матеріали науч.-практ. конферен. Киев, 12-13 ноября. 2015 г. К., 2015. С. 60–61.*

345. Бабийчук Л.В., Коваль С.Н. Уровень конечных продуктов NO в сыворотке крови старых крыс на фоне стресс-индуцированной АГ *Медикаментозна та не медикаментозна профілактика неінфекційних захворювань: погляд в майбутнє (присвячена пам'яті академіку Л.Т. Малої)»: матеріали наук.-практич. конференції за уч. міжнародних спеціалістів Харків, 20 квітня 2017 р, Харків, 2017. С. 13.*

ДОДАТОК

Список публікацій здобувача за темою дисертації:

Статті у фахових журналах

1. Бабийчук Л. А., Грищенко В. И., **Бабийчук Л. В.** Действие препарата стволовых гемопоэтических клеток кордовой крови человека на

некоторые показатели вегетативной регуляции у старых крыс. *Буковинський медичний вісник*. 2009. Т. 13. № 4. С. 20–23.

2. Структурно-функциональное состояние и жизнеспособность ядродержащих клеток пуповинной крови после криоконсервирования / Л. А. Бабийчук, В. И. Грищенко, П. М. Зубов, О. Л. Зубова, В. В. Рязанцев, **Л. В. Бабийчук**, О. В. Кудокоцева, С. А. Любич. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010. Т. 5. № 3. С. 77–81.
3. **Бабийчук Л. В.**, Невзоров В. П., Невзорова О. Ф. Динамика изменений ультраструктуры кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 54, № 3. С. 86–91.
4. **Бабийчук Л. В.**, Бабийчук В. Г., Мамонтов В. В. Влияние гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс разного возраста. *Проблемы старения и долголетия*. 2012. Т. 21, № 1. С. 14–23.
5. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с неврогенной артериальной гипертензией после введения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 55, № 4. С. 47–52.
6. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 56, № 5. С. 24–29.
7. Влияние криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на ультраструктурную архитектуру миокарда молодых крыс с неврогенной стресс-индуцированной артериальной

гіпертензією / **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова. *Харківська хірургічна школа*. 2012. Т. 57, № 6. С. 50–55.

8. Уровни липидов и глюкозы в сыворотке крови крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии и после введения криоконсервированной кордовой крови / **Л. В. Бабійчук**, Л. А. Сиротенко, Н. Г. Малова, С. Н. Коваль, В. Г. Бабійчук, В. В. Мамонтов. *Проблеми ендокринної патології*. 2014. № 3. С. 89–96.

9. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток пуповинной крови на состояние гомеостаза у животных разных возрастных групп при стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, Л. А. Сиротенко, Н. Г. Малова, С. Н. Коваль. *Гены и Клетки*. 2014. Т. IX № 4. С. 88–94. SCOPUS

10. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на уровень конечных продуктов обмена оксида азота в сыворотке крови крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, Л. А. Сиротенко, Н. Г. Малова, С. Н. Коваль. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2015. Т. 68. № 3. С. 5–9.

11. **Бабійчук Л. В.**, Коваль С. Н., Бабійчук Г. А. Структура миокарда молодых гипертензивных крыс после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Проблеми криобіології і криомедицини*. 2016. Т. 27, № 3. С. 271–288. SCOPUS

Патенти України на корисну модель

12. Спосіб моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії: пат. 67199 Україна. МПК⁷ G09B 23/28 / **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, О. В. Козлов, В. В. Мамонтов; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. № u201108117, заяв. 29.06.2011. Опубл. 10.02.2012. Бюл. № 3.

13. Пристрій для моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії: пат. 67200 Україна. МПК⁷ G09B 23/28 / О. В. Козлов, **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, В. В. Мамонтов; заявник та патентовласник

ІПКіК НАН України. № u201108121, заявл. 29.06.2011. Опубл. 10.02.2012. Бюл. № 3.

14. Спосіб корекції артеріальних дисфункцій організму експериментальних тварин при стрес-індукованій артеріальній гіпертензії: пат. 86886 Україна. МПК⁷ А61К 35/14, А61Р 9/12 / **Л. В. Бабійчук**, В. Г. Бабійчук, В. В. Мамонтов, П. М. Зубов; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. № u201309719, заявл. 05.08.2013. Опубл. 10.01.2014. Бюл. № 1.

Статті у збірниках матеріалів конференцій

15. **Бабійчук Л. В.**, Мамонтов В. В. Влияние гемопоэтических стволовых клеток на показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у экспериментальных животных. *Медицина ХХІ століття: матеріали наук.-практ. конференції молодих вчених, присвяченій 200-річчю від дня народження М.І. Пирогова, Харків, 30 листопада 2010 р*, Харків, 2010. С. 6–7. (стаття)

16. Оценка функционального состояния стволовых гемопоэтических клеток кордовой крови в препарате «криоцелл-гемоклетки» / **Л. В. Бабійчук**, С. А. Любич, Т. Ф. Петренко, П. М. Зубов, Л. А. Бабійчук. *Ліки-людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів: матеріали 28 всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 03 січня 2011 р*, Харків, 2011. С. 8–10. (стаття)

17. Криоконсервирование гемопоэтических клеток кордовой крови: комплексная оценка структурно-функциональной полноценности / Л. А. Бабійчук, П. М. Зубов, В. В. Рязанцев, **Л. В. Бабійчук**, О. Л. Зубова, О. В. Кудогоцева. *Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участ. Киев, 27-28 жовтня 2011 р*. К. 2011. С. 19–21. (стаття)

18. Ультразвуковые изменения кардиомиоцитов миокарда старых крыс с экспериментальной неврогенной артериальной гипертензией до и после введения криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой

крови / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук. *Биотехнологии в клинической медицине: материалы междунар. науч.-практ. конференции Донецк, 19-20 сентября 2012 г. Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2012. Т. 13, № 1. С. 23–26. (статья)

19. **Бабийчук Л. В.**, Бабийчук В. Г. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у молодых крыс. *Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины: науч. конф. с междунар. участием, посвящённая 40-летию ИПКиК НАНУ Харьков, 18-19 октября 2012 г, Харьков. Проблемы криобиологии*. 2012. Т. 22, № 3. С. 308. (доповідь)

20. **Бабийчук Л. В.**, Мамонтов В. В., Бабийчук В. Г. Влияние криоконсервированного препарата кордовой крови на некоторые показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у старых крыс с артериальной гипертензии. *Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: от теории к практике: науч.-практ. конференция и школа, посвященная памяти академика В.В. Фролькиса, Киев, 16-17 мая 2013. Проблемы старения и долголетия*. 2013. Т. 22. С. 9–10. (статья)

21. **Бабийчук Л. В.**, Нікольченко О. А. Морфологічні зміни міокарда у щурів різного віку в умовах моделювання артеріальної гіпертензії. *Зб. тез 4 з'їзду Українського товариства клітинної біології з міжнародним представництвом Ужгородський нац. ун. Ужгород, 17-20 вересня 2014 р, Ужгород*, 2014. С. 95. (доповідь)

22. Особенности развития эндотелиальной дисфункции у крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, С. Н. Коваль, И. В. Комаров *Ендотеліальна дисфункція: матеріали науч.-практ. конф., Киев, 12-13 ноября 2015 г. К.*, 2015. С. 60–61. (статья)

23. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечным ритмом у животных различных возрастных групп в норме и при алиментарном

ожирении / Ю. В. Руднева, В. Г. Бабийчук, Е. А. Чернявская, В. В. Кулик, **Л.В. Бабийчук**. *Криоконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, Пушино, 28-30 октября 2014г. Биофизика живой клетки*. 2014. Т. 10. С. 171–173. (статья)

Тези конференцій

24. **Бабийчук Л. В.** Влияние гемопозитических стволовых клеток на состояние систем нейрогуморальной регуляции. *Перспективні технології діагностики і лікування терапевтичних захворювань: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 21 жовтня 2010 р.* Харків, 2010. С. 9. (тези)

25. **Бабийчук Л. В.**, Петренко Т. Ф Бабийчук Л. А. Клоногенная активность препаратов кордовой крови после криоконсервирования. *Щорічні терапевтичні читання: нові технології та міждисциплінарні питання у загально терапевтичній практиці: матеріали наук.-практ. конф. Харків, 14-15 квітня 2011р.* Харків, 2011. С. 16. (тези)

26. Влияние плазмы кордовой крови на функциональное состояние систем нейрогуморальной регуляции у старых крыс / **Л. В. Бабийчук**, П.М. Зубов, В. Г. Бабийчук, В. В. Мамонтов. *Медична наука і клінічна практика: минуле, сьогодення, майбутнє: матеріали наук.-практ. конф., присвяченої 150 річчю Харківського медичного тов-ва, Харків, 20 жовтня 2011р.* Харків. Харків, 2011. С. 19.(тези)

27. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров. *Щорічні терапевтичні читання: оптимізація профілактики, діагностики та лікування в клініці внутрішніх хвороб: матеріали наук.-практ. конф. Харків, 19-20 квітня 2012 р.* Харків 2012. С. 10. (тези)

28. **Бабийчук Л. В.**, Коваль С. Н. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с неврогенной

артериальной гипертензией после введения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови. *Мультидисциплінарний підхід – ключ до успішної терапевтичної науки та практики»: матеріали наук.-практ. конф. Харків, 18 жовтня 2012 р.* Харків, 2012. С. 11.(тези)

29. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на ультраструктурную архитектуру миокарда молодых крыс с неврогенной стресс-индуцированной артериальной гипертензией / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук. *Щорічні терапевтичні читання: лікувально-діагностичні технології сучасної терапії: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 25-26 квітня 2013 р.* Харків, 2013. С. 20.(тези)

30. Изменение уровня липидов в сыворотке крови старых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль В. Г. Бабийчук. *Наукові та практичні аспекти хронізації неінфекційних захворювань внутрішніх органів: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 06 листопада 2014 р.* Харків, 2014. С. 19. (тези)

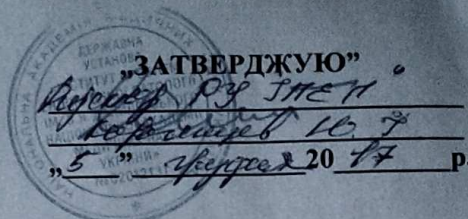
31. Влияние криоконсервированной кордовой крови на динамику изменения уровня липидов в сыворотке старых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук, И. В. Комарова. *Щорічні терапевтичні читання: від досліджень до реалій клінічної практики XXI століття»: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 23–24 квітня 2015 р.* Харків, 2015. С. 22. (тези)

32. Влияние криоконсервированной кордовой крови на динамику изменения липидов в сыворотке молодых крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии / **Л. В. Бабийчук**, С. Н. Коваль, В. Г. Бабийчук, И. В. Комарова. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і боротьби з ускладненнями: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 5 листопада 2015 р.* Харків, 2015. С.15. (тези)

33. **Бабийчук Л. В.**, Коваль С. Н., Бабийчук В. Г. Вариабельность сердечного ритма молодых крыс на фоне стресс-индуцированной АГ. *Щорічні терапевтичні читання: профілактика неінфекційних захворювань на перехресті терапевтичних наук: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 21 квітня 2016 р.* Харків, 2016. С. 19. (тези)

34. **Бабийчук Л. В.**, Коваль С. Н., Бабийчук В. Г. Гистологические изменения ультраструктуры миокарда старых крыс при стресс-индуцированной артериальной гипертензии. *Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє: матеріали наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, Харків, 4 листопада 2016 р.* Харків, 2016. С. 10. (тези)

35. **Бабийчук Л.В.**, Коваль С.Н. Уровень конечных продуктов NO в сыворотке крови старых крыс на фоне стресс-индуцированной АГ. *Медикаментозна та не медикаментозна профілактика неінфекційних захворювань: погляд в майбутнє (присвячена пам'яті академіку Л.Т. Малої: матеріали наук.-практ. конф. за уч. міжнар. спеціалістів, Харків 20 квітня 2017р.* Харків, 2017. С. 13. (тези)



АКТ
 ПРО ВИКОРИСТАННЯ ОБ'ЄКТА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
 Спосіб корекції артеріального гіпертензивного ефекту
 експериментальних тварин при стрес-індукованій артеріальній
 гіпертензії (назва винаходу (кор. моделі) гіпертензії).

ШИФР

ТЕМИ:

ПАТЕНТ УКРАЇНИ № 86 886

АВТОРИ: Бабішук А. В., Бабішук В. В.,
 Мамонтов В. В., Зубов Н. В.

Ми, які нижче підписали, комісія у складі:

Зав. каб. д. м. н. професор Мамонтов В. В., ст. н. с. Коваленко І. В.,
 н. с. Сиротенко А. Н.

(П.І.Б. – посада)

склали цей акт про те, що на базі

РЗУ Інститут проблем ендокринної патології,
 ім. В. І. Данишевського.

(назва установи)

з „10” квітня 2014 і по теперішній час використовується
 винахід (кор. модель) з затвердженою формулою:

Спосіб корекції артеріального гіпертензивного ефекту
 експериментальних тварин при стрес-індукованій
 артеріальній гіпертензії, який включає використання кристал
 гідроксидного препарату едринісу, містять кордові крові,
 модифіковані в дозі 1 до 5 мг/кг + едринісу містять на 1 кг ваги.

СПОЖИВЧІ ВЛАСТИВОСТІ

Винахід (корисна модель) використовується

в ендокринній гімназії корекції артеріального гіпертензивного ефекту
 експериментальних тварин введеним едринісом
 містять кордові крові, що дає ефект артеріального гіпертензивного
 ефекту експериментальних тварин.

Даний спосіб було в перше використано в ІПКіК НАН України. Дійсний
 акт не являється основою фінансових претензій з боку патентовласника.
 ЧЛЕНИ КОМІСІЇ:

Мамонтов В. В. (П.І.Б.)
 Коваленко І. В. (П.І.Б.)
 Сиротенко А. Н. (П.І.Б.)

УКРАЇНА

UKRAINE



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 67200

ПРИСТРІЙ ДЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ СТРЕС-ІНДУКОВАНОЇ
АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи
і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні
моделі 10.02.2012.

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України

М.В. Паладій





УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 86886

СПОСІБ КОРЕКЦІЇ АРТЕРІАЛЬНИХ ДИСФУНКЦІЙ
ОРГАНІЗМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ПРИ СТРЕС-
ІНДУКОВАНІЙ АРТЕРІАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи
і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні
моделі **10.01.2014**.

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України

— М.В. Ковіня

