

**ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ**

На правах рукопису

ШЕПІТЬКО ВОЛОДИМИР ІВАНОВИЧ

УДК 611-013.85:611.1/.4:616-089.843

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ
КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ І ВПЛИВ ЇЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ
НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН РЯДУ ВНУТРІШНІХ
ОРГАНІВ**

14.01.35 - кріомедицина

Дисертація

на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Науковий консультант:
ГРИЩЕНКО Валентин Іванович
Академік НАН України,
доктор медичних наук, професор

Харків – 2004

ЗМІСТ

Зміст	2
Перелік умовних скорочень	5
Вступ	7
Розділ 1. Огляд літератури	17
1.1. Роль кріоконсервації у вирішенні завдань довгострокового зберігання клітин і тканин.	19
1.2. Загальна характеристика плаценти.	32
1.2.1. Морфологічна характеристика плаценти.	33
1.2.2. Біохімічна характеристика плаценти. Білки плаценти.	34
1.2.3. Ферменти плаценти.	38
1.2.4. Захисна і бар'єрна роль плаценти.	40
1.2.5. Плацента й імунітет.	47
1.2.6. Гормони плаценти.	50
1.3. Метаболічні ефектори при розвитку запального процесу.	56
1.4. Трансплантація плаценти.	59
1.5. Обґрунтування обраного напрямку.	63
Розділ 2. Матеріал і методи дослідження	65
2.1. Заготівля, консервування, гіпотермічне зберігання, трансплантація плаценти.	65
2.2. Морфологічна характеристика плаценти використовуваних для кріоконсервування і трансплантації.	72
2.3. Гістохімічне дослідження активності дегідрогеназ.	75
2.4. Дослідження перекисного окислювання ліпідів (ПОЛ), біологічно активних речовин (БАР), білка.	77
2.5. Морфологічні методи дослідження реакції внутрішніх органів на трансплантацію нативної і кріоконсервованої	

	плаценти.	80
2.6.	Характеристика експериментальних об'єктів дослідження при експериментальному запаленні.	81
Розділ 3.	Характеристика плаценти, яка використовувалась для кріоконсервування	83
3.1.	Морфологічна характеристика плаценти.	83
3.2.	Біохімічна характеристика плаценти.	97
Розділ 4.	Активність дегідрогеназ, стан ліпопероксидації, вміст гормонів у плаценті при дії низьких температур.	104
4.1.	Динаміка активності окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти.	104
4.2.	Динаміка активності окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти після низькотемпературного консервування без кріпротектора і під захистом Me_2SO	108
4.3.	Стан ліпопероксидації в плаценті.	114
4.4.	Вплив різних режимів низькотемпературного збереження на вміст гормонів у плаценті.	123
4.5.	Вміст білка в плаценті при дії низьких температур.	125
Розділ 5.	Морфофункціональний стан структурних елементів печінки, селезінки, наднирників, яєчників, тимуса при трансплантації плаценти	129
5.1.	Реакція структурних елементів печінки при трансплантації плаценти.	130
5.2.	Реакція структурних елементів селезінки на трансплантацію плаценти.	147
5.3.	Реакція структурних елементів наднирників на трансплантацію плаценти.	165
5.4.	Реакція структурних елементів яєчників на трансплантацію	

	плаценти.	180
5.5.	Реакція структурних елементів тимуса на трансплантацію плаценти.	197
Розділ 6.	Вплив біологічно активних речовин кріоконсервованої плаценти на метаболічні процеси при моделюванні запалення	213
6.1.	Вплив трансплантації кріоконсервованої плаценти на клітинні реакції вогнища запалення і периферичної крові.	213
6.2.	Вплив трансплантації кріоконсервованої плаценти на реакцію тучних клітин при запаленні.	225
Розділ 7.	Обговорення результатів дослідження	240
	Висновки	270
	Список використаних літературних джерел	275

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

α-ГФДГ	альфа-гліцерофосфатдегідрогеназа
АКТГ	адренокортикотропний гормон
АОЗ	антиоксидантний захист
АТФ	аденозинтрифосфорна кислота
АФК	активні форми кисню
АФП	альфа-фетопротейн
БАР	біологічно активні речовини
ВРПО	вільнорадикальне перекисне окислювання
ДГ	дегідрогеназа
ДК	дієнова кон'югата
ДМСО	диметилсульфоксид
ЕПР	ендоплазматичний ретикул
ЕФПК	ембріофетоплацентарний комплекс
ЗКЛ	загальна кількість лейкоцитів
КПТ	кріоконсервована плацентарна тканина
КТТ	клітинна і тканинна трансплантація
ЛГ	лютеїнізуючий гормон
ЛДГ	лактатдегідрогеназа
ЛФХ	лізофосфатиділхолін
МДА	малоновий диальдегід
мРНК	матрична рибонуклеїнова кислота
НАД	НАД-діафораза
НАДНДГ	НАДНдегідрогеназа
НАДФ	НАДФ-діафораза
НАДФНДГ	НАДФН-дегідрогеназа
НСТ	нітросиній тетразолій

ОДК	оксидієнова кон'югата
ПГЕ	простагландин
ПЗ	подвійні зв'язки
ПЛ	плацентарний лактоген
ПОЛ	перекисне окислення ліпідів
СДГ	сукцинатдегідрогеназа
СОД	супероксиддисмутаза
ТБГ	трофобластичний β -глікопротеїд
ТК	тучні клітини
ТК	триєнова кон'югата
ТКП	трансплантація кріоконсервованої плаценти
ТНП	трансплантація нативної плаценти
ТСФ	термостабільні ферменти
ТТК	тетраєнова кон'югата
ТХУ	трихлоруксусний надосад
ФЕН	фосфатиділеталамін
ФС	фосфатиділсерін
ФХ	фосфатиділхолін
ХАГ	хоріонічний адренкортикотропний гормон
ХГ	хоріонічний гонадотропін
ХСГ	хоріонічний соматотропний гормон
ХТГ	хоріонічний тіреотропний гормон
ЦЗ	цереброзид
ШО	шиффові основи

ВСТУП

Актуальність теми. Особливо інтенсивний розвиток клітинної і тканинної трансплантації, як фактора, що впливає на організменний гомеостаз, спостерігається в останні 10–15 років [73, 74–78, 165, 166, 252, 253, 288]. Це відкриває нові можливості в терапії важковиліковних станів, бо в ряді випадків фармакологічні засоби не мають ефекту, і спонукає до пошуку альтернативних шляхів впливу на організм з метою активації природного потенціалу відбудовних, репаративних можливостей цілісного організму [44, 225].

Успіхи трансплантології багато в чому визначаються досягненнями сучасної кріобіології, що розробляє методи низькотемпературного консервування. Ступінь ушкодження біологічних об'єктів при їхній підготовці до консервування (виділення, зберігання, транспортування) у значній мірі впливає на результати трансплантації. Для клінічного застосування може бути використаний тільки функціонально повноцінний донорський матеріал. Оцінка життєздатності консервованої тканини дозволяє прогнозувати подальшу долю трансплантата [63, 76, 78, 356, 357].

Питання про короткострокове гіпотермічне зберігання і тривале низькотемпературне консервування для подальшої трансплантації становить загальнобіологічний інтерес і вимагає різнобічних досліджень. Вивчення життєздатності консервованих клітин на етапах гіпотермічного зберігання важливе з практичних позицій, оскільки дозволяє встановити ті безпечні терміни використання трансплантаційного матеріалу, при яких зберігається достатня життєздатність клітин, необхідна для їхнього повноцінного функціонування [41, 224].

Наявні дані літератури про вплив низьких температур є суперечливими, а в ряді випадків і прямо протилежними, що можна пояснити тим, що експерименти проводилися на різних біологічних об'єктах. Окрім того,

істотна варіація швидкостей охолодження, застосування різних добавок до середовища заморожування, а також швидкість відігрівання, що змінюється, неоднаково впливають на аналіз експериментальних даних і зіставлення отриманих результатів.

Вважається загальноприйнятим [74–77, 253, 288, 304] наявність двох основних механізмів впливу клітинних і тканинних препаратів на організм: специфічний і неспецифічний. Специфічний вплив тканинних препаратів, у цілому, може бути охарактеризований як уведення реципієнту живих клітин, які після трансплантації компенсують спеціалізовані функції дефектних органів або тканин, тобто виконують замісну клітинну терапію. Неспецифічний вплив на організм реципієнта, при застосуванні препаратів ембріофетоплацентарного комплексу, проявляється однотиповою відповіддю – стимуляцією репаративних можливостей організму, що здійснюється включенням нервової, ендокринної і імунної систем.

Плацента є високоактивною залозою внутрішньої секреції і містить велику кількість ростостимулюючих факторів, будучи природним „депо” різних біологічно активних речовин [253, 284], що забезпечують ріст і розвиток організму плоду. Крім того, плацента є слабко імуногенним органом і має яскраво виражені імунні функції за рахунок репродуктивних протеїнів [53, 288, 344]. Хоріонічний гонадотропін активує Т-лімфоцити і діє як активатор імунної системи в цілому, а хоріонічний адренкортикотропний гормон забезпечує прямий і зворотний зв’язок між нейроендокринною і імунною системами [344]. У період вагітності у тканинах плаценти синтезується цілий клас пептидів – структурних аналогів нейропептодів головного мозку – ендорфінів і енкефалінів, що також створюють імуномодельний ефект [9, 101, 238]. У плаценті відбувається синтез білків, що відносяться до класу інтерлейкінів – ІІ-1, ІІ-2, ІІ-6, ІІ-8 – однією з функцій яких являється індукція гуморальних факторів неспецифічної резистентності, що стимулює репарацію за рахунок активації мезенхімальних

клітин і процесів неоваскуляризації [342]. Таким чином, трансплантація плаценти може позитивно впливати на стабілізацію основних показників гомеостазу.

Морфологічні й експериментальні дані дозволяють констатувати, що при трансплантації фрагментів плаценти виникає стимуляція ендокринних органів, тканини печінки, поліпшення трофіки серцево-судинної системи, підвищення репаративної здатності тканин [168, 176, 295, 339, 340]. Трансплантація кріоконсервованих фрагментів плаценти пацієнтам впливає на органи-мішені, стимулюючи їхню функцію і підвищуючи неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища і стресових ситуацій [14, 75, 162, 166, 231].

Як відомо, запалення є центральною проблемою медицини, оскільки лежить в основі більше 70% патології людини. В даний час важливе місце у розв'язанні цієї проблеми займає розробка нових методів протизапальної терапії – шляхом створення і дослідження дії тканинних препаратів, особливо плаценти. Наявність великої кількості біологічно активних речовин забезпечує значний біостимулюючий ефект цих препаратів і широко використовується в клінічній практиці як протизапальний засіб. При цьому важливе значення має дослідження похідних плаценти, як основи розробки надійних методів збереження біологічних властивостей тканин і використання низьких температур, як фактора, який екстрагує біологічно активні речовини [75, 283].

В Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України розроблений метод кріоконсервації фрагментів плаценти і на базі Українського Банку біологічних об'єктів накопичений банк цієї тканини. Лабораторні дослідження показують, що після кріоконсервування у тканині плаценти не відбувається зниження біологічно активних речовин, а робота в рамках Банку біологічних об'єктів дозволяє провести ретельне тестування матеріалу для забезпечення безпеки реципієнта.

Отже, ставиться проблема про системну дію при трансплантації плаценти на морфофункціогенез органів. Варто з'ясувати відмінність ефектів дії нативної і кріоконсервованої плаценти. У цьому відношенні даних літератури вкрай мало, що, при врахуванні імуномодулючої і гормонопродукуючої функції плаценти, вимагає спеціального дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках комплексної науково-дослідної теми Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України 2.2.6.72. „Вплив охолодження на структурно-функціональні показники клітин з різною проліферативною активністю”, а також проблеми 2.28.7.4. в темі 2.2.6.02. Національної Академії наук України „Структурно-метаболічний і функціональний стан клітин фетоплацентарного комплексу після кріоконсервування та гіпотермічного збереження” та „Розробка нових кріобіологічних технологій, використання кріоконсервованих ембріональних клітин, тканин людини та тварини в медицині”, № державної реєстрації 0199U000323.

Мета і задачі дослідження. Метою даного дослідження є вивчення впливу гіпотермії та низьких температур на морфофункціональну характеристику плаценти і біологічно активних речовин у її складі та, на підставі отриманих даних, визначення оптимальної технології кріоконсервування і довгострокового її зберігання; експериментально-морфологічне дослідження динаміки реакції внутрішніх органів (печінки, селезінки, тимуса, наднирників, яєчників) на трансплантацію нативної і кріоконсервованої плаценти, а також вивчення впливу біологічно активних речовин на перебіг запалення на тлі застосування вихідних плаценти.

Задачі дослідження:

1. Вивчити структурно-функціональні показники плаценти, взятої після кесаревого розтину, як вихідного матеріалу для подальшої кріоконсервації.

2. Визначити вплив термінів гіпотермічного зберігання, як

підготовчого етапу до кріоконсервації, на активність деяких дегідрогеназ у плаценті.

3. Визначити вплив кріопротектора (диметилсульфоксиду) на активність дегідрогеназ при кріоконсервації та низькотемпературному зберіганні.

4. Визначити вплив різних режимів гіпотермічного та низькотемпературного зберіганні на вміст деяких ферментів і біологічно активних сполучень у кріоконсервованій плаценті.

5. Вивчити стан прооксидантно-антиоксидантної системи, білка і гормонів у кріоконсервованій плаценті при різних режимах гіпотермічного та низькотемпературного зберігання.

6. Виявити закономірності в реакції внутрішніх органів на трансплантацію алогенної нативної і кріоконсервованої плаценти в порівнянні з розрізом у різні терміни післяопераційного періоду.

7. Дослідити характер морфологічних перебудов у внутрішніх органах (печінка, селезінка, наднирники, яєчники, тимус) експериментальних тварин після трансплантації нативного і кріоконсервованого фрагмента плаценти в системі алотрансплантації на різних (до 60 діб) термінах післяопераційного періоду.

8. Дослідити зміни клітинної динаміки у вогнищі запалення, яке викликано введенням λ -карагінену, а також деякі показники периферичної крові в експериментальних тварин на тлі дії біологічно активних речовин, вихідних плаценти.

9. Виявити вплив біологічно активних речовин плаценти на реакцію тучних клітин при асептичному запаленні, яке викликано введенням λ -карагінену.

Об'єкт дослідження. Нативний і кріоконсервований препарати плаценти; регенерація органів (печінка, селезінка, наднирники, яєчники, тимус); експериментальний запальний процес досліджено на 332 об'єктах.

Предмет дослідження. Вплив охолодження різної глибини на структурно-функціональні показники плацентарних тканин та оптимізація процесів холодового зберігання. Вплив трансплантації алогенної нативної і кріоконсервованої плаценти на: фізіологічну регенерацію органів (печінку, селезінку, наднирники, яєчники, тимус), плин експериментального запального процесу.

Методи дослідження. Для проведення дослідження використані методи морфологічного, гістохімічного, біохімічного та статистичного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше, на підставі отриманих даних, науково обґрунтовані режими довгострокового зберігання плаценти, що дозволило удосконалити існуючі способи кріоконсервації.

Уперше встановлені зміни в активності деяких дегідрогеназ (сукцинатдегідрогенази, лактатдегідрогенази, α -гліцерофосфатдегідрогенази, нікотинаміддинуклеотиддегідрогенази, нікотинаміддифосфатнуклеотиддегідрогенази), а також зміни прооксидантно-антиоксидантної системи (первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ) при різних режимах гіпотермічного та низькотемпературного збереження фрагментів плаценти. Виявлено вплив різних режимів гіпотермічного та низькотемпературного зберігання на вміст деяких біологічно активних речовин (пролактин, тестостерон, кортизол), що дозволило оптимізувати процес заготівлі і зберігання плацентарної тканини для подальшого клінічного застосування. Встановлені оптимальні режими низькотемпературного зберігання.

Уперше встановлено, що підшкірна трансплантація нативної і кріоконсервованої плаценти супроводжується вираженим стимулюючим впливом на структурні елементи досліджених органів, що пояснюється наявністю в її тканині великої кількості фетальних білків та біологічно активних речовин. У групі тварин, при трансплантації кріоконсервованої

плаценти, реакції регенераторного типу є більш вираженими, ніж у групі тварин при трансплантації нативної плаценти, але в обох випадках вони знаходяться в межах фізіологічної регенерації.

Уперше проведено комплексне порівняльне дослідження деяких показників периферичної крові, а також морфологічних змін у вогнищі запалення у тварин з експериментальним асептичним запаленням при трансплантації біологічно активних речовин плацентарного походження та експериментально обґрунтована доцільність їх застосування, завдяки чому отримало подальший розвиток теоретичне уявлення про плин запалення та способи його лікування.

Практичне значення одержаних результатів. Встановлені оптимальні режими низькотемпературного зберігання кріоконсервованої плаценти: а) 1 доба при -20°C ; б) 1 доба при -20°C та 1 рік при -196°C .

Одержані результати поглибили уявлення про регенераторно-репаративні процеси у внутрішніх органах (печінці, селезінці, наднирниках, яєчниках, тимусі) при трансплантації нативної і кріоконсервованої плаценти.

Розвиток запалення на тлі застосування похідних плаценти проявляється при застосуванні трансплантації плаценти помітним пригніченням нейтрофільної і підсиленням макрофагально-фібробластичної реакції. Протизапальний ефект проявляється в обмеженні альтеративних і посиленні репаративних процесів і захисно-пристосувальній ролі запалення в цілому.

Результати дослідження дали можливість обґрунтувати (Патент України № 59266 А) доцільність застосування трансплантації кріоконсервованої плаценти на тлі базисної терапії у хворих на ІХС стабільну стенокардію напруги.

Проведене дослідження дало можливість розробити нові ефективні методи комплексного лікування хворих на інсулінозалежний цукровий діабет (Патенти України № 32254 А, 32255 А, 32295 А, 39046 А).

Теоретичні положення і практичні рекомендації дисертаційної роботи упроваджені в навчальний процес кафедр оперативної хірургії і топографічної анатомії, патологічної анатомії, ендокринології, факультетської терапії Української медичної стоматологічної академії, патологічної фізіології Харківського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Отримані дані є результатом самостійної роботи автора. Дисертантом самостійно розроблена експериментально-дослідна програма, персонально проаналізована наукова література з вивченням проблеми, проведений інформаційний пошук, сформульовані мета і задачі дослідження, а також засоби їх вирішення. Самостійно виконані всі експериментальні операції на тваринах з подальшими морфологічними дослідженнями (гістологічним, гістохімічним та морфометричним). Проведено аналіз результатів дослідження, обґрунтування основних положень дисертаційної роботи, висновків та практичних рекомендацій. Автор брав участь у спостереженнях за результатами лікування хворих.

З огляду на широке використання суміжних дисциплін, робота виконана у співробітництві з фахівцями науково-дослідних установ, а саме: відділу кріоморфології ІПКіК НАН України, завідувачка д.мед.наук, професор Т.М.Юрченко; кафедри патологічної фізіології ХДМУ, завідувач кафедрою, д.мед.наук, професор М.О.Клименко, за що автор висловлює їм щиро подяку. Самостійно проведена статистична обробка результатів і зроблені попередні висновки. Дисертантом роботи спільно з науковими консультантами були інтерпретовані отримані результати і зроблені остаточні висновки. Опубліковані основні результати досліджень у фахових виданнях, запатентовані винаходи, сформульовані практичні рекомендації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідалися: на II Всесвітньому конгресі тканинних банків і VIII Міжнародній конференції Європейської асоціації тканинних банків (Польща,

Варшава, 1999); на I Національному з'їзді трансплантологів України (Київ, 2000); на II Російському конгресі патофізіологів з міжнародною участю „Патофизиология органов и систем. Типы патологического процесса” (Москва, 2000); на Симпозіумі з проблем тканинних банків з міжнародною участю „Биоимплантология на пороге XXI века” (Москва, 2001); Всеукраїнській науковій конференції „Успехи и перспективы развития криобиологии и криомедицины” (Харків, 2001); на Науково-практичній конференції з міжнародною участю „Сучасні методи наукових досліджень у морфології та патології” (Полтава, 2003); на Пленумі Асоціації ендокринологів України (Львів, 2003); Міжнародній науково-практичній конференції „Проблеми клітинної і тканинної трансплантації” (Ів.-Франківськ, 2003); на IV Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Чернівці, 2004); на Пироговських читаннях (Вінниця, 2004).

Публікації. Результати дисертаційного дослідження викладені в 35 друкованих роботах. 19 друкованих праць, з яких 10 одноосібних, опубліковані у центральних фахових виданнях, ліцензованих ВАК України. 5 патентів України. 11 тез доповідей у матеріалах і тезах з'їздів, конференцій, конгресів, симпозіумів, отримано 4 висновки про встановлення дати подання заявки на винахід.

Основні положення дисертаційної роботи увійшли в наукову працю „Розробка на базі фундаментальних досліджень нових біотехнологій одержання клітинних і тканинних алотрансплантатів”, відзначену Державною премією України в галузі науки і техніки за 2002 рік.

Структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 326 сторінках комп'ютерного тексту, складається з вступу, розділів: огляд літератури, матеріал і методи дослідження, 4-ох розділів власних досліджень, обговорення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел (358 країн СНД і 132 зарубіжних). Робота ілюстрована

96 рисунками (з них 19 графіки) та 16 таблицями, з яких 11 представлені за текстом.

РОЗДІЛ 1

Огляд літератури

Трансплантація кріоконсервованих клітин і тканин ембріофетоплацентарного комплексу (ЕФПК) – новий сучасний метод лікування різних патологічних станів людини. [184, 224, 289, 303, 318, 382, 396]. Трансплантація органів, на відміну від клітинної і тканинної трансплантації, є однією з найбільш проблемних, досить трудомісткою, залежною від медичної етики проблемою, яка вимагає чіткої ідентифікації антигенного спектра пересаджуваного матеріалу і його узгодження з антигенами гістосумісності реципієнта, імуносупресії останнього [23, 442, 465, 476]. На думку В.И.Грищенко і А.Н.Гольцева (2002) [78] головні з цих проблем може вирішити відносно нова, яка має у той же час, історичний досвід [49, 134, 189, 257, 258, 260, 271, 293 і багато інші] клітинна і тканинна трансплантація. Основною її перевагою є те, що для заміщення або відновлення функції ураженого органа (тканини) не потрібно широкомасштабного хірургічного втручання об'ємного донорського матеріалу, мова йде про розробку й освоєння нового напрямку в клінічній трансплантології мінітрансплантації ЕФПК [63, 64, 65, 67, 77, 80, 85, 87, 92, 93, 221, 288, 296, 381, 431]. Встановлено, що менш виражений ступінь диференціювання ЕФПК підвищує імовірність їх „адаптації” до мікрооточення і реабілітації скомпрометованого структурно-функціонального стану органа або тканини [76, 252, 253, 287, 293, 318, 381, 431].

Препарати ЕФПК мають ряд переваг [68, 220, 288] перед донорськими органами та клітинами і тканинами постнатального періоду: - зниженою імуногенністю і ступенем експресії молекул адгезії; - мобільністю і здатністю проникати в ушкоджені органи реципієнта; - неповною диференціюванням в вимогливо визначеному гістогенетичному напрямку.

Тканинна і клітинна трансплантація препаратів ЕФПК передбачає введення в організм живих, функціонально активних клітинно-тканних компонентів і реалізується через складні механізми взаємодії введеного матеріалу, і скомпрометованого структурно-функціонального профілю різних систем організму пацієнта [68, 77, 81, 87].

Метою клітинної і тканинної трансплантації є корекція міжсистемних взаємодій організму, які у свою чергу зменшують негативні наслідки патологічного процесу. ЕФПК потенційно здатний продукувати найширший спектр, збалансованих по концентрації, біологічно активних речовин, які реалізують свою дію в конкретних умовах, коригують функціональний статус систем, забезпечують гомеостаз, не тільки після їхнього введення, але і протягом усього терміну знаходження трансплантата в організмі. Адаптуючи і відповідаючи на місцеві органні і тканинні специфічні регуляторні сигнали, трансплантат ЕФПК може до того ж виступати й у ролі „пластичного будівельного” матеріалу, який реалізує функцію морфогенезу і відновлення структур ушкодженої області [68, 284, 381]. Однак, гострий період відповідної реакції організму на ЕФПК, пролонгується, частіше переходячи в хронічну форму [62, 66, 214]. При корекції скомпрометованої функції кожної системи гомеостазу [118, 123] маємо поліпшення міжсистемних взаємодій. Експериментальні дослідження в цьому напрямку є основними, і їм приділяється серйозна увага [38, 62, 66, 82, 91, 219, 225].

Особливе місце в трансплантації займає трансплантація ЕФПК плаценти. У літературі мається достатня кількість інформації щодо морфологічної структури, біохімічних, імунологічних показників плаценти в нормі, при акушерській і екстрагенітальній патології [227, 235-238, 240-246, 248-250, 270, 272, 311].

У той же час аналіз даних літератури показує, що спеціальних фундаментальних досліджень присвячених структурно-функціональній характеристиці нативної і кріоконсервованої плаценти, як матеріалу для

трансплантації, немає. Маються розрізнені, неповні, часом суперечливі дані про вміст у ній біологічно активних речовин (БАР) після проведеної кріоконсервації.

Таким чином, спеціальних фундаментальних досліджень присвячених змінам структурно-функціональних показників нативної і кріоконсервованої плаценти, як матеріалу для трансплантації, а також даних про морфофункціональну характеристику внутрішніх органів при трансплантації плаценти немає.

1.1. Роль кріоконсервації у вирішенні завдань довгострокового зберігання клітин і тканин.

Кріоконсервація визначається як збереження біологічного матеріалу в замороженому стані, як правило, при температурі -80°C або рідше – при температурі рідкого азоту -196°C [432, 455].

Розширення й інтенсифікація досліджень дозволили виявити залежність ступеня збереження біологічних об'єктів від концентрації кріозахисної речовини і виявити зв'язок зі швидкістю охолодження клітин.

Дані літератури [157, 436, 437] свідчать про використання повільних швидкостей заморожування і швидкого відігрівання для збереження тканинних клітин. Доведена ефективність повільного заморожування в присутності гліцеролу при якому зменшувався гемоліз еритроцитів після відігрівання [438, 439].

При заморожуванні біологічні системи піддаються дії складних і багатокомпонентних факторів, кожний з яких може вносити свій внесок у розвиток необоротних, летальних ушкоджень після відігрівання.

Рішення ряду фундаментальних проблем кріобіології мало велике практичне значення для медичної, ветеринарної і сільськогосподарської практики, оскільки дозволяло підвищити ефективність довгострокового збереження різноманітних біологічних об'єктів.

У ході постановки, реалізації і поглиблення досліджень в області фізико-хімічної кріобіології, імунології, морфології і патофізіології в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України сформувалося кілька наукових шкіл, які набули широкого вітчизняного і міжнародного визнання. Це пов'язано з тим, що результати, отримані в ході виконання науково-дослідницьких робіт не мають аналогів у світовій літературі і носять піонерський характер.

Однієї з основних задач кріобіології є вивчення механізмів, які лежать в основі природного і штучного захисту живих систем від ушкоджуючої дії холоду, тобто в здійсненні ідеї оборотної зупинки життя [232, 233, 460].

На основі рішення цієї проблеми можливе створення ефективних методів кріоконсервування, а розробка таких методів є основною проблемою сучасної кріобіології і кріомедицини.

Методи довгострокового збереження з використанням глибокого холоду здобувають особливу значимість для створення запасів біологічного матеріалу, який зберігається в життєздатному стані протягом практично необмеженого часу [99, 387].

Характер змін у біологічних структурах при дії охолодження і заморожування являє собою кардинальне питання кріобіології. При цьому слід зазначити, що загальні закономірності кристалоутворення властиві для всіх клітинних і тканинних субстратів, хоча і залежать деякою мірою від їхньої структури, а, у ряді випадків, і функції. Розробка ефективних методів низькотемпературного збереження біологічного матеріалу зі збереженням високого рівня його життєздатності після відігрівання можлива лише на базі фундаментальних досліджень особливостей дії холоду на різних рівнях організації живого об'єкта [104, 393]. На підставі ретельного вивчення фізико-хімічних процесів, дослідження структурних змін, що відбуваються при дії низьких температур, можна розробити найбільш доцільні й адекватні методи збереження, щодо кожного окремо узятим об'єктом.

Низькотемпературне консервування – багатоетапний і багатофакторний процес, протягом якого біологічні об'єкти піддаються дії різних фізико-хімічних факторів, обумовлених змінами температури, складу і стану компонентів системи. Донедавна параметри консервації підбиралися емпірично, що істотно обмежувало можливість досягнення високої ефективності і позитивних результатів експериментів у цілому.

Ведучою тенденцією кріобіології в даний час є перехід від емпіричних принципів досліджень до глибокого вивчення механізмів кріопошкодження і кріозахисту, та розробка на цій основі необхідних і достатніх умов ефективного низькотемпературного консервування.

З цих позицій весь процес кріоконсервування можна розглядати як нову біотехнологію, що має великі перспективи розвитку і впровадження в різні галузі народного господарства [300].

Одним з головних факторів, які ініціюють виникнення і розвиток подальшого ушкодження в тканинах, що заморожуються, є охолодження за рахунок відводу від біосистеми енергії у виді тепла. При охолодженні змінюється фазовий стан багатьох компонентів, у тому числі і води, що приводить до розвитку більш складних багатокаскадних процесів.

Вода є універсальним розчинником і забезпечує протікання ферментативних процесів. Гідрофобні бар'єри представлені клітинними мембранами і мембранами внутрішньоклітинних органел. Найбільш простим способом зниження енергії активності біохімічних процесів у живій системі є пониження її температури до 0°C. Такий спосіб гіпотермії збереження відноситься до класичних методів консервування.

Недоліки цього методу широко відомі і полягають у тім, що гіпотермія не запобігає енергообміну цілком. Метаболічні зміни і структурні ушкодження продовжують розвиватися при такому зниженні температури й приводять до автолізу тканин. При донулевих температурах на функціональний стан клітин впливає структурно-фазові переходи ліпідів і

їхній латеральний розподіл, у результаті чого можуть утворюватися дефекти в мембранах з порушенням проникності ліпідного бішара.

Основним фактором, який викликає автолітичні зміни в клітинах, є припинення або обмеження доставки кисню в тканини, що в свою чергу призводить до порушення безупинно протікаючих окислювально-відновних процесів. Вивчення структурних і метаболічних порушень, а також з'ясування патогенетичних механізмів ушкодження клітин і тканин при гіпоксії присвячена велика кількість робіт, оскільки вся трансплантологія, як наука, і як практичний розділ медицини знаходиться в тісному зв'язку саме з дослідженням характеру ушкоджень і способів захисту живої системи [180, 198, 264, 267, 386].

Припинення доступу кисню до тканин супроводжується швидким зниженням його концентрації в тканинах майже до нуля [209, 341, 449], що і викликає активацію гідролітичних процесів, які у звичайних умовах існування біосистеми виражені слабо, оскільки дихальне фосфорилування забезпечує досить високий рівень змісту АТФ.

Основні ушкодження в клітині відбуваються в температурному інтервалі від 0 до -30°C , коли рідка фаза біологічної системи починає кристалізуватися.

Пусковим процесом, що веде до руйнування клітини в цьому інтервалі температур, є саме кристалізація вільної води, ріст кристалів льоду і формування мікроканалів льоду, у яких концентрується рідка фаза і здавлюються клітини.

Особливе місце на першому етапі охолодження займає явище, відоме як температурний або термальний шок. У дослідженнях [24, 25, 438] показана визначальна роль трансмембранних дефектів у розвитку температурного шоку. Спочатку під впливом дії холоду, зменшується міцність і еластичність мембран, у них виникають трансмембранні дефекти, а потім у результаті осмотичних процесів в умовах змінених фізико-хімічних

параметрів біологічної системи відбуваються структурно-функціональні порушення клітин. [445].

Основа формування дефектів складається в двоїстому характері реакції плазматичної мембрани на зміну осмотичних і температурних умов середовища. По-перше, цей розвиток молекулярних реакцій у мембрані як у двовимірному матриксі, який включає компоненти різної хімічної природи. Зниження температури при цьому викликає в мембрані конформаційні перебудови стану білків і фазово-структурні переходи молекул ліпідів у фазу гелю. По-друге, низька температура і зміна осмоларності середовища приводять до появи макродефектів у плазматичній і внутрішньоклітинній мембранах. Зміни осмотичних умов середовища часто передують зміні температурних параметрів за рахунок обробки кріопротектором, нагромадження метаболітів і ін [198, 386].

При охолодженні нижче за точку замерзання і початку кристалізації в біосистемі відбувається ряд процесів, у тій або іншій мірі впливаючих на живу матерію. Вивчення особливостей процесів заморожування у водних системах, у яких структурні перешкоди для реалізації процесів кристалізації практично відсутні, показало наявність двох фаз – первинної і вторинної кристалізації. До великої групи факторів, які пошкоджують клітини при заморожуванні, відноситься підвищення концентрації розчинених речовин, що виникає при кристалізації рідкої фази. Особливість заморожування біологічних об'єктів, основним компонентом яких є вода, полягає в тому, що спочатку кристалізується чиста вода, а у порожнечах між кристалами концентруються розчинені речовини. Клітини, які попадають в умови гіперконцентрації, продовжують втрачати воду, у результаті чого продовжується зростання концентрації солей і, як результат цього процесу, втрата клітинами життєздатності [264, 267].

Маються дані, що при заморожуванні на клітинних мембранах створюється великий градієнт осмотично активних речовин, які також є

одним з факторів ушкодження. Агрегація біомакромолекул, як фактор кріопошкодження мембранних структур відіграє велику роль у загальній системі кріопошкоджень.

В даний час встановлено, що найбільш чуттєві до заморожування – біологічні мембрани, у яких локалізовані механізми окисного фосфорилування, каталітичні білки, компоненти ядра. У ряді досліджень основна роль у необоротній загибелі клітин після заморожування і відігрівання приділяється мітохондріям і лізосомам. У мітохондріях мається високий поріг чутливості до дії фактора гіперконцентрації солей, відбувається пригнічення активності ферментів дихального ланцюга, порушення механізму окисного фосфорилування. Ці зміни передують ультраструктурним змінам мембран, що в цілому свідчить про активні процеси ушкодження на молекулярному рівні [341].

Заморожування клітини викликає появу великої кількості факторів ушкодження, таких як гіперконцентрація солей усередині клітини і позаклітинному просторі, ріст кристалів льоду, зміна електростатичних показників і ін., що неминуче в тій або іншій мірі знаходить прояв у порушеннях структурної організації біологічного об'єкта. Слід зазначити, що для циклу заморожування і відігрівання характерним є феномен розвитку після відігрівання „латентних” ушкоджень [421].

При заморожуванні біологічних об'єктів, відбувається утворення кристалів льоду в позаклітинному просторі. Лід кристалізується у виді чистої фази, витісняючи іони й інші розчинені речовини в залишковий, частково заморожений розчин. Це збільшує його осмомолярність у позаклітинному просторі, знижуючи хімічний потенціал стосовно внутрішньоклітинного розчину. При подальшому охолодженні підвищується концентрація розчиненої речовини [432, 438].

Кристали льоду утворюються в клітині, та мають тенденцію до росту вздовж рідких цитоплазматичних каналів, утворених структурними білками клітини [209].

У проведених експериментальних дослідженнях було показано, що швидкість охолодження біологічних об'єктів є одним зі способів регуляції не тільки формування льоду в клітині, але також розміру і конфігурації кристалів. З підвищенням швидкості заморожування можливість формування внутрішньоклітинного льоду буде підвищуватися, однак сформовані внутрішньоклітинні кристали менш стійкі і змінюють свою форму або мають здатність „рости” під час відігрівання. Показано, що для клітин різного гістогенезу і рівня інтенсивності метаболічних процесів поняття „швидка” і „повільна” швидкості можуть варіювати в досить широких межах. На підставі морфологічних досліджень, а також симетрії і послідовності появи кристалів льоду різної величини і форми, був зроблений висновок про те, що сам процес кристалізації залежить від швидкості заморожування [233, 234].

Одним з найбільш важливих факторів кріопшкодження при кристалізації, як уже вказувалося, є підвищення концентрації розчинених речовин у навколо клітинній рідині. Експериментальні дані і зазначені закономірності певною мірою пояснює двофакторна гіпотеза кріопшкодження, сформульована й експериментально підтверджена [438]. Експериментальною передумовою для створення двофакторної теорії кріопшкодження служили, в основному, дослідження при заморожуванні еритроцитів і дріжджових клітин. Авторів вдалося виявити загальну закономірність між інтенсивністю процесу зневоднювання клітин на етапі кристалізації і параметрами, що характеризують умови заморожування і властивості консервуючих клітин.

Відповідно до цієї теорії виживаність клітин при заморожуванні знаходиться в залежності від двох типів явищ і зв'язаних з ними факторів, що ушкоджують.

До першого типу відноситься осмотичне зневоднювання клітин, у результаті чого підвищується концентрація внутрішньоклітинних розчинів, що приводить до ушкодження мембранних структур та часткової утрати води. Ушкодження клітини ініціюється в той же час і концентрацією позаклітинного розчину, що підвищується, за рахунок вимерзання води, що супроводжується зміною кислотності й іонної сили розчину поза- і усередині клітини і руйнування клітинної плазматичної мембрани в результаті досягнення клітиною мінімального обсягу.

Другий тип ушкоджень зв'язаний з утворенням внутрішньоклітинних кристалів льоду, що викликає ті ж явища, що і зневоднювання, і, крім цього, викликає механічне руйнування всіх структур, особливо при повільному відігріванні.

Ступінь ушкодження клітин знаходиться в прямому зв'язку зі збільшенням часу дії перерахованих факторів і може бути зменшений за рахунок збільшення швидкості заморожування. У той же час, для запобігання дії факторів другого типу, зв'язаних із внутрішньоклітинною кристалізацією, швидкість охолодження повинна бути зменшена, тому що при досить високій швидкості явища переохолодження неминучі. При утворенні внутрішньоклітинного льоду зневоднювання клітини припиняється.

Компромісним варіантом є запропоноване [387] двоступінчасте заморожування. Витримування об'єктів, які заморожуються, проходить при температурі -25°C з наступним швидким зануренням в азот. На думку автора температурна зупинка забезпечує холодову адаптацію клітин і підвищує їхню життєздатність після відігрівання.

Явище холодової адаптації не є специфічним для визначених клітин, а носить загально біологічну закономірність і може бути використане для кріоконсервування різних клітин.

Більшість процедур кріоконсервування виконуються з метою одержання довгострокового зберігаємого біологічного матеріалу і засновано на повільному охолодженні [429, 438].

В більшості клітин проникність клітинної мембрани для води і зміна цього параметра при охолодженні є необхідною умовою збереження рівноваги стану лід-вода [437]. В результаті цього настає зневоднювання клітинної системи з незначною кількістю залишкової внутрішньоклітинної води.

Можна припустити, що висока концентрація позаклітинних солей певним чином впливає на структуру клітини, викликаючи після відігрівання ушкодження у вигляді лізису і різкого набрякання. Однак було показано [437], що при повільному заморожуванні різниця між концентрацією розчинених речовин усередині клітини і поза клітинною буде незначно, таким чином, „сольове навантаження” на структури не буде настільки різко виражене, щоб викликати істотні клітинні ушкодження [9, 441].

Зм'якшенню або мінімізації ефекту розчинів сприяє введення кріопротекторів у середовище заморожування. Ці речовини „збільшують” розміри мілкокристалічних каналів і зменшують кількість льоду.

З метою захисту біологічних структур при заморожуванні на цей час у світовій практиці застосовуються захисні агенти, так називані кріопротектори. Завдяки значному скринінгові кріопротектори зосереджені в декількох класах органічних речовин – поліолах, амідах, оксидах. Для створення і прогнозування нових кріозахистних речовин був розроблений і використовується метод систематизованого дослідження залежності кріозахистної активності, цитотоксичності і загальної токсичності з'єднань у гомологічних рядах поліолів [181, 358].

Наявність у системі кріопротектора, який заморожується разом з об'єктом, (спиртів, деяких солей, цукрів, гліцерину, диметилсульфоксиду й ін.), та проникає у клітину при заморожуванні, сприяє підвищенню

інтрацелюлярної осмомолярності, що попереджає надмірне зневоднювання і руйнування мембран клітин. Маються експериментальні дані [393], що свідчать про те, що проникаючі кріопротектори здатні формувати міцні зв'язки з водою, завдяки чому зменшується кількість води, яка вимерзає, і зменшується ступінь дегідратації клітин.

Механізм дії кріопротекторів складний.

Кріопротектори пластифікують ліпідний матрикс мембран клітини, стабілізують просторову організацію макромолекул, змінюють ферментативну активність білків, викликають переконаденсацію хроматину в ядрі, просторово роз'єднують мікроструктури цитоплазми, деполімеризують рибосоми, збільшують обсяг ЕПР, мітохондрій і лізосом.

Варто врахувати також існування „ефекту пакування” [380, 393, 452] при повільному охолодженні, що пояснює вибір оптимальних концентрацій клітин під час стандартної процедури кріоконсервування.

У великій кількості досліджень було показано, що швидкості охолодження, які перевищують 10 хв. найчастіше супроводжуються утворенням міжклітинного льоду [440]. На користь цього свідчать дослідження, що підтверджують низьку життєздатність об'єктів після відігрівання при використанні швидкостей перевищуючий зазначений ліміт.

Таким чином, повільне охолодження до температур, при яких зневоднювання клітин ще може бути продовжене (біля -50°C) з наступним перенесенням їх у рідкий азот дозволяє одержувати підбадьорюючі результати їхнього збереження і включати такий метод кріоконсервування в біотехнологічний процес.

Найбільш оптимальними швидкостями вважається швидкість 1 хв до -70°C і наступне занурення контейнера з матеріалом у рідкий азот [82, 83, 86, 358].

При високій швидкості заморожування стан переохолодження всієї системи збільшується, утворюються ядра кристалізації і зростає імовірність

їхнього внутрішньоклітинного утворення. Про те, наскільки виявляється істотно механічні ушкодження клітини кристалами льоду немає повної ясності, оскільки маються дані про те, що такі кріопошкодження і настають, проте вони не носять летального для клітини характеру і після відігрівання настає швидка репарація. Більш вірогідно, що ушкодження настають у результаті наступаючої дегідратації і підвищеної концентрації речовин, що знаходяться в клітині [41].

Особливу область досліджень склало вивчення процесів рекристалізації, що відбуваються як при збереженні зразків, так і при їхньому відігріванні, яке являє собою велику небезпеку для цілісності біологічних мембран за рахунок геометричного росту кристала льоду [456]. Співвідношення між температурою й інтенсивністю ушкодження при заморожуванні і відтаванні не однакоє, тому що при відігріванні залишається більше води в замороженому стані, чим при охолодженні при тій же температурі

Приведені дані дозволяють виділити наступні етапи патогенезу кріопошкодження.

1. Руйнування клітинних і субклітинних мембран, зв'язане з утворенням кристалів льоду під час заморожування і відігрівання.
2. Зневоднювання клітин унаслідок формування кристалів льоду, підвищення концентрації електролітів, які токсично і летально впливають на клітини.
3. Денатурація білків і зв'язана з ними деструкція клітинних мембран ядер, мітохондрій, лізосом.

Вплив усіх перерахованих вище факторів кріопошкодження клітин зв'язано з їх вихідним метаболічним станом.

У реакції клітин на дію факторів, що ушкоджують, можна виділити наступні стадії: первинна декомпенсація, адаптація, компенсація негативної

дії фактора і вторинна декомпенсація, що завершується загибеллю клітин [358].

Вивчення патофізіологічних, біохімічних, морфологічних і імунологічних процесів на клітинному, тканинному й організменому рівнях дозволило науково обґрунтувати і розробити методи кріоконсервування різних біологічних об'єктів.

Було доведено, що порушення бар'єрної функції плазматичної мембрани обумовлює формування у ній мікро- або макродефектів. Дослідженнями, в області розвитку і впливу осмотичного і температурного шоку клітин, були виявлені закономірності в залежності чутливості клітин до холодового впливу від їхнього об'єму і різниці осмотичного тиску. Ушкодження клітин може бути зв'язане з деформацією пружних елементів мембранного цитоскелету при його осмотичній дегідратації і порушенні структури клітини.

Вивчено кінетику деформації і зміну обсяг кількості клітин у процесі заморожування, а також характер їхніх взаємодій зі зростаючими кристалами льоду. Побудовані й експериментально підтверджені фізико-математичні моделі, що описують процеси внутрішньоклітинної кристалізації і зневоднювання клітин, доведено, що ініціювання внутрішньоклітинної кристалізації знаходиться в прямому зв'язку зі складом плазматичної мембрани [380].

Заглиблені дослідження клітинних суспензій у зоні низьких температур дозволили знайти новий механізм кріопошкоджень клітин – механоелектричний. Суть його полягає в тому, що при зміні температури на межі розділу спостерігається розтріскування кристалічної маси і поява заряду на знову утворених кристалах [393].

Виникаюча при цьому різниця потенціалів викликає іонізацію й електростатичне випромінювання, що в області низьких температур ушкоджує структуру клітини і впливає на її функціональний стан.

До дійсного часу накопичений визначений експериментальний матеріал щодо впливу заморожування на структурно-функціональні параметри клітини. Результати досліджень дозволили зробити висновок, що у різноманітні типів і глибині змін загальним є структурні перебудови, обумовлені осмотичним фактором. Основними проявами структурних змін при цьому є явища набряку мітохондрій і цистерн ендоплазматичного ретикулуму, розширення перинуклеарного простору, а у ряді випадків з майже повним відторгненням цитоплазми від ядра. Особливістю ультраструктури деконсервованих клітин є наявність ділянок розрідження субклітинних структур і ущільнення мітохондріального матрикса. Частою ознакою дії охолодження є утворення вакуолоподібних порожнеч у цитоплазмі клітин, збідніння ергастоплазми з ущільненням структури гіалоплазми.

Порівняння результатів прижиттєвого фарбування клітин прижиттєвими барвниками з результатами електронно-мікроскопічних досліджень свідчить, що виявлені зміни мембранних структур у своїй більшості оборотні, оскільки після відігрівання відбувається репарація нелетальних ушкоджень, які розвиваються.

Не всі структурні компоненти тканини в однаковій мірі реагують на заморожування і кристалоутворення. Топооптичне дослідження міжклітинної речовини [102] указує на деякі зміни колагенових структур при заморожуванні у виді зниження ступеня рефракції колагену незалежно від його ступеня зрілості. Зміни сполучної тканини характеризувалися порушенням макромолекулярної організації міжклітинної речовини, що, мабуть, зв'язано з руйнуванням численних іонних і водневих зв'язків протеогліканів із глікопротеїновими комплексами, колагеном і еластином. Дослідження показали також, що при низькотемпературному впливі збільшується відстань між поліпептидними ланцюжками і віссю молекул колагену, а також змінюється кут нахилу поліпептидних ланцюжків до його

молекулярної осі, що і впливає на величину подвійної променезаломлюваності.

Можна припустити, що ушкоджуюча дія холоду і зменшення внутрішньої подвійної променезаломлюваності колагену обумовлена руйнуванням внутрішньоланцюгових водневих містків, які підтримуються молекулами води і відіграють істотну роль у стабілізації потрібної спіралі молекули колагену [102].

Таким чином, на підставі викладеного варто зробити висновок, що розробка методів ефективного тривалого низькотемпературного збереження різних біологічних об'єктів неможлива без заглибленого дослідження тих явищ і процесів, що відбуваються при дії знижених температур і супроводжуються процесами кристалізації льоду.

Проведені експериментальні дослідження і теоретичні розробки з'явилися основою і базою, на основі яких і була створена можливість довгострокового збереження різних біологічних об'єктів для їхнього подальшого клінічного використання.

1.2. Загальна характеристика плаценти.

Плацента є провізорним органом, оскільки вона формується в процесі ембріогенезу, росту і розвитку плоду і закінчує своє існування до кінця пологів. Плацента людини відноситься до гемохоріального типу, характеризується наявністю безпосереднього контакту материнської крові і хоріона, це сприяє найбільш повному здійсненню складних взаємовідношень між організмами матері і плоду [28, 42, 310]. По сучасним уявленням, плацента виконує наступні функції: трофіку і білковий синтез, які забезпечують ріст і розвиток ембріона; газообмін; гормонovidілення і гормонорегуляцію; регуляцію кров'яного тиску; регуляцію зсідання крові; антитоксичну функцію і виділення метаболітів; депонування різних

біологічно активних речовин; імунну регуляцію; регуляцію процесів перекисного окислювання ліпідів [47, 54, 79, 100, 112, 177, 247].

1.2.1. Морфологічна характеристика плаценти.

Поліфункціональність плаценти зв'язана з її унікальною морфологією. У сформувавшійся плаценті із плодової сторони міжворсинчастий простір обмежений хоріальною пластиною, покритою амніоном, а з внутрішньої хоріальна пластина вистелена цитотрофобластом [47, 266, 310]. Клітинні елементи хоріона за даними Н.И.Цирельникова (1980) [310] представлені фібробластами, гістіоцитами, опорними клітинами і клітинами Кащенко-Гофбауера, здатними транспортувати, депонувати поживні речовини. Строма ворсин відділена від трофобласту базальною мембраною. Епітелій ворсин хоріона представлений клітинами цитотрофобласту і синцитіотрофобластом (плазмоїдальний трофобласт). Цитотрофобласт утворює клітинні колонії й островці, вільно розташовані в міжворсинчастому просторі [265, 311, 313].

В даний час, завдяки імуноморфологічним методам дослідження, виділені два типи клітин (вакуолізований і еозинофільний цитотрофобласт) [239].

Синцитіотрофобласт розташовується назовні від цитотрофобласту. Він представлений базофільною цитоплазмою з включеними в неї ядрами і не має клітинних меж. На вільній поверхні синцитію, зверненої до міжворсинчастого простору, маються численні цитоплазматичні вирости, завдяки яким поверхня хоріального епітелію значно збільшується. З материнської сторони міжворсинчастий простір обмежений базальною мембраною і септами [196, 239, 285].

Плацентарний бар'єр представлений тканинами термінальних ворсин хоріона: трофобластом, базальною мембраною трофобласту, стромою ворсин, базальною мембраною ендотелію і клітинами ендотелію капілярів.

Зменшенню товщини бар'єра в зрілій плаценті сприяють переміщення капілярів з центральних відділів ворсин у периферичні, дозрівання стромы зі зменшенням кількості клітинних елементів, трансформація цитотрофобласту в синцитій з редукцією шару Лангганса, перетворення в синцитіотрофобласті. У зрілій плаценті хоріальний епітелій складається з одного шару - синцитіотрофобласту, але при електронній мікроскопії можна знайти окремі клітини цитотрофобласту [239, 285, 310].

1.2.2. Біохімічна характеристика плаценти. Білки плаценти.

Численні функції плаценти так чи інакше зв'язані з виробленням плацентарними клітинами речовин білкової природи [310, 342, 366]. Висока білоксинтезуюча активність плаценти доведена електронно-мікроскопічними [482, 448], гістохімічними [17], біохімічними [228, 310, 312, 372, 479] дослідженнями.

Доведено [419], що нормальний біосинтез білка в плаценті забезпечує імунні реакції цього органа шляхом переробки біологічно активних груп плацентарних імуноглобулінів, здатних нейтралізувати імунологічні комплекси, якими обмінюються мати і плід [469]. У плаценті синтезується більшість "специфічних білків вагітності" і лише деякі з них утворюються в печінці матері [367, 407]. Підтримка фізіологічного рівня біосинтезу білка в плаценті важливо не тільки для існування самого органа (ріст, формування структури, нормальне функціонування), але і для забезпечення гомеостазу всього плацентарного комплексу (ендокринна, ферментативна, імунна і трофічна функції). Установлена [366, 378, 488] участь плаценти в метаболізмі амінокислот між матір'ю і плодом і її роль у забезпеченні плоду пластичним матеріалом шляхом трансляції материнських амінокислот у кров плоду і синтезу ембріоспецифічних білків з амінокислот матері [310, 377].

У більш пізній термін, починаючи з 16-18-й тижня і до кінця вагітності, основна кількість продукуваного плацентою білка експортується в організми

матері і плоду для забезпечення гомеостазу фетоплацентарного комплексу [206, 310]. Загальна кількість білка, синтезованого плацентою наприкінці вагітності при масі плаценти 450-600 г - 795 г/д [374, 461, 470, 480]. Загальний рівень біосинтезу білка в плаценті залишається досить високим аж до пологів [367, 398, 411, 447], як і синтез нуклеїнових кислот [412, 423, 425, 426, 480]. Дуже важливою особливістю зрілої плаценти є вироблення великої кількості секреторних білків — білків "на експорт", які йдуть на побудову ферментів, глобулінів, гормонів [377, 379].

У літературі відсутні дані про вплив усіх груп гормонів на біосинтез білка в плаценті. Маються нечисленні дані про стимуляцію синтезу білка в плаценті естрадіолом [409]. Досягається це, на думку автора, шляхом збільшення виробництва енергії в результаті реакції трансгідрогенізації.

Доведено, що значні дози естрадіолу, а також прогестерону і тестостерону гальмують асиміляцію плацентарного гліцину і синтез білка, але, імовірно, як наслідок фармакологічного впливу великих нефізіологічних доз [409]. Інсулін стимулює білковий обмін у плаценті [430, 487]. Хоріонічний гонодотропін стимулює як плацентарний глікогенез, так і синтез білка з вуглеводних і амінокислотних попередників [372]. Суперечливі дані про взаємозв'язок між ростом плаценти і біосинтезом білка не дозволяють зробити остаточний висновок про взаємозумовленість цих процесів [481]. Ні кількість плодів, ні їхні розміри не мають вирішального впливу на ріст плаценти, що продовжується навіть після фетектомії [454]. Більш того, навіть при відсутності плоду плацента продовжує виробляти специфічні пептиди вагітності, що свідчить про її значну автономність.

Роль клітинного поділу і збільшення розміру існуючих клітин у процесі росту плаценти були побічно досліджені шляхом визначення в плаценті загального білка, РНК, ДНК. Збільшення маси плаценти, вмісту білка і РНК знаходяться в прямій корелятивній залежності від прогресування вагітності [481]. Єдиної думки про динаміку росту вмісту ДНК у тканині плаценти

немає. Збільшення її було відмічено до 34-36-того тижнів вагітності в людини з наступною стабілізацією рівня [481], що свідчить про припинення розподілу клітин перед закінченням вагітності.

Ріст плаценти в пізній термін вагітності пояснюється збільшенням існуючих клітин, а зменшення інтенсивності клітинного розподілу – закінченням вагітності і настанням пологів. Очевидно, на кожному етапі вагітності проліферація і гіпертрофія перебувають у стані динамічної рівноваги, при цьому не виключений апоптоз. Ріст плаценти в початковий період вагітності здійснюється за рахунок проліферації і біосинтезу неспецифічних білків, а в більш пізній термін – гіпертрофії клітин і синтезу специфічних протеїнів. Доказом цього служать відсутність мітозів у плаценті людини після 36 тижнів [472]. Результати авторадіографічного дослідження плаценти людини, показали зниження синтезу ДНК по мірі наближення кінця вагітності [375, 412, 480].

Відомо, що в клітині трансляція на мРНК відбувається одночасно в декількох пунктах, тобто уздовж мРНК рухається декілька (до двох десятків) рибосом, які несуть поліпептидні ланцюги [345, 450]. Деякі рибосоми завершують роботу і "скочуються" з одного кінця матриці, інші прикріплюються до неї з вивільнюваного кінця. Такі комплекси, з однієї мРНК і декількох рибосом, називаються полірибосомами (полісомами). Відстані між рибосомами в полісомах виявляються величиною постійної. Тому число рибосом, які складають кожну полісому, приблизно пропорційно довжині матричної РНК, а значить і розмірові білка. У спеціалізованих клітинах, переважно синтезуючих той або інший білок, превалюють полісоми визначеного розміру [399].

Полісоми дозволяють пізнати рибосоми, які активно синтезують білок. Показано, що серед одиничних рибосом, так званих моносом, лише 20% активно синтезують білок. Що стосується полісом, то в них функціонально активні всі рибосоми [243, 246, 249]. Це пов'язано з деяким зниженням рівня

біосинтетичних процесів у плаценті в більш пізній термін вагітності [395, 471]. Такий перерозподіл рибосом спостерігається в динаміці не ускладненої вагітності, і свідчить, що в процесі дозрівання плаценти в її клітинах на тлі загального зниження білкового синтезу і синтезу власних структурних білків підсилюється синтез секреторних білків – білків "на експорт", необхідних для максимальної функціональної активності органа наприкінці вагітності. Оцінюючи з тих же позицій седиментаційні профілі мембранно-зв'язаних полірибосом, можна відмічати, що високомолекулярні білки синтезуються на них переважно до кінця вагітності. Це узгоджується з даними про збільшення вмісту γ -глобулінів, пролактину і α -фетопротейну в плаценті в останні тижні вагітності [244, 248, 384].

У зрілій плаценті спостерігається тенденція до деякого зниження рівнів біосинтезу білка і РНК у порівнянні з початковими термінами вагітності, але активується синтез білків "на експорт", що виражається не тільки в збільшенні частки рибосом, зв'язаних з мембранами ендоплазматичного ретикулуму, але й у змінах седиментаційних профілів полірибосом. До кінця вагітності вільні полірибосоми представлені в основному легкими і середніми агрегатами, тоді як у препаратах мембранно-зв'язаних полірибосом переважають важкі форми, на яких можуть синтезуватися високомолекулярні білки [451].

Таким чином, зміни в седиментаційних профілях полірибосом у певній мірі свідчать про перебудови білоксинтезуючого апарату клітин плаценти, які відбуваються в процесі формування і розвитку цього органа і зв'язані, мабуть, зі змінами в наборі синтезованих білків. Ці дані відповідають аналогічним результатам, отриманим при дослідженні білоксинтезуючого апарата плаценти людини в динаміці нормальної вагітності, а також доводять наявність загальних закономірностей у біосинтезі білка плаценти по мірі її дозрівання і відкривають можливість використання зазначених критеріїв при

різних способах метаболічної корекції при введенні її фрагментів в організм хворої людини.

1.2.3. Ферменти плаценти.

У плаценті дуже висока активність ферментів, це зв'язано з метаболічною роллю цього органа [177]. Серед ферментів, що характеризують функцію плаценти, варто виділити групу дихальних ферментів [296]. До них відносяться оксидази (моноамінооксидаза, система цитохромоксидаз), каталаза, НАД- і НАДФ-діафори, велика група дегідрогеназ (ДГ). Універсальне джерело енергії – АТФ – синтезується мітохондріями, показником функціонального стану яких служить сукцинатдегідрогеназа (СДГ). Вона відіграє важливу роль у процесі переносу водню при відщипленні його від вуглецю при аеробному окислюванні. Активність СДГ у хоріальному епітелії підсилюється до кінця вагітності.

Неспецифічним показником білкового синтезу, що вимагає АТФ, служать НАД- і НАДФ-діафори. НАД-діафори бере участь у відновленні цитохрому С. Найбільша активність цих ферментів встановлена в епітелії ворсин хоріона, особливо в синцитії. До кінця вагітності активність НАДФ- і НАД-діафораз знижується.

Активність вуглеводного обміну визначають по наявності ферментів, які розщеплюють вуглеводи. До них відносяться діастаза, інвертаза, лактаза, карбоксилаза, кокарбоксилаза й ін. Активність їх у плаценті в 4-8 разів вище, ніж у печінці матері, і підвищується в міру розвитку вагітності і збільшення потреб плоду.

Для клітинного обміну в трофобласті важливе значення має активність лужної фосфатази, зокрема її термостабільного ізоферменту (ТСФ), специфічного для плаценти. При біохімічних дослідженнях встановлено, що активність ТСФ у родах досягає максимуму – $4,6 \pm 0,28$ ВЕ (одиниці Боданського).

Іншим специфічним ензимом, що характеризує стан трофобласту, є окситоциназа. Її активність досягає максимуму на 37-41 тижні ($0,34 \pm 0,01$ од.); у родах активність окситоцинази знижується [58]. Широко представлені в плаценті й інші біологічно активні речовини (системи гістамін-гістаміназа, ацетилхолін-ацетилхолінестрераза й ін.), а також фактори згортання крові і фібринолізу.

Особливо активні протеази, які, подібні з ферментами шлунково-кишкового тракту – трипсином і ерипсином. Місцем продукції плацентарних гормонів є синцитіо- і цитотрофобласт, а також децидуальна тканина.

Ензимотерапевтичний лікувальний ефект являється досить популярним у медицині [117, 154, 182, 475]. У випадку введення суміші ферментів в організм вона резорбується в кров і зв'язується там з антипротеїназами (α_1 -макроглобуліном і α_1 -антитрипсином) [408]. За рахунок цього нівелюються антигенні детермінанти протеїназ, але зберігаються ферментативні властивості речовин. Крім того, за рахунок зв'язування з α_2 -макроглобуліном, фермент проникає в макромолекулу і знаходячись там у своєрідній ніші, куди доставляються в незмінному виді в зону дії [417].

Дія зазначених протеаз на імунні клітини має кілька форм:

- зменшення щільності (експресії) клітинних рецепторів, у результаті чого обмежується можливість небажаних імунних відповідей, наприклад, експресія адгезивних молекул [459, 471]. Один з варіантів такої форми дії протеаз - відщиплення і розчинення “легких ланцюгів” рецепторів Т-клітин для інтерлейкінів [208, 370].

- розщеплення і елімінація циркулюючих імунних комплексів які самі по собі є патогенним фактором запалення. У результаті видалення цих комплексів з циркуляції відновлюється здатність моноцитів-макрофагів і інших фагоцитів звільняти організм від антитіл, отже від утворення нових імунних комплексів [255].

Таким чином, із приведених вище даних видно, що резервні можливості плаценти досить великі, щоб забезпечити не тільки нормальний розвиток і ріст плоду, а також корекцію гемопоезу.

1.2.4. Захисна і бар'єрна роль плаценти.

Захисна (бар'єрна) роль плаценти велика. Так, перехід від матері до плоду білків, жирів, вуглеводів і інших метаболітів, які постійно утримуються в крові матері, регулюється механізмами, що виникають у плаценті в процесі філо- і онтогенезу. Стосовно речовин, уведеним ззовні або випадково потрапляючим у кров матері, бар'єрна функція плаценти виражена менше. Внаслідок цього через плаценту легко проникають наркотичні засоби, алкоголь, нікотин і багато інших токсичних речовин, а також практично всі лікарські засоби. Проникність плаценти змінюється протягом вагітності відповідно до зростаючих потреб плоду. Маються дані про підвищення проникності плаценти до кінця вагітності, що зв'язано зі змінами в структурі пограничних мембран, у тому числі зі зникненням цитотрофобласту і поступовим стоншенням синцитіотрофобласту ворсин плаценти [27, 42].

Пептидні антибіотики плаценти. Протизапальна дія плацентарної трансплантації зв'язана з дією так званих ендогенних пептидних антибіотиків [229, 368, 394, 489]. Вони можуть знаходитися в трансплантаті як продукт дії лейкоцитів і макрофагів фетальної тканини, або синтезуватися в організмі реципієнта при активації аналогічних клітин тим же трансплантатом.

Пептидні антибіотики тварин, у відмінності від класичних антибіотиків, продукованих мікроорганізмами, кодуються послідовностями ДНК і синтезуються зчитуванням із РНК-матриці у виді пропротеїну. [399, 451].

Синтез пептидних антибіотиків вимагає значно менших енергетичних витрат, чим синтез інших ефекторних молекул імунітету, наприклад імуноглобуліну – IgM, а малі розміри дозволяють легко проникати в тканини,

будучи при цьому інертними стосовно клітин хазяїна. Завдяки цьому, зазначені антибіотики являють собою важливу ланку в системі природженого імунітету організму.

Серед пептидних антибіотиків ссавців у плаценті виявлено: дефенсин і криптидин, багаті аргініном катіонні пептиди, виявлені в макрофагах [450]. Друга група аналогічних речовин - кателіцидини - виявлені в нейтрофілах [395, 471].

Вважають, що механізм дії зазначених антибіотиків зв'язаний з дезінтеграцією ліпідної упаковки мембрани бактерій, наявної при запаленні і формуванням у ній трансмембранних каналів [384].

Електроліти плаценти. Стосовно деяких електролітів плацента виконує не тільки транспортну, але також деіонізуючу і видільну функції. Це відноситься до кальцію, фосфору, залізу й інших мікроелементів [111, 186, 195, 206, 207, 319]. Лише калій, натрій, бікарбонати і хлориди вільно проникають через плаценту до плоду і назад у кров матері, не виявляючи схильності до депонування. На їхній перехід впливає електричний і концентраційний градієнт. Можливий також перехід Na^+ і K^+ проти градієнта концентрації [29, 32, 247, 263, 301].

Ліпіди плаценти. Вважається, що ліпіди не переходять до плоду з крові матері, а синтезуються плацентою. Транспорт ліпідів (фосфоліпіди, нейтральні жири й ін.) до плоду здійснюється після їх попереднього ферментативного розщеплення. Слід зазначити, що ліпіди локалізуються в основному в цитоплазмі синцитію ворсин хоріона. З них $\frac{2}{3}$ складають фосфоліпіди, що забезпечують структуру клітинних мембран плаценти, $\frac{1}{3}$ – стероїди і невелика кількість нейтральних жирів [105, 227, 247, 263, 277, 310].

Вуглеводи плаценти. Глікогенутворююча функцію плаценти і трансплацентарний транспорт глюкози являють дві важливі ланки у постачанні плоду продуктами вуглеводного обміну. По мірі збільшення

строків вагітності збільшується глікогенутворююча функція плаценти. Рівень глюкози в крові плоду може бути вищим, ніж у матері, що не виключає можливість використання організмом плоду власних джерел утворення глюкози (глікоген печінки). Глюкоза при неускладненій вагітності майже безперешкодно проникає через плаценту, шляхом полегшеної дифузії, і є основною енергетичною живильною речовиною для плоду [227, 247, 263, 310].

Транспорт білків, жирів і вуглеводів. Транспорт здійснюється в результаті складних процесів ферментативного розщеплення і синтезу. Тобто, у незміненому виді з крові матері до плоду вони практично не переходять. У плаценті відбувається синтез власних метаболітів, специфічних для плоду. Важливу роль у метаболізмі білків грає білоксентизуючий апарат плаценти [70]. Із синтезом білка тісно зв'язана пластична функція плаценти. Здатність трофобласту дезамінувати і переамінувати амінокислоти, синтезувати їх з інших попередників обумовлює їхній активний транспорт у кров плоду. Поглинання плацентою амінокислот матері і білка, розщеплення їх у плаценті і наступний синтез із продуктів протеолізу специфічних для ембріона і плоду білків є основними етапами транспорту цих продуктів обміну. Через плаценту можуть проходити інтактні білкові молекули, при цьому плід одержує деякі специфічні білки (γ - і α -глобуліни IgG). [247, 263, 308, 309].

Вітаміни плаценти. Плацента бере участь у постачанні плоду вітамінами. Вона здатна накопичувати їх і регулювати надходження цих речовин в організм плоду. Вітаміни сприяють активації біологічних процесів, які відбуваються в плаценті [133, 213, 306].

Вітамін А (ретинол) і β -каротин депонуються плацентою в значній кількості. До плоду переходить β -каротин, який у печінці плоду перетворюється у вітамін А. У плаценті також можливий процес перетворення вітаміну А в β -каротин [101, 346].

Вітаміни групи В накопичуються в плаценті і транспортуються до плоду найчастіше в з'єднаннях з фосфорною кислотою або в активній коферментній формі. Так, вітамін В₁ (тіамін) депонується в плаценті у виді кокарбоксілази (у з'єднанні з фосфорною кислотою тіаміндифосфат). Умовою для проникнення вітаміну В₁ у кров плоду є розкладання кокарбоксілази. Вітамін В₂ (рибофлавін) накопичується в плаценті в незв'язаному виді, або у формі флавінаденіннуклеотиду або флавіномононуклеотиду. Після переходу до печінки плоду він трансформується в складні активні з'єднання. Нікотинова кислота (вітамін РР) також утримується в синцитіотрофобласті ворсин хоріона у виді нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД) і нікотинамідаденінудинуклеотидфосфату (НАДФ). Вміст у плаценті вітамінів В₆ (піридоксин) і В_с (фолієва кислота) коливається в залежності від сезону року (як і інших вітамінів, що вимагає підвищеного надходження вітамінів в організм матері) [352].

Аскорбінова кислота (вітамін С) знаходиться в плаценті постійно і виявляється у великих кількостях (від 73,7 до 212,6 мкмоль/л). В організмі плоду вітамін С накопичується в тканинах печінки і наднирників.

Широко представлений у плаценті біотин (вітамін Н), що як кофермент бере участь у процесах карбоксилювання і синтезу жирних кислот.

Вміст вітаміну D у плаценті і транспорт його до плоду залежать від рівня цього вітаміну в організмі матері. Вітамін D регулює обмін і транспорт Ca²⁺ у системі мати-плід.[213]

Вітамін К в натуральному виді також не проникає через плаценту, тоді як його синтетичний замінник проникає до плоду [346].

Вітамін Е (токоферол) необхідний для правильного розвитку вагітності і функціонування нервової і м'язової систем. Він утримується в плаценті, але не проходить через плаценту до плоду. Для синтетичних препаратів вітаміну

Е плацента проникна. По іншим даним у плоді ряду тварин (свиней) маються запаси вітаміну Е. Плодові необхідний достатній запас антиоксидантів [352].

Прооксидантно-антиоксидантна система плаценти. Прооксидантно-антиоксидантна система плаценти складається з активних форм кисню [209, 341], які ініціюють неферментативне, вільнорадикальне перекисне окислення біополімерів, що лімітується антиоксидантним захистом. Дихальний вибух нейтрофілів утворює активні форми кисню, які біоцидні для бактеріальних та чужерідних клітин. Частина активних форм кисню витікає з мітохондріального та мікросомального окислення. Найбільш податливими до пероксидації є ненасичені залишки жирних кислот у фосфоліпідів мембран. Спочатку під дією активних форм кисню утворюються гідроперекиси, а також дієнові, триєнові, тетраєнові та оксидієнові кон'югати. Це первинні та проміжні продукти пероксидації, які перетворюються у вторинні продукти типу малонового діальдегіду (МДА) [18, 26, 115, 185, 297]. Останній реагує з аміногрупами різних сполук утворюючи шифові основи. Вони перетворюються у пігмент старіння ліпофусцин [3, 6, 7, 10]. В наслідок пероксидації ліпідів відбувається розрив мембран, осмотичний шок клітин, та вільнорадикальний некробіоз [11, 19, 20, 36]. Пероксидація білків приводить до такої модифікації їх, що дає антигенні властивості, інактивацію ферментів та рецепторів [43, 55, 56, 57]. Вільнорадикальне окислення нуклеїнових кислот сприяє утворенню перекисів тиміну, 8-оксигуаніну, розривам ниток ДНК, що приводить до мутацій та апоптозу [71, 72, 108, 114]. Пероксидацію ліпідів, білків та ДНК дає МДА, ліпофусцин. Одночасно ВРПО-модифікації можуть підлягати стероїди, різні ферменти, нитки полісахаридів [128, 155].

Антиоксидантний захист включає ферменти та низькомолекулярні речовини. До ферментів відноситься СОД, цирулоплазмін, каталаза, пероксидаза, глутатіон-редуктаза, глутатіон-пероксидаза [183]. До низькомолекулярних речовин відносяться глутатіон, вітаміни: Е (токоферол),

С (аскорбінова кислота), Р (кверцитон). Більшість з цих речовин, як і мікроелементи - селен, цинк є незамінними речовинами.

Глутатіон. Глутатіон синтезується в печінці, транспортується кров'ю в органи і розщеплюється в нирках [226, 274]. Глутатіон відновлює дисульфідні групи білків. Як нуклеофільний агент, відновлений глутатіон за участю глутатіонтрансферази утворює кон'югати в печінці з електрофілами і наступним виділенням їх із сечею [127]. Антиоксидантна функція глутатіона виявляється в реакції [159] відновлення дегідроаскорбінової кислоти в аскорбінову.

Глутатіонредуктаза – внутрішньоклітинний флавопротеїд, який підтримує високий рівень відновленого глутатіона [159]. Глутатіонпероксидаза здійснює реакцію елімінації перекисів водню і ліпідів, збільшуючи рівень окисленого глутатіона. Існує дві форми ферменту – селенова і неутримуюча селен [276]. Глутатіонпероксидазі належить основна роль у захисті лізосомальних мембран від перекисного окислювання [276]. Крім перекисів жирних кислот, фермент елімінує перекиси стеринів і нуклеїнових кислот. Глутатіонпероксидаза – адаптивний фермент, її активність індукується продуктами ПОЛ і інтоксикацією киснем [179]. Глутатіонтрансфераза більш важлива як антиоксидант, ніж глутатіонпероксидаза: вона інгібує ініціацію ПОЛ і знешкоджує токсичні метаболіти ПОЛ. Як і глутатіонпероксидаза, фермент активується через ц-АМФ [156, 167]. Припускають, що тканинні глутатіонпероксидази являють собою ізоформи глутатіонтрансферази [127, 156, 167, 192].

Енергетика плаценти. Забезпеченні бар'єрно-транспортної, імунізаційної, регуляторної і синтетичної функції плаценти здійснюється високим рівнем енергетичного обміну. Виявилося, що джерелом енергії в плаценті є аеробний гліколіз, що закінчується циклом трикарбонових кислот, який досить розвинений у мітохондріях (до імплантації в плаценті переважає пентозний шлях, продукт якого НАДФ-Н₂ трансгідрогеназою переводиться в

НАД-Н₂). З циклу трикарбонових кислот виходить НАД-Н₂, який окисляється аеробно в електронно-транспортному ланцюзі мітохондрій, даючи Н₂О; за рахунок цього окислювання утворюється АТФ за участю Н⁺-АТФ-ази [12]. Це окисне фосфорилування дуже ефективно: один НАД-Н₂ дає три АТФ, один ФАД-Н₂ дає два АТФ. АТФ не тільки є переносником енергії для синтетичних і транспортних процесів, але і є медіатором симпатичної нервової системи впливаючої на пуринові й аденозинові рецептори [247].

Регуляція гемопоезу. Одне з положень існуючої теорії, механізму регуляції кровотворення [60], стосується так названого гемопоезіндукуючого мікрооточення. Це комплекс клітинних, екстрацелюлярних і гуморальних факторів, розташованих у безпосередній близькості до гемопоетичних елементів які регулюють їхню активність. Серед клітинних компонентів (Т-лімфоцитів, макрофагів, фібробластів і ін.) є продукувані ними цитокіни, це інтерлейкін-3, фактор Стила, інтерлейкіни-1, 6, 11 і Flt-3-ліганд. Ці речовини продукуються макрофагами, стромальними механоцитами, ендотеліальними й іншими клітинами і можуть бути введенні в організм шляхом трансплантації препаратів плаценти [103, 321].

У свою чергу дані гемопоетичні фактори впливають практично на всі клітини крові, які мають відношення до запалення і загальної адаптації до нього організму. Користуючись даними вже цитованої статті [60] можливо відзначити основні активуючі впливи: поліпотентну стовбурну кровотворну клітину активують: інтерлейкін-6/інтерлейкін-1, інтерлейкін-11, інтерлейкін-7 і ін.; дозрівання тучних клітин: інтерлейкін-3 і інтерлейкін-4; ті ж фактори активують дозрівання базофілів і еозинофілів; активація фагоцитарної ланки запалення (макро- і мікрофаги) здійснюють: Ліганд Flt-3, гранулоцитарно-макрофагальний фактор, інтерлейкін-3/інтерлейкін-6 і ін. [59, 61, 169].

Регуляція стану нервової системи. Серед механізмів підвищення резистентності організму є активації нервової системи за допомогою інтерлейкінів, інтерферонів і інших гуморальних компонентів плацентарної

тканини [485], які проникаючи через гематоенцефалічний бар'єр і впливаючи на мозок [365]. Крім прямої дії на нервову систему виявлена і опосередкована активація імунної системи, беручи до уваги, участь нервової системи в запаленні [316], а також наявність комунікаційних зв'язків цих двох регуляторних систем організму на всіх рівнях, аж до рецепторного [158, 321].

1.2.5. Плацента й імунітет.

Фізіологічний розвиток вагітності забезпечує комплекс захисних механізмів і імунних реакцій, одним з компонентів якого є імунний бар'єр між материнським організмом і плодом, утворений плацентою. Речовини, синтезовані плацентою, впливають на різні ланки імунокомпетентної системи матері. Вони придушують активність лімфопоезу, блокують рецептори сприймаючих клітин (клітин-ефекторів), сприяють розвитку і диференціювці імунокомпетентної системи плоду [8, 119, 120, 121, 153, 290, 291].

Цитокіни плаценти. Дані літератури свідчить про те, що найбільш виражену активність у відношенні субстратів імунної системи виявляє плацента, яка розглядається як своєрідний адаптаційний орган, і здатна за рахунок продукції цитокінів, підтримувати постійність індивідуального внутрішнього середовища організму який розвивається [50, 68, 178, 310, 396].

Цитокіни супроводжують запальний процес [15, 46, 130, 466]. Введення в організм компонентів плаценти сприяє бактерицидній “стратегії” організму. При вагітності і наявності запалення, росте концентрація цитокінів і відповідно росте продукція протизапальних простагландинів [433, 457, 458].

У плацентарних тканинах знаходиться досить багато протизапальних цитокінів [130, 204, 268, 314, 343, 388, 415]. Основний виробник цитокінів – це макрофаги, які складають основну масу імунокомпетентних клітин, або

40% популяції нетрофобластних клітин [230]. Глюкокортикоїди зменшують нагромадження цитокінів у плаценті [415], а інтерлейкін-1, інтерлейкін-6 [478, 486] і фактор- α некрозу пухлин [383, 443], у свою чергу активують простагландиногенез [371]. Це відноситься і до інтерлейкіна-10 [406, 466].

Дефіцит цитокинов сприяє розвитку ряду захворювань [364]. Нормальний вміст підвищує резистентність організму до інфекцій [321], тому що вони беруть участь у протизапальних процесах [435, 464, 467].

Цілком припустимо, що ці цитокини [202, 231, 302] зберігаються в ембріональної і плацентарній тканині при заморожуванні, подібно тому, як це мало місце в амніотичній рідині [466].

Імуномаскуючу дію робить “щіткова облямівка” синцитіотрофобласту, яка містить кислі мукополісахариди, сіаломуцин і інші глікопротеїди, що запобігають контакт антигенів плоду й антитіл матері.

Плацента не є бар'єром, зовсім непроникним для білкових речовин. Установлено, що в організм матері проникають плодові білки, такі як α -фетопротейн (АФП) [1, 2, 109]. Його концентрація в крові матері корелює з терміном гестації і масою плоду і дозволяє судити про ступінь його зрілості. При фізіологічній вагітності концентрація АФП прогресивно збільшується до 33-34-го тижня, а потім знижується до 41-42-го тижня. Альфа-фетопротейн є імуносупресором який пригнічує реакцію відторгнення чужорідних тканин, до яких можна віднести плід; крім плаценти α -фетопротейн синтезується при пухлинах печінки, перешкоджаючи імунній елімінації бластних клітин [1, 2].

Вагітність супроводжується вираженою перебудовою системи гуморального імунітету. Біологічні зрушення в організмі вагітної і захист материнського організму від антигенів плоду обумовлюють специфічні (“блокуючі алоантитіла” і супресорні клітини) і неспецифічні (α_2 -глобуліни, глюकोкортикоїдні і статеві гормони, ПЛ і ХГ, специфічні білки “зони вагітності”) фактори. АФП придушує активність лімфоцитів; α_2 -глобуліни – специфічні білки вагітності. Трофобластичний β -глікопротеїд (ТБГ) є

могутнім біологічно активним агентом, який гальмує функції імунокомпетентних тимусзалежних лімфоїдних клітин [109]. Плацента визначає формування імунітету в організмі плоду і відіграє велику роль у його імунному захисті [315].

Через плаценту швидко проходять молекула IgG і її фрагмент Fc. Доведено існування в плаценті спеціального білкового рецептора, що розпізнає молекули IgG і відрізняючого його від IgA [70]. У трофобласті і ворсинах хоріона виявлені IgG, вони утримуються в цитоплазмі синцитію і відкладеннях фібріноїду на поверхні ворсин [131]. Знайдені у великій кількості C₃- і C₄- імунопротеїни [120, 153], а також інші компоненти комплементу.

Синтез плацентарних імуноглобулінів і бар'єрна функція плаценти є тканинноспецифічними факторами захисту. До них відноситься і гемостатична здатність синцитіотрофобласту. При порушенні цілісності трофобласту антикоагуляційні властивості ушкодженої ділянки втрачаються, що приводить до пристінкового випадання фібрину, який містить білки плазми, глікопротеїди, γ -глобулін.

З тканинно специфічних факторів велике значення мають протеолітичні властивості трофобласту, які сприяють інактивації чужорідних білків [160].

У процесі вагітності активується синтез секреторних білків плаценти, більшість з яких має імунодепресивні властивості. До них відносяться специфічні протеїни плаценти: β_1 -глобуліни (ТБГ), β_1 - глікопротеїд, протеїн А, плацентарний протеїн 5, глікопротеїн 10, новий протеїн РР-15, антиген α_2 -мікроглобулін і ін. [291, 292, 367]. Усі відомі специфічні протеїни і глікопротеїни продукуються в синцитіотрофобласті і секретуються переважно в кровотік матері; α - і β -глікопротеїни беруть участь і в транспорті гормонів.

З білків плаценти особливої уваги заслуговує ТБГ. Він складається з двох одиниць – α і β , які відрізняються періодом напіврозпаду і молекулярною масою. ТБГ не володіє гормональною і ферментативною активністю, але дає виражений імуносупресивний ефект. Концентрація ТБГ у крові прогресує протягом вагітності і різко знижується напередодні пологів. При патологічній вагітності значно змінюються рівень і характер секреції цього глікопротеїну, який дозволяє використовувати його для діагностики патології плаценти [311].

Таким чином, у плаценті виробляються як імуностимулятори, так і імуносупресори, які функціонують в системі мати-плід, з однієї сторони збільшуючи резистентність організмів матері і плоду, з другої сторони – запобігаючи імунному конфлікту організмів матері і плоду. Порушення захисної й імунної ролі плаценти приводить до виникнення патологічних взаємовідношень у системі мати-плід. На цій підставі можна припустити, що плацента виконує імуnoreгуляторну та імуномодуляторну роль при її трансплантації.

1.2.6. Гормони плаценти.

Будучи посередником у створенні гормонального комплексу системи мати-плід, плацента відіграє роль залози внутрішньої секреції і синтезує гормони [173, 256]. Разом із плодом вона формує єдину ендокринну систему [21, 110]. Гормональна функція плаценти сприяє збереженню і прогресуванню вагітності, змінам активності ендокринних органів матері. У ній відбуваються процеси синтезу, секреції і перетворення ряду гормонів білкової і стероїдної структури. Зародкові клітини секретують прогестерон, естрадіол і хоріонічний гонадотропін, що мають велике значення для нidaції плодового яйця [131]. У процесі органогенезу гормональна активність плаценти зростає. Плацента секретує великі кількості гормонів протягом усієї вагітності.

Одні з них секретуються плацентою і транспортуються в кров матері і плоду. Інші є похідними попередників, які попадають у плаценту з організму матері і плоду. Пряма залежність синтезу естрогенів у плаценті від андрогенних попередників, продукованих в організмі плоду, дозволила [211] сформулювати поняття про фетоплацентарну систему. Через плаценту можуть транспортуватися і незмінні гормони. Плацентарні гормони синтезуються в синцитіо- і цитотрофобласті, а також децидуальною тканиною.

У плаценті виявлені пептиди, гомологічні гонодотропінам, лактогеном, а також речовина, що володіє властивостями гормону росту [201, 421], активні пептиди, раніше виділені з головного мозку і гіпофіза (β -ендорфіни, β -ліпопротейди, α -меланоцитостимулюючий гормон). Припускають, що фізіологічна функція зазначених пептидів може бути зв'язана з їх впливом на організм матері і плоду, а також на інші компоненти плаценти [177, 197, 421, 422].

Плацента синтезує хоріонічний гонодотропін, плацентарний лактоген і пролактин, а також імунореактивний білок (з якого утвориться β -ендорфін, α -меланоцитостимулюючий гормон і пропіомеланокортин – попередник АКТГ). З гормонів стероїдної природи синтезуються гестагени й естрогени.

Гіпофізарні і плацентарні гормони (як білкові, так і глікопротеїнові) мають гомологічні амінокислотні послідовності [292]. Це обставина, а також відкриття морфіноподібних пептидів - ендорфінів і енкефалінів – дозволяє запропонувати хімічну класифікацію гіпофізарних і плацентарних гормонів [292].

Ця класифікація заснована на наступних фактах:

1. Пептиди I групи є продуктами протеолізу загального глікопротеїнового попередника – пропіомеланокортину, але самі гормони – не глікопротеїни.

2. Соматомаммотропіни (II група) виявляють виражену гомологію амінокислотних послідовностей, а також містять дисульфідні містки. Структурна подібність між пролактином і гормоном росту пояснює деяку лактогенну активність ГР.

3. Глікопротеїнові гормони (III група) подібні один одному. Кожний з них складається з двох пептидних ланцюгів, при чому для прояву біологічної активності, необхідні обидва.

Первинні порушення секреції глюкагону зустрічаються рідко, але описані випадки гіперглюкагонемії в хворих із глюкагонпродукуючими пухлинами. Спостерігався також один випадок виборочної недостатності глюкагон. Хоча соматостатин виявлено лише недавно, вже описаний випадок його гіперсекреції у хворих з соматостатинпродукуючими пухлинами. Імовірно, недостатність соматостатину може приводити до порушення функції острівцевого апарата, оскільки у щурів зі спадковим синдромом ожиріння і діабету в острівцях практично відсутні клітини, що секретують соматостатин. У таких тварин спостерігається гіперінсулінемія і надлишкова секреція інсуліну у відповідь на відповідний стимул [292].

Плацентарний лактоген (ПЛ) має активність пролактину та імунологічні властивості гормону росту, дає лактогенний і лютеотропний ефект [177]. Основна біологічна роль ПЛ полягає в регуляції вуглеводного і ліпідного обміну, посиленні синтезу білка в організмі плоду, від чого у визначеній мірі залежить його маса. Він синтезується клітинами трофобласту і за структурою близький до гормону росту [52, 68, 227]. ПЛ надходить в організм матері, де швидко метаболізується [227, 344]. Надзвичайно короткий період напіврозпаду (20 хв), відсутність добового ритму секреції і наявність єдиного джерела його синтезу (плацента) дозволяють використовувати ПЛ для діагностики функціонального стану цього органа. ПЛ практично не проникає до плоду [344]. Відзначено пряму залежність між рівнями ПЛ у крові матері й амніотичної рідини [344]. Крім того,

плацентарний лактоген людини грає, очевидно, основну роль у порушенні толерантності до глюкози і появі ознак діабету в деяких вагітних жінок [292].

Хоріонічний гонадотропний гормон (ХГ) – продукт синтезу стероїдів у синцитіотрофобласті [53]. Він відноситься до глікопротеїдів, має молекулярну масу 36000—40000 Дальтон, по будові і біологічній дії подібний з лютеїнізуючим гормоном (ЛГ), і складається з двох субодиниць (α і β -ХГ) – мономерів, які утворилися при дисоціації ХГ. Найбільше точно функцію плаценти відображує β -ХГ [212]. В другій половині вагітності ХГ стимулює синтез естрогенів у плаценті, беручи участь в ароматизації андрогенів. Субодиниці α і β -ХГ є попередниками зрілих форм молекули ХГ, і їхню появу зв'язують з “старінням” плаценти, ендокринопатіями і трофобластичними пухлинами [37, 52, 459].

Хоріонічний соматотропний гормон (ХСТГ) виявляє імуносупресивну активність у відношенні імунокомпетентних клітин, що реалізують реакцію бластотрансформації лімфоцитів [52, 344, 473].

Хоріонічний тиреотропний гормон (ХТГ) робить стимулюючу дію на імуноцити, більше виражену на В-лімфоцити [310, 317], і під його впливом змінюється ізотиповий репертуар продукованих Ig у бік збільшення антитіл, які блокують, реалізуючий феномен імунного посилення [52, 122].

Хоріонічний адренкортикотропний гормон (ХАГ). В літературі висловлюється припущення про можливий альтернативний механізм підвищення функції кори наднирників при вагітності, реалізованому за рахунок зміни рівня вмісту адренкортикотропного гормону (АКТГ), синтезованого саме плацентою [310, 317]. Однак той факт, що видалення гіпофіза у вагітних пацієнтів приводить до інволюції наднирників, не виключає здатності плаценти стимулювати синтез АКТГ у гіпофізі [310]. Плацента синтезує тирео- і лютеотропінстимулюючий релізінг фактори, аналоги продукованим ретикулярною формацією медіаторам. Такого роду взаємодії є цілком закономірними, обґрунтованими і не замикаються тільки

на спільності продукції якогось одного гормону. Прояв плацентою здатності брати участь в активації АКТГ спрямовано на інгібіцію активності ефекторних клітин материнського організму у відношенні “чужорідного трансплантата” [52, 175, 317].

Пролактин продукується плацентою поряд з гіпофізом матері і плоду. Фізіологічна роль його подібна з ПЛ. Він має визначене значення в продукції легеневого сурфактанта і фетоплацентарної осморегуляції [52, 68, 360].

Цитомедини. В останні роки починаючи з робіт Морозова В.Г. і Хавинсона В.Х. (1996) [200] (25-літній досвід роботи) виявлені найбагатші можливості пептидергічної регуляції. Були виділені з різних тканин органоспецифічні низькомолекулярні пептиди, що модулюють функцію того органа з якого вони виділені [124, 125].

З цих пептидів ряд використовується, як лікарські засоби (тималін). Виявилося, що в кріоконсервованих препаратах ембріональних тканин людини, так само маються подібні пептиди (до 20), які були вивчені хроматографічним методом із визначеною молекулярною вагою [286].

Маються роботи, у яких описуються результати хроматографічного аналізу пептидів плаценти, печінки і мозку плоду людини. Виявилося, що найбільш багата пептидами плацента [320].

Таким чином, на додаток до системних гормонів продукованих плацентою, тут виробляються низькомолекулярні пептиди-цитомедини, здатні впливати і на розвиток плоду і на організм матері. Цей висновок впливає із широкого спектра дії цитомединів різних органів.

Прогестерон – стероїдний гормон, продукуваний плацентою. Він синтезується в синцитіотрофобласті з холестерину, який утримується в крові матері. З плаценти він в основному надходить у кров матері. В організмі матері (в основному в печінці) прогестерон швидко метаболізується [177, 376]. У наднирниках і печінки плоду прогестерон перетворюється в нейтральні стероїди (головним чином у дегідроепіандростерон – ДЕА – і

його похідні), які із кров'ю плоду надходять у плаценту і через андростендіон і тестостерон трансформуються в естрогени. Концентрація прогестерону поступово підвищується до кінця вагітності [422].

Естрогени (естрадіол, естрон і естріол) також відносяться до стероїдних гормонів плаценти. Вони розрізняються по своїй будові і біологічній активності. Естрогени впливають на обмінні процеси і ріст матки, викликаючи гіперплазію і гіпертрофію ендометрія і міометрія, беруть активну участь у розвитку родового акта. Безпосередній вплив естрогенів на плід вивчено недостатньо. Припускають, що естрогени сприяють росту плоду [22, 47, 205].

Місцем вироблення естрогенів є синцитіотрофобласт. Продукція їх знаходиться і прямої залежності від стану маточно-плацентарного кровообігу і наявності попередників, вироблюваних в організмі матері і плоду. Естрогени по праву відносять до гормонів фетоплацентарного комплексу. Особливо це стосується естріола, оскільки його синтез здійснюється при активній участі плоду. Вміст естріола збільшується до кінця вагітності [278].

Метаболізм естрогенних гормонів в організмі матері і плоду полягає в основному в кон'югації їх із залишками глюкуронової і сірчаної кислот і утворенні глюкуронідів і сульфатів, причому метаболізм їх у плоді відбувається в основному з утворенням сульфатів. Таким чином, у крові матері і плоду утримуються некон'юговані форми естрогенів, кількість яких відбиває функцію плаценти і фетоплацентарної системи [321].

Кортизол є гормоном фетоплацентарного комплексу, продукованим у великій мері при участі наднирників і печінки плоду. На підставі концентрації кортизолу і інших гормонів у крові матері можна оцінити стан плоду. Концентрація кортизолу поступово збільшується і напередодні пологів у 5 разів перевищує первісний рівень [227]. Діабетогенна дія кортизолу, це яскравий приклад того, як інгібування утилізації глюкози периферичними тканинами і гіперпродукція глюкози печінкою викликає

компенсаторну гіперінсулінемію, яка у сприйнятливих осіб може привести до виснаження β -клітин. Недостатність кортизолу при аддісоновій хворобі або уроджених дефектах синтезу цього гормону може, як і гіпопітуїтаризм, обумовлювати реактивну гіпоглікемію [283, 292].

Простагландини плаценти. Доведено, що ворсинки плаценти продукують ейкозаноїдів, включаючи тромбоксан, простагландин E2 (ПГЕ2) і ін.[322, 405, 410, 446, 448, 490].

Простагландини, настільки важливі в організмі, як і інтерлейкіни, оскільки самі можуть продукувати макрофаги плаценти. Це, зокрема, відноситися до простагландинів ПГЕ₂ і ПГЕ₂ α [403, 433].

Таким чином, що гормонопродукуюча функція плаценти визначає взаємовідношення між організмом матері і плодом.

1.3. Метаболічні ефектори при розвитку запального процесу.

Запалення, як патологічний процес, є досить типовим, комплексом, що торкається як самого ушкодження, так і захисних реакцій організму. В запальному процесі виділяють стадії: альтерації (ушкодження тканин і клітин), ексудації (виділення медіаторів - пускові механізми, судинна реакція), а також репаративної проліферації [263, 280].

Результат будь-якого запального процесу визначається взаємодією мікро- і макроорганізмів. Проведення лікувальних заходів суцього антимікробної спрямованості (шляхом введення антибіотиків) не завжди призводить до видужування (тим більше, що саме лікування може збільшити патологічний процес) [51, 164, 359, 427]. Не менш важливим є лікувальний вплив на захисні фактори макроорганізму, насамперед на імунний статус, Це особливо важливо в зв'язку з тим, що все частіше з'являються дані про надзвичайну напруженість імунної системи.

Незалежно від виду агентів, що ушкоджують, в уражених клітинах і субклітинних структурах відбуваються загальні неспецифічні зміни [223].

При запаленні в основі патогенезу лежить поразка клітин і субклітинних структур - мітохондрій, що визначають стан окислювально-відновних ферментів. У тканині, зміненої запальним процесом, знижується дихальний коефіцієнт, зменшується окислювально-відновний потенціал. Зниження субклітинних структур лізосом супроводжується звільненням великої кількості гліколітичних і гідролітичних ферментів, катепсинів. Якщо при гострому плинні запалення зазначені зміни виражені чітко і їх виявити не складно [223], то при хронічному плинні процесу визначити глибину поразки органа і виявити його наслідки, складно. Затяжний плин запалення призводить не тільки до анатомічних змін внутрішніх органів, але ще і супроводжується розвитком вторинних порушень нервової й ендокринної систем, імунного статусу, а також до розладу гемодинаміки [223].

Встановлено, що запалення перебігає при участі вільних радикалів, що володіють винятково високою хімічною активністю [20, 43, 108, 128, 137, 139, 155, 171]. Класичним прикладом вільнорадикальних процесів в організмі є перекисне окислювання ліпідів (ПОЛ), що протікає переважно в біологічних мембранах. Тут ПОЛ виступає в якості одного з модифікаторів фосфоліпідного бішара мембрани. Ініціюючим фактором ПОЛ можуть виступати різні активні форми кисню (АФК), шляхи утворення якого в живих системах описані в літературі досить докладно [13, 400].

Контролює й обмежує процеси ПОЛ антиоксидантна система: жиророзчинні вітаміни А, Е, убіхінон, водорозчинні вітаміни С, РР, Р, глутатіон, церулоплазмін а також ферменти. Наприклад, фермент СОД інактивує супероксидні іон-радикали O_2^- з утворенням перекису водню, що швидко знешкоджується іншим антиоксидантним ферментом каталазою з утворенням води [183]. Глутатіонпероксидаза містить в активному центрі селен і здійснює активацію і руйнування органічних перекисів. Окислений глутатіон, при цьому, знову відновлюється в результаті сполученої функції іншого ферменту глутатіонредуктази. Функціонування ферментів значною

мірою усуває утворення і деструктивну дію більшості ТБК-активних продуктів ПОЛ, у тому числі і кінцевого - МДА [177].

В процесі розвитку ПОЛ утворюються ненасичені альдегіди і малоновий діальдегід, які є мутагенами і мають виражену цитотоксичність [185, 297, 462]: придушують активність гліколізу й окисного фосфорилування, інгібують синтез білка і нуклеїнових кислот, окисляють білкові SH-групи у фермен тацин, інгібують різні цитозольні і мембранозв'язані ферменти. Інтермедіати ПОЛ - гідроксильний і алкоксильний радикали - індукують фрагментацію, діють на поперечні зшивки білкових молекул, викликають мутації ДНК. Окислювання ліпідних молекул під дією АФК приведе до необоротної зміни або ушкодження мембранних структур, порушенню їхньої проникності для іонів [191].

Особливе значення має ПОЛ при розвитку запалення, тому що однієї з найважливіших характеристик варто вважати баланс активності процесів зазначеного окислювання й активності біоантиоксидантної системи.

У той же час, крім негативного впливу, ліпопероксиди є необхідними учасниками біосинтезу ряду біологічно активних речовин (простагландинів, прогестерону), холестерину і т.д. [322]. Взаємодія чужорідних часток з поверхнею фагоцита викликає його активацію, що виражається в перебудові метаболізму клітини, окислюванні глюкози і різкому зростанні споживання кисню, з виділенням АФК. Це явище називають „дихальним” або „респіраторним” вибухом, який необхідний для руйнування мембран чужерідних клітин [483].

Супероксидний аніон-радикал бере участь у виробленні хемотаксических пептидів і здатний підсилювати проліферацію лімфоцитів [38] і, можливо, сам бере участь в індукції синтезу інтерлейкін-1-подібного фактора [414], що може ініціювати вихід супероксидних аніон-радикалів, тобто створюється маленький „вибух” [390, 463]. Активатором створення

активних кисневих метаболітів у фагоцитів можуть бути самі бактеріальні токсини [413].

Активация фагоцитів сприяє викидові вільних протеїназ, руйнівна активність яких стримується α_1 -антитрипсином. Однак, під впливом оксидантів, продукованих фагоцитами, виникає дефіцит α_1 -антитрипсина [477]. В результаті активізуються деструктивні реакції протеїназ, що може приводити до руйнування тканин. Модифікація білків є причиною появи в них антигенних властивостей, а окислювання ліпідів (насамперед арахідонової кислоти) призводить до появи хемотрактантів. У такий спосіб активация фагоцитів є процесом, що може привести до утворення порочного „кола” у вогнищах запалення [322].

З іншої сторони різке посилення генерації АФК відіграє роль неспецифічного захисту організму. Наприклад отримані переконливі докази бактерицидної ролі активних форм кисню і радикала NO при бактеріальному перитоніті, викликаному *Escherichia coli* [416].

Таким чином, генерація активних форм кисню і ПОЛ не завжди є негативними факторами і тому оцінка тих або інших маркерів його не може бути однозначною. Особливо це відноситься до інфекційних процесів, де альтерація й активация лейкоцитів можуть виявлятися подібним образом. З однієї сторони O_2 відіграє бактерицидну роль з іншого боку - ушкоджує власні клітини своїх тканин [416].

В експерименті і на практиці показана ефективність призначення препаратів антиоксидантної дії у випадках, коли патогенез захворювання зв'язаний в основному з ендотоксином.

1.4. Трансплантація плаценти.

Тканинна терапія почалася після пропозиції самого методу академіком В.П.Філатовим у 1933 р. [298, 299]. Суть цього впливу складалася в дії так

званих біогенних стимуляторів, які підвищують його опірність патогенним початкам і сприяють видужанню [299].

У цей час були визначені основні діючі інгредієнти тканинних препаратів. В суспензії плаценти встановлений вміст 17-кортикостероїдів, естрадіолу, нуклеїнових кислот, ацетилхоліну і холіноподібних речовин, різних карбонових кислот [182, 202, 298].

Одним зі швидко розвиваються розділів тканинної терапії в останні час є так називана клітинна і тканинна трансплантація (КТТ), що є наслідком створення нової області знань - біологічної медицини [74, 75, 84, 347, 349, 350].

Найбільші перспективи в області біологічної медицини й одного з її розділів - КТТ зв'язані з розвитком кріобіології. Кріотехнології дозволяють досить просто одержувати потрібні препарати і довгостроково зберігати їхню життєздатність [84, 281, 348].

Серед кріоконсервованих препаратів найбільший інтерес викликають клітини і тканини, що знаходяться на ранніх стадіях онтогенетичного розвитку. Вони мають унікальні властивості: - висока пристосовність за рахунок росту, міграції, можливості утворювати міжклітинні контакти, зв'язані з високим змістом бластних клітин; - виражена стійкість до гіпоксії, завдяки використанню гліколізу; - здатність піддаватися змінам і диференціювці (відповідно до закладеної генетичної інформації) у відповідь на впливи навколишнього середовища; - вміст і продукування великої кількості різних біологічних активних речовин, стадіоспецифічних білків і пептидів, [44, 80, 254], що підтверджено експериментальними роботами [282, 459, 474].

Сфера застосування КТТ досить велика [116, 163, 199, 262, 362, 363, 373, 391]. Відомо, що розвиток багатьох патологічних станів організму супроводжується активацією процесів вільно-радикального окислювання, що

може привести до ушкодження клітин, і, у підсумку бути причиною їхньої загибелі [401].

Захист тканин і органів людини від агресивної дії вільних радикалів забезпечується як було показано вище, злагодженою роботою антиоксидантної системи яка включає внутрішньо- і позаклітинні антиоксиданти.

В даний час доведено, що фетальні тканини здатні інгібувати процеси ПОЛ [194, 361]. Відомі успішні результати використання фетальних тканин людини і тварин при ендокринних захворюваннях [88]. Основна дія таких трансплантатів - це замісна гормонотерапія. Описані й інші корисні ефекти кріотрансплантатів [30, 31]. Як відзначено в оглядових роботах [88, 93, 351], тканини тимуса використовували для лікування різних захворювань. Тканина ембріональної печінки використовувалася з метою лікування анемії різної етіології.

Плацента, будучи провізорним органом виконує наступні функції: трофіка і білковий синтез, газообмін, гормонovidілення і гормонорегуляція, регуляції кров'яного тиску, зсідання крові, антитоксична функція і виділення метаболітів, депонування різних БАР, імунна регуляція, регуляція процесів ПОЛ [177, 201, 247].

Імунодепресивна роль плаценти полягає, як відзначено в статті В.И.Говалло (1996) [53], в тому, що вже з перших годин новоутворена зигота починає синтез раннього фактора вагітності, що володіє місцевою супресорною активністю. Надалі з'являється імунопротекторний хоріонічний гонодотропін. Таким чином, з'являються регулятори невідторгнення ембріона. Надалі з'являються гормони, цитокіни й ін. регулятори, які продуковані трофобластом і плодом, спрямовані не тільки на зазначену блокаду імунітету, але і на нормальний транспорт бластоцисти, а потім і ембріона на їхню нормальну імплантацію в стінку матки [444].

У той же час в умовах порушеного імунного статусу плацента здатна не придушувати, а активувати його [120, 153].

Не менш важливою функцією плаценти, що має важливе значення для даного дослідження, є продукування гормонів.

Плацента, як ендокринний орган, активно синтезує естрогени, прогестерон, гонадотропні гормони, хоріонічні гонадотропін і соматотропін, гормон росту, тиреотропін і ін. [177, 187, 360, 376].

Таким чином, плацента має всі підстави розглядатися як могутній стабілізатор гомеостазу організму й активатор відповідних реакцій. Так, наприклад висока репаративна активність плаценти підтверджена дослідями, що стосуються остеогенеза після перелому кістки [22, 205]. На думку авторів, основний вплив препарату визначається естрогенами, що утримувалися в тканині плаценти, прогестероном і хоріонгонадотропним гормоном.

Як указувалося вище, удосконалювання технології одержання тканинних і клітинних препаратів пішло по шляху кріотехнологій. Це відноситься і до плацентарної тканини.

Кріоконсервований препарат із плацентарної тканини вперше отриманий в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Саме там був запропонований метод заготівлі, одержання і тривалого збереження тканини плаценти. При одержанні плаценти в асептичних умовах у здорової жінки без акушерської патології, з дотриманням розроблених кріобіологічних технологій лікувальний препарат зберігає свої регуляторні властивості, що показано в ряді робіт [88, 106, 173, 453].

Виходячи з приведеної вище характеристики біологічних властивостей отриманих препаратів, цілком логічно їхнє використання при серцево-судинної й ендокринній патології.

1.5. Обґрунтування обраного напрямку.

Плацента є могутнім джерелом системних білкових і стероїдних гормонів, цитомединів, імунних факторів і АТФ, які володіють могутньою фізіологічною дією.

Другою важливою властивістю плаценти є її дія як тимчасовий імунний і ендокринний орган. Це імуносупресивний ефект (деякі глікопротеїди), але, крім цього, синтезуються імуностимулятори і плацентарні імуноглобуліни. Отже роль плаценти, як матеріалу для трансплантації, є джерелом гормонів і імуномодуляторів.

Самі ж клітини плаценти в процесі біологічного розпаду, після трансплантації, можуть давати внутрішньоклітинні білки, що стимулюють активність імунної системи організму реципієнта.

У процесі кріоконсервації, можливе модулювання експресії генів, яка збільшує регуляторні можливості цієї тканини [157]. Так, введення гомогенату плаценти людини здатна стимулювати медулярний кровообіг [69].

У відношенні печінки маються ряд робіт, які доводять вплив, плаценти при її трансплантації на морфофункціогенез печінки. Так у роботі [304] показано, що введення екстракту плаценти після розморожування приводило до наступних ефектів: збільшенню кількості купферовських клітин (це підсилює клітинний неспецифічний імунітет), до збільшення кількості двоядерних гепатоцитів (це підвищує адаптаційні і регенераторні властивості печінки реципієнта). Мезенхімальна запальна реакція при цьому носить компенсаторно-захисний характер.

Отже, ставиться проблема про системну дію при трансплантації плаценти на морфофункціогенез печінки. При чому варто з'ясувати відмінність ефектів дії нативної (зберігається при знижених позитивних температурах 4°C) і кріоконсервованої плаценти.

У відношенні стану інших органів при трансплантації плаценти відомо вкрай мало, що, при врахуванні імуномодулюючої і гормонопродукуючої функції плаценти, вимагає спеціального дослідження. Оскільки найбільш адекватним в експерименті методом первинного скрининга є виживаність тварин і морфологічні зміни, оскільки ці методи були обрані нами як основні.

Особливо переконливим є дослідження ефекту трансплантації плаценти при запаленні.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Заготівля, консервування, гіпотермічне зберігання, трансплантація плаценти.

Плацента, або дитяче місце, є провізорним органом. синцитіотрофобласт якого синтезує стероїдні гормони (естрогени, андростендіол, тестостерон, прогестерон), а цито-трофобласт - хоріонічний гонадотропін. Плацента також секретує репродуктивні імуномодулятори, адренотропний і соматотропний гормони, окситоцин і є природним депо вітамінів, ферментів, різноманітних біологічно активних речовин. Заготівля, консервування, гіпотермічне зберігання, трансплантація плаценти виконувалася згідно методики розробленої в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАНУ [82, 87].

Заготівля плаценти. Донорами плацент можуть бути здорові породилі, що повинні бути обстежені аналогічно донорам крові. Виключається плацента жінок, вагітність у яких проходила на фоні акушерської чи екстрагенітальної патології (гестози II-ї половини вагітності, імунологічний конфлікт, загроза переривання вагітності, фетоплацентарна недостатність, гіпоксія, гіпотрофія плоду, гострі чи хронічні інфекції, соматичні захворювання, гемотерапія в останні 3 тижні).

Плаценти заготовляються після операції кесарів розтин. Заготівлю плаценти виконують лікар і медсестра. Відповідає за заготівлю плаценти лікар. Весь технологічний ланцюжок, від заготівлі плаценти в пологах до закладання плацентарної тканини в кріобанк, виконують окремо із кожною плацентою. Недопустимо працювати паралельно із кількома плацентами.

Таблиця 2.1

Кількісний розподіл об'єктів дослідження згідно застосованих методів

№ п/п	Об'єкт, терміни дослідження	(n)	Методи дослідження
1	2	3	4
1.	Нативна плацента	20	<u>Морфологічні методи:</u> макро-, мікроанатомія; гістологія
2.	Кріоконсервована плацента	5	<u>Біохімічні методи:</u> білки (низько-, середньо-, високомолекулярні); ліпіди (фосфоліпіди, моногліцериди, холестерин, жирні кислоти, тригліцериди, ефіри холестерину, лізофосфатидилхолін, цереброзиди); вітаміни (А, Е, В ₁ , В ₆ , В ₁₂ , Д); гормони (пролактин, лютеотропний, ХГ, естрадіол, прогестерон, тестостерон, α-мікроглобулін); мікроелементи (Cu, Zn, Fe, Mg, K, Na, Ca, Рn)
3.	Плацента – збереж. 4°C ▪ 1 с. контроль; ▪ 2 с. 1-а доба; ▪ 3 с. 2-і доби	45 5 20 20	<u>Гістохімічні методи:</u> СДГ, ЛДГ, α-ГФДГ, НАДНДГ, НАДФНДГ
4.	Плацента – кріопротек. ▪ 1 с. контроль; ▪ 2 с. нативна з Me ₂ SO; ▪ 3 с. кріокон. без Me ₂ SO; ▪ 4 с. кріокон. з Me ₂ SO	40 10 10 10 10	<u>Гістохімічні методи:</u> СДГ, ЛДГ, α-ГФДГ, НАДНДГ, НАДФНДГ

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
5	Плацента – низькотемпер. збереження 1 с. контроль; 2 с. 1 д. 4°C; 3 с. 1 д. –20°C; 4 с. 1 д. –20°C і 1 рік при –196°C; 5 с. 1 д. –196°C і 1 рік при –20°C	50 10 10 10 10	<u>Біохімічні методи:</u> білок; продукти ПОЛ (подвійні зв’язки (ПЗ); дієнові кон’югати (ДК); триєнові кон’югати (ТК); тетраєнові кон’югати (ТТК); оксидієнові кон’югати (ОДК); шиффові основи (ШО); малоновий діальдегід (МДА); глутатіон; гормони (прогестерон; тестостерон; кортизол).
6	Морфологія органів після алотрансплантації: 1 с. контроль; 2 с. розтин 2, 7, 14, 30, 60 д; 3 с. транспл. нат. плац. 2, 7, 14, 30, 60 д; 4 с. транспл. кріоплац. 2, 7, 14, 30, 60 д.	58 3 15 20 20	<u>Гістологічні і гістохімічні методи:</u> печінка, селезінка, наднирники, яєчники, тимус
7	Моделювання запалення 1 с. контроль; 2 с. звич. розвит. запалення (6, 12 г, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 д); 3 с. запал. на тлі застос. кріоекстр. плац. (6, 12 г, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 д.)	114 6 54 54	Лабораторні та гістологічні методи дослідження периферичної крові, та клітинного складу вогнища запалення, тучних клітин
ВСЬОГО		332	

Для заготівлі плаценти необхідні: набір інструментів, матеріалів і розчинів (халат медичний - 2 шт; бахіли - 2 пари; маски - 2 шт; рукавички хірургічні - 2 пари; пелюшки - 3 шт; простирадла - 1 шт; пінцет - 1 шт; шприц 20 мл - 1 шт; ватні кульки - 10 шт; флакони-супутники чи пробірки - 2 шт; ємність (скляна банка в 1 л з герметичною покриттям) - 1 шт). Набір стерилізується при температурі 150°C на протязі 45 хв. Потрібно також 100 мл спирту (96°) для обробки рук. Розчин для заповнення ємності із плацентою.

Склад розчину для заповнення ємності із плацентою. (готується ex tempore): глюгіцер - 50,0 мл або гепарин - 5 тис. од.; розчин NaCl 0,9% - 50,0 мл; розчин глюкози 5% - 50,0 мл; ампіокс - 250 мг; розчини для введення в пупкову вену. Заготівля плаценти виконується в умовах операційної і передопераційної пологового блоку з додержанням правил асептики і антисептики. На столі для прийому новонародженого розташовують дві стерильні пелюшки і ємність з розчином. Хірург, що виконує операцію кесарів розтин, переносить послід на стіл. Лікар, що заготовляє плаценту, кладе послід в ємність, яку разом із верхньою пелюшкою переносить у передопераційну на підготовлений стіл. Лікар набирає шприцом 20 мл плацентарної крові для серологічного контролю в флакони-супутники чи пробірки і віддає медсестрі, що їх маркірує. Після цього в пупкову вену вводять розчини в такій послідовності: глюгіцер - 20 мл або гепарин - 5 тис. од.; ампіокс - 250 тис. од.; розчин глюкози 5% - 20 мл; розчин NaCl 0,9% - 20 мл. Після чого лікар знімає із дистального кінця пуповини затискач, накладає лігатуру, занурює пуповину в ємність, куди додає майже 100 мл фізіологічного розчину, закриває кришкою, завертає в стерильну пелюшку і кладе в транспортувальний контейнер. В такому вигляді плацента готова до транспортування.

Правила транспортування плаценти до кріобанку. Під час транспортування необхідно дотримуватись таких основних вимог:

максимально щадячий режим для плаценти, тобто умови із найменшою механічною травматизацією; відносно постійна температура, що може бути забезпечена спеціальною ізотермічною тарою, при температурі зовнішнього середовища від 3 до 10°C допускається транспортування в звичайній упаковці, недопустимі різкі перепади температури; час транспортування не повинен перевищувати двох годин.

Підготовка плацентарної тканини до заморожування. Перед кріоконсервуванням плаценту відмивають від крові, фрагментують, відділяють амніотичну оболонку. Ці маніпуляції виконують у боксі, що підготовлений згідно з інструкцією з застосуванням ламінатора. Роботу виконують два співробітника, що обробляють руки, одягають стерильні халати, маски, бахіли. Операції виконують з дотриманням правил асептики. Для підготовки плаценти до кріоконсервування необхідні такі матеріали, інструменти і розчини: простирадла - 2 шт; пелюшки - 2 шт; ватні кульки - 20 шт; лоток - 1 шт; ексикатор - 1 шт; рукавички хірургічні - 2 пари; пінцети анатомічні - 2 шт; корнцанги - 2 шт; скальпель - 1 шт; ножиці хірургічні - 1 шт; спирт 70% - 100 мл; NaCl 0,9% - 5 л; димексид - 10 мл; ампіокс - 500 мг; кетгут МЗ - 2 ампули.

Відкривають ємкість із плацентою, виводять назовні пуповину, знімають лігатуру і випускають плацентарну кров. Плаценту викладають в ексикатор, додають 0,5 л 0,9% NaCl. Оболонки обрізають ножицями і переносять в лоток. Відділяють амніотичну оболонку, фрагментують її на пластини, опускають у флакони із 0,2 л 0,9% NaCl, 250 мг ампіоксу, 4 мл димексиду. Плаценту переносять в лоток, зрізають скальпелем можливо найменш тонкий шар із материнської сторони в ділянці часточок, фрагменти одержують розмірами майже 3x2 см. Одержані фрагменти плацентарної тканини опускають в флакон із 0,5 л 0,9% NaCl. Флакон похитують протягом 1-2 хв, зливають надосад, доливають новий фізіологічний розчин. Цю процедуру повторюють 5-6 разів, в останній розчин додають 250 мг ампіоксу

і 2 мл кріопротектору. Після 15-20 хв. експозиції матеріал готовий до кріоконсервування. Можливо до заморожування занурювати фрагменти плацентарної тканини в амніотичну оболонку, фіксувати кетгутом і таким чином готувати трансплантат до кріоконсервування. Для застосування плацентарної тканини в якості біологічної пов'язки на ранені поверхні тканину ретельно змельчують у диспергаторі, розташовують у стерильні одноразові ємності, герметичне їх закривають і зберігають при температурі -8-10°C. Перед вживанням контейнер кладуть у воду температури 42±2°C і після відігріву розкривають ножицями чи скальпелем.

Одержання екстракту з тканини плаценти: до диспергованої тканини додають двократну по кількості ваги кількість фізіологічного розчину, витримують добу при температурі 4°C і центрифугують 15-20 хв. при 4000 об/хв. Одержаний надосад фільтрують через міліпорові фільтри (діаметр 0,22 мкм) в стерильні флакони.

Кріоконсервування, зберігання та транспортування плацентарної тканини. Амніотичну оболонку, фрагменти плацентарної тканини і плацентарну тканину в амніотичній оболонці розташовують у поліамідному або металевому контейнері, герметизують і маркують його, визначаючи назву матеріалу, номер партії, дату заготівлі і заморожують із застосування спеціальних кріопрограм.

Кріоконсервувати плацентарну тканину можна двоетапним способом - охолодженням до -10°C зі швидкістю 1°C/хв., і далі занурюванням в рідкий азот. Після заморожування контейнери з матеріалами переносять в низькотемпературний банк і зберігають в рідкому азоті і його парах при температурі -196°C.

Транспортують біооб'єкти в замороженому стані в ізотермічній тарі. Кріоконсервовану плацентарну тканину при необхідності можна перевозити в інший населений пункт по залізниці, авіа- або автотранспортом, в

транспортних судинах (ПСБ) ємністю 10 л, що дозволяє зберегти матеріал в рідкому азоті до 4-х діб.

Бактеріологічний, серологічний, контроль та оцінка життєздатності кріоконсервованої плацентарної тканини. Візуальний контроль. При визначенні придатності необхідно переконатися в герметичності закупорки і цілісності контейнеру, в якому заготовлялися біооб'єкти, достовірності паспортизації, термінів збереження. Для бактеріологічного контролю беруть 5 зразків тканини з кожної плаценти і доставляють в ізотермічній тарі в заклад, правомочний виконувати бактеріологічний контроль і давати сертифікат з результатом дослідження. При відсутності бактеріологічного забруднення партія вважається стерильною. Для оцінки життєздатності деконсервованої плацентарної тканини виробляють фарбування 1% розчином трипанового синього відбитків плацентарної тканини. Хроматофобність 80% кліток підтверджує життєздатність біоматеріалу. Препарати підлягають обов'язковому обстеженню на пренатальні інфекції (вимоги, як для донорів крові), сифіліс, СНІД, гепатити А,В,С; цитомсгаловірусну інфекцію. Після одержання результатів від серологічної лабораторії що до відсутності вищеназваних інфекцій, біопрепарати можуть бути використані в клініці.

Деконсервування та підготовка до трансплантації плацентарної тканини. Розморожування матеріалу виконують до повного відтавання при температурі 40°C, безпосередньо перед трансплантацією. Підготовку плацентарної тканини до трансплантації виконують в клініці в умовах малої операційної, з додержанням правил асептики. На столі розгортається стерильний набір. В чашку Петрі виливається вміст контейнеру. Готувати трансплантат, занурюючи плацентарну тканину в амніотичну оболонку і фіксуючи кетгутом, можна і безпосередньо перед трансплантацією. В чашку Петрі до готового до трансплантації матеріалу доливають 10 мл 5% амінокапронової кислоти і 5 мл 0,5% новокаїну. Чашку Петрі закривають.

Дози, показання, протипоказання до застосування кріоконсервованої плацентарної тканини. Профілактика можливих ускладнень. Кріоконсервована плацентарна тканина в амніотичній оболонці вводитьься одноразово шляхом підшкірної гетеротопічної трансплантації в зовнішньо-верхній квадрант на сідниці. Кріотрансплантат становить ділянку плаценти, розміром 3х2х0,5 см, вагою 10±0,5 г, приміщений в амніотичну оболонку, розміром 5,0х5,0 см.

Показання до застосування: фетоплацентарна недостатність; імунологічний конфлікт при вагітності; не виношування вагітності; гіпоксія і гіпотрофія плоду; хронічні септичні процеси; гормональні порушення; імунодефіцити і алергічні захворювання; післяопераційні ускладнення; у пластичній хірургії; у репродуктології, кардіології та андрології; при лікуванні хронічних запальних процесів; при порушенні психоневротичних станів; хвороби обміну речовин; у геронтологічній практиці.

Противопоказання до застосування: злоякісні новоутворення; гострі запальні процеси.

З метою профілактики можливих ускладнень трансплантація кріоконсервованої плацентарної тканини проводиться, як правило, в умовах стаціонару, з додержанням правил асептики і антисептики, з урахуванням умов, показань, протипоказань і динамічним спостереженням за реципієнтом після трансплантації. Можливо і амбулаторне проведення трансплантації при дотриманні всіх перелічених вище умов.

2.2. Морфологічна характеристика плаценти використовуваних для кріоконсервування і трансплантації.

Вихідним матеріалом для одержання кріоконсервованих препаратів служила плацента, взята від жінок віком 21-25 років після кесаревого розтину, при доношеній вагітності. Забір матеріалу проводився на базі 5-го міського пологового будинку м. Харкова, в гінекологічному відділенні № 2,

згідно вимогам законодавчих актів України та Європейської асоціації тканинних банків з дотриманням етичних і юридичних норм. Протипоказаннями для одержання біоматеріалу було: наявність в анамнезі матері вірусного гепатиту, туберкульозу, сифілісу, гонореї, СНІДу, цитомегаловірусної інфекції, токсоплазмозу, герпеса, а також перенесених в період вагітності корі і краснухи.

Після макроскопічного огляду визначались: вага плаценти, об'єм плаценти, плацентарно-плодовий коефіцієнт.

Гістостереометричне дослідження проведене на центральній та крайовій зонах плаценти. Питомий об'єм хоріальної та базальної пластинки, строми ворсин, судинного русла, хоріального епітелію, а також зон інфарктів, крововиливів, кальцифікатів визначали на "Інтегралі-2М" в умовних одиницях.

Зразки тканин підлягали гістологічному дослідженню з використанням гістологічних та гістохімічних методів. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозіном, пікрофусцином за Ван-Гізоном, нейтральні мукополісахариди визначали реакцією з шиф-йодною кислотою (ШИК-реакція) з контрольною ферментною обробкою [193].

Серійні парафінові та свіжезаморожені зрізи використовували для імунофлюоресцентного дослідження. Препарати вивчались за допомогою люмінісцентного мікроскопу МЛ-9.

Дослідження біологічних характеристик кріоконсервованої плаценти.

Білки. Для розділу білків в плаценті використовували метод електрофорезу. Відносну кількість білків в полосках визначали вимірюючи оптичну щільність геля при довжині хвилі 610 нм. Виміри проводились на денситометрі АФ-1. Використовували фосфорилазу, овальбумін, карбонгідразу, інгібітор трипсину [1, 190].

Визначення альфа-фетопротейна (АФП). Імуноферментний аналіз АФП в плаценті людини здійснювали напівавтоматичним методом на комплексі приборів „Roche EIA Photometr“, „Roche EIA Washer“, „Roche EIA Incubator“ (Швейцарія) з застосуванням тест-системи ДиА-плюс (Москва). АФП визначався у верхній аліквоті проби після гомогенізації клітинної суспензії і центрифугування. Метод визначення заснований на твердофазному імуноферментному аналізаторі. Високоспецифічне мишаче моноклональне антитіло до альфа-фетопротейну людини, імобілізовано на твердій фазі. Друге моноклональне мишаче антитіло до АФП людини, несуче ковалентно-зв'язану пероксидазу хрину, використовується як проявляючий агент. Калібрувальні проби і досліджувані зразки інкубували в одну стадію з кульками і анти-АФП-пероксидазними кон'югатами. АФП зв'язується і помічається одночасно. Після стадії промивки кульки інкубувалися з робочим розчином субстрата для розвитку забарвлення, інтенсивність якого прямо пропорційна кількості АФП в зразках і калібрувальних пробах. Концентрацію АФП в біопробах розраховували в міжнародних одиницях (МО/мл) [1, 291].

Екстракцію ліпідів проводили за допомогою хлороформ-метанолової суміші [132]. Висушену плівку ліпідів розчиняли двома порціями хлороформу і переносили у флакони, які тримали в морозильнику холодильника до початку проведення аналізу ліпідного складу методом тонкошарової хроматографії.

Нейтральні ліпіди і фосфоліпіди розділяли на пластинках із шаром селікогеля G-0,25 (Merck, Германія) методом одно і двовимірного ТСХ [132].

Прогестерон і естрадіол визначали радіоімунологічним методом, **пролактин і ХГ** імуноферментним методом.

Кальцій, неорганічний фосфор, мідь, магній визначали уніфікованими клінічними методами за допомогою реактивів Lachemia (Чехія). Вміст **калія і натрія** досліджували методом плазмової фотометрії, **хлора**

меркуриметричного титрування [170].

Визначення вітамінів в плаценті. Зразки з тканинною суспензією центрифугували в градієнті сахарози для відділення фракції водорозчинних і жиророзчинних вітамінів. Визначення проводили методом високоефективної газорідинної хроматографії. Зразки вносили в хроматографічну колонку. Для розгону водорозчинних вітамінів використовували фосфатно-калієвий буфер (рН 4,8), жиророзчинні вітаміни розгонилися у фосфатно-нітратному буфері (рН 8,2). Детекцію проводили при флуоресценції в ультрафіолетовому світлі з відповідними фарбниками. Аналіз концентрацій вітамінів в біозразках проводили з використанням комп'ютерних програм і виражали в нмоль/л і мкмоль/л [306].

2.3. Гістохімічне дослідження активності дегідрогеназ.

Дослідження проводилося з застосуванням методу кількісної гістохімії і фотометричного аналізу, які традиційно використовуються при оцінці активності окислювально-відновних ферментів (табл. 2.1).

Зразки плаценти були забрані від 5 жінок після пологів або після кесаревого розтину. З кожної плаценти бралось по 5 зразків, розмірами 3,0 на 3,0 см.

В контрольну групу увійшли зразки (n=5), по одному з кожної плаценти. В другу групу увійшли зразки (n=20) по два з кожної плаценти, які витримувалися 1 добу при 4°C. В третю групу – зразки (n=20), які витримувалися 2-ї доби при 4°C. Зразки закладалися в холодильну камеру (t 4°C) з метою їхнього гіпотермічного збереження протягом 1-єї і 2-ох діб. Зі зразків контрольної групи, а також підлягаючих гіпотермічному збереженню протягом 1-ої і 2-ої доби були приготовлені кріостатні зрізи (товщина зрізів – 10 мкм), які інкубувалися з відповідними субстратами й забарвлювалися нітросинім тетразолієм (НСТ). У результаті фарбування в препаратах утворювався осад диформазану, кількість якого і було критерієм оцінки

активності ферментів (як контроль за протіканням гістохімічної реакції були використані кріостатні зрізи печінки інтактних пацієнтів). У результаті проведених гістохімічних реакцій у тканині нативної і підлягаючому гіпотермічному збереженню плаценти були виявлені наступні ферменти: сукцинатдегідрогеназа (СДГ), лактатдегідрогеназа (ЛДГ), α -гліцерофосфатдегідрогеназа (α -ГФДГ), а також НАДН і НАДФН-дегідрогенази (НАДНДГ, НАДФНДГ).

Кількісний облік вмісту диформазау в зрізах нативної плаценти і після її гіпотермічного збереження протягом 1-ої і 2-ої доби проводився методом фотометричного аналізу з використанням телевізійного мікроскопа-фотометра.

На невеликій ділянці препарату (розмір фотометрованої площі складав приблизно $0,002-0,003 \text{ мм}^2$) у минаючому монохроматичному світлі (довжина хвилі $L=546\text{нм}$) визначалася величина оптичної щільності, яка пропорційна концентрації диформазау, а, отже, і питомій активності ферменту.

На зрізах однієї плаценти було зроблено по 30 вимірів величини оптичної щільності, у кожній групі препаратів (контрольна і після гіпотермії різної тривалості) було використано по 5 плацент.

Результати фотометричного аналізу були статистично оброблені. Для кожної вибірки (обсяг вибірки – 30 вимірів оптичної щільності, або 30 первинних дат) були розраховані величини середнього значення (M), його помилка репрезентативності (m), визначений, по методу Стюдента, рівень вірогідності (P) цього значення.

З метою оцінки однорідності експериментального матеріалу були складені вибірки за середнім значенням оптичної щільності для кожної з плацент однієї експериментальної групи (вибірки з 5 вторинних дат), для яких також були визначені перераховані вище статистичні показники: M , m і P . У випадку, коли вибірки з вторинних дат були достовірні ($P<0,05$), складалися сумарні вибірки по всіх первинних датах для експериментальної

групи (обсяг вибірки – 150 первинних дат), для яких також визначалися M , m і P .

Крім того, був визначений рівень вірогідності розходжень між величинами середнього значення оптичної щільності для різних груп кожного з досліджених ферментів (P , визначений по методу Стюдента).

Методом однофакторного дисперсійного аналізу був оцінений ступінь впливу часу гіпотермічного збереження плаценти на зміну в ній активності ферментів. Було визначено 3 градації фактора часу: 0 (контрольна група), 1 і 2 доби гіпотермічного збереження, кожна з яких була представлена 150 вимірами (первинні дати) величини оптичної щільності.

Дослідження окислювально-відновних ферментів в тканині плаценти після низькотемпературного консервування без кріопротектора і під його захистом. Плацента отримана в результаті кесаревого розтину при доношеній вагітності інкубували з кріопротектором диметилсульфоксидом на протязі 15-20 хв., після чого її піддавали кріоконсервуванню. З деконсервованої тканини плаценти приготувляли кріостатні зрізи, які забарвлювали нітросинім тетразолієм. Кількість отриманого осаду диформаза являлась критерієм оцінки ефективності ферментів. Для дослідження були виділені наступні експериментальні групи: 1) контроль, 2) тканина плаценти після обробки деметилсульфоксидом, 3) контроль після заморожування-розморожування, 4) тканина плаценти оброблена деметилсульфоксидом після заморожування-розморожування. Досліджувались вищеперераховані ферменти.

2.4. Дослідження перекисного окислювання ліпідів (ПОЛ), біологічно активних речовин (БАР), білка.

Дослідження проведено на зразках плаценти, яка підлягала різним термінам низькотемпературного збереження (табл. 2.1).

Зразки плаценти були забрані від 10 жінок після пологів або після кесаревого розтину. З кожної плаценти бралось по 5 зразків, розмірами 3,0 на 3,0 см.

В контрольну групу увійшли зразки ($n=10$), по одному з кожної плаценти. В другу групу увійшли зразки ($n=10$), які витримувалися 1 добу при 4°C . В третю групу – зразки ($n=10$), які витримувалися 1 добу при -20°C . В четверту групу – зразки ($n=10$), які витримувалися 1 добу при -20°C , а потім 1 рік при -196°C . В п'яту – зразки ($n=10$), які витримувалися 1 добу при -196°C , а потім 1 рік при -20°C .

Визначення первинних і кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Метод оцінки інтенсивності реакцій перекисного окислювання ліпідів – це вимір первинних продуктів дієнових кон'югатів (ДК) [43]. Окислювання ненасичених жирних кислот, що мають два і більше подвійних зв'язків приводить до зсуву подвійного зв'язку й утворенню сполучених кон'югованих подвійних зв'язків, що поглинають світло при 233 нм. Однак у складних системах вимір дієнових кон'югатів вимагає попередньої екстракції ліпідів. ДК визначали по методу [170] з незначною модифікацією: до 0,5 мл проясненого гомогенату плаценти, отриманого після центрифугування, додавали 3 мл екстрагувальної суміші гептану з ізопропіловим спиртом (у співвідношенні 1:1 по об'єму). Після екстракції до суміші додавали 0,5 мл дистильованої води і відбирали 1 мл з верхньої фази розшарованої проби, змішуючи їх з 2 мл етанолу. Оптичну щільність вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при 233 нм проти етанолу. Отримані екстракти для виміру в них первинних і кінцевих продуктів ПОЛ піддавали вимірові по методу [43] у модифікації [10]. Концентрацію подвійних зв'язків (ПЗ) у ненасичених ліпідах вимірювали при 220 нм, вміст триєнових кон'югатів при довжині хвилі 268 нм, оксодієнових (ОДК) при 287 нм, додатково визначали кінцеві молекулярні продукти ПОЛ типу шиффових основ при 400 нм.

В основі методу визначення вмісту кінцевих продуктів ПОЛ лежить нагрівання зразка біопроби в присутності 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК) при кислому рН і вимір оптичної щільності продукту, що утворився, при 532 нм. Продуктом, взаємодіючим із ТБК, є малоновий діальдегід або його похідні. Комплекс МДА з ТБК легко екстрагується бутанолом, що дозволяє уникнути спектрофотометрування в сильно розсіяному середовищі. Визначення МДА і його попередників (ТБК-продуктів) проводили по методу [10] у модифікації: до 0,5 мл проясненого гомогенату плаценти додавали 2 мл 0,6 % тіобарбітурової кислоти на 1 % розчині ортофосфорної кислоти, пробірки нагрівали на киплячій водяній лазні протягом 45 хв. Після охолодження проводили екстракцію ТБК-продуктів 3 мл н-бутанола. Бутанольні екстракти фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 у діапазоні довжин хвиль 535 нм, 580 нм проти н-бутанолу. Концентрацію ТБК-продуктів розраховували відповідно до методики [12] по різниці оптичних щільностей 532 нм, 580 нм з урахуванням розведення в мікромолях МДА на 1 л. У роботі використовували ТБК фірми „Серва” (Германія), інші реактиви були вітчизняного виробництва кваліфікації „ХЧ”.

Визначення глутатіону. Брали 0,4 мл гомогената плаценти, одержували безбілковий ТХУ надосад, добавляли трихлоруксусну кислоту до кінцевої 4%. До 0,4 мл надосаду доливали 3 мл буфера складом: трис-НСІ 0,1 Моль рН 8,0; NaCl - 0,150 Моль. Для проведення колборової реакції туди ж доливали 0,04 мл реактива Елмана (0,01 молярний розчин 5,5-дітіобіснітробензойної кислоти в етиловому спирті). Жовте забарвлення міряли при довжині хвилі 412 нм. По калібровочній кривій знаходили концентрацію GSH і нормували на білок [353].

Визначення біологічно активних речовин (БАР). Вміст біологічно активних речовин у плаценті: гормони — пролактин, тестостерон і гідрокортизон вимірювали методом твердофазного імуноферментного

аналізу, використовуючи готові тест-системи „Алькор-біо” (С.-Петербург, Росія) [12].

Визначення білку. Кількісне визначення білку проводили біуретовим методом. Іони Cu^{+2} у лужному середовищі утворюють комплекс з пептидною групою синьфіолетового кольору, інтенсивність якого прямо пропорційна кількості білку у пробі [170]: 0,5 мл препарату вміщують в мірну колбу місткістю 50 мл, відповідно, доводять об'єм розчину 0,9% розчином хлориду натрію до мітки і перемішують. 5 мл отриманого розчину вміщують в пробірку місткістю 20 мл, додають 5 мл біуретового реактиву (Державна Фармакопея XI, вип. 2, с. 35) і перемішують. Через 30 хвилин вимірюють оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм або на фотоелектроколориметрі при довжина хвилі 540 нм (зелений світлофільтр) у кюветі з товщиною шару 10 мм, застосовуючи в якості контролю на реактиви порівняння розчин, що містить, 5 мл 0,9% розчину хлориду натрію і 5 мл біуретового реактиву.

Всі обмірювані в плаценті абсолютні величини біологічно активних речовин, вміст продуктів ПОЛ були пронормовані на концентрацію білка в пробі.

2.5. Морфологічні методи дослідження реакції внутрішніх органів на трансплантацію нативної і кріоконсервованої плаценти

Для дослідження реакції структурних елементів внутрішніх органів на трансплантацію нативної і кріоконсервованої плаценти були виділені органи: печінка, селезінка, наднирники, яєчники і тимус (табл. 2.1).

Експеримент проведено на статевозрілих кролицях-самках, породи „Шиншила” в кількості 58 тварин вагою 1500-1650 г. Вік - 8-9 місяців. Перша група (Контроль) 3 тварини. У другій групі (Розріз) – 15 тварин, проводився розріз шкіри в межах спини довжиною 3 см, з послідуочим накладанням

кетгутового шва, без трансплантації плаценти. У третій групі (n=20) проводилась трансплантація нативної плаценти (ТНП). У четвертій групі (n=20) проводилась трансплантація кріоконсервованої плаценти (ТКП). Трансплантація ТНП і ТКП проводилась в підшкірний карман в межах спини по методу, розробленому в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків).

Нативна і кріоконсервована плацента була розмірами 1,5x1,5 см об'ємом 1,7-2,0 мл.

Трансплантація проводилась під загальним тіопенталовим наркозом.

У терміни 2, 7, 14, 30, 60 діб після трансплантації тварин піддавали евтоназії, згідно з „Правилами використання лабораторних експериментальних тварин”, 1984, додаток 4 і Хельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин.

Для гістологічного дослідження органи фіксували в 10% розчині нормального формаліну. З органів бралися 3-5 шматочків об'ємом 0,5-1,0 см³, з яких згідно загально прийнятих методів дослідження, виготовлялися целоїдин-парафінові блоки. Целоїдин-парафінові зрізи, товщиною 5-7 мкм офарблювали гематоксиліном Ерліха і еозином, глікопротеїни в клітинах виявляли реактивом Шиффа [208]. Оцінювалась інтенсивність реакції на глікоген по чотирьох бальній системі від 0 до 3-х. Підрахунок двоядерних і купферових клітин у кожному варіанті досліду проводився в 20 полях зору [193].

2.6. Характеристика експериментальних об'єктів дослідження при експериментальному запаленні.

Лабораторні тварини.

Для обґрунтування застосування препаратів плацентарної тканини при запалення, необхідно було провести експеримент на тваринах. Найбільш адекватною твариною були щурі, які по висновку Фармакологічної Асоціації

США, являється оптимальним видом для вивчення лікарських препаратів [15, 398, 399]. Імунна система щура найбільш чутлива до дії хімічних речовин в дозах в порівнянні з масою тіла [398, 428]. Таким чином щури є як об'єкт дослідження найбільш відповідним для тестування лікарських препаратів.

Робота виконана на 114 щурах самцях лінії Вістар масою 220-250 г., які знаходились в віварії Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАНУ на стандартному утриманні. Для виключення сезонних і добових коливань досліджуваних показників, всі дослідження проведені в осінній період в ранковий час. Експерименти на тваринах проводились згідно з "Правилами використання лабораторних експериментальних тварин", 1984, додаток 4 і Хельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин (табл.. 2.1).

Моделювання експериментального запального процесу.

Моделлю запалення служило гостре асептичне запалення м'яких тканин стегна щурів, внаслідок введення 5 мг λ -карагінену ("Sigma", США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [5, 141]. Карагінен являє собою сульфатизований глікозаміноглікан, який виділений з ірландського морського моху Chondrus і використовується в якості флогогену [315].

Препарат екстракту плаценти (ЕП) вводився внутрішньом'язово в дозі 0,5 мл, із вмістом білка 1,5 мг/мл 1 раз у добу протягом всього експерименту [4, 18]. Контрольним тваринам вводився 1,0 мл фізіологічного розчину.

Тварин піддавали евтоназії (під ефірним наркозом) через 6, 12 годин, на 1-у, 2-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у добу [141] після введення λ -карагінену. На кожний термін брали по 6 тварин.

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЦЕНТИ, ЯКА ВИКОРИСТОВУВАЛАСЬ ДЛЯ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ

Плацента – активний метаболічний посередник між організмом матері й ембріоном. Вона здатна до адаптивних процесів, що реалізують „вирівнювання” різного типу відхилень і порушень, які відбуваються в їхніх організмах.

3.1. Морфологічна характеристика плаценти.

Дослідження плаценти, яка використовувалась для трансплантації, проведене на центральній та крайовій зонах. Проводився макроскопічний огляд, визначались об'єм хоріальної та базальної пластинки, строми ворсин, судинного русла, хоріального епітелію, а також зон інфарктів, крововиливів, кальцифікатів плаценти, вага плаценти, плацентарно–плодовий коефіцієнт.

Гістологічне дослідження проведено з використанням гістологічних та гістохімічних методів. Зрізи зафарблювали гематоксиліном та еозином, пікрофусцином за Ван–Гізоном. Нейтральні мукополісахариди визначали реакцією з шиф–йодною кислотою (ШИК–реакція) з контрольною ферментною обробкою.

При макроскопічному візуальному дослідженні плацент групи порівняння виявлено, що практично у всіх випадках вони мали округлу чи овальну форму, однорідно–губчасту консистенцію. Плодові оболонки були тонкі, еластичні, блискучі, рожевого кольору. При огляді материнської поверхні наявних дефектів не виявлено, часточковість була добре вираженою.

Плодова поверхня була гладкою, блискучою. Будова котиледонів залежить від особливостей гілок пуповинних артерій і місця прикріплення пуповини. Прикріплення пуповинного канатику було у 78,6% випадків парацентральним, у 9,4% – центральним, у 12% – периферичним або

оболонковим. Розрізняють три типи розподілу судин пуповини: магістральний, розсипний і змішаний. Найбільш поширений змішаний і розсипний тип, що спостерігається при парацентральному прикріпленні пуповини у 65,8% спостережень. Магістральний тип частіше зустрічається при периферичному або оболонковому прикріпленні пуповини у 34,2%.

При розсипному типі будови основні (котиледонні) артерії першого порядку розташовуються в центральній частині стовбурної ворсини. Вони розгалужуються на 2-7 артерій другого порядку, що поділяються на більш тонкі гілки третього порядку (інтракотиледонні) і утворюють сферичну судинну систему – субкотиледон. У так званій магістральній плаценті основні артерії можуть відразу розгалужуватися на тонкі стовбури третього порядку.

Васкуляризація ворсин має свої закономірності. У добре розвинутій великій ворсині утримується 10–15 судин (рис. 3.1.1). Спочатку судини розвиваються в центрі ворсин, а потім – по периферії. У їхніх стінках немає еластичних волокон, відсутні судини судин, і роль адвентиціальної оболонки виконує периваскулярна сполучна тканина. У стовбурних ворсинах мають артеріовенозні анастомози по типу замикаючих артерій.

Дрібні термінальні ворсини містять тільки капіляри (4–6), що розташовуються в незрілій плаценті центрально. У процесі росту і дозрівання ворсин капіляри починають рости ексцентрично, і в зрілій плаценті багато хто з них мають периферичне розташування. Вони розширюються і перетворюються в синусоїди, що займають до 2/3 обсягу ворсини. Збільшення просвіту судин сприяє більш активному струмові крові, що важливо для здійснення обмінних процесів.

Рис. 3.1.1. Судини ворсини.

1.Дрібні ворсини. 2.Венула. 3.Артеріола. 4. Артеріовенозні анастомози.

Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x20, ок. x10.

Важливою функціональною одиницею плаценти є кінцеві (термінальні) ворсини. Їхня центральна частина представлена строною, що складається, крім колагенових волокон, із клітинних елементів (фібробласти, гістіоцити, макрофаги й ін. клітини), що володіють високою ферментативною активністю.

В міру прогресування вагітності площа фібриноїду в плаценті збільшується (до 10% при своєчасних родах). Кількість ворсин з дистрофічними змінами в стромі збільшується, становлячи близько 3% при доношеній вагітності. У великих ворсинах підсилюється фіброз строми.

Рис. 3.1.2. Ворсини плаценти та міжворсинчатий простір.

1. Ворсинки синцитіотрофобласту. 2. Петрифікат. 3. Міжворсинчатий простір.

Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x20, ок. x10.

До змін дистрофічного характеру в плаценті відносять відкладення солей. В одних випадках соли кальцію випадають у вигляді кристалів, в інші – у вигляді брилків і безформних мас. Звапнінню піддаються маси фібриноїду, тромби, інфаркти, тобто ті ділянки, де маються явища дезорганізації і некрозу (рис. 3.1.2).

Важливою структурною одиницею плаценти є міжворсинчатий простір. Він заповнений кров'ю, що надходить зі спіральних артерій, у яких протягом вагітності відбуваються виражені фізіологічні зміни. Кінцеві ділянки цих артерій характеризуються гіпертрофією ендотеліальних клітин, дегенерацією м'язового шару і фібринозним некрозом. У результаті цього стінка судин цілком позбавляється гладком'язових елементів і втрачає здатність скорочуватися і розширюватися.

Наприкінці вагітності кінцеві ділянки спіральних артерій децидуальної оболонки в зоні плацентарного ложа стають короткими, більш прямими і розширеними (понад 2 мм у діаметрі). Спіральні артерії йдуть паралельно базальній мембрані, яку вони перфорують під прямим кутом, відкриваючи в просвіт міжворсинчастого простору одним або декількома отворами.

Гирла материнських спіральних артерій у кількості 150–200 відкриваються в міжворсинчатий простір через перфораційні отвори базальної пластини. Материнська кров викидається в центральній частині котиледону сильним струменем у напрямку до хоріальної пластини. Біля неї струмінь повертає назад, і кров повертається в кровотік матері через венозні отвори (їх близько 185), що знаходяться в периферичній частині котиледону.

Таким чином, у міжворсинчатому просторі розрізняють три відділи: артеріальний, відповідної центральної частини котиледону, капілярний, розташований у щільній частині котиледону, і венозний, відповідним субхоріальним міждолевим областям. При вивченні взаємовідношення між спіральними артеріями і басейном артерій і вен кінцевих розгалужень ворсин виявлені дві основні зони міжворсинчастого простору. Перша зона відповідає великому скупченню кінцевих ворсин, що вільно плавають у крові. Друга зона представлена щільно прилягаючий друг до друга дрібними розгалуженими ворсинами, місцями, з'єднаними між собою ядерними містками. Останні у великій кількості знаходяться між базальною мембраною

і кінцевими ворсинами, а також навколо місця впадання спіральної артерії в міжворсинчатий простір.

Обсяг міжворсинчастого простору збільшується відповідно ростові гіллястого хоріона. Крім цього, міжворсинчатий простір змінюється під дією змін артеріального тиску в материнських і плодових судинах, тиску в амніотичній рідині і скорочувальної діяльності матки. У зрілій плаценті міняються умови для циркуляції крові, що зв'язано з відкладенням фібриноїду навколо ворсин, позбавлених епітелію, і утворенням різних по довжині фібриноїдних полів у міжворсинчатому просторі.

Всі описані вище структурні елементи плаценти обумовлюють її функцію, спрямовану на забезпечення росту і розвитку плоду.

Епітелій амніотичної оболонки мав чіткі межі та слабо виражену базофільну цитоплазму, ядра клітин які містять еухроматин, розташовувалися практично на базальній мембрані, що була представлена вузькою смужкою та вміщувала ШИК–позитивну речовину.

Під амніоном розташовувалися ніжні пучки колагенових волокон хоріальної пластинки. У деяких випадках відзначалося розширення амніохоріального простору, зумовлене набряком.

Міжворсинчатий проміжок у різних відділах плаценти мав різний об'єм. Повнокров'я судин та наявність фібриноїду зумовлювали нерівномірний характер останнього (рис. 3.1.3). Ворсинчасте дерево було представлене опорними ворсинами I, II і III порядку. Гіллястий хоріон був представлений крупними ствольовими ворсинами із центрально розташованими судинами та волокнистою сполучнотканинною строюю. Навколо судин зустрічалися колагенові волокна у вигляді муфт. У центральних ділянках ворсин були виявлені фіброцити.

Рис. 3.1.3. Повнокров'я судин, фібриноїд.

1. Ворсина хоріона. 2. Петрифікат. 3. Фібриноїд. 4. Кровоносні судини.

Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x10, ок. x10.

В стромі крупних ворсин виявлявся здебільшого колаген I типу у вигляді лінійного інтенсивного свічення з переважною локалізацією в центрі ворсин. По всій площині ворсини виявлялося слабе, подекуди помірне свічення переривчастого характеру колагену III типу та ще слабше свічення – колагену V типу. Осередковано, у вигляді брилок, виявлялось інтенсивне свічення колагену IV-го типу.

Базальні мембрани судин та хоріального епітелію стовбурових ворсин вміщували ШИК-позитивні речовини, що не піддавалися дії ферментативного контролю. У їх складі переважав колаген IV типу у вигляді

лінійного характеру інтенсивного свічення.

Епітелій крупних опорних ворсин був одношаровим, інколи переривчастим з покриттям його дефектів фібриноїдом. Серед мас фібриноїду розташовувалися веретеноподібні, інколи 2–ядерні клітини.

Строма „замурованих” у фібриноїд ворсин містила незначну кількість сполучної тканини та давала помірну метахромазію при фарбуванні толуїдиновим синім, що свідчило про накопичення кислих глікозаміногліканів.

Поряд із цим зустрічалися проміжні ворсини, які мали великі розміри, звиті чи рівні контури, строму з тонкими колагеновими волокнами.

У стромі цих ворсин виявлені колагени I, II та V типів. Колаген I типу локалізувався переважно в центрі ворсин у вигляді яскравого лінійного та переривчастого свічення. Колаген III та V типів розташовувався по всій поверхні ворсинок рівномірно, часто повторюючи при цьому контури базальних мембран синцитіоендотелію. В останньому виявлялася розмежована капілярна мережа. Навколо капілярів концентрувалися колагенові волокна, у складі яких переважав колаген III типу – у вигляді ніжно волокнистої сіточки. Метахромазія стромі спостерігалась у більшості випадків навколо судин проміжних ворсин.

Епітелій ворсин був нерівномірно потовщеним. Гіперхромні ядра синцитіотрофобласту мали ланцюжне розташування паралельно базальній мембрані. Під синцитіотрофобластом виявлялися крупні клітини цитотрофобласту (Лангганса) зі світлою цитоплазмою та ексцентрично розташованими інтенсивно профарбованими ядрами.

При фарбуванні за Браше в цитоплазмі синцитію спостерігалась піронінофілія, інтенсивність реакцій якої була помірною та дорівнювала $0,612 \pm 0,56$ ум. од. оптичної щільності. В ендотелії судин та епітелії молодих ворсин інтенсивність фарбування була набагато вище – $0,698 \pm 0,34$ ум. од. Помірно виражена піронінофілія виявлялась у цитоплазмі клітин стромы

ворсин – $0,502 \pm 0,022$ ум. од.; підвищена в навколо ядерних зонах – $0,756 \pm 0,032$ ум. од.

Ядра синцитіальних вузликів та симпластів у міжворсинчатому просторі інтенсивно фарбувалися за методом Фельгена в червоно–фіолетовий колір з інтенсивністю реакції – $0,856 \pm 0,024$ ум. од. оптичної щільності. Менша інтенсивність фарбування відзначалася в ядрах цитотрофобласту та клітинах строми ворсин – $0,682 \pm 0,018$ ум. од. опт. щільності. Проміжні зрілі ворсини II порядку розташовувалися компактно, були округлої форми.

Судини в кількості 2–4 розміщалися ближче до центру, інколи під епітелієм. Цитоплазма синцитіотрофобласту була нерівномірно піронінофільною з підсиленням інтенсивності реакції в ділянках накопичення ядер. Однією з особливостей хоріального епітелію була присутність проліферативних процесів. Останні являли собою накопичення 5–7 ядер клітин синцитіотрофобласту. По даним гістохімічного дослідження в ньому виявлялася велика кількість рибонуклеопротейдів та ШИК–позитивного матеріалу – $1,657 \pm 0,078$ ум. од.

Ворсини III порядку відрізнялися меншими розмірами і щільнішою склерозованою стромою. Остання була представлена потовщеними колагеновими волокнами, не чисельними фібробластами та фіброцитами. У дрібних ворсинках переважно відмічався колаген III та V типів у вигляді дифузно розташованих по всій поверхні площини ворсинок тонковолокнистих структур, що виявляли свічення помірної інтенсивності. Колаген I типу візуалізувався у вигляді вогнищового інтенсивного свічення, переважно в центрі ворсинок. У більшості випадків у базальних мембранах синцитіотрофобласту та судин ворсинок виявлялося рівномірне помірної інтенсивності свічення колагену IV типу.

Рис. 3.1.4. Морфологічні зміни дистрофічного характеру.

1. Базальна мембрана. 2. Ворсина хоріона. 3. Судини. 4. Фібриноїдний некроз

Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x20, ок. x10.

Базальна пластинка була представлена крупними поліморфними децидуальними клітинами та елементами цитотрофобласту з еозинофільною цитоплазмою та міхуроподібним ядром. Цитоплазма цитотрофобластичних клітин була базофільною, ШИК–позитивною, ядра поліморфні та гіперхромні.

Рис. 3.1.5. Розташування ворсин у центральній зоні.

1. Ворсина хоріона. 2. Амніон. 3. Судини. 4. Петрифікати. 5. Сполучна тканини.

Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x10, ок. x10.

В основній проміжній речовині децидуальної тканини відзначалася значна метакромазія, що свідчило про накопичення кислих глікозаміногліканів. На межі з міжворсинчатим простором базальна пластинка була подана більш дрібними трофобластичними клітинами. У місці контакту трофобласту з децидуальною тканиною була наявна еозинофільна зона коагуляційного некрозу. У базальній пластині

зустрічалися осередкові накопичення лімфоцитів.

Рис. 3.1.6. Розташування ворсин у крайовій зоні.

1. Ворсина хоріона 2. Сполучна тканина 3. Петрифікати

Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x10, ок. x10.

Базальна мембрана була відокремлена від міжворсинчастого простору верствою фібриноїду. У центральних відділах плаценти частіше, ніж у периферійних зонах, зустрічалися морфологічні зміни дистрофічного характеру (рис. 3.1.4). Цей об'єм був об'єктивований стереометрично.

Рис. 3.1.7. Ділянки інфарктів при доношуваній вагітності.

1. Ворсини хоріона 2. Осередки інфарктів 3. Петрифікати

Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x10, ок. x10.

Аналіз отриманих даних дозволив виявити достовірні відмінності питомого об'єму деяких структурних компонентів плаценти. Статистично достовірно строма всіх ворсин займала провідні положення.

Збільшення строми в крайових відділах посередньо свідчило про щільність розташування ворсин – у центральній зоні рідше (рис. 3.1.5), у крайовій – густіше (рис. 3.1.6). У той же час питома вага судин була вище в центральній зоні, ніж у крайовій. Частка інфарктів та кальцифікатів була малою та відповідала ознакам доношуваної вагітності (рис. 3.1.7).

Приведені дані свідчать, що органометричні показники плацент відповідали строку гестації.

Морфологічні виявлення компенсаторно–приспосувальних реакцій у вигляді вогнищевої гіперплазії ворсин, судин, вогнищевої проліферації трофобластичного епітелію свідчили про достатній їх розвиток до закінчення терміну вагітності.

Помірне колагеноутворення вказувало на початкову стадію склеротичних змін. Склероз, наявність фібриноїду в міжворсинчатому просторі, набряк строми ворсин носили вогнищевий характер, що вважалося виявленням дистрофічних змін, характерних для плаценти при фізіологічному перебігу вагітності (рис. 3.1.8).

Дані, отримані при морфометричному та ферментативному дослідженні, свідчили про структурно–метаболічну неоднорідність різних зон плаценти при доношуваній вагітності, і природно, про різний характер та рівень адаптаційних можливостей крайових та центральних частин органу.

Рис. 3.1.8. Червоний тромб вени з початком каналізації та петрифікації.
1.Стінка вени 2.Сполучна тканина 3. Щілини між ворсинами
4.Петрифікат 5. Фіброцити.
Забарвлення: гематоксилін, еозин. Зб.: об. x10, ок. x10.

3.2. Біохімічна характеристика плаценти.

Вміст білків. Численні функції плаценти зв'язані з виробленням речовин білкової природи. Висока білоксинтезуюча активність доведена електронномікроскопічними гістохімічними і біохімічними методами. Швидкість біосинтезу білка в перші 16 тижнів розвитку в 2 рази вище, ніж у зрілої плаценти, що пояснюється в основному проліферацією і біосинтезом неспецифічних білків, а в більш пізній термін – гіперплазією клітин і синтезом специфічних протеїнів.

Доведено, що нормальний біосинтез білка в плаценті забезпечує імунні реакції цього органа шляхом переробки біологічно активних груп імуноглобулінів, здатних нейтралізувати імунологічні комплекси, якими обмінюються мати і плід. У плаценті синтезується більшість „специфічних білків вагітності” і лише деякі з них утворюються в печінці матері [311].

Нами вивчалися якісний і кількісний склад білків у плаценті, отриманій при нормальній доношеній вагітності після кесаревого розтину.

Розділення білків за молекулярною масою проводили в градієнтному гелі 8–25% акріламід у при загальній концентрації білків 1,9–2,4 мг/мл. Після електрофоретичного фракціонування білків їх умовно можна розділити на 3 групи: 1) – високомолекулярні, з м.м. 100 кДа; як правило, такі білки є складовою частиною цитоскелету клітин, 2) – білки з м.м. 30–100 кДа, які, в основному, функціонально представлені білками–ферментами, які беруть участь у забезпеченні життєдіяльності клітин і тканин, і 3) – низькомолекулярні білки і пептиди з м.м. менше 30 кДа, які відносяться до тих, що секретують регуляторними або біологічно активними компонентами тканин.

У плаценті присутні три основних білкових піки, що відповідають молекулярним масам 14,5 кДа, 28,5 кДа і 67 кДа, а також фракція 55 кДа.

Білки молекулярною масою від 28 кДа і вище складають біля половини всіх білків зразка плаценти, причому максимальна кількість їх утримується в білковій смузі, що відповідає 29 кДа.

Вміст високомолекулярних білків 50 кДа, складає приблизно 30% від загальної кількості білків у зразках. Білковий пік, що відповідає молекулярній масі 67 кДа, складає близько 15% від загальної кількості білка.

Альфа–фетопротейн (АФП) є специфічним ембріональним білком, що продукується у великих кількостях при ембріогенезі. Відомо, що він синтезується головним чином клітинами печінки і жовткового мішка [2]. Отримані дані дозволяють говорити, що цей білок продукується й іншими

органами.

Нами вивчений рівень концентрацій АФП у плаценті. Він складає від 371 до 797 мМЕ/мл, в середньому – $584,2 \pm 150,5$.

Таким чином, показано, що в плаценті маються високі концентрації АФП, що визначають імуносупресивний ефект плаценти при трансплантації і відсутність імунологічних реакцій в організмі реципієнта. Безсумнівно, що це один з важливих механізмів дії АФП.

Отримані результати підтверджують дані про те, що відбувається переважний синтез середньо– та низькомолекулярних білкових молекул. Ці дані підтверджені інформацією про те, що збільшення вмісту в плаценті γ –глобулінів, пролактину і α –фетопротеїну відзначено саме в більш пізній термін [54, 247].

Склад ліпідів. Тканинні ліпіди, тобто фосфоліпіди, гліколіпіди, нейтральні ліпіди – це велика група з'єднань з подібними фізико–хімічними властивостями. Обов'язковими компонентами ліпідів, як відомо, є спирти і жирні кислоти, з'єднані один з одним амідним зв'язком.

Серед ліпідів, що входять до складу ліпопротеїдних комплексів (універсальних структурних елементів клітин), основна роль належить фосфоліпідам.

Вміст нейтральних ліпідів у плаценті виявлено методом ТСХ. Використовуючи таблицю відносної рухливості нейтральних ліпідів (R_f), ми ідентифікували їхні основні класи.

У плаценті були представлені фосфоліпіди (ФЛ)+моногліцериди (МГ), холестерин (ХЛ), вільні жирні кислоти (ЖК), тригліцериди (ТГ) і ефіри холестерину (ЕХЛ).

Аналіз двовимірних хроматограм фосфоліпідів досліджуваних зразків свідчить про те, що спектр фосфоліпідів у зразках представлений такими основними фракціями, як фосфатиділхолін (ФХ), фосфатиділеталамін (ФЕА), сфінгомієлін (СМ) і фосфатиділсерін (ФС).

У плаценті виявляються також невеликі плями лізофосфатидилхолін (ЛФХ) і цереброзидів (ЦЗ), що представлені двома класами цих видів молекул з нормальними жирними оксикислотами.

Присутні також плями фосфатидної кислоти – найпростішого представника природних фосфогліцеридів – і деякі не ідентифіковані фракції (НІ).

Таким чином, вміст у препаратах плаценти широкого спектра ліпідів різнонаправленої дії дозволяє припустити, що при введенні в організм вони будуть впливати не тільки на структурну організацію мембранних компонентів клітин, але і на різні метаболічні процеси.

Таблиця 3.1

Вміст вітамінів

Вміст вітамінів. Вітаміни – речовини, необхідні для здійснення нормального обміну речовин. Більшість вітамінів у виді кофакторів входить до складу ферментних систем, що беруть участь у вуглеводному, ліпідному і

Вітаміни	Фрагмент плаценти
В ₁ (нмоль/л)	38,28±3,66
В ₆ (нмоль/л)	224,67±8,75
В ₁₂ (нмоль/л)	0,73±0,02
А (мкмоль/л)	0,67±0,10
Е (мкмоль/л)	120,33±2,76
Д ₃ (мкмоль/л)	100,33±9,94

білковому й інших видах обміну. Вітаміни біологічно активні в малих кількостях і підрозділяються на водорозчинні (група вітамінів В) і жиророзчинні (А, Д, Е і К).

Нами вивчався вміст водо– та жиророзчинних вітамінів у плаценті. Таким чином, проведений аналіз показав, що у плаценті мається різноманітний спектр вітамінів, що включає водорозчинні і жиророзчинні вітаміни.

Вміст гормонів. Синтез стероїдних гормонів, у період ембріогенезу, складає важливу і необхідну ланку в метаболізмі зростаючих і дефінітивних органів і тканин [247, 310].

Таблиця 3.2

Вміст гормонів

Гормони	Фрагмент плаценти
Пролактин (мМО/мл)	1543±151
Лютеотропний (мМО/мл)	5,73±0,95
ХГ (мМО/мл)	1100,30±16,05
Естрадіол (пгмоль/мг)	755,0±47,7
Прогестерон (нгмоль/мг)	325,7±110
Тестостерон (нмоль/мг)	4,81±0,45
Альфа–мікроглобулін (нгмоль/мг)	1470,0±223,4

Кількісний вміст досліджених гормонів у препараті плаценти, а також дані про механізми їхньої дії, описаних у сучасній науковій літературі, дозволяє припустити, що він є препаратом потенційно різнопланової дії.

Вміст мікроелементів. Застосування трансплантації тканинних препаратів тісно зв'язана з вивченням їхнього хімічного складу. Наприклад, відомо [278], що мікроелементи беруть участь у регуляції обміну речовин в організмі, і їхня біологічна роль визначається тим, що вони входять до складу таких біологічно важливих речовин, як ферменти, гормони, вітаміни й ін.

Іонний склад мінеральних речовин робить також істотний вплив на фізико–хімічні властивості білків, змінюючи ступінь їхньої гідратації, розчинності. Установлено, що плацента, отримана від різних породілей, також може мати неоднаковий мікроелементний склад.

У таблиці 3.3 представлені дані по складу і концентрації мікроелементів у плаценті.

Таблиця 3.3

Вміст мікроелементів

Згідно з даними [195], у плаценті виявлено 23 елементи. Указується також, що консервування вихідного матеріалу при зниженій температурі по В.П.Філатову сприяє кращій екстракції цих речовин, зайвий раз

Мікроелементи	Фрагмент плаценти
Cu (мкмоль/кг)	16,4±4,4
Zn (мкмоль/ кг)	69,54±9,0
Fe (мкмоль/кг)	439,0±42,3
Mg (мкмоль/кг)	744,6±30,7
K (мкмоль/кг)	177,09±14,36
Na (ммоль/кг)	6,24±0,19
Ca (мкмоль/кг)	50,5±9,02
P _н (неорган.) (мкмоль/кг)	50,42±6,42

підтверджуючи доцільність попереднього консервування тканин для одержання тканинного препарату [319].

Високі концентрації атомів металів Cu, Ca і P_н у плаценті свідчать про особливості її функціонування [54, 126] і різний їхній вплив на метаболічні процеси при введення в організм. Отримані результати цікаві також з погляду, наприклад, тканинного дихання, а саме – процесу окисного фосфорилювання, тому що, наприклад, P_н – один з головних і необхідних компонентів процесу окисного фосфорилювання. Атоми цих металів входять до складу флавінових дегідрогеназ, що є акцепторами атома водню і здійснюють перенос водню (протонів і електронів) від відновленого НАДН або НАДФН у дихальному ланцюзі. Наприклад, відомо також, що процес нагромадження Ca й ін. двовалентних іонів заміщає собою систему переносу електронів, тому що мітохондрії в присутності Ca втрачають здатність фосфорилювати АДФ до АТФ і замість цього починають накопичувати Ca і P. Ці обидва процеси залежать від рівня клітинного дихання. Наприклад, нагромадження Ca й інших катіонів у мітохондріях супроводжується втратою H⁺ [207]. Таким чином, в експериментах встановлено, що використаний нами методичний підхід, а саме – дезінтеграція тканин і клітин з використанням температур, дозволяє одержати в кінцевому препараті, досліджений склад і

концентрацію важливих для організму макро–, олиго– і мікробіогенних елементів.

Виходячи з приведених даних, визначення складу мікроелементів має визначену біологічну цінність і є необхідним для з'ясування окремих сторін механізму дії плацентарного препарату. Володіння такою інформацією дасть можливість рекомендувати його як при розладах метаболізму, так і з профілактичною метою.

РОЗДІЛ 4

АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ, СТАН ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ, ВМІСТ ГОРМОНІВ У ПЛАЦЕНТІ ПРИ ДІЇ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР

Метою цього розділу було виявлення стану плаценти з точки зору показників метаболізму тканин при різних умовах консервування. В зв'язку з цим, були відібрані показники, які відображують енергетичний стан, руйнівну силу ліпопероксидації та вміст біологічно активних речовин.

4.1. Динаміка активності окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти.

Дані літератури свідчить про принципову можливість використання гістохімічних методів для виявлення окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти. Однак, результати досліджень по визначенню характеру змін активності ферментів у різних умовах збереження плаценти розрізнені і значною мірою утрудняють проведення аналізу метаболічних змін у тканині плаценти. Крім того в літературі відсутні дані про динаміку зміни активності деяких дихальних ферментів при її збереженні в умовах знижених температур і подальшому збереженні.

В даному підрозділі обрані дегідрогенази, які дають водень для окисного фосфорилування, що продукує АТФ для енергетики сукцинатдегідрогенази (СДГ), НАДН-дегідрогенази (НАДНДГ); α -гліцерофосфатдегідрогенази (α -ГДФГ), відображує зв'язок між двома напрямками енергетичного обміну: ліпідним і вуглеводним і активується тироксином; лактатдегідрогеназа (ЛДГ) - характеризує заключний етап анаеробного гліколізу; НАДФН-дегідрогенази (НАДФНДГ) - починає дитоксикаційне мікросомальне гідроксилювання у синтезі стероїдних гормонів, та дає відновлювальні еквіваленти для антиоксидантного захисту.

Результати гістохімічного і фотометричного аналізу, приведені в таблиці 4.1, показують, що активність дегідрогеназ у тканинах аlogenної плаценти в процесі її гіпотермічного збереження змінюється неоднаково.

Так, активність ферментів СДГ і α -ГФДГ (рис. 4.1.1) в процесі гіпотермічного збереження на протязі 1-ї і 2-ї доби, в порівнянні з контролем істотно не змінилася ($p > 0,05$). Але, відмічалась тенденція до збільшення активності СДГ і α -ГФДГ, в першу добу гіпотермічного збереження плаценти в порівнянні з контролем ($p < 0,1$ і $p < 0,3$ відповідно). Після 2-ох діб гіпотермічного збереження фрагментів плаценти цифрові значення показників активності СДГ і α -ГФДГ також більші ніж в контролі при $p < 0,3$ і $p < 0,5$ відповідно. При порівнянні величин цих показників між 1-ю і 2-ю добами їх активність зменшується (вірогідність статистичної різниці $p < 0,5$ і $p < 0,3$ відповідно).

Активність ферменту НАДНДГ при дії гіпотермії протягом 1-ї доби істотно збільшується в порівнянні з контролем ($p < 0,05$). При зберіганні фрагментів плаценти протягом 2-ї доби цей показник збільшується при порівнянні з контролем і зменшується при порівнянні з 1-ю добою гіпотермії лише у вигляді тенденції ($p < 0,1$ та $p < 0,5$ відповідно) (рис. 4.1.1).

Проведений дисперсійний аналіз сили впливу часу на активність окислювально-відновних ферментів дозволив установити, що ферменти СДГ, α -ГФДГ і НАДНДГ найменше піддані дії часу при гіпотермії протягом 2-ох діб. Так, коефіцієнт для СДГ становить $0,006 \pm 0,007$ при $p > 0,05$, для α -ГФДГ – $0,002 \pm 0,007$ при $p > 0,05$, для НАДНДГ – $0,012 \pm 0,007$ при $p > 0,05$.

Таким чином можливо з великою долею імовірності стверджувати, що ферменти СДГ, α -ГФДГ а також НАДНДГ не змінюють активність при дії гіпотермії.

Як видно з таблиці 4.1 активність ферментів ЛДГ і НАДФНДГ, на відміну від вищеназваних ферментів, достовірно зменшується.

Таблиця 4.1

Порівняльна характеристика динаміки активності дегідрогеназ
плаценти при її гіпотермічному збереженні

№ п/ п	Групи дослідж.	n	Активність ферментів (од. опт. щільн.)				
			СДГ	ЛДГ	α -ГДФГ	НАДНДГ	НАДФНДГ
1.	Контроль (1 серія)	5	116,9 $\pm$ 4,3	123,5 $\pm$ 5,1	96,6 $\pm$ 5,1	158,2 $\pm$ 9,6	160,6 $\pm$ 8,6
2.	1-а доба 4 ⁰ C (2 серія)	20	127,2 $\pm$ 5,7	114,6 $\pm$ 4,9	102,3 $\pm$ 6,0	180,1 $\pm$ 6,8	140,8 $\pm$ 8,4
3.	2-а доба 4 ⁰ C (3 серія)	20	123,8 $\pm$ 6,7	97,8 $\pm$ 4,6	98,2 $\pm$ 4,7	177,6 $\pm$ 9,9	135,5 $\pm$ 10, 7
Вірогід. різн. (p)	1-2		>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
	1-3		>0,05	<0,001	>0,05	>0,05	<0,05
	2-3		>0,05	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05
Вплив часу зберігання (F $\pm$ f,p)			0,006	0,046	0,002	0,012	0,010
			$\pm$ 0,007	$\pm$ 0,006	$\pm$ 0,007	$\pm$ 0,007	$\pm$ 0,007
			>0,05	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05

Примітка: СДГ – сукцинатдегідрогеназа,

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

α -ГДФГ – α -гліцерофосфатдегідрогеназа,

НАДНДГ – НАДН -дегідрогеназа

НАДФНДГ – НАДФН-дегідрогеназа

Так, для ЛДГ в 1-у добу збереження активність зменшується при порівнянні з контролем тільки в вигляді тенденції ($0,05 < p < 0,1$), то при порівнянні цих показників з 2-ю добою гіпотермічного збереження зменшення активності проходить із високою долею статистичної вірогідності ($p < 0,001$). При порівнянні 1-ї і 2-ї доби проходить також зменшення активності ферменту. Показник декілька нижчий, але залишається в високих межах статистичної вірогідності при $p < 0,01$ (рис. 4.1.1).

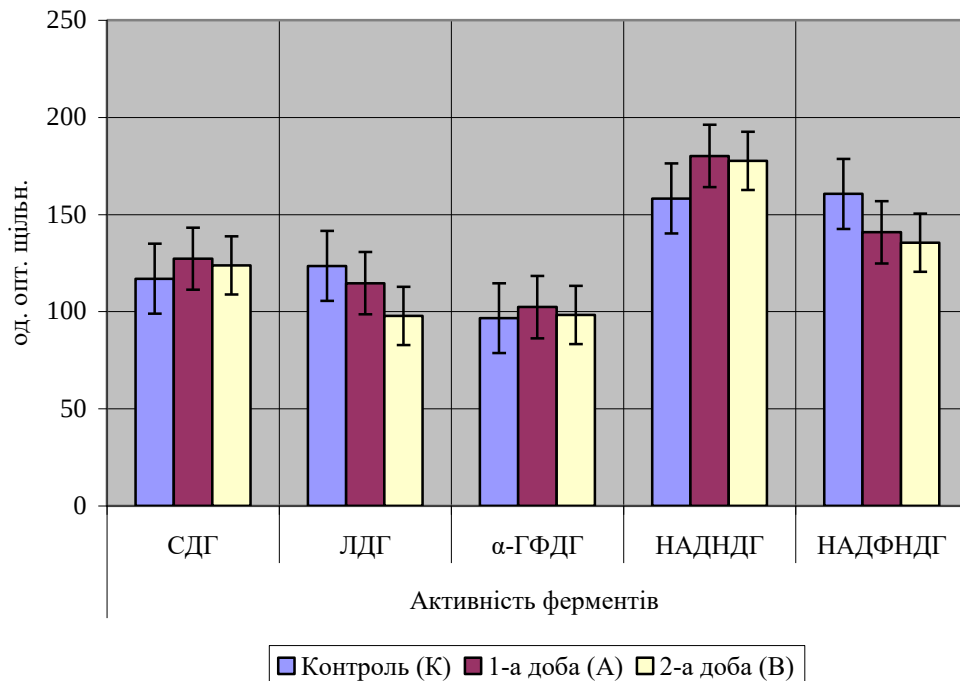


Рис. 4.1.1. Активність ферментів плаценти при гіпотермії (4°C)

Динаміка активності ферменту НАДФНДГ також піддається закономірності виявленої для ЛДГ, але вона проявляється в меншій мірі. Про це свідчать статистичні показники зменшення активності ферменту. Так, при порівнянні контролю з 1-ю добою, зменшення активності має лише характер тенденції, як і у випадку з ЛДГ ($p < 0,1$). При порівнянні контролю з 2-ю добою гіпотермії зменшення активності ферменту НАДФНДГ істотно, вірогідність різниці при $p < 0,05$. Крім того, при порівнянні активності ферменту при гіпотермічному зберіганні між 1-ю і 2-ю добами активність зменшується лише у вигляді тенденції $0,05 < p < 0,5$ (рис. 4.1.1).

Проведений дисперсійний аналіз показав, що лише для ферменту ЛДГ сила впливу часу на гіпотермічне збереження є значимою ($F = 0,046 \pm 0,006$ при $p < 0,001$).

ЛДГ – фермент, який бере участь у третьому етапі гліколізу, каталізує відновлення пірувату до лактату, відображає анаеробний варіант утилізації цукрів, знаходиться у неміцному зв'язку з мембранами ендоплазматичної мережі і являється НАД-залежним ензимом. У свою чергу НАДНДГ служить

загальним показником активності енергозабезпечення клітин і локалізується як у мітохондріях, так і в гіалоплазмі. НАДНДГ – перший фермент мітохондріального електронно-транспортного ланцюга, що дає АТФ.

Таким чином, гіпотермічне збереження фрагментів плаценти при $t^{\circ}4^{\circ}\text{C}$ на протязі двох діб, як першого підготовчого етапу при проведенні кріоконсервування, не приводить до істотного порушення активності дегідрогеназ в тканинах плаценти людини. Існує лише невелике порушення процесу гліколізу, зв'язане з утилізацією цукрів і енергообміном між мембранами мітохондрій і гіалоплазмою.

4.2. Динаміка активності окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти після низькотемпературного консервування без кріопротектора і під захистом Me_2SO .

Дане дослідження присвячено вивчення впливу кріопротектора Me_2SO на активність деяких окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти при її підготовці до низькотемпературного збереження та після розморожування.

Результати гістохімічного і фотометричного аналізу дозволяють судити, що вплив низькотемпературної консервації фрагментів плаценти, замороженої без кріопротектора і під захистом Me_2SO , на активність окислювально-відновних ферментів у тканини плаценти проявляється не однаково.

Таблиця 4.2

Зміна активності ферментів у тканині нативної плаценти до консервування без кріопротектора і під захистом Me_2SO та після кріоконсервування без кріопротектора і під захистом Me_2SO

№ п/п	Групи дослідження		n	Ферменти (од. опт. щільн.)				
				СДГ	ЛДГ	α-ГФДГ	НАДНДГ	НАДФНДГ
1.	Контроль	без Me ₂ SO (1 серія)	10	114,5±3,5	125,3±3,8	96,1±4,7	158,2±7,4	158,4±6,3
		з Me ₂ SO (2 серія)	10	134,1±5,5	159,9±5,6	143,5±6,0	202,5±6,0	153,9±5,7
2.	Кріоконсер- вування	без Me ₂ SO (3 серія)	10	136,8±3,3	146,9±4,2	116,7±3,5	132,0±5,2	151,9±5,0
		з Me ₂ SO (4 серія)	10	134,5±4,6	144,5±3,8	122,5±3,9	190,4±6,0	160,6±5,7
	Вірогідність різниці (p)	1-2		<0,05	<0,01	<0,001	<0,001	>0,05
		1-3		<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
		2-4		>0,05	>0,05	<0,01	<0,01	>0,05
		3-4		>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05
Вплив фактора консервування (F±f, p)				0,001±0,003 >0,05	0,001±0,003 >0,05	0,004±0,003 >0,05	0,144±0,003 >0,05	0,004±0,003 >0,05

У таблиці 4.2 приведені значення концентрації диформазану (в умовних одиницях оптичної щільності) у зразках нативної плаценти без кріопротектора Me_2SO (1 серія) і оброблених кріопротектором (2 серія), а також у зразках плаценти після її кріоконсервування без кріопротектора (3 серія) і під захистом кріопротектора (4 серія) дослідів для всіх перерахованих вище досліджуваних ферментів.

Як видно з таблиці 4.2 активність СДГ в нативній плаценті в групі контролю (2 серія), яка не піддавалася кріоконсервуванню під дією кріопротектора, вірогідно підвищилася при порівнянні з аналогічним показником без дії кріопротектора (1 серія) на 15% при $p < 0,05$. При кріоконсервуванні активність СДГ без дії кріопротектора (3 серія) при порівнянні з контролем без кріопротектора (1 серія) також вірогідно підвищилася на 16% при $p < 0,05$. При порівнянні показники активності СДГ під дією кріопротектора в групах контролю (2 серія) і при кріоконсервації (4 серія) встановлено, що вони майже рівні і вірогідно не відрізняються при $p > 0,05$. Активність СДГ в плацентах при кріоконсервації без кріопротектора (3 серія) і з кріопротектором (4 серія) декілька знизилася в останній серії дослідів, але не вірогідно при $p > 0,05$ (рис. 4.2.1).

Активність ЛДГ в нативній плаценті в групі контролю (2 серія), яка не піддавалася кріоконсервуванню під дією кріопротектора, вірогідно підвищилася при порівнянні з аналогічним показником без дії кріопротектора (1 серія) на 22% при $p < 0,01$. При кріоконсервуванні активність ЛДГ без дії кріопротектора (3 серія) при порівнянні з контролем без кріопротектора (1 серія) також вірогідно підвищилася на 15% при $p < 0,05$. При порівнянні показників активності ЛДГ під дією кріопротектора виявлено, що в групі контролю (2 серія) активність на 10% вища чим у групі при кріоконсервації (4 серія), але вірогідно не відрізняються при $p > 0,05$. Активність ЛДГ в плацентах при кріоконсервації без кріопротектора (3 серія) і з

кріопротектором (4 серія) декілька знизилася в останній серії дослідів, але не вірогідно при $p > 0,05$ (рис. 4.2.1).

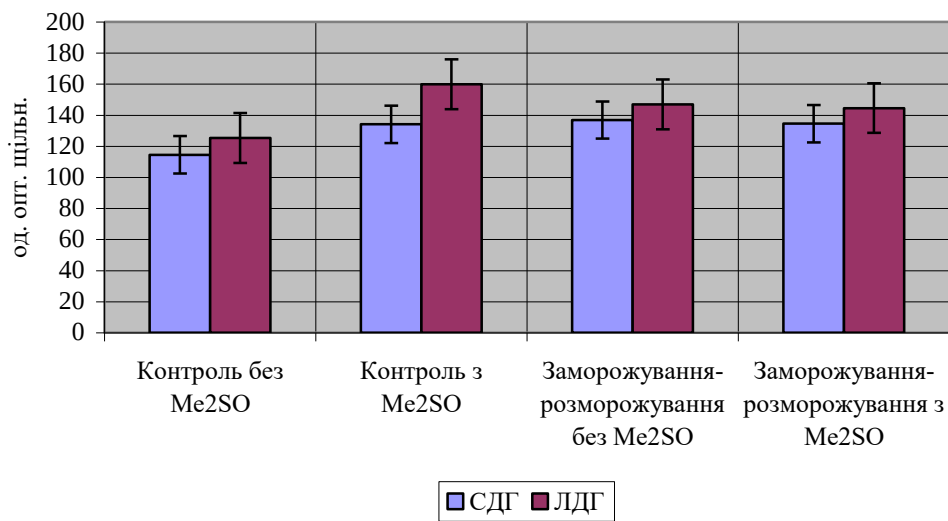


Рис. 4.2.1. Активність СДГ і ЛДГ без кріопротектора та під його дією.

При кріоконсервуванні активність α -ГФДГ без дії кріопротектора (3 серія) при порівнянні з контролем без кріопротектора (1 серія) також вірогідно підвищилася на 12% при $p < 0,05$. При порівнянні показників активності α -ГФДГ під дією кріопротектора в групі контролю (2 серія) і при кріоконсервації (4 серія) встановлено, що в останній серії цей показник на 15% менший при $p < 0,01$. Активність α -ГФДГ в плацентах при кріоконсервації без кріопротектора (3 серія) і з кріопротектором (4 серія) декілька підвищилася в останній серії дослідів, але не вірогідно при $p > 0,05$ (рис. 4.2.2).

Активність НАДНДГ в нативній плаценті в групі контролю (2 серія), яка не піддавалася кріоконсервуванню під дією кріопротектора, вірогідно підвищилася при порівнянні з аналогічним показником без дії кріопротектора (1 серія) на 22% при $p < 0,001$. При кріоконсервуванні активність НАДНДГ без дії кріопротектора (3 серія) при порівнянні з контролем без кріопротектора (1 серія) знизилася не вірогідно при $p > 0,05$. При порівнянні показників

активність НАДНДГ під дією кріопротектора виявлено, що в групі контролю (2 серія) і групі при кріоконсервації (4 серія) вони майже однакові і вірогідно не відрізняються при $p > 0,05$. Активність НАДНДГ в плацентах при кріоконсервації без кріопротектора (3 серія) і з кріопротектором (4 серія) підвищилася в останній серії дослідів на 31% при $p < 0,01$ (рис. 4.2.2).

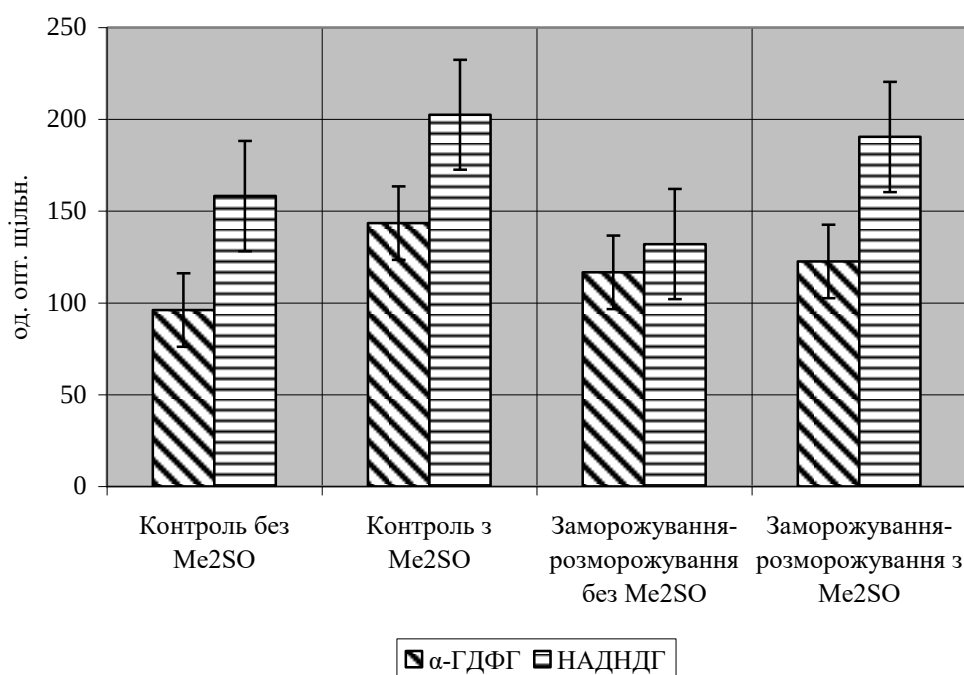


Рис. 4.2.2. Активність α -ГДФ і НАДНДГ без кріопротектора та під його дією.

Як видно з таблиці 4.2 активність НАДФНДГ у всіх досліджених серіях вірогідно не змінюється при $p > 0,05$.

Кореляційний аналіз зв'язку між активністю різних пар ферментів (табл.4.3) указує на те, що між різними парами ферментів може існувати як

позитивний, так і негативний зв'язок, що для різних ферментів коливається по силі від слабкої до середньої і вище.

Таблиця 4.3

Кореляційний зв'язок між середніми значеннями активності різних окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти після низькотемпературного консервування без кріопротектора і під захистом Me_2SO .

Пари ферментів	Кріоконсервування r (p)	
	без Me_2SO	з Me_2SO
СДГ-ЛДГ	0,185 (>0,05)	0,413 (<0,05)
СДГ- α -ГФДГ	0,177 (>0,05)	-0,654 (<0,01)
СДГ-НАДНДГ	0,692 (<0,01)	0,364 (<0,05)
СДГ-НАДФНДГ	-0,256 (>0,05)	0,758 (<0,01)
ЛДГ- α -ГФДГ	-0,236 (>0,05)	-0,038 (>0,05)
ЛДГ-НАДНДГ	-0,117 (>0,05)	-0,085 (>0,05)
ЛДГ-НАДФНДГ	0,157 (>0,05)	0,207 (>0,05)
α -ГФДГ-НАДНДГ	0,635 (<0,05)	-0,684 (<0,01)
α -ГФДГ-НАДФНДГ	0,758 (<0,01)	-0,325 (<0,05)
НАДНДГ-НАДФНДГ	0,325 (<0,05)	-0,313 (<0,05)

Результати однофакторного аналізу, проведеного для виявлення ступеня впливу різних способів кріоконсервування фрагментів плаценти, тобто з Me_2SO і без нього, на активність окислювально-відновних ферментів (табл. 4.2), так само вказують на те, що спосіб консервування впливає на зміну активності тільки НАДНДГ (у $14,4 \pm 0,3\%$ випадків), а для інших досліджених ферментів він є статистично не достовірним при $p > 0,05$.

Таким чином, дія низькотемпературного консервування на активність окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти аналогічна дії на цю тканину проникаючого кріопротектора Me_2SO .

4.3. Стан лінопороксидації в плаценті.

Важливу роль у виникненні і розвитку різного роду патологій і ушкоджень тканин відводять не ферментативному вільнорадикальному перекисному окислюванню біополімерів (ВРПО), у тому числі ліпідів. Плацента є природним бар'єром для плоду, яка захищає його від шкідливого впливу навколишнього середовища. Тому можна припустити наявність у цій тканині особливих систем, які володіють антиоксидантною дією, і здатних захищати клітини плоду від токсичного впливу вільних радикалів. З іншого боку, окремою задачею є вивчення дії низьких температур на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз тканини плаценти з метою подальшого використання її як джерела біологічно активних речовин. У доступній нам літературі даних про стан вільнорадикального окислювання ліпідів і його регуляції в плаценті людини в залежності від дії низьких температур знайти не вдалося. У зв'язку з цим, ми провели дослідження деяких метаболітів перекисного окислювання ліпідів і концентрації біологічно активних речовин при знаходженні плаценти в умовах рідкого азоту (-196°C), -20°C і 4°C .

Перекисне окислювання ліпідів (ПОЛ) є одним з основних процесів ушкодження ліпідів біологічних мембран і відбувається при багатьох патологічних процесах, а також істотно активується в біологічних об'єктах після дії низьких температур. У загальному виді утворення і перетворення радикалів кисню є одним із процесів, який лежить в основі ушкодження клітин і субклітинних часточок в ряду таких процесів, як перекисне окислювання ліпідів, гіпоксичне ушкодження, запальна реакція та інші. Молекули ліпідів перетерплюють багатостадійне перетворення в вторинні та кінцеві продукти ПОЛ: малоновий диальдегід (МДА), шиффові основи (ШО), ліпофусцин. Початкові стадії окислювання ліпідів зв'язують з утворенням гідроперекисів жирних кислот дієнових (ДК), триєнових (ТК) і тетраєнових (ТТК) кон'югатів. У більшості випадків обов'язковою умовою перетворень

перекисних радикалів є присутність іонів металів змінної валентності – Fe, Cu і ін. Важливо відзначити, що рівень вільнорадикальних процесів у великій мірі залежить від присутності СОД, GSH-пероксидази, GSH-редуктази, каталази, хелаторів іонів металів, вітамінів E, C, P, глутатіона.

Одним з основних універсальних підходів в оцінці порушення структури і функції біологічних тканин і клітин вважають перекисне окислювання ліпідів (ПОЛ). Оскільки кількісно ступінь зниження як первинних метаболітів ПОЛ (ДК, ТК, ТТК, ОДК), так і кінцевих продуктів процесів вільнорадикального окислювання біоструктур (МДА, ШО) приблизно рівне, то можна припустити, що активність ПОЛ визначається рівнем вільнорадикального окислювання на початкових етапах ушкодження клітинних ліпідів і, очевидно, не піддається на проміжних етапах ПОЛ розгалуженню або додатковій активації. Раніше було показано, що результат процедури кріоконсервування тканин і клітин при низьких температурах виявляється в активації процесів ПОЛ після несприятливих режимів заморожування.

Підвищення вмісту проміжних і первинних продуктів ПОЛ (ДК, ТТК, ОДК), вторинних продуктів – МДА і кінцевих продуктів – ШО може свідчити про підвищені рівні перекисних процесів у тканині плаценти (табл. 4.1), які зв'язані з активацією ПОЛ і наступною перекисною деградацією біоматеріалу в режимах: контролю, 1 доба при 4°C, 1 доба при –20°C, 1 доба –20°C і 1 рік при –196°C і 1 доба –196°C і 1 рік при –20°C.

Результати дослідження представлені в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Вміст продуктів перекисного окислювання ліпідів у плаценті в залежності від режимів збереження

Примітка: Вірогідність різниці (р) контролю з режимами низькотемпературного збереження * $p < 0,1$, ** $p < 0,05$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$

№	Режим низькотемпературного збереження	n	Подвійні зв'язки (ПЗ), О.О./ мг білка	Дієнові кон'югати, (ДК), О.О./ мг білка	Триснові кон'югати (ТК), О.О./ мг білка	Тетраєнові кон'югати (ТТК), О.О./ мг білка	Оксидієнові кон'югати (ОДК), О.О./ мг білка	Шиффові основи (ШО), О.О./ мг білка
1	Контроль (1 серія)	10	0,158±0,017	0,047±0,005	0,036±0,003	0,033±0,004	0,018±0,002	0,044±0,004
2	1 д. +4°C (2 серія)	10	0,135±0,017	0,089±0,010 ****	0,064±0,008 ****	0,046±0,005 **	0,029±0,003 ***	0,079±0,007 ****
3	1 д. -20°C (3 серія)	10	0,141±0,017	0,077±0,009 *	0,048±0,004 ***	0,043±0,005 *	0,025±0,002 **	0,062±0,006 **
4	1 д. -20°C і 1 рік -196°C (4 серія)	10	0,109±0,013 **	0,067±0,007 *	0,050±0,005 ***	0,044±0,005 *	0,024±0,002 *	0,071±0,007 ***
5	1 д. -196°C і 1 рік -20°C (5 серія)	10	0,105±0,012 **	0,102±0,014 ****	0,067±0,007 ****	0,055±0,007 ***	0,037±0,004 ****	0,095±0,009 ****

Екстинція максимуму поглинання подвійних зв'язків ліпідного екстракту вірогідно не змінилася в 2-ій і 3-ій серіях дослідів при порівнянні з контролем. Найменші її достовірні значення виявилися лише в 4-ій і 5-ій серіях дослідів при порівнянні з контролем при $p < 0,05$ (табл. 4.4).

Вміст дієнових кон'югатів у плаценті вірогідно підвищився в 2-ій і 5-ій серіях дослідів, відповідно в 1,9 і 2,2 рази при порівнянні з контролем (при $p < 0,001$). У 3-ій і 4-ій серіях підвищення дієнових кон'югатів має лише характер тенденції ($p < 0,1$).

Вміст триєнових кон'югатів плаценти у 2-ій і 5-ій серіях дослідів вірогідно збільшився, відповідно в 1,8 і 1,9 разів у порівнянні з контролем при низькотемпературному збереженні ($p < 0,001$). Збільшення значень цих показників в 3-ій і 4-ій серіях дослідів в порівнянні з контролем статистично достатньо високе з вірогідністю при $p < 0,01$.

Вірогідно збільшився вміст у 2-ій і 5-ій серіях дослідів тетраєнових кон'югатів, відповідно в 1,4 (при $p < 0,05$) і 1,7 (при $p < 0,01$) разів. Підвищення вмісту тетраєнових кон'югат у 3-ій і 4-ій серіях дослідів носить лише характер тенденції.

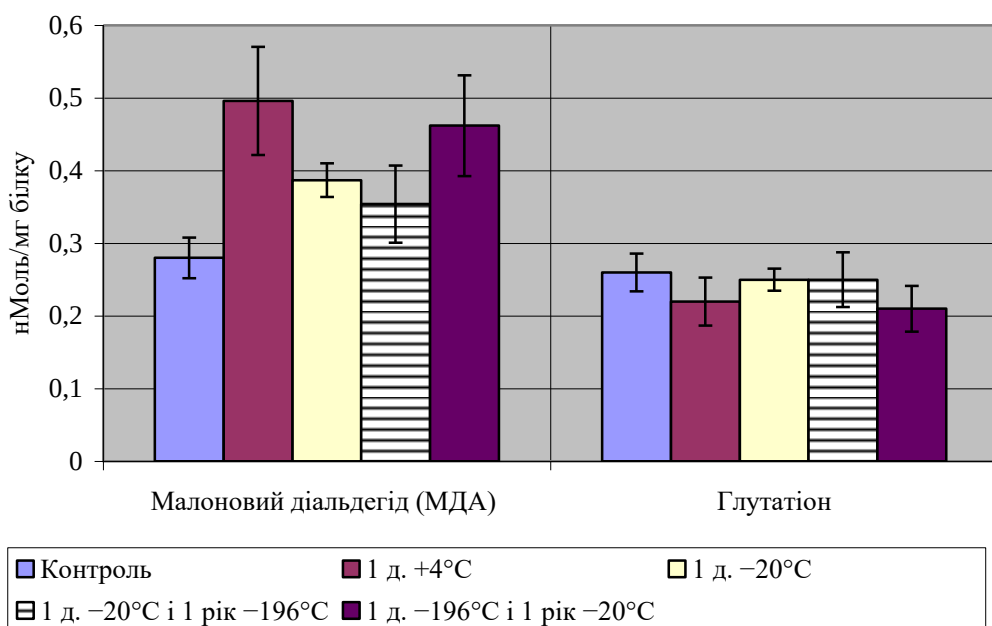


Рис. 4.3.1. Вміст малонового діальдегіда (МДА) у тканині плаценті.

Таблиця 4.5

Вміст малонового діальдегіду і глутатіону у тканині плаценти в залежності від режимів холодового збереження.

№	Режими збереження	n	Малоновий діальдегід нМоль/мг білку	Глутатіон, мМоль GSH/мг білку
1	Контроль (1 серія)	10	0,280±0,028	0,26±0,013
2	1-а доба. 4°C (2 серія)	10	0,496±0,045 ****	0,22±0,013 **
3	1-а доба. -20°C (3 серія)	10	0,387±0,032 **	0,25±0,015
4	1-а доба. -20°C, і 1 рік -196°C (4 серія)	10	0,354±0,020 **	0,25±0,014
5	1-а доба. -196°C, і 1 рік -20°C (5 серія)	10	0,462±0,046 ***	0,21±0,012 **

Примітка: Вірогідність різниці (p) контролю з режимами холодового збереження * P<0,1, ** p<0,05, *** p<0,01, **** p<0,001

Вміст оксидієнових кон'югат плаценти у 2-ій і 5-ій серіях дослідів вірогідно зросла в 1,5 (при p<0,01) і 2 (при p<0,001) рази при порівнянні з контролем. Концентрації оксидієнових кон'югатів в 3-ій серії підвищуються при p<0,05, а в 4-ій – це підвищення носить лише характер тенденції (p<0,1).

Вміст шиффових основ у тканинах плаценти вірогідно підвищився в серіях дослідів 2-ій і 5-ій, відповідно в 1,6 і 2,2 рази при p<0,001, а в 3-ій і 4-ій серіях це збільшення істотне лише при p<0,05 і P<0,01 відповідно.

У порівнянні з контролем концентрація малонового діальдегіду (табл. 4.5., рис. 4.3.1.) збільшилася в 1,7 рази в пробах плаценти в умовах 2-ої серії дослідів при p<0,001, в умовах 5-ої серії це збільшення виражене в 1,5 рази при p<0,01. У 3-ій і 4-ій серіях це збільшення істотно (p<0,05).

Глутатіон є сильним захисником від пероксидації ліпідів у тканині плаценти (табл. 4.5., рис. 4.3.2.). Його вміст суттєво знижується в 2 і 5 серіях

дослідження на 15 та 19% відповідно. В 3 і 4 серіях дослідження активність глутатіонредуктази підтримує його нормальний рівень.

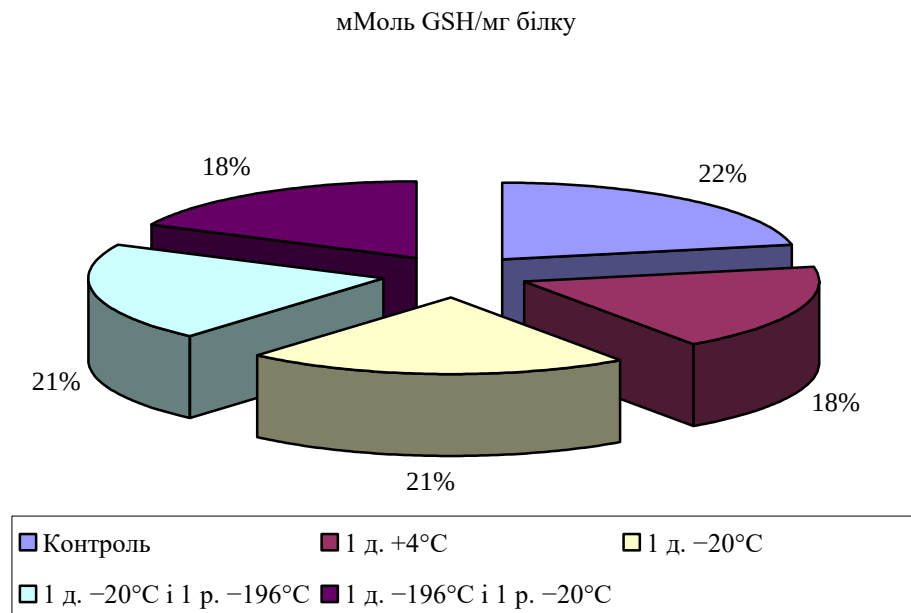


Рис. 4.3.2. Вміст глутатіону в тканині плаценти.

Таким чином, найбільше достовірне посилення ВРПО в тканинах плаценти відбувалося при збереженні її на 1-у добу при 4°C (2-а серія) і 1-у добу при -196°C, а потім 1 рік при -20°C (5-а серія). Очевидно, при 4°C біохімічні процеси послабляються, сповільнюється дифузія субстратів до ферментів, що створює умови для альтернативного не ферментативного процесу ВРПО. В умовах швидкого заморожування до -196°C в плинні 1-ої доби з наступним збереженням зразків 1 рік при -20°C не виключена деструкція кристалами льоду мембран клітин за рахунок кристалізації в умовах зниження температур до -20°C і довгостроковим перебування клітин в складі тканини. У цих умовах збільшується їхній контакт зі зв'язаним, розчиненим у біосередовищах і оточуючим тканину киснем. При цьому можливий контакт O₂ з іонами заліза, ферментів і індукція утворення активних форм кисню. Утворені продукти ПОЛ можуть бути стресинами,

факторами променевої патології, тобто бути токсикантами організму і факторами які викликають деструкцію у відношенні біологічно активних речовин при трансплантації плаценти.

Температурні умови 4-ої серії (1 доба -20°C , а потім 1 рік -196°C), створюють умови майже повного припинення всіх біохімічних окисних процесів у тому числі ПОЛ. Слід зазначити, що ці умови збереження є самими сприятливими. Деяке збільшення продуктів ВРПО в цих серіях дослідів може викликати деструкцію білків, даючи слабкі антигени, що стимулюють імунну систему реципієнта.

Таким чином, збереження плаценти при температурі -20°C , а потім з переносом у рідкий азот (-196°C) приводить до мінімальних біохімічних порушень у тканині на рівні ліпопероксидації, розвитку ПОЛ, збереженню значною мірою біологічно активних речовин і білка.

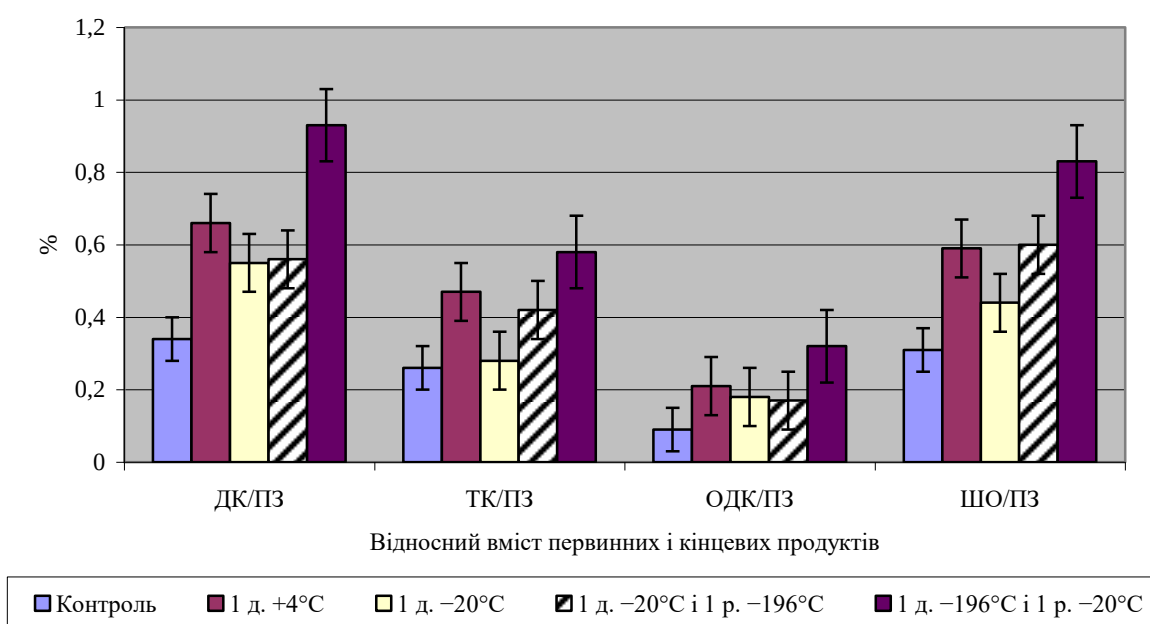


Рис. 4.3.3. Відносний вміст продуктів ліпопероксидації в алогенній плаценті.

Таблиця 4.6

Відносний вміст продуктів ліпопероксидації в плаценті

№ п/п	Режими збереження	Відносний вміст первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ				
		ДК/ПЗ	ТК/ПЗ	ОДК/ПЗ	ДК/ОДК	ШО/ПЗ
1.	Контроль (1 серія)	0,34	0,26	0,09	2,6	0,31
2.	1-а доба. 4°C (2 серія)	0,66	0,47	0,21	3,1	0,59
3.	1-а доба. -20°C (3 серія)	0,55	0,28	0,18	3,1	0,44
4.	1-а доба. -20°C і 1 рік. -196°C (4 серія)	0,56	0,42	0,17	3,4	0,6
5.	1-а доба. -196°C і 1 рік. -20°C (5 серія)	0,93	0,58	0,32	2,9	0,83

Примітка: ДК - дієнові кон'югати

ТК – триснові кон'югати

ОДК - оксидієнові кон'югати

ПЗ –подвійні зв'язки

ШО – шиффові основи.

Важливу інформацію про процеси ліпопероксидації в тканині плаценти дає відносний вміст первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ (рис. 4.3.3, 4.3.4, табл. 4.6), який демонструє нам близькі до контрольного величини у випадку використання режиму знаходження плаценти при -20°C і наступним зануренням у рідкий азот. На активацію процесів пероксидації фосфоліпідів у тканині плаценти вказує збільшення відносних показників ДК/ПЗ, ТК/ПЗ, ОДК/ПЗ, ДК/ОДК і ШО/ПЗ у порівнянні з контролем.

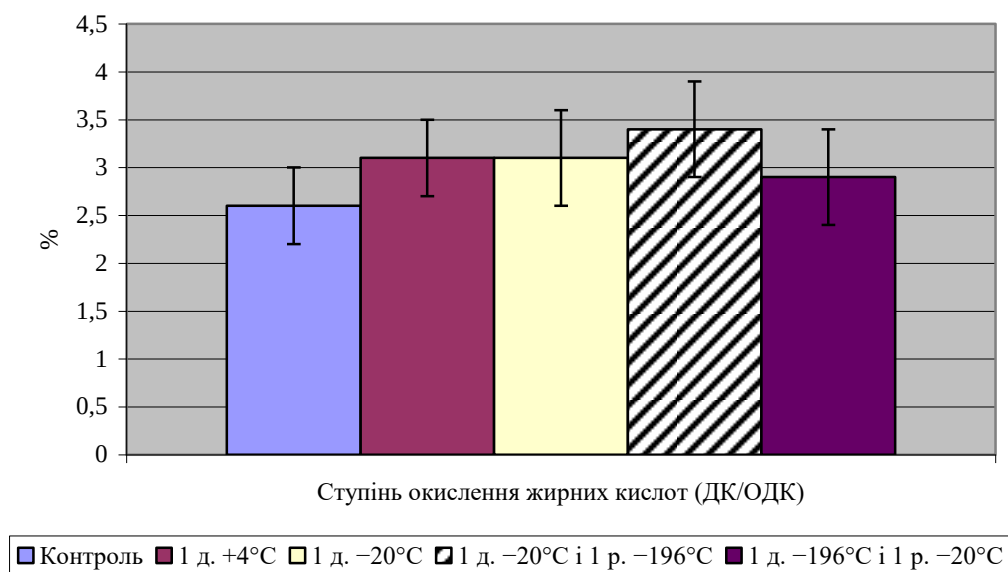


Рис. 4.3.4. Степінь окислення жирних кислот. Коефіцієнт відношення дієнових до оксидієнових кон'югат.

Таким чином, найбільш виражені метаболічні зміни в тканинах плаценти характерні при її збереженні протягом 1-ї доби при 4°C і 1 доба при -196°C з наступним збереженням 1 рік при -20°C. Виходячи з відсутності вірогідних змін досліджуваних показників найбільш оптимальними способами низькотемпературного збереження плаценти є її збереження 1 доба при -20°C і 1 доба при -20°C з наступним збереженням 1 рік при -196°C.

4.4 Вплив різних режимів низькотемпературного збереження на вміст гормонів у плаценті.

В залежності від режимів низькотемпературного зберігання стійкість біомолекул різна, це проявилось у наступних дослідженнях. Результати дослідження представлені в таблиці 4.7.

Вміст пролактину вірогідно знизився в два рази в умовах збереження плаценти на 1-у добу. 4°C (2-а серія дослідів). Крім того, звертає на себе увагу той факт, що, зниження пролактину істотно в 5-ій серії дослідів при $p < 0,05$. У той же час у 3-ій серії дослідів це зменшення не істотне, а в 4-ій має лише характер тенденції ($p < 0,1$) (рис. 4.4.1.).

Таблиця 4.7

Вміст гормонів в тканині плаценти в залежності від дії низьких температур

№	Режими збереження	n	Білок (мг/мол)	Пролактин, (мМО/л мг)	Тестостерон (нМоль/л мг)	Кортизол, (нМоль/л мг)
1	Контроль (1серія)	10	18,8±1,8	1593±151	4,81±0,45	2484±226
2	1-а доба. 4°C (2 серія)	10	16,0±1,6	815±93 ****	2,94±0,33 ****	1150±96 ****
3	1-а доба. – 20°C (3 серія)	10	14,8±1,6	1553±159	3,65±0,36 **	1534±151 ***
4	1-а доба. – 20°C, і 1 рік –196°C (4 серія)	10	15,0±1,5	1337±139 *	3,68±0,38 *	1392±144 ****
5	1-а доба. – 196°C, і 1 рік – 20°C (5 серія)	10	17,1±1,7	1088±121 **	1,79±0,29 ****	1293±117 ****

Примітка: Вірогідність різниці (p) контролю з режимами холодового збереження * $p < 0,1$, ** $p < 0,05$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$

Концентрація тестостерону найбільше вірогідно знизилася 1,6 рази в 2-ій серії (при збереженні 1-у добу при 4°C) і в 2,5 рази в 5-ій серії

(збереження 1-у добу при -196°C , а потім 1 рік при -20°C) дослідів при $p<0,001$. У 3-ій серії дослідів вміст тестостерону при низькотемпературному збереженні (1-у добу при -20°C) знизилася на 24% при $p<0,05$, а в 4-ій серії дослідів (збереження 1-у добу -20°C , потім рік при -196°C) це зниження виявляється тільки лише у виді тенденції ($p<0,1$) (рис. 4.4.1.).

Концентрація кортизолу у плаценті знизилася у всіх серіях дослідів у порівнянні з контролем. Однак найбільш різке зниження установлене в 2-ій, 4-ій і 5-ій серіях дослідів ($p<0,001$) (рис. 4.4.1.).

Вочевидь, у процесі заморожування і розморожування при температурних умовах від 4°C до -20°C відбувається розрив кристалами льоду лізосом у результаті чого активуються ферменти обмеженого протеолізу. Ці протеази здатні частково розщеплювати білок, у тому числі і пролактин, аж до амінокислот. Не виключений вплив активних форм кисню, здатних руйнувати мембрани і вивільняти інші протеази.

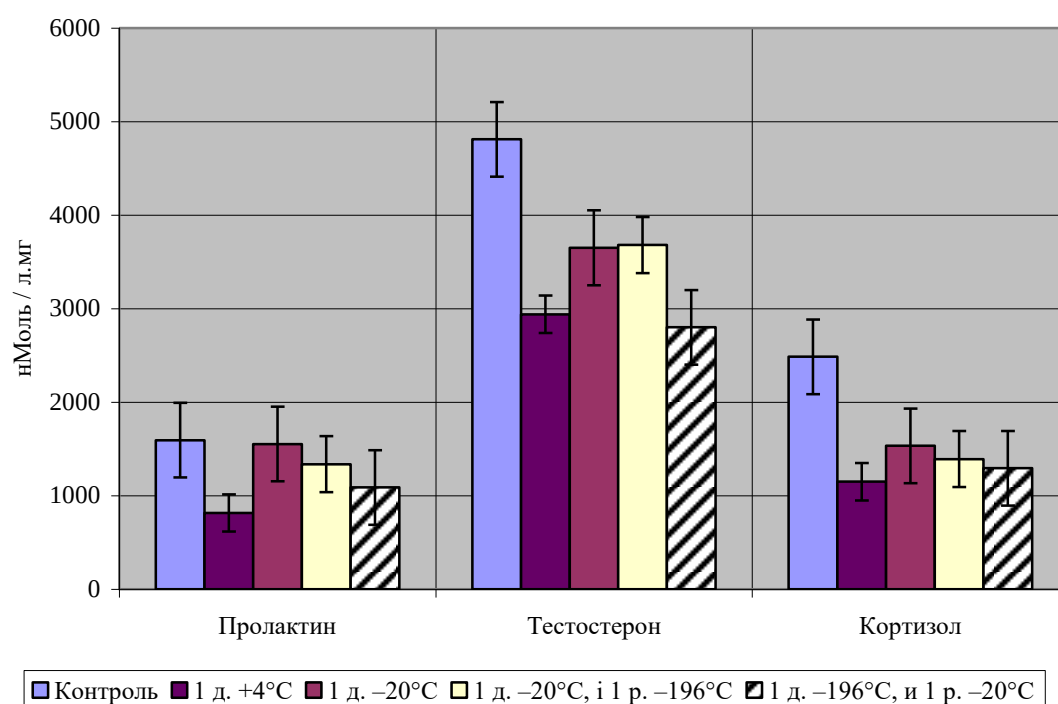


Рис. 4.4.1. Вміст гормонів в тканині плаценти при дії гіпотермії і ультранизьких температур

Нашими дослідженнями показано, що перекисне окислювання в плаценті істотно збільшується в 2-ій і 5-ій серіях дослідів, тобто там, де вірогідно виявлене зниження вмісту в плаценті пролактину, тестостерону, кортизолу в умовах низькотемпературного збереження. Існує визначена можливість активації (у тому числі обмеженим протеолізом) ферментів детоксикації – цитохрому Р-450 і трансфераз, у результаті чого знижується концентрація стероїдних гормонів тестостерону і кортизолу. Важливо відзначити, що хоча і відзначається зниження концентрації ряду гормонів плаценти після процедури кріоконсервування, але залишкова кількість гормонів достатня для прояву позитивного клінічного ефекту. Надалі при клінічному використанні кріоконсервованої плаценти, наявність, наприклад, кортизолу у трансплантаті буде сприяти нормалізації функціонування імунної системи реципієнта, оскільки кортизол є могутнім імуносупресором.

4.5. Вміст білка в плаценті при дії низьких температур.

Достатньо інформативним показником збереження якісного і кількісного стану тканини плаценти після низькотемпературного зберігання є вміст білку (рис. 4.5.1, див. табл. 4.7 на 123 с.).

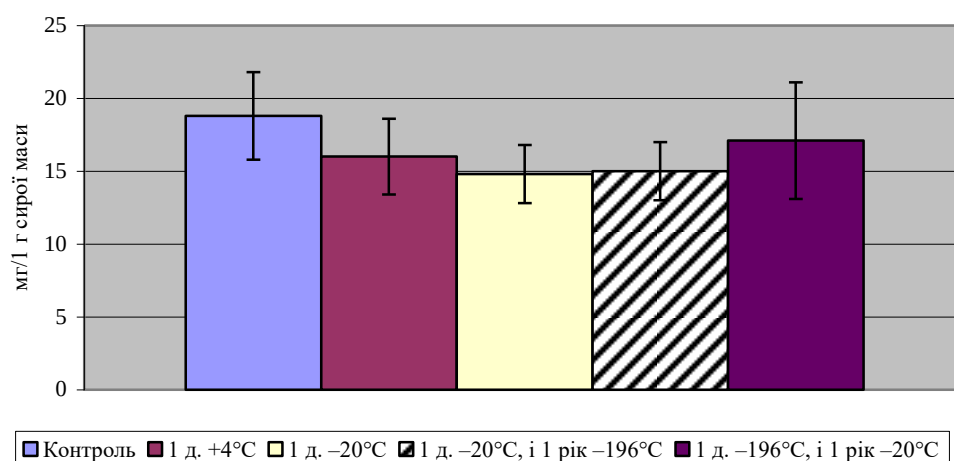


Рис. 4.5.1. Вміст білку в тканині плаценти.

В досліджених зразках плаценти, підданих зберіганню при різних температурах, не спостерігається достовірних змін концентрації білка. Однак, в умовах збереження на 1-у добу. при -20°C і в умовах на 1-у добу. -20°C з наступним збереженням при -196°C 1 рік (3-тя і 4-та серії експерименту) вміст білка при порівнянні з величинами контролю знизився на 21% по абсолютних величинах, але не вірогідно (рис. 4.5.1.), що підтверджує висновок про збереження тканинної і клітинної структури плаценти в основному при низькотемпературному зберіганні.

Таким чином, універсальним пошкоджуючим механізмом різних клітин, при різноманітних впливах є ВРПО. Літературні джерела по впливу кріоконсервованої плаценти на стан ВРПО та АОЗ при кріоконсервації дуже скупі. В наших дослідженнях оцінювався вміст первинних, вторинних та третинних продуктів ВРПО при різних режимах низькотемпературного зберігання. Одночасно у цих плацентах гістохімічно визначали активність анаеробних дегідрогеназ, вміст білку та ключових білкових та стероїдних гормонів. Отримані дані порівнювали між собою.

Дослідження процесів ПОЛ показало, що в 5 серії дослідів зникають ПЗ на 35%, при збільшенні первинних продуктів пероксидації в 1,5-2 рази. Збільшується у 2 та 5 серіях дослідів вміст МДА, шифових основ, при максимальному зниженні концентрації глутатіона. Ці дані вказують на різний характер зміни системи ВРПО-АОЗ при різних режимах кріозберігання.

При зберіганні плаценти одну і дві доби при 4°C , тобто в умовах близьких до 2 серії дослідів, найбільш суттєві зміни виявляються у вигляді зниження активності ЛДГ-гліколізу, НАДФНДГ мікросомальної ланки окислення, та в деякому посиленні активності НАДНДГ мітохондріальної ланки окислення. Можливо ці різнонаправлені зміни підвищують утилізацію кисню в мітохондральному окисленні, та знижують рівень мікросомального окислення. Звідси можуть витікати кисневі радикали, та руйнуватись стероїдні гормони.

Звісно, найбільш вірогідною причиною гальмування біохімічних процесів при зниженні температури є зменшення швидкості субстрату до ферменту.

Встановлено, що суттєвих вірогідних змін вмісту білку в тканині плаценти при різних режимах зберігання немає. Але білковий гормон пролактин вказав на тенденцію зниження свого вмісту, що найбільше виражено в 2 і 5 серіях дослідів. Можливо ферменти лімітованого протеолізу при умовах зберігання 1 доба при 4°C (2 серія дослідження) та 1 доба при –196°C, а потім 1 рік –20°C (5 серія дослідження) зберігають свою активність. У 5-ій та меншій мірі проявлення, у 2-ій серіях дослідів найбільш суттєво знизився вміст тестостерону. Вміст кортизолу також найбільш суттєво знизився в цих серіях. Це можливо пов'язати з активністю мікросомального окислення та ферментів кон'югації. Не виключена можливість втрати біологічно активних речовин в наслідок дії ферментів які звільнились з лізосом в наслідок розриву кристалами льоду їх мембран. Не виключена можливість активізації протеаз активними формами кисню.

Продукти ліпопероксидації є регуляторами клітинних реакцій за допомогою зміни проникності клітинних мембран тканини плаценти для різних медіаторів і ефекторних молекул. Їхнє нагромадження в тканині плаценти супроводжується порушенням структури, деградацією клітин і втратою в наступному клітинами клітинного вмісту, у тому числі, і біологічно активних речовин. Проведені дослідження показали, що навіть в умовах кріоконсервації відбувається часткова деструкція біологічно активних речовин, яка, однак, не завжди є вірогідною, але залишкові кількості гормонів виконують свою біологічну роль. Можливо зміни ВРПО пов'язані з некрозами та апоптозами клітин, активацією фагоцитів.

Таким чином, біохімічними та гістохімічними дослідженнями доведено, що найбільш зберігаючими умовами кріоконсервації є 1 доба при –20°C (3 серія дослідження) та 1 доба –20°C, а потім 1 рік –196°C (4 серія

дослідження). В умовах 1 доба при 4°C (2 серія дослідження) 1 доба при –196°C, а потім 1 рік –20°C (5 серія дослідження) проявляються необоротні зміни, посилення руйнівних процесів перекисного окислення, що призводить до гальмування ключових ферментів головних шляхів обміну інактивованих гормонів та мабуть інших біологічно активних речовин.

РОЗДІЛ 5

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ПЕЧІНКИ, СЕЛЕЗІНКИ, НАДНИРНИКІВ, ЯЄЧНИКІВ, ТИМУСА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ПЛАЦЕНТИ

Застосування методу трансплантації фетальних, ембріональних і плацентарних тканин людини відкрило нові можливості терапії важко виліковних станів. Фармакологічні засоби не завжди адекватно допомагають хворим, особливо у випадках захворювань нез'ясованого генезу, а також при дистрофічній, обмінній та інших видах патологій, це спонукає до пошуку альтернативних шляхів впливу на організм з метою активації природного потенціалу репаративних можливостей цілісного організму [74, 78, 252, 305]. Як показують попередні експериментальні дослідження, трансплантація фетальних тканин робить виражений стимулюючий вплив на різні органи і системи, що пояснюється наявністю в її тканині великої кількості фетальних білків, факторів росту, цитокінів, інтерлейкінів [87, 89].

Експеримент проведено на статевозрілих кроликах-самках породи „Шиншила”. Контролем служили органи інтактних тварин та тварин яким проводився розріз шкіри, без трансплантації. У першій групі проводилась трансплантація нативної плаценти (ТНП). Другій групі тварин робили трансплантацію кріоконсервованої плаценти (ТКП), по методу, розробленому в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків). У терміни 2, 7, 14, 30, 60 діб після трансплантації тварин піддавали евтоназії під тіопенталовим наркозом.

5.1. Реакція структурних елементів печінки при трансплантації плаценти.

Тканина печінки однієї з перших реагує на введення різних екзогенних факторів. Ступінь гепатотропного впливу може бути різним і варіювати від різко вираженої репаративної регенерації у відповідь на альтерацію клітин, до неспецифічної стимуляції фізіологічної регенерації у відповідь на підпорогові подразники.

Рис. 5.1.1. Паренхіма печінки. 1 – зона тріади. Контроль. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x10., ок. x10.

В той же час в літературі відсутні дані про дію нативної і кріоконсервованої плаценти на тканину печінки.

Структура паренхіми печінки в групі контролю.

У групі інтактних тварин мікроскопічно на препаратах, виявляються ділянки печінкової сполучнотканинної строми (рис. 5.1.1).

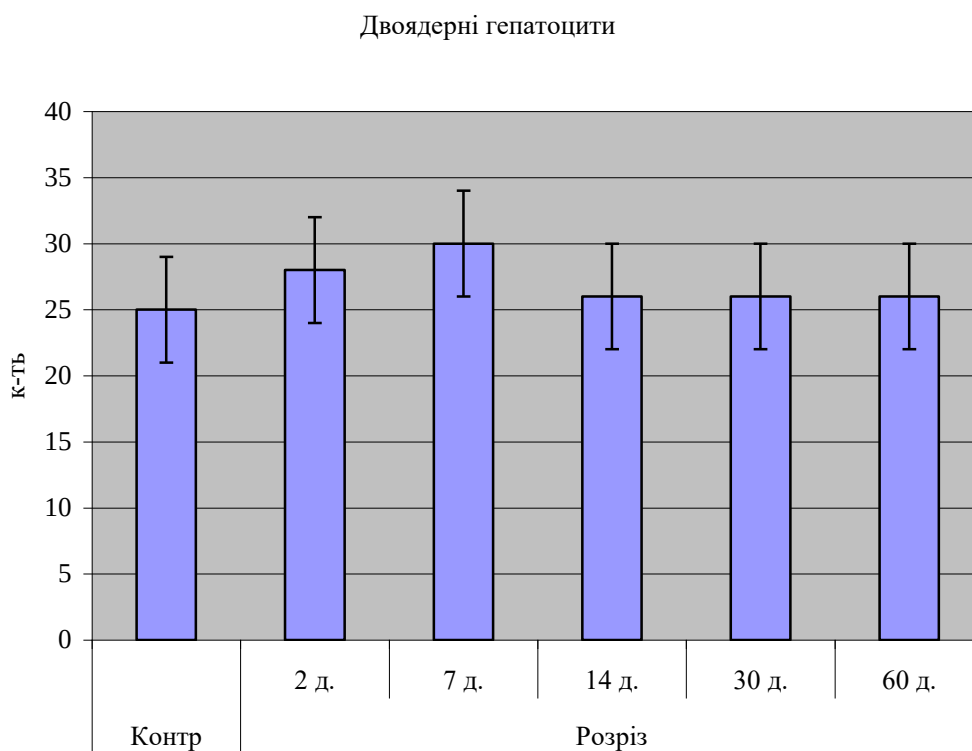


Рис. 5.1.2. Кількість двоядерних гепатоцитів в порівнянні Контроль-Розріз

При малому збільшенні чітко помітні печінкові часточки з центральною веною і печінкова тріада, до складу якої входять печінкова артерія, вени, жовчна протока, а в окремих часточках і лімфатична судина. Уся тріада оточена сполучнотканинною стромою. У самій часточці визначаються звиті трабекули, на поверхні яких розташовані печінкові клітини в 1-2 шари, між трабекулами проходять синусоїди, які відкриваються в центральну вену. Мікросудини нормального кровонаповнення. Трабекули добре структуровані.

Гепатоцити, в основному, містять великі округлі ядра з ніжнісчастим хроматином. В цитоплазмі при фарбуванні Шифф-реактивом виявляються

пурпурно пофарбовані глибоки глікогену. Сполучна тканина в зоні триад слабо розвинена. Купферові клітини невеликі і мають овальну форму з гіперхромним серпоподібним ядром і світлою цитоплазмою. Зустрічаються двоядерні клітини (25%) та поодинокі з пікнотичними ядрами.

Рис. 5.1.3. Паренхіма печінки. 1 – двоядерні гепатоцити. Розріз.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x16, ок. x10.

Реакція структурних елементів печінки на розріз.

У групі тварин в усіх термінах спостереження печінкові часточки зберігають свою структуру. У трабекулах гепатоцити розташовані в 1-2

шари. Сполучна тканина в зоні триад слабо розвинена. Гепатоцити в основному світлі, містять гіперхромні ядра середнього розміру, які займають центральне положення (рис. 5.1.3). Цитоплазма містить грубозернисті і еозинопофарбовані гранули. Купферові клітини великі і мають зірчасту форму. Кількість двоядерних гепатоцитів у всіх термінах спостереження, та в порівнянні з контролем достовірно не відрізняється (рис. 5.1.2). У цілому структура печінки не відрізняється від контролю.

*Реакція структурних елементів печінки на трансплантацію нативної
плаценти.*

На 2-у добу після ТНП в тканині печінки відзначається виражена судинна реакція: стази, посилене кровонаповнення. На препаратах слабо контуровані трабекули за рахунок розширення синусоїдів. Гепатоцити великі, із світлою гомогенно пофарбованою цитоплазмою і великими округлими ядрами, ниткоподібний хроматин радіально розходить від центра до периферії ядра, що розцінюється як його передмітотичний стан (рис. 5.1.4). Крім цих клітин, визначаються двоядерні клітини (рис. 5.1.6) з ніжно-сітчастою структурою ядер, а також одиничні клітини з фігурами мітозу на пізніх стадіях розподілу (ана- і телофази). Деякі двоядерні клітини, з ніжно-сітчастим хроматином, знаходяться в контакті одна з одною, що можна трактувати як прояв минулого мітозу без розподілу цитоплазми (ацитомія).

Рис. 5.1.4. Паренхіма печінки. Двоядерні гепатоцити, мітози. ТНП – 2-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Зустрічаються великі клітини з гігантськими гіпохромними ядрами – це поліплоїдні ядра, що утворилися, у результаті злиття ядер у двоядерній клітині. Також у паренхімі органа в цей термін спостереження відзначається реакція ендотеліальних клітин синусоїдів, що виражається в збільшенні їхніх ядер і гіперхромності.

Рис. 5.1.5. Паренхіма печінки. Пояснення по тексту. ТНП – 7-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

На 7 добу після ТНП на препаратах трабекули за рахунок розширення синусоїдів слабо контуровані. Гепатоцити великі, із світлою гомогенно пофарбованою цитоплазмою і великими округлими ядрами. Двухядерні клітини з ніжно-сітчастою структурою ядер, а також одиничні клітини з фігурами мітозу на пізніх стадіях розподілу (рис. 5.1.5). Двухядерні гепатоцити, з ніжно-сітчастим хроматином, знаходяться в контакті один з одним (ацитомія). Виявляються великі клітини з гігантськими гіпохромними ядрами. Також у паренхімі органа в цей термін спостереження відзначається реакція ендотеліальних клітин синусоїдів, що виражається в збільшенні їхніх ядер і гіперхромності. Тобто, гістологія органа практично не відрізняється від

попереднього терміну, за винятком відсутності фігур мітозу і збільшення кількості двоядерних клітин (рис. 5.1.6). Двоядерні гепатоцити, з ніжно-сітчастим хроматином, знаходяться в контакті один з одним (ацитомія).

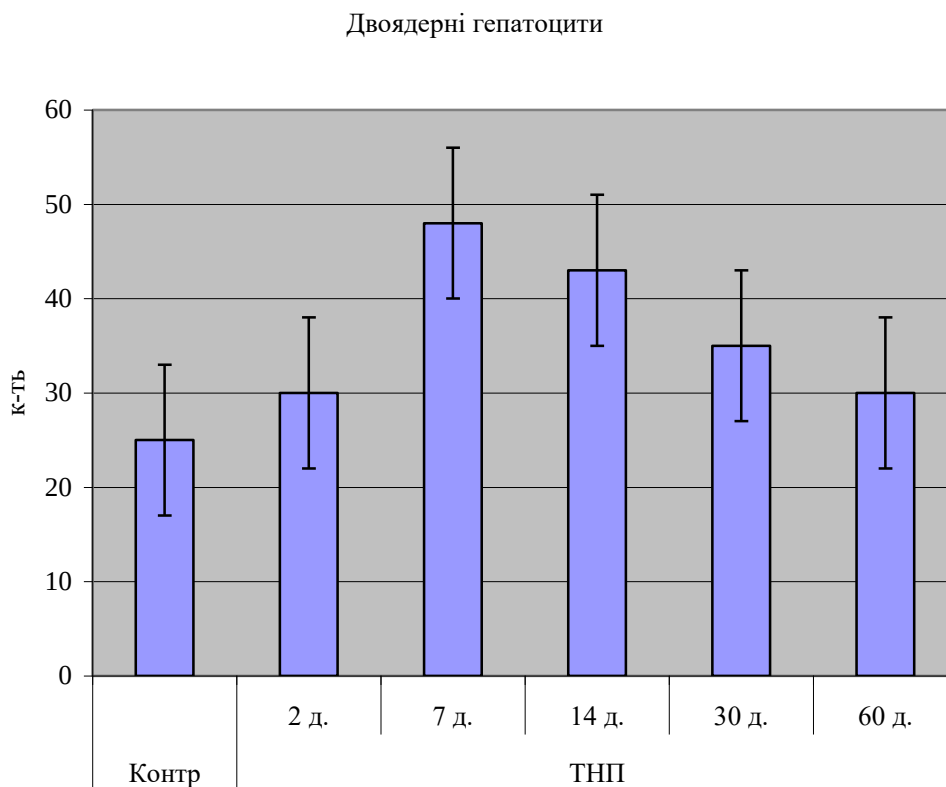


Рис. 5.1.6. Кількість двоядерних гепатоцитів в порівнянні Контроль-ТНП.

Виявляються великі клітини з гігантськими гіпохромними ядрами. Також у паренхімі органа в цей термін спостереження відзначається реакція ендотеліальних клітин синусоїдів, що виражається в збільшенні їхніх ядер і гіперхромності. Тобто, гістологія органа практично не відрізняється від попереднього терміну, за винятком відсутності фігур мітозу і збільшення кількості двоядерних клітин (рис. 5.1.6).

Рис. 5.1.7. Паренхіма печінки. Двоядерні гепатоцити. ТНП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10..

На 14-у добу після ТНП паренхіма печінки добре структурована, трабекули містять на поверхні 1-2 шари клітин. Гепатоцити великі, добре контуруються, містять гомогенну цитоплазму, ядра великі, овальної форми з ніжно-сітчастим хроматином (рис. 5.1.7). Кількість двоядерних клітин не перевищує 15% від контролю (рис. 5.1.6). Звертає увагу збільшення розмірів купферових клітин, що мають трикутну форму з овальним гіперхромним ядром. Судини повнокровні.

Рис. 5.1.8. Паренхіма печінки. Зменшення кількості двоядерних гепатоцитів. ТНП – 30-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

Через 30 діб трабекули добре контуруються за рахунок синусоїдів. Судини повнокровні. Гепатоцити середнього розміру, містять зернисту ацидофільну цитоплазму і округлі великі гіперхромні ядра із сітчастим хроматином (рис. 5.1.8). У периферичних зонах розташовуються гепатоцити більш великих розмірів, деякі з них – двоядерні (рис. 5.1.6).

Рис. 5.1.9. Паренхіма печінки. Структурні елементи знаходяться в активному стані. ТНП – 60-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x16, ок. x10..

Купферові клітини зменшені в розмірах, але деякі з них зберігають зірчасту форму. Кількість їх порівнянна з контролем. У цілому, структура паренхіми печінки при ТНП порівнянна з такою у контрольних тварин, але орган знаходиться в активному фізіологічному стані.

Через 60 діб спостереження при ТНП можна відзначити виражене повнокров'я центральних і портальних вен і перевага темних гепатоцитів. Кількість двуюдерних клітин збігається з попереднім терміном спостереження (рис. 5.1.9).

Таким чином, можна відзначити, що орган переживає велику функціональну напругу.

*Реакція структурних елементів печінки на трансплантацію
кріоконсервованої плаценти.*

На 2-у добу після ТКП паренхіма печінки добре структурована.

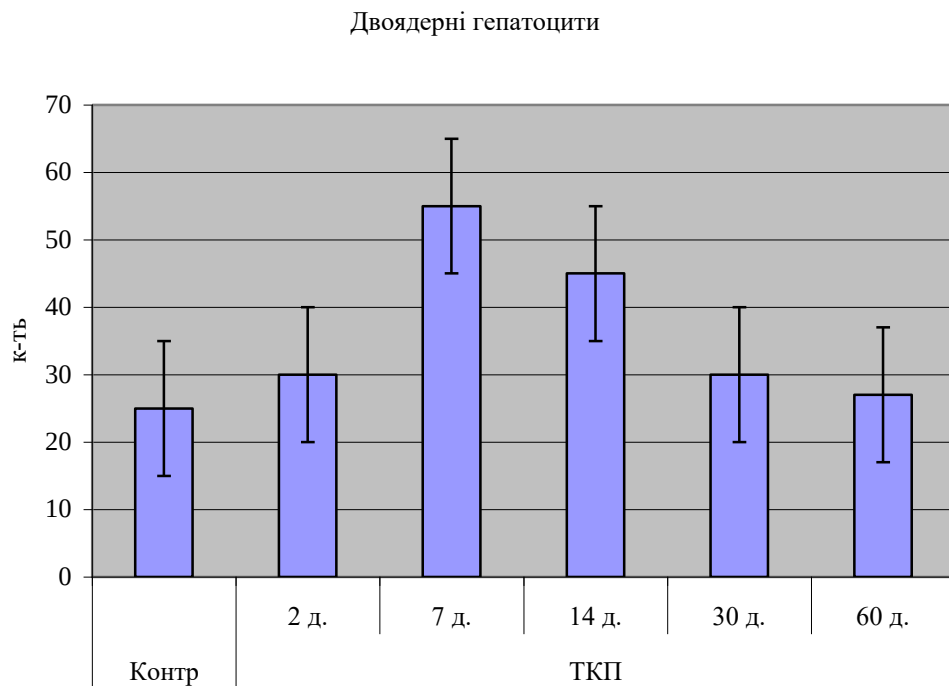


Рис. 5.1.10. Кількість двоядерних гепатоцитів в порівнянні Контроль-ТКП.

Рис. 5.1.11. Паренхіма печінки. Зона тріади. ТКП – 2-а доба.
Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x16, ок. x10..

Виражена судинна реакція відсутня. Поблизу портальної вени гепатоцити в основному двоядерні з гомогенно пофарбованою цитоплазмою (рис. 5.1.11). Число їх досягає 30%, що свідчить про розвиток явищ фізіологічної регенерації (рис. 5.1.10). Збільшення кількості двоядерних клітин статистично не достовірне при порівнянні з контролем. Ядра з ніжно-сітчастим хроматином. Купферові клітини нечисленні, невеликі, мітози не виявлені.

Рис. 5.1.12. Паренхіма печінки. Кровонаповнення судин тріади. ТКП – 7-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

На 7 добу після ТКП мікроскопічно визначається добре структурована паренхіма печінки. Судини нормального кровонаповнення. Гепатоцити невеликі з мілко дисперсною, гомогенно пофарбованою цитоплазмою, ядра середнього розміру, гіперхромні. Кількість двоядерних гепатоцитів збільшується в 3 рази при порівнянні з контролем при $p < 0,01$ (рис. 5.1.10). Купферові клітини нечисленні (до 6%), невеликі (рис. 5.1.12). Зустрічаються клітини з поліплоїдними, великими гіперхромними ядрами.

Рис. 5.1.13. Паренхіма печінки. Накопичення глікогену в гепатоцитах (пурпурне забарвлення). ТКП – 14-а доба. Забарвлення: Шифф-реактив. Зб.: об. x40, ок. x10.

На 14-у добу після ТКП спостерігалось посилене нагромадження глікогену (рис. 5.1.13) у гепатоцитах. На препаратах, пофарбованих гематоксиліном і еозином гепатоцити великі з незабарвленою порожньою цитоплазмою, із круглими, невеликими, гіперхромними ядрами. Відзначаються двоядерні клітини. При порівнянні з контролем кількість їх збільшилась в 1,5 рази ($p < 0,05$). Купферові клітини з невеликими гіперхромними ядрами, мають зірчасту форму. Судини звичайного кровонаповнення. Орган знаходиться в нормальному, фізіологічно активному, стані.

Рис. 5.1.14. Паренхіма печінки в активному фізіологічному стані.
ТКП – 30-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об.
x25, ок. x10..

Через 30 діб в структурі печінки при ТКП мікроскопічно виявляється повнокров'я синусоїдів, гепатоцити знаходяться в активному стані: ядра великі з ниткоподібним хроматином.

Відзначаються поодинокі двоядерні гепатоцити, цитоплазма яких мілко дисперсна, гомогенно пофарбована (рис. 5.1.14). Відзначається зменшення їх кількості в порівнянні з попереднім терміном спостереження в 2 рази (рис.

5.1.10). Стан паренхіми печінки в цей строк спостереження відповідає такому на 2-у добу даного впливу.

Рис. 5.1.15. Паренхіма печінки. Клітини печінки знаходяться в активному фізіологічному стані. ТКП – 60-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

Через 60 діб спостереження при ТКП на препаратах печінки сполучна тканина часточок слабо розвинена, переважають темні гепатоцити, кількість двудерних клітин наближається до контролю, зустрічаються одиничні мітози (рис. 5.1.15). У клітинах печінки виявляється накопичення глікогену.

Таким чином, трансплантація кріоконсервованої плаценти в ранній термін спостереження (до 14 доби) викликає більш виражену відповідну реакцію паренхіми у виді збільшення кількості двуюдерних клітин, чим нативної плаценти, а також виявляється стимулюючий ефект на стромальні і паренхіматозні елементи в печінці, що супроводжується посиленням портальної гемодинаміки, розширенням синусоїдних капілярів і розвитком реактивного стану купферових клітин. Купферові клітини при цьому збільшені в розмірах, мають зірчастий вид і, нерідко, перетворюються у вільні макрофаги, що свідчить про потенційні можливості захисної функції печінки. Алотрансплантація нативної і кріоконсервованої плаценти робить стимулюючу дію на структури печінки, що відповідають за трофічну, захисну й інші функції органа не викликаючи їхніх ушкоджень.

5.2. Реакція структурних елементів селезінки на трансплантацію плаценти.

Селезінка, по даним літератури, багата макрофагами і являється органом кровотворення, в якому проходить активація лімфоцитів з перетворенням їх в клітини, які продукують антитіла, та беруть участь в реакціях клітинного імунітету.

Рис. 5.2.1. Паренхіма селезінки. Червона і біла пульпа. Контроль.
Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x10., ок. x10.

В той же час в літературі відсутні дані про вплив нативної і кріоконсервованої плаценти на структурні елементи селезінки.

Структура паренхіми селезінки в групі контролю.

На гістологічних препаратах інтактної групи тварин (рис. 5.2.1) селезінка оточена добре розвитою сполучнотканинною капсулою, що складається з 2-3 шарів колагенових і, що превалюють по кількості, еластичних волокон, між якими розміщуються фібробласти і велика кількість гладком'язових клітин. Трабекули розсіяні по всій паренхімі селезінки з невеликою кількістю гладком'язових клітин. У трабекулах розташовуються артерії, вени і нерви. Межа між білою і червоною пульпою представлена лімфоцитами, кількість яких більше чим у червоній і менше ніж у білій пульпі (маргінальна зона).

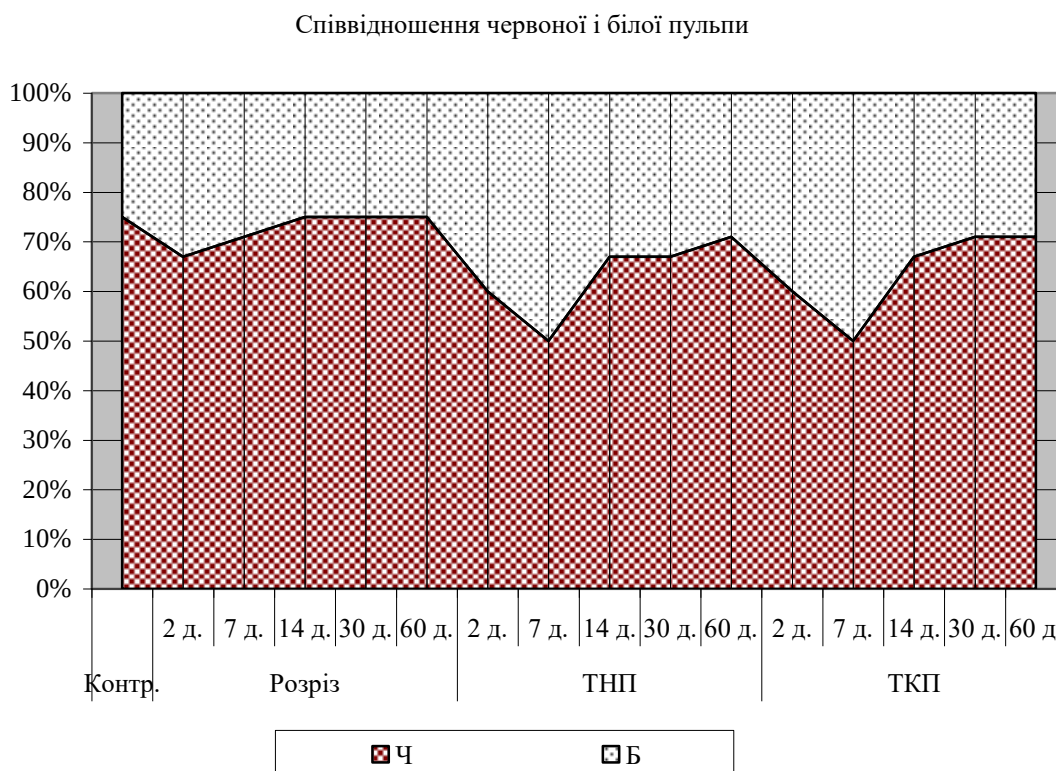


Рис. 5.2.2. Співвідношення червоної і білої пульпи.

Співвідношення червоної і білої пульпи 3:1 (рис. 5.2.2). В білій пульпі визначаються чіткі зони навколо лімфатичних фолікулів, кількість яких 3-4 в полі зору, і періартеріальної лімфатичної муфти. Червона пульпа складається з мережі ретикулярних волокон, що переходять у колагенові волокна трабекул і капсули. Ретикулярна мережа пронизана венозними синусоїдами, стінки яких складаються з ендотеліальних клітин, між якими маються щілини. Червона пульпа в цих місцях представляє тяж, що складається з клітин зірчастої форми, і мають довгі, неправильної форми, цитоплазматичні відростки, що поєднують клітини між собою. У синусоїдах розташовуються еритроцити, лейкоцити, пластинки і макрофаги.

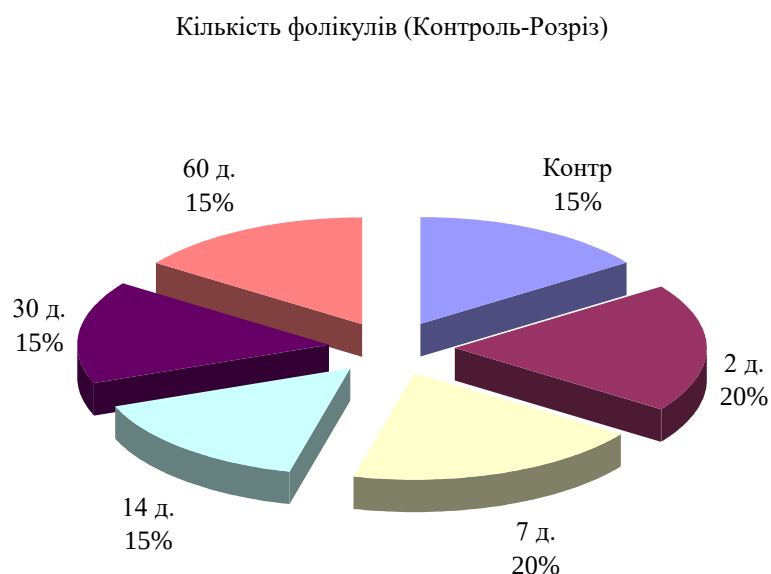


Рис. 5.2.3. Кількість фолікулів в порівнянні Контроль-Розріз (в %)

Реакція структурних елементів селезінки на розріз.

В групі тварин у всіх термінах спостереження не виявляється істотних змін структури органа. Співвідношення червоної і білої пульпи на 2-у добу –

2:1 і 7-у добу – 2,5:1 (рис. 5.2.2). Однак звертає на себе увагу збільшення на 2-й добі кількість фолікулів (рис. 5.2.3).

Рис. 5.2.4. Паренхіма селезінки. Розширені ділянки білої пульпи навколо артеріол. Розріз. Зabarвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

На 7-й добі виявляються в незначних кількостях незрілі і зрілі плазматичні клітини, що були виявлені як у білій так і в червоній пульпі. В

терміни 14, 30 і 60 діб гістологічна картина істотної відмінності від такої в групі інтактних тварин не мала (рис. 5.2.4).

Рис. 5.2.5. Паренхіма селезінки. Розширені ділянки білої пульпи навколо судин. ТНП – 2-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Реакція структурних елементів селезінки на трансплантацію нативної плаценти.

На 2-у добу сполучнотканинна капсула складається з 3-4 шарів колагенових і еластичних волокон, які розволокненні і фрагментовані.

Співвідношення червоної і білої пульпи як 1,5:1 (рис. 5.2.2), добре диференціюється. Невелика кількість фолікулів (5-7) мають розмиті границі (рис. 5.2.5).

Рис. 5.2.6. Паренхіма селезінки. Біла пульпа. Гермінативний центр.

Розширені міжклітинні простори. ТНП – 7-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

Центри розмноження визначаються не у всіх фолікулах. Лімфоцити мають гіпер- і гіпохромні ядра, і розташовуються по периферії первинних фолікулів. Визначається розпад еритроцитів, наявність великої кількості плазматичних клітин.

Рис. 5.2.5. Паренхіма селезінки. Біла пульпа. Гермінативний центр.
Розширені міжклітинні простори заповнені еритроцитами.
ТНП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об.
x40, ок. x10.

Через 7 діб після трансплантації нативної і кріоконсервованої плаценти істотних відмінностей у структурних елементах селезінки з попереднім терміном спостереження не виявлено. Червона і біла пульпа добре диференціюється, співвідношення їх 1:1 (рис. 5.2.2), маргінальна зона добре

виражена (рис. 5.2.6). Кількість фолікулів збільшується в порівнянні з попереднім терміном (рис. 5.2.10).

Рис. 5.2.8. Паренхіма селезінки. Червона і біла пульпа. Міжклітинні простори заповнені еритроцитами і лімфоцитами. По лівому краю артеріола. ТНП – 30-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Через 14 діб після трансплантації нативної плаценти капсула має 4-5 шарів колагенових і еластичних волокон. Співвідношення червоної і білої пульпи 2:1 (рис. 5.2.2), відзначається зменшення площі, займаною білою пульпою, що добре контурована. У червоній пульпі багато еритроцитів.

Серед еритроцитів дрібними вкрапленнями знаходяться лімфоцити (рис. 5.2.7). Кількість фолікулів значно менше в порівнянні з попереднім терміном спостереження (5-6). У центрах розмноження фолікулів серед лімфоцитів з гіперхромними ядрами зустрічаються лімфоцити зі світлими ядрами, що містять ниткоподібний хроматин, останній свідчить про активізацію метаболічних процесів, які відбуваються в цих клітинах.

Синусоїди розширені, відзначається гіперплазія ендотеліальних клітин. У маргінальній зоні виявляються плазматичні клітини, клітини з овальним ядром, які містять мілкоглибчатий хроматин, а також одиничні фігури мітозу.

Через 30 діб після трансплантації нативної плаценти капсула селезінки складається з 4-5 шарів пухло розташованих колагенових волокон. Площа червоної пульпи превалює над білою, у співвідношенні 2:1 (рис. 5.2.2), добре контуровані. У червоній пульпі багато еритроцитів. Серед еритроцитів дрібними вкрапленнями знаходяться лімфоцити (рис. 5.2.8). У центрах розмноження фолікулів серед лімфоцитів з гіперхромними ядрами зустрічаються лімфоцити зі світлими ядрами, що містять ниткоподібний хроматин. Синусоїди розширені, відзначається гіперплазія ендотеліальних клітин. У маргінальній зоні виявляються плазматичні клітини, клітини з овальним ядром, що містять мілкоглибчатий хроматин, а також одиничні фігури мітозу. Кількість лімфатичних фолікулів білої пульпи істотно не змінюється при порівнянні з попереднім терміном дослідження (рис. 5.2.10). Це свідчить що метаболічні процеси, які відбуваються в цих клітинах підтримуються на такому ж рівні як і в попередньому терміні спостереження.

Рис. 5.2.9. Паренхіма селезінки. Гермінативний центр. ТНП – 60-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

Через 60 діб після трансплантації нативної плаценти капсула трохи стовщена, складається з 3-4 шарів колагенових і еластичних волокон. Співвідношення червоної і білої пульпи 2,5:1 (рис. 5.2.2). Чіткі границі між ними відсутні, маргінальна зона займає більш велику площу, чим у попередньому терміні спостереження (рис. 5.2.9). Виявлено зниження числа фолікулів (рис. 5.2.10), превалюють середні і дрібні. У червоній пульпі

виявляється лізис еритроцитів в основній масі, кількість їх значно менша в порівнянні з попереднім терміном аналізу.

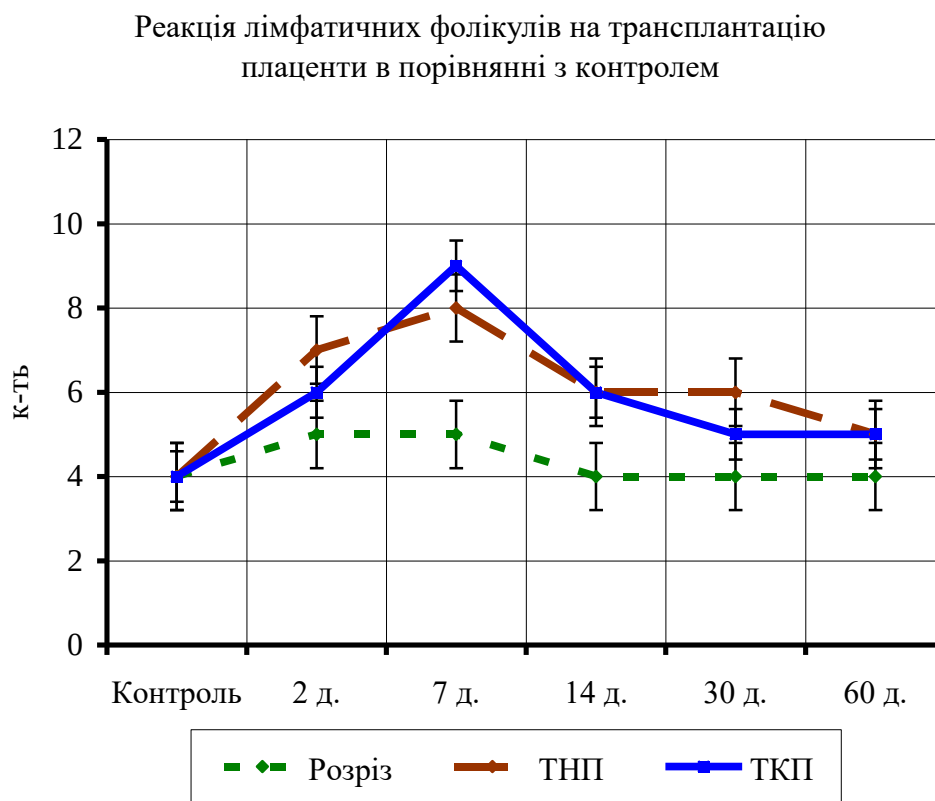


Рис. 5.2.10. Динаміка змін кількості лімфатичних фолікулів в порівнянні Розріз, ТНП і ТКП.

У маргінальній зоні виявляється велика кількість клітин у передмітотичному стані – ядра світлі, великі, з ниткоподібним хроматином.

Таким чином, можна відзначити, що орган переживає функціональну напругу.

*Реакція структурних елементів селезінки на трансплантацію
кріоконсервованої плаценти.*

На 2-у добу спостереження, товщина сполучнотканинної капсули складається з 3-4 шарів колагенових волокон, які мають розволокнену структуру. Під нею визначаються трабекули червоної пульпи, що містять артерії і вени (рис. 5.2.11).

Рис. 5.2.11. Паренхіма селезінки. набряк червоної пульпи.
Поперечний зріз судини з потовщеною стінкою. ТКП – 2-а доба.
Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

Співвідношення червоної і білої пульпи – 1,5:1 (рис. 5.2.2). Кількість фолікулів невелика (рис. 5.2.10), вони мають розмиті границі, зливаючись з лімфоцитами, що оточують артеріоли, центри розмноження визначаються не у всіх фолікулів. Лімфоцити мають гіпер- і гіпохромні ядра, звертає на себе увагу розпад еритроцитів, наявність великого числа макрофагів, незрілих і зрілих плазматичних клітин.

Рис. 5.2.12. Паренхіма селезінки. Гермінативний центр. Гіперпофарбовані ядра, насичена цитоплазма. Клітини в активному стані. Лімфатичні фолікули. ТКП – 7-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

Через 7 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти капсула складається з 3-4 шарів колагенових і еластичних волокон. Червона і біла пульпа добре диференціюється, співвідношення їх 1:1 (рис. 5.2.2), маргінальна зона добре виражена. Кількість фолікулів суттєво збільшується в порівнянні з попереднім терміном (рис. 5.2.10, 3.2.12).

Рис. 5.2.13. Паренхіма селезінки. Гермінативний центр. набряк тканини. Еритроцити в міжклітинному просторі. ТКП – 14-а доба. Зabarвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Через 14 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти капсула складається з 4-5 шарів колагенових і еластичних волокон. Співвідношення червоної і білої пульпи 2:1 (рис. 5.2.2), відзначається зменшення площі, займаною білою пульпою, що добре контурована.

Рис. 5.2.14. Паренхіма селезінки. Гермінативний центр. Еритроцити в міжклітинному просторі. набряк тканини. ТКП – 30-а доба.
Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х40, ок. х10.

У червоній пульпі багато еритроцитів. Серед еритроцитів дрібними вкрапленнями знаходяться лімфоцити (рис. 5.2.13). Кількість фолікулів значно менше в порівнянні з попереднім терміном спостереження (5-6). У центрах розмноження фолікулів серед лімфоцитів з гіперхромними ядрами зустрічаються лімфоцити зі світлими ядрами, що містять ниткоподібний хроматин, що свідчить про активізацію метаболічних процесів, які відбуваються в цих клітинах. Синусоїди розширені, відзначається гіперплазія ендотеліальних клітин.

У маргінальній зоні виявляються плазматичні клітини, клітини з овальним ядром, які містять мілкоглибчатий хроматин, а також одиничні фігури мітозу.

На 30 добу спостереження, після трансплантації кріоконсервованої плаценти, товщина капсули зменшується і складається з 3-4 шарів колагенових волокон. Відзначається співвідношення червоної і білої пульпи як 2,5:1 (рис. 5.2.2) з чіткими границями. Кількість фолікулів зменшується в порівнянні з даними попереднього терміну (4-5) та даними при трансплантації нативної плаценти (рис. 5.2.10, 3.2.14).

Відзначаються одиничні великі фолікули. Червона пульпа заповнена численними еритроцитами. Клітинний склад маргінальної зони подібний з попереднім терміном, за винятком появи клітин з лізисом ядер. Це свідчить, що в паренхімі в тканині селезінки йдуть менш виражені процеси фізіологічної стимуляції. Структурні елементи органу знаходяться в більш спокійному стані в порівнянні з трансплантацією нативної плаценти.

На 60-у добу при трансплантації кріоконсервованої плаценти капсула по товщині не відрізняється від попереднього терміну спостереження і має 3-4 шари колагенових і еластичних волокон. Відношення червоної і білої пульпи як 2,5:1 (рис. 5.2.2), що означає наближення до параметрів контролю.

Рис. 5.2.15. Паренхіма селезінки. Червона і біла пульпа. Центри розмноження. ТКП – 60-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

Кількість лімфатичних фолікулів залишається такою, як і в попередньому терміні спостереження. Відзначаються також одиночні великі фолікули. Червона пульпа залишається без змін. Клітинний склад маргінальної зони подібний з попереднім терміном, але клітин з лізисом ядер не виявлено (рис. 5.2.15). Це свідчить, що при трансплантації

кріоконсервованої плаценти, в органі відбувається фізіологічна перебудова з регенераційними процесами.

При трансплантації фрагментів кріоконсервованої і нативної плаценти структурні елементи селезінки переживають функціональну напругу, більше виражену в ранні терміни спостереження. Можливо це пов'язано з реакцією органа на антигени, в результаті чого в організмі виробляються лімфоцити, а також незрілі і зрілі плазматичні клітини, виявлена також виражена реакція паренхіми селезінки, але у виді збільшення кількості лімфатичних фолікулів, це свідчить, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з активізацією фізіологічної регенерації.

Таким чином, в ранні терміни орган активно реагує на трансплантацію плаценти, причому кріоконсервована плацента викликає більш виражену відповідну реакцію, чим нативна, що виражається в збільшенні кількості фолікулів і гермінативних центрів. Орган протягом усіх термінів спостереження знаходиться в стані функціональної нестабільності, після 60 доби його показники досягають контрольного рівня.

5.3. Реакція структурних елементів наднирників на трансплантацію плаценти.

Значна і ведуча роль у формуванні реакції адаптації на клітинну і тканинну трансплантацію належить гіпофізарно-адреналовій системі. Остання включає послідовну активацію гіпоталамуса, гіпофіза і посилення функції кори наднирників.

Участь наднирників у розвитку і реалізації адаптаційних реакцій виявляється у своєрідній зміні структури залози під дією засобів, що збуджують наднирники. Ці зміни виявлялися в клубочковій, пучковій і сітчастій зонах.

Аналіз даних літератури показує, що відсутні роботи в яких дається порівняльна характеристика відповіді на структурнофункціональному рівні тканин наднирника при проведенні трансплантації нативної і кріоконсервованої плаценти.

Структура паренхіми наднирників в групі контролю.

У контрольній групі інтактних тварин, на гістологічних препаратах добре виявляється сполучнотканинна капсула, яка обгортає наднирник. Під капсулою розташований корковий шар в клубочковій зоні якого клітини об'єднані в групи і займають невелику площу цієї зони. Виділяється широкий шар пучкової зони, клітини якої розташовуються в прямих, радіально спрямованих тяжах, з минаючими між ними прямими капілярами (рис. 5.3.1).

Клітини пучкової зони середнього розміру з зернистою цитоплазмою і великим округлим гіперхромним ядром. Ближче до сітчастої зони, що розташована між пучковою зоною і мозковою речовиною, тяжі пучкової зони розширюються до 3-4 клітин у поперечнику тяжа і містять світлі ядра з ніжносітчастим хроматином.

Рис. 5.3.1. Паренхіма наднирника. Кора наднирника, яка складається з клубочкової, пучкової і сітчастої зон. Контроль. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

У сітчастій зоні клітини утворюють неупорядковані тяжі, і створюють пористу структуру. Тут розташовуються клітини звичайної для цієї зони величини з гіпохромними ядрами і невеликі клітини з гіперхромними ядрами і базофільною гомогенною цитоплазмою.

Клітини мозкового шару великі, поліморфної форми і пофарбовані менш інтенсивно, чим клітини коркового шару, за рахунок цього мозковий і

корковий шари чітко розрізняються по фарбуванню. Синуси мозкового шару заповнені клітинами крові.

Реакція структурних елементів наднирників на розріз.

У групі тварин у всіх термінах спостереження, в капсулі наднирника виявляється розволокнення колагенових волокон (до 10 шарів) з веретеноподібними клітинами. На 7-у добу корковий шар збільшений майже в півтора рази. Клубочкова зона розширена за рахунок вакуолізованих ділянок між клітинами (рис. 5.3.2). Клітини слабо контуровані, з щільною базофільною цитоплазмою і невеликими гіперхромними ядрами. В пучковій зоні відзначається дезінтеграція тяжів, які мають розмиті контури, розширені і мають в поперечникові до 5 клітин з вакуолізованою цитоплазмою і великими гіперхромними ядрами з ніжнісчастим хроматином.

Сама пучкова зона збільшена в розмірах. Сітчаста зона слабо визначається за рахунок деструктивних процесів в пучковій зоні. Гістологічна будова мозкової речовини порівнянна з гістологічною картиною інтактного отргана.

Виявлені морфологічні зміни структурних елементів паренхіми наднирника, як в клубочковій, так і в пучковій зонах (розмитість клітинних меж, виражена вакуолізація цитоплазми клітин переважно в пучковій зоні) свідчить про стрес-реакцію на проведене травмування шкіри. В терміни 14, 30 і 60 діб гістологічна картина істотних відмінностей від такової в групі інтактних тварин не мала.

Рис. 5.3.2. Паренхіма наднирника. Збільшення клубочкової і пучкової зон. Розріз. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Реакція структурних елементів наднирників на трансплантацію нативної плаценти.

Через 2-і доби після ТНП відбуваються зміни в сполучнотканинній капсулі, спостерігається її деяке стовщення.

Рис. 5.3.3. Паренхіма наднирника. В сітчастій зоні виявляються великі гіперхромні ядра. ТНП – 2-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

В корковому шарі клубочкова зона декілька зменшується, у ній розташовуються невеликі клітини з дрібними гіперхромними ядрами. Пучкова зона також зменшується, у ній чітко визначаються клітини з вакуалізованою цитоплазмою (рис. 5.3.3). Ядра цих клітин великі гіпохромні. Сітчаста зона наднирника збільшена в розмірах, у ній розташовуються великі клітини з гомогенною пофарбованою цитоплазмою і ніжносітчастим великим

овальним ядром. Клітини мозкового шару великі, менш інтенсивно пофарбовані, що відрізняє його від коркового.

Рис. 5.3.4. Паренхіма наднирника. Стовщення капсули (розволокнення тяжів), вакуолізація цитоплазми клітин клубочкової і пучкової зон. ТНП – 7-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Через 7-м діб після ТНП капсула містить 5-6 клітинних шарів (рис. 5.3.4), клубочкова зона збільшена майже в два рази.

Пучкова зона добре структурована, клітини полігональної форми зі світлими ядрами і сітчастим хроматином. Таким чином, гістологічна картина наднирників істотно не змінюється в порівнянні із спостереженнями попереднього терміну дослідження.

Рис. 5.3.5. Паренхіма наднирника. В сітчастій зоні великі гіперхромні ядра. ТНП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Зб.: об. x40, ок. x10.

На 14-у добу після ТНП товщина сполучнотканинної капсули зменшена, клубочкова і пучкова зони продовжують залишатися декілька звуженими. Клітини великі, з вакуалізованою цитоплазмою. Більшість ядер

мають збільшені розміри, округлої форми, гіпохромні, містять ніжносітчастий хроматин. Невелика кількість клітин з пікнотичними ядрами (рис. 5.3.5). Сітчаста зона без виражених змін.

Рис. 5.3.6. Паренхіма наднирника. Структура кори не відрізняється від попереднього терміну спостереження. ТНП – 30-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x40, ок. x10.

Через 30 діб після ТНП структура елементів органу практично залишалася мало зміненою (рис. 5.3.6). У сполучнотканинній капсулі 3-5 шарів фіброцитів. Клубочкова зона зменшена. Пучкова зона добре структурована, збільшена в розмірах. Клітини декілька зменшені в розмірах,

цитоплазма з дрібними вакуолями, ядра середніх розмірів гіперхромні, на границі із сітчастою зоною відзначаються великі клітини зі світлими великими ядрами. Сітчаста зона до цього терміну спостереження займає декілька меншу площу, клітини в ній невеликі, з вакуолізованою цитоплазмою і гіперхромними ядрами середніх розмірів. Мозковий шар залишається без змін.

Рис. 5.3.7. Паренхіма наднирника. Кора знаходиться в активному стані. ТНП – 60-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Зб.: об. x25, ок. x10.

На 60-ту добу при ТНП в наднирниках відзначається стовщення сполучнотканинної капсули за рахунок збільшення клітинної маси (рис. 5.3.7). Клубочкова зона розширена, клітини, її складові невеликі, ядра овальної форми і гіперхромні, зустрічаються одиничні пікнотичні і зруйновані клітини.

Рис. 5.3.8. Паренхіма наднирника. Збільшення капсули, зменшення товщини клубочкової і пучкової зон. ТКП – 2-а доба.
Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х40, ок. х10.

Пучкова зона деструктурована, тяжі розширені, товщиною в 3-4 клітини. Клітини в основному кубічної форми з грубою оксифильною

цитоплазмою, містять ядра різного розміру – від дрібних гіперхромних до великих з ніжносітчастим хроматином. Мозковий шар залишається без змін.

Рис. 5.3.9. Паренхіма наднирника. Клітини клубочкової і сітчастої зон. Великі клітини з вакуолізованою цитоплазмою. ТКП – 7-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х40, ок. х10.

*Реакція структурних елементів наднирників на трансплантацію
кріоконсервованої плаценти.*

Через 2-і доби аісля ТКП сполучнотканинна капсула містила 5-6 шарів клітин. В корковому шарі клубочкова зона зменшена в розмірі в порівнянні з

клубочковою зоною інтактних тварин. Це відноситься і до пучкової зони, у якій відзначається порушення структури формуючих її пучків. Кількість клітин у товщину досягає 4-5.

Рис. 5.3.10. Паренхіма наднирника. Клубочкова і пучкова зони. ТКП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

Клітини великі, з оксиофільною цитоплазмою і великими гіпохромними ядрами. Сітчаста зона збільшена (рис. 5.3.8).

Через 7-м діб після ТКП капсула містить 5-6 клітинних шарів, клубочкова зона збільшена майже в два рази (рис. 5.3.9). Пучкова зона добре

структурована, клітини полігональної форми зі світлими ядрами і сітчастим хроматином.

Рис. 5.3.11. Паренхіма наднирника. Декілька стовщена капсула. Кора знаходиться в активному фізіологічному стані. ТКП – 30-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

На 14-у добу після ТКП сполучнотканинна капсула складається з 3-4 шарів клітин. Клубочкова зона залишається без змін, ядра клітин цієї зони великі, гіпохромні, з ніжносітчастим хроматином. Пучкова зона займає велику площу в порівнянні з наднирниками тварин після розрізу та інтактній

групі, добре структурована. Клітини великі, з вакуолізованою цитоплазмою, містять ядра округлої форми, великого і середнього розміру (рис. 5.3.10). Сітчаста зона без зміни.

Рис. 5.3.12. Паренхіма наднирника. Кора знаходиться в спокійному фізіологічному стані. ТКП – 60-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x10, ок. x10.

Через 30 діб після ТКП виявлена наявність у сполучнотканинній капсулі 3-5 шарів фіброцитів. Клубочкова зона залишається зменшеною. Пучкова зона добре структурована, збільшена в розмірах. Клітини декілька зменшені в розмірах, цитоплазма з дрібними вакуолями, ядра середніх

розмірів гіперхромні, на границі із сітчастою зоною відзначаються великі клітини зі світлими великими ядрами (рис. 5.3.11). Сітчаста зона до цього терміну спостереження займає декілька меншу площу, клітини в ній невеликі, з вакуолізованою цитоплазмою і гіперхромними ядрами середніх розмірів.

На 60-ту добу при ТКП сполучнотканинна капсула залишається без змін стосовно попереднього терміну (рис. 5.3.12). Клубочкова зона декілька збільшена в порівнянні з попереднім терміном спостереження. Пучкова зона дезінтегрована. Клітини з вакуалізованою цитоплазмою. Ядра великі, з ніжносітчастим хроматином у центрі та компактним по периферії ядра. Сітчаста зона займає велику площу за рахунок зменшення площі пучкової зони. В усіх термінах спостереження при ТКП мозкова речовина наднирника істотно не змінюється в порівнянні з групою інтактних тварин.

При нормальному стані залози секреція гормонів відбувається переважно в клубочковій та пучковій зонах коркової речовини. Під впливом біологічно активних речовин ця зона може значно розширюватися за рахунок периферичних і більш глибоко лежачих шарів.

Таким чином, трансплантація нативної і кріоконсервованої плаценти викликає активацію секреторних елементів наднирника, які проявляються в ранні терміни спостереження (7-14 діб). При чому ТКП викликає більш виражену реакцію структурних елементів наднирника чим ТНП. Розріз без трансплантації приводить лише до невеликої стимуляції функціональної активності наднирника.

5.4. Реакція структурних елементів яєчників на трансплантацію плаценти.

Яєчник, по даним літератури, виконує функцію утворення дозрілих жіночних статевих клітин (овогенез), та ендокринну (синтез статевих гормонів).

В той же час в літературі відсутні дані про вплив введеної нативної і кріоконсервованої плаценти на структурні елементи яєчника.

Рис. 5.4.1. Яєчник. Фолікули різного ступеня дозрівання. Контроль.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

Структура паренхіми яєчників в групі контролю.

На гістологічних препаратах, пофарбованих гематоксилін-еозином, добре визначається структура яєчника, який складається з коркової і мозкової речовини (рис. 5.4.1). Поверхня коркової речовини покрита одношаровим кубічним епітелієм. Сполучнотканинна основа коркової речовини (строма), складається з фібробластів і міжклітинної речовини. У зоні прилеглій до епітелію кількісний вміст ядер зменшується, відповідно збільшується міжклітинна речовина зі слабкою васкуляризацією (білочна оболонка). На зрізах визначається велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини, тяжі еластичних волокон проходять у різних напрямках. По всьому полю зору визначається велика кількість первинних (примордіальних) фолікулів, останні складаються з овоциту першого порядку, який оточений одним шаром фолікулярного епітелію. Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна.

У вторинних фолікулах стінка представлена 2-4 шарами клітин, які оточують порожнину, заповнену фолікулярною рідиною, а також яйцеклітину. Навколо яйцеклітини у фолікулі маються кубічні клітини з великим ядром і цитоплазмою, що забезпечують живлення яйцеклітини. Виявляються третинні, граафові фолікули. Вони розташовуються в межах яєчника. У цих фолікулах визначаються кубічні і циліндричні фолікулярні клітини, а також овоцит. Корковий шар над цими фолікулами стоншений.

Мозкова речовина невелика в порівнянні з корковою, її сполучнотканинна основа представлена еластичними і колагеновими волокнами, між якими розташовуються гілусні клітини, спіральні артерії та велика кількість венозних судин.

Реакція структурних елементів яєчників на розріз.

На препаратах добре визначається структура коркової і мозкової речовини яєчника, які, у всіх термінах спостереження, істотно не відрізняються від контрольної групи.

Рис. 5.4.2. Яєчник. Жовте тіло, зрілий третичний фолікул (граафовий пухирець). Розріз. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Коркова речовина покрита одношаровим кубічним епітелієм. У білочній оболонці кількісний зміст ядер зменшується, відповідно збільшується міжклітинна речовина зі слабкою васкуляризацією. Сполучнотканинна основа, що складається з фібробластів і міжклітинної речовини незначно стовщена. На зрізах визначається більша кількість ядер, стосовно міжклітинної речовини, а також фрагментація еластичних і колагенових волокон. По всьому полю зору визначається велика кількість первинних, вторинних і третинних фолікулів. Виявляються атретичні фолікули. Ядра овоцитів великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовточні зерна. Третичні фолікули розташовуються в межах яєчника. В деяких з них спостерігається розрив оболонки і вихід овоцита. Корковий шар над цими фолікулами стоншений (рис. 5.4.2).

В мозковій речовині звертає на себе увагу більш виражена звивистість спіральних артерій. Кількість гілусних клітин майже без змін. Строма мозкової речовини має розволокнені та фрагментовані волокна і фіброцити.

Реакція структурних елементів яєчників на трансплантацію нативної плаценти.

На 2-у добу спостереження при ТНП, відмічається посилення реакції тканин, яка виявляється в вище описаних проявах (рис. 5.4.3).

Коркова речовина покрита одношаровим кубічним епітелієм. Сполучнотканинна основа незначно стовщена. Визначається більша кількість ядер, стосовно міжклітинної речовини, а також фрагментація еластичних і колагенових волокон.

Визначається велика кількість первинних, вторинних і третинних фолікулів. Виявляються атретичні фолікули.

Рис. 5.4.3. Яєчник. Фолікули різного ступеня зрілості. ТНП – 2-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Ядра овоцитів великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовточні зерна. Третинні фолікули розташовуються в межах яєчника. В деяких з них спостерігається розрив оболонки і вихід овоцита. Корковий шар над цими фолікулами стоншений.

В мозковій речовині виявляється виражена звивистість спіральних артерій. Кількість гілусних клітин майже без змін. Строма мозкової речовини

має розволокнені та фрагментовані волокна і фіброцити. В органі відбуваються активні процеси, як відповідь на вплив.

Рис. 5.4.4. Яєчник. Жовте тіло, зрілий третинний фолікул. ТНП – 7-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Через 7 діб після ТНП коркова и мозкова речовина добре диференціюється, в них спостерігається розволокнення та фрагментація строми, яка представлена еластичними та колагеновими волокнами, фібробластами та фіброцитами.

Кількість фолікулів збільшується в порівнянні з попереднім терміном. Виявляються дозрілі, та різної стадії зрілості фолікули, жовте тіло, атретичні фолікули (рис. 5.4.4). В мозковій речовині відмічається збільшення гілусних клітин. Тенденція, виявлена нами для попереднього строку спостереження, відмічається і для 7 доби.

Рис. 5.4.5. Яєчник. Первинний розвиваючийся фолікул. ТНП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Через 14 діб після ТНП в корковій речовині виявляється велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини. По всьому полю зору

визначається велика кількість первинних фолікулів (рис. 5.4.5). Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна.

Рис. 5.4.6. Яєчник. Активне дозрівання фолікулів. ТНП – 30-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

У вторинних фолікулах стінка представлена 3-5 шарами клітин, які оточують порожнину з фолікулярною рідиною. Виявляються третинні (граафові) фолікули, кількість яких більше чим в контролі і попередніх термінах дослідження. Звертає на себе увагу посилення процесів овогенезу у яєчнику.

Сполучнотканинна основа мозкової речовини представлена дефрагментованими еластичними волокнами, між якими розташовуються гілусні клітини, кількість яких більше чим у попередніх термінах дослідження. Визначаються звивисті спіральні артерії і вени.

Через 30 діб після ТНП відмічається збільшення кількості вторинних і третинних фолікулів, овуляція (рис. 5.4.6) Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна.

У вторинних фолікулах стінка представлена 3-5 шарами клітин, які оточують порожнину з фолікулярною рідиною. Виявляються третинні (граафові) фолікули, кількість яких більше чим в контролі і попередніх термінах дослідження.

Через 60 діб після ТНП поверхня коркової речовини яєчника покрита одношаровим кубічним епітелієм. Строма складається з фібробластів і міжклітинної речовини. На зрізах визначається велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини, тяжі еластичних волокон проходять у різних напрямках, фрагментація та розволокнення одиночні в полі зору (рис. 5.4.7). По всьому полю зору визначається велика кількість первинних фолікулів, останні складаються з овоциту першого порядку оточеного одним шаром сплющеного фолікулярного епітелію. У вторинних фолікулах стінка представлена 2-4 шарами клітин, які оточують порожнину, заповнену фолікулярною рідиною, а також яйцеклітину.

Виявляються третинні, фолікули. Вони розташовуються в межах яєчника. У цих фолікулах визначаються кубічні і циліндричні фолікулярні клітини, а також овоцит. Корковий шар над цими фолікулами стоншений. Сполучнотканинна основа мозкової речовини представлена еластичними і колагеновими волокнами. Між волокнами розташовуються гілусні клітини, спіральні артерії і вени.

Рис. 5.4.7. Яєчник. Фолікули різної стадії зрілості. ТНП – 60-а доба.
Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

*Реакція структурних елементів яєчників на трансплантацію
кріоконсервованої плаценти.*

На 2-у добу, після ТКП поверхня коркової речовини покрита одношаровим кубічним епітелієм. У зоні, що прилягає до епітелію кількісний зміст ядер зменшується. На зрізах визначається велика кількість ядер фібробластів, фіброцитів, а також розволонені та фрагментовані еластичні волокна. По всьому полю зору визначається велика кількість первинних,

вторинних і третинних фолікулів. Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені, що говорить про активізацію процесів. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовточні зерна. Стінка вторинних фолікулів декілька стовщена за рахунок клітин (3-5 рядів), що оточують порожнину, заповнену фолікулярною рідиною, а також яйцеклітину (рис. 5.4.8). Третичні фолікули розташовуються в межах яєчника. У цих фолікулах визначаються кубічні і циліндричні фолікулярні клітини.

Рис. 5.4.8. Яєчник. Активне дозрівання фолікулів. ТКП – 2-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

Мозкова речовина невелика, її сполучнотканинна основа представлена еластичними і колагеновими волокнами, між якими розташовуються гілусні клітини, кількість яких більше чим у групі контролю та групі з розрізом. Виявляються звивисті спіральні артерії і вени.

Через 7 діб після ТКП істотних відмінностей, при порівнянні з 2-ю добою, у структурних елементах яєчника не виявлене.

Рис. 5.4.9. Яєчник. Дозрівання фолікулів. ТКП – 7-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Коркова и мозкова речовина добре диференціюється, в них спостерігається розволокнення та фрагментація строми, яка представлена

еластичними та колагеновими волокнами, фібробластами та фіброцитами. Кількість фолікулів збільшується в порівнянні з попереднім терміном. Виявляються дозрілі, та різної стадії зрілості фолікули, жовте тіло, атретичні фолікули (рис. 5.4.9). В мозковій речовині відмічається збільшення гілусних клітин. Тенденція, виявлена нами для попереднього строку спостереження, відмічається і для 7 доби.

Через 14 діб після ТКП в корковій речовині виявляється велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини.

Рис. 5.4.10. Яєчник. Жовте тіло. ТКП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

По всьому полю зору визначається велика кількість первинних фолікулів. Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна.

Рис. 5.4.11. Яєчник. Пізні стадії дозрівання фолікулів. ТКП – 30-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

У вторинних фолікулах стінка представлена 3-5 шарами клітин, які оточують порожнину з фолікулярною рідиною (рис. 5.4.10). Виявляються третинні (граафові) фолікули, кількість яких більше чим в контролі і попередніх термінах дослідження.

Сполучнотканинна основа мозкової речовини представлена дефрагментованими еластичними волокнами, між якими розташовуються гілусні клітини, кількість яких більше чим у попередніх термінах дослідження, звивисті спіральні артерії і вени.

Через 30 діб після ТКП на препаратах спостерігається аналогічні, попередньому терміну дослідження, зміни в стромі коркової і мозкової речовини. Крім того відмічається збільшення кількості вторинних і третинних фолікулів, овуляція (рис. 5.4.11). Треба відмітити, що ці процеси більш виражені при трансплантації нативної плаценти.

Через 60 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти поверхня коркової речовини яєчника покрита одношаровим кубічним епітелієм. Строма складається з фібробластів і міжклітинної речовини. На зрізах визначається велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини, тяжі еластичних волокон проходять у різних напрямках, фрагментація та розволокнення одиночні в полі зору. По всьому полю зору визначається велика кількість первинних фолікулів, останні складаються з овоциту першого порядку оточеного одним шаром сплющеного фолікулярного епітелію (рис. 5.4.12).

У вторинних фолікулах стінка представлена 2-4 шарами клітин, які оточують порожнину, заповнену фолікулярною рідиною, а також яйцеклітину. Виявляються третинні, фолікули. Вони розташовуються в межах яєчника. У цих фолікулах визначаються кубічні і циліндричні фолікулярні клітини, а також овоцит. Корковий шар над цими фолікулами стоншений.

Рис. 5.4.12. Яєчник. Фолікули різної стадії зрілості. ТКП – 60-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Сполучнотканинна основа мозкової речовини представлена еластичними і колагеновими волокнами. Між волокнами розташовуються гілусні клітини, спіральні артерії і вени.

Таким чином, при трансплантації фрагментів нативної і кріоконсервованої плаценти структурні елементи яєчника переживають велику функціональну напругу, більше виражену в ранні терміни

спостереження (2-14 діб). При чому ТКП викликає більш виражену реакцію з боку структурних елементів яєчника чим ТНП. Можливо, це пов'язано з реакцією органу на введення з тканиною плаценти великої кількості біологічноактивних речовин, гормонів і інших факторів. Виявлена виражена реакція структурних елементів яєчника у вигляді збільшення кількості фолікулів, та незначної функціональної стимуляції стромы, збільшенні кількості гілусних клітин свідчить, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з активізацією фізіологічної регенерації. У пізній термін дослідження (60 діб) у яєчнику переважають більш „спокійні” фізіологічні процеси.

5.5. Реакція структурних елементів тимуса на трансплантацію плаценти.

Тимус являє собою центральний орган імунної системи, у якому відбувається антиген-незалежна проліферація і диференціювання Т-лімфоцитів з їхніх попередників, що надходять з червоного кісткового мозку. В залозі знаходяться секреторні клітини, які містять у цитоплазмі секреторні гранули.

Рис. 5.5.1. Тимус. Часточки тимуса з міжчасточковими перегородками. Контроль. Збарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x10, ок. x10.

Вони виробляють фактори, необхідні для дозрівання тимоцитів: тимозин, тимопоетин, тимусний сироватковий фактор і інші, що дозволяє розглядати тимус як ендокринну залозу.

В той же час в літературі відсутні дані про вплив нативної і кріоконсервованої плаценти на структурні елементи тимуса.

Структурні елементи тимуса в групі контролю.

На гістологічних препаратах, пофарбованих гематоксилін-еозином, добре визначається структура залози, яка складається з коркової і мозкової речовини (рис. 5.5.1).

Тимус покритий сполучнотканинною капсулою, яка містить колагенові та еластичні волокна, далі вона продовжується в перегородки, які містять судини, ділячи його на часточки. Часточка складається з мережі відрощатих епітеліальних (епітеліоретикулярних) клітин, що утворюють строму органа, у петлях якої розташовуються лімфоцити (тимоцити). У кожній часточці виділяють коркову і мозкову речовину.

Коркова речовина містить тимоцити, за рахунок чого на препаратах виглядає більш темною. Проліферувальні тимоцити розташовуються у виді скупчень між епітеліальними клітинами в субкапсулярній зоні і мають вигляд великих лімфоцитів, які по даним [307] ще не мають рецепторів Т-клітин. В зрілих тимоцитах спостерігаються мітози і на препаратах вони мають вигляд середніх і малих лімфоцитів. Крім того, виявляються морфологічні ознаки процесів апоптозу лімфоцитів, та одиночні макрофаги.

Епітеліоретикулярні клітини – світлі, оксифільні, зі світлим ядром, великим ядерцем. Своїми відростками вони охоплюють тимоцити, створюючи мікрооточення, необхідне для їхнього розподілу і дозрівання. У корковій речовині має кілька особливих варіантів епітеліальних клітин: секреторні та періваскулярні.

Мозкова речовина містить меншу кількість зрілих тимоцитів, за рахунок чого на препаратах вона більш світліша від коркової. Епітеліальні клітини – більш великі і численні, чим у корковій речовині. Ближче до середини виявляються одиночні тільця Гассаля.

Рис. 5.5.2. Тимус. Кора з розширеною міжчасточковою перегородкою. Розріз. Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Зб.: об. x25, ок. x10.

Реакція структурних елементів тимуса на розріз.

У групі тварин на гістологічних препаратах також добре визначається структура коркової і мозкової речовини залози, які, у всіх термінах спостереження, істотно не відрізняються від контрольної групи (рис. 5.5.2). Сполучнотканинна капсула незначно стовщена, відмічається незначна фрагментація колагенових і еластичних волокон. Істотно не відрізняється від контролю кількість мітозів. На 2-у та 7-у добу відмічається збільшення кількості макрофагів, що говорить про незначну активізацію процесів апоптозу. В мозковій речовині виявляються одиночні тільця Гассаля.

Реакція структурних елементів тимуса на трансплантацію нативної плаценти.

При трансплантації кріоконсервованої і нативної плаценти на 2-у добу, сполучнотканинна капсула декілька стовщена, відмічаються фрагментація колагенових і еластичних волокон (рис. 5.5.3). Проліферувальні тимоцити розташовуються у виді скупчень між епітеліальними клітинами в субкапсулярній зоні. В зрілих тимоцитах спостерігаються мітози і на препаратах вони мають вигляд середніх і малих лімфоцитів. Крім того, виявляються морфологічні ознаки процесів апоптозу лімфоцитів, та одиночні макрофаги. Епітеліоретикулярні клітини – світлі, оксифільні, зі світлим ядром. Мозкова речовина містить меншу кількість зрілих тимоцитів, за рахунок чого на препаратах вона більш світліша від коркової.

Епітеліальні клітини – більш великі і численні, чим у корковій речовині. Ближче до середини виявляються одиночні тільця Гассаля.

Кількість мітозів збільшується в порівнянні з групами контролю і розрізом. Також відмічається збільшення кількості макрофагів, та в мозковій речовині – тілець Гассаля (2-3). В органі спостерігаються реактивні зміни, як

відповідь на вплив. Вони більш виражені в порівнянні з інтактною групою та групою з розрізом.

Рис. 5.5.3. Тимус. Збільшення коркової речовини. ТНП – 2-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х25, ок. х10.

Через 7 діб після трансплантації нативної плаценти істотних відмінностей, при порівнянні з 2-ю добою, у структурних елементах тимуса не виявлене, за виключенням признаков деякої стимуляції органу (рис. 5.5.4). Коркова и мозкова речовина добре диференціюється, спостерігається розволокнення та фрагментація капсули, яка представлена еластичними та колагеновими волокнами.

Рис. 5.5.4. Тимус. Розширення коркової речовини. ТНП – 7-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Кількість мітозів збільшується, також відмічається збільшення кількості макрофагів, та в мозковій речовині – тілець Гассаля (3-4).

Через 14 діб після ТНП (рис. 5.5.5) істотних розбіжностей у гістологічній картині з попереднім терміном спостереження не виявлено. Проте, в міжчасточкових перегородках відмічається збільшення кількості мікросудин.

Рис. 5.5.5. Тимус. Часточка тимуса. ТНП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Через 30 діб після ТНП на препаратах спостерігається аналогічні попередньому терміну дослідження, зміни в капсулі та стромі коркової і мозкової речовини (рис. 5.5.6).

Рис. 5.5.6. Тимус. Коркова і мозкова речовина (співвідношення 1:1).
ТНП – 30-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об.
x25, ок. x10.

Через 60 діб після ТНП поверхня тимуса покрита сполучнотканинною капсулою, яка зменшена по товщині, фрагментація колагенових та еластичних волокон не виражена.

В корковій речовині зустрічаються одиночні процеси мітозу, макрофаги (рис. 5.5.7).

Рис. 5.5.7. Тимус. Коркова речовина, тільце Гассаля. ТНП – 60-а доба.

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Епітеліоретикулярні клітини (секреторні та періваскулярні) світлі, оксифільні, зі світлим ядром, великим ядерцем. В мозковій речовині виявляються одиночні тільця Гассаля.

*Реакція структурних елементів тимуса на трансплантацію
кріоконсервованої плаценти.*

На 2-у добу після ТКП (рис. 5.5.8), сполучнотканинна капсула декілька стовщена, відмічаються фрагментація колагенових і еластичних волокон. Кількість мітозів збільшується в порівнянні з групами контролю і розрізом.

Рис. 5.5.8. Тимус. Розширення мозкової речовини. ТКП – 2-а доба.
Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Також відмічається збільшення кількості макрофагів, та в мозковій речовині – тілець Гассаля (2-3). В той же час, істотних відмінностей на препаратах при трансплантації кріоконсервованої і нативної плаценти не має. В органі спостерігаються реактивні зміни, як відповідь на вплив. Вони більш виражені при трансплантації кріоконсервованої і нативної плаценти в порівнянні з інтактною групою та групою з розрізом.

Рис. 5.5.9. Тимус. Судинна реакція коркової речовини, тільця Гассаля.
ТКП – 7-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об.
x40, ок. x10.

Через 7 діб після ТКП істотних відмінностей, при порівнянні з 2-ю добою, у структурних елементах тимуса не виявлене, за виключенням ознак деякої стимуляції органу. Коркова и мозкова речовина добре диференціюється, спостерігається розволокнення та фрагментація капсули, яка представлена еластичними та колагеновими волокнами. Кількість мітозів збільшується, також відмічається збільшення кількості макрофагів, та в мозковій речовині – тілець Гассаля (3-4) (рис. 5.5.9). В той же час, істотних

відмінностей на препаратах при трансплантації кріоконсервованої і нативної плаценти не має.

Рис. 5.5.10. Тимус. Тільця Гассаля. ТКП – 14-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. х40, ок. х10.

Через 14 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти істотних розбіжностей у гістологічній картині не виявлено (рис. 5.5.10). Проте, в міжчасточкових перегородках відмічається збільшення кількості мікросудин в порівнянні з попередніми термінами спостереження.

Через 30 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти на препаратах спостерігається аналогічні попередньому терміну дослідження, зміни в капсулі та стромі коркової і мозкової речовини (рис. 5.5.11).

Рис. 5.5.11. Тимус. Зменшення клітинності коркової речовини. ТКП – 30-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об. x25, ок. x10.

Рис. 5.5.12. Тимус. Розрідження коркової речовини. Тільце Гассаля.
ТКП – 60-а доба. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: об.
x40, ок. x10.

Через 60 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти поверхня тимуса покрита сполучнотканинною капсулою, яка зменшена по товщині, фрагментація колагенових та еластичних волокон не виражена, проте в перегородках між часточками кількість судин більша, чим в групі контролю, але менша чим при трансплантації нативної плаценти. В корковій речовині

зустрічаються одиночні процеси мітозу, макрофаги (рис. 5.5.12). Епітеліоретикулярні клітини (секреторні та періваскулярні) світлі, оксифільні, зі світлим ядром, великим ядерцем. В мозковій речовині виявляються одиночні тільця Гассалья.

Проведене дослідження показало, що в ранні терміни (2-14 діб) орган активно реагує на трансплантацію як кріоконсервованої так і нативної плаценти, що виражається в фізіологічній стимуляції структурних елементів. При чому ТКП викликає більш виражену реакцію з боку структурних елементів тимуса чим ТНП. Орган протягом усіх термінів спостереження знаходиться в стані функціональної нестабільності, аж після 60 доби після впливу, його показники досягають контрольного рівня.

Таким чином, дослідження фізіологічних механізмів регуляції росту тканин дозволили знайти факт присутності в органах і тканинах факторів, що специфічно впливають на ріст органів і тканин [169]. Вони були виявлені по здатності трансплантатів, гомогенатів і екстрактів тканин вибірково впливати на ріст відповідних органів при введенні в організм у постнатальному періоді [293].

В останні роки у світовій практиці і на Україні одержує все більше поширення використання фетальних і плацентарних тканин. Розширюється область їхнього застосування при різних патологічних процесах у випадках неефективності стандартних методів лікування. Як показують попередні експериментальні дані, підшкірна трансплантація плаценти робить виражений стимулюючий вплив на різні органи і системи, що пояснюється наявністю в її тканині великої кількості фетальних білків, факторів росту, цитокінів, інтерлейкінів. Дані літератури свідчать, що серед ембріональних білків великої уваги заслуговує α -фетопротейн (АФП) як багатofункціональний білок із селективною клітинною стимулюючою активністю. Зв'язування АФП із мембранними рецепторами є стимулом для

росту і проліферації клітин. Виявлена атерогенна функція фетальних тканин [1].

РОЗДІЛ 6

вплив біологічно активних речовин кріоконсервованої плаценти на метаболічні процеси при моделюванні запалення

6.1 Вплив трансплантації кріоконсервованої плаценти на клітинні реакції вогнища запалення і периферичної крові.

Як відомо, запалення є центральною проблемою медицини, оскільки лежить в основі більш 70% патології людини. В даний час важливе місце в рішенні цієї проблеми займає розробка нових методів протизапальної терапії – шляхом створення і дослідження дії тканинних препаратів, особливо плаценти. Наявність у тканинних препаратах великої кількості біологічно активних речовин забезпечує значний біостимулюючий ефект цих препаратів. Показано їхній активний вплив на серцево-судинну, ендокринну, нервову системи, ферментні системи енергетичного, білкового (активація біосинтезу білка) і інших видів обміну речовин [78, 293]. Вони володіють протизапальною, протипухлинною, імунокорегуючою і радіопротекторною дією [75, 96, 284]. Препарат „екстракт плаценти” широко використовується в клінічній практиці як протизапальний засіб. У той же час перспективним у цьому відношенні може бути новий препарат, отриманий із плацентарної тканини. При цьому важливе значення має дослідження саме тканинних препаратів, як основи розробки надійних методів збереження біологічних властивостей тканин і використання низьких температур, як фактора, який екстрагує біологічно активні речовини [75, 283]

У той же час протизапальна дія кріоконсервованої плаценти вивчена не достатньо.

Метою дослідження було вивчення впливу кріоконсервованої плаценти на клітинну динаміку вогнища запалення і периферичної крові. Остання є, як відомо, основним критерієм запалення і, відповідно, визначає ефективність протизапальних засобів [137].

Дослідження виконано на 114 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Усі больові і стресові процедури виконували під ефірним наркозом. Гостре асептичне запалення м'яких тканин стегна викликали введенням 5 мг λ -карагінену ("Sigma", США) у 1 мл ізотонічного розчину натрія хлориду [136]. Тварин забивали декапітацією в різний термін запалення – 6-у, 12-у години, 1-у, 2-у, 3-у, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у добу, на кожен термін брали по 6 тварин. Досліджували загальну кількість лейкоцитів (ЗКЛ) у крові і лейкоцитарну формулу; відносний вміст нейтрофілів, макрофагів, незрілих і зрілих фібробластів і фіброцитів у вогнищі запалення, а також формування грануляційної і зрілої сполучної тканини. Гістологічні препарати забарвлювали по стандартних методиках [193]. Плаценту вводили внутрішньом'язово в дозі 0,5 мл, із вмістом білка 1,5 мг/мл 1 раз у добу протягом всього експерименту [82, 259]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Ст'юдента.

Розвиток карагіненового гострого асептичного запалення м'яких тканин стегна супроводжувалося характерними для запалення змінами лейкоцитарної реакції периферичної крові і клітинного складу вогнища. Загальна кількість лейкоцитів (ЗКЛ) у крові поступово зростала і досягала максимуму на 5-у добу, а на 7-у добу практично поверталася до вихідного рівня (рис. 6.1.1). Кількість паличкоядерних нейтрофілів вірогідно збільшувалася на 6-у годину, 3-у і 5-у добу; сегментоядерних нейтрофілів – на 1-у і на 5-у добу, моноцитів – на 5-у добу (рис 6.1.2а-в).

Спостерігалася виражена лейкоцитарна інфільтрація тканин, насамперед нейтрофільна (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Клітинний склад в м'яких тканинах стегна щурів (в %) в динаміці карагіненового гострого асептичного запалення.

№ п/п	Терміни дослідж.	<i>Нейтрофіли</i>	Макрофаги	Фібробласти		Фіброцити
				незрілі	зрілі	
1.	Контроль	1,50±0,22	25,67±1,63	2,17±0,31	18,83±0,65	51,83±1,54
2.	6 год	76,17±2,24***	8,33±0,84***	0,67±0,33**	6,67±0,61***	8,17±0,98***
3.	12 год	65,17±1,85***	13,83±1,87***	1,00±0,37*	9,50±0,50***	11,50±0,76***
4.	1 д	51,83±1,14***	22,50±1,06	1,17±0,31*	12,00±0,45***	12,50±0,56***
5.	2 д	34,00±1,63***	31,17±0,65*	3,33±0,33*	18,33±0,67	13,17±1,195***
6.	3 д	15,17±0,95***	44,33±1,58***	6,83±0,54***	24,17±0,70***	9,50±1,69***
7.	5 д	7,50±0,67***	32,17±1,08**	17,00±1,03***	31,50±0,85***	11,67±1,56***
8.	7 д	1,83±0,31	23,33±0,95	9,33±0,33***	37,83±1,08***	28,00±0,93***
9	10 д	1,18±0,40	23,33±0,76	6,17±0,48***	31,50±0,85***	37,83±0,95***
10.	14 д	1,67±0,49	23,67±0,80	3,33±0,56	29,67±0,80***	41,67±1,36***

Примітка: Вірогідність різниці між групою контролю і дослідженими групами *<0,05; **<0,01; ***<0,001

Як видно з таблиці 6.1, відсоткова кількість нейтрофілів у вогнищі запалення була максимальною на 6-у годину, потім поступово зменшувалась, але була набагато більшою від контролю в період 12-а година–5-а доба, а на 7-у–14-у добу вірогідно не відрізнялася від контролю (рис. 6.1.3а). Відсотковий вміст моноцитів-макрофагів спочатку знижувався на 6-у годину, а потім відновлювався і збільшувався з максимумом на 3-у добу, і повертався до вихідного на 7-у добу зберігаючись до 14-ї доби (рис. 6.1.3б).

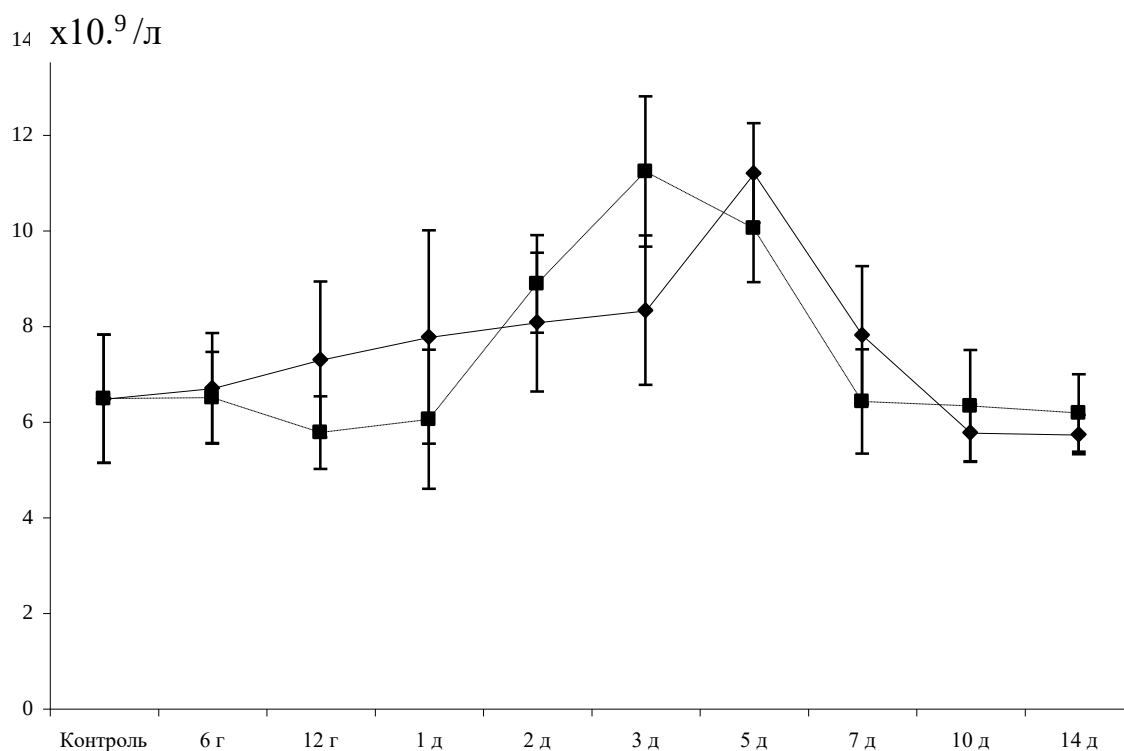


Рис. 6.1.1. Загальна кількість лейкоцитів у периферичній крові щурів ($\times 10^9/\text{л}$) у динаміці карагіненового гострого асептичного запалення м'яких тканин стегна при звичайному розвитку (1) і на тлі застосування плаценти (2).

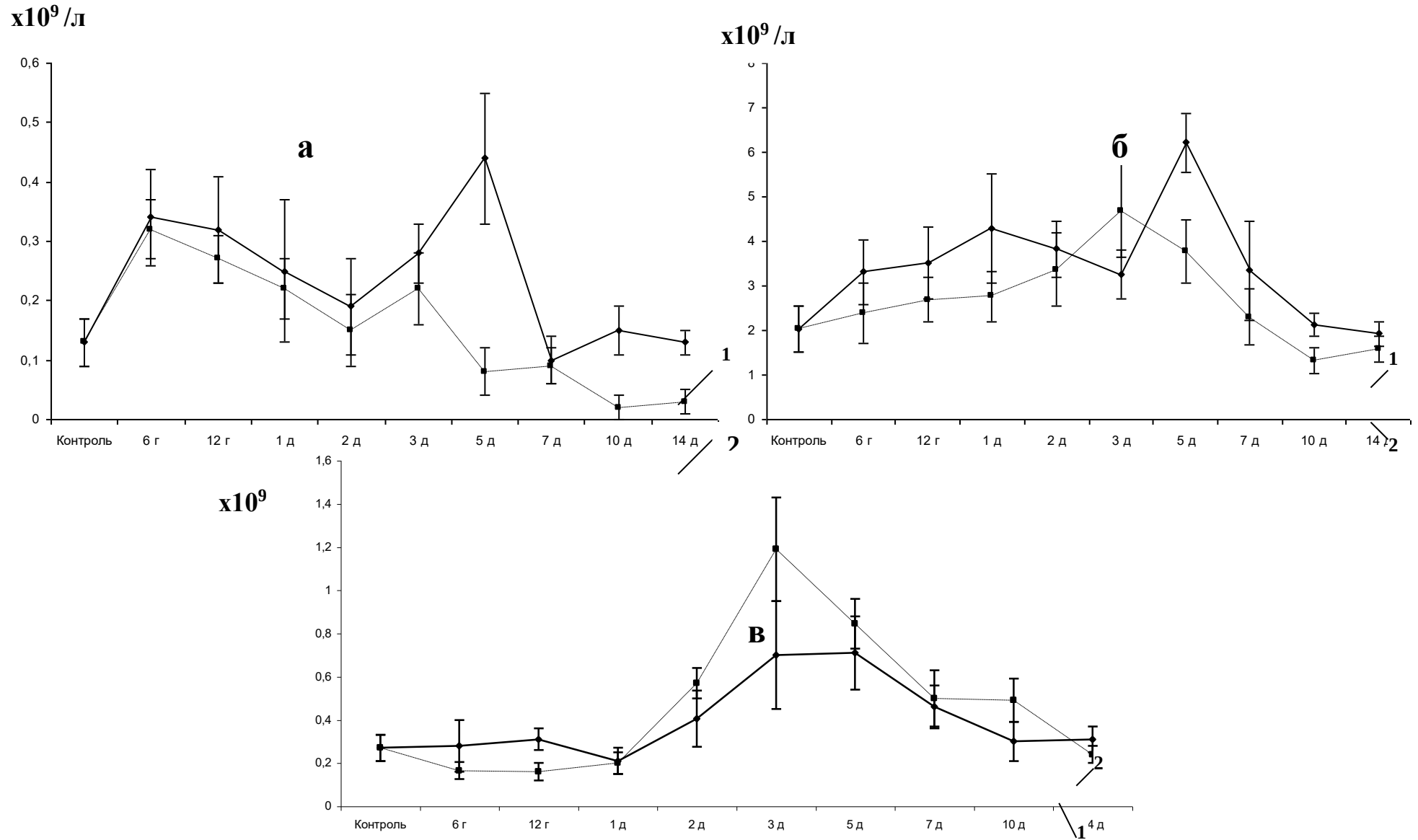


Рис. 6.1.2. Лейкоцитарна формула периферичної крові щурів ($\times 10^9/\text{л}$): паличкоядерні (а) і сегментоядерні (б) нейтрофіли, моноцити (в) у динаміці карагіненового гострого асептичного запалення м'яких тканин стегна при звичайному розвитку (1) і на тлі застосування кріоекстракту плаценти (2).

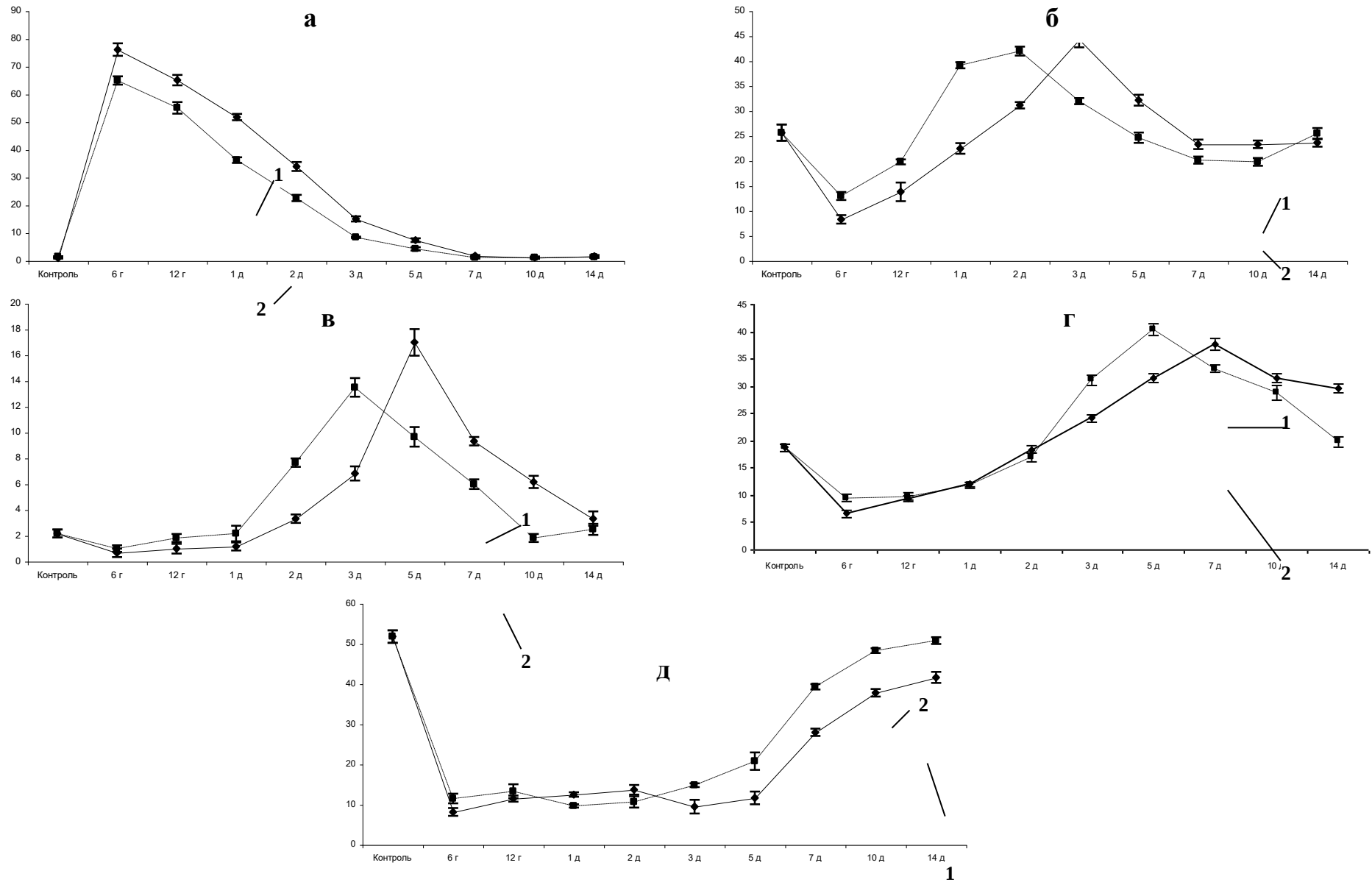


Рис. 6.1.3. Клітинний склад м'яких тканин стегна щурів (у %): нейтрофіли (а), макрофаги (б), незрілі (в) і зрілі (г) фібробласти і фіброцити (д) у динаміці карагіненового гострого асептичного запалення при звичайному розвитку (1) і на тлі застосування кріоекстракту плаценти (2).

Вміст незрілих фібробластів вірогідно був знижений по відношенню до контролю на 6-у годину–1-у добу, але помітно перевищував вихідне значення на 2-у–10-у добу, з піком на 5-у добу, і повертався до вихідного на 14-у (рис 6.1.3в).

Відсотковий вміст зрілих фібробластів зменшувався з піком на 6-у годину і повернувся до рівня контролю на 2-у добу, а потім збільшувався проти контролю на 3-ю–14-у, з максимумом на 7-у добу (рис. 6.1.3г); відсоткова кількість фіброцитів – зменшувалася в усі терміни дослідження з поступовою тенденцією до відновлення на 7-у добу, але їхня кількість була нижче контролю і на 14-у добу (рис. 6.1.3д).

При запаленні на тлі дії кріоконсервованої плаценти ЗКЛ у крові досягало максимуму вже на 3-у добу, проти 5-ї доби при звичайному розвитку запалення і на 7-у добу не відрізнялося від контролю (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Загальна кількість лейкоцитів (ЗКЛ) в периферичній крові щурів ($\times 10^9/\text{л}$) в динаміці карагіненового гострого асептичного запалення м'яких тканин стегна в умовах звичайного плину та на тлі застосування плаценти

№ п/п	Терміни дослідження	ЗКЛ при звичайному плинні асептичного запалення	ЗКЛ при асептич. запаленні на тлі застосування плаценти
1.	Контроль	6,48 $\pm$ 1,34	6,48 $\pm$ 1,34
2.	6 год	6,70 $\pm$ 1,15	6,50 $\pm$ 0,96
3.	12 год	7,30 $\pm$ 1,63	5,77 $\pm$ 0,76
4.	1 д	7,77 $\pm$ 2,23	6,05 $\pm$ 1,455
5.	2 д	8,08 $\pm$ 1,45	8,88 $\pm$ 1,02
6.	3 д	8,33 $\pm$ 1,56	11,23 $\pm$ 1,57*
7.	5 д	11,20 $\pm$ 1,04*	10,05 $\pm$ 1,135
8.	7 д	7,81 $\pm$ 1,44	6,42 $\pm$ 1,09
9.	10 д	5,77 $\pm$ 0,60	6,33 $\pm$ 1,17
10.	14 д	5,73 $\pm$ 0,41	6,18 $\pm$ 0,81

Примітка: Вірогідність різниці між групою контролю і дослідженими групами * $<0,05$; ** $<0,01$; *** $<0,001$; та _ між аналогічними показниками при звичайному плинні запалення та на тлі застосування плаценти

Таблиця 6.3

**Нейтрофіли периферичної крові щурів ($\times 10^9/\text{л}$) в динаміці
карагіненового гострого асептичного запалення м'яких тканин стегна
та на тлі застосування плаценти**

№ п/п	Терміни дослідження	ПАЛИЧКОЯДЕРНІ		СЕГМЕНТОЯДЕРНІ	
		ЗАПАЛЕНН Я	ЗАП.+ПЛА ЦЕН.	ЗАПАЛЕНН Я	ЗАП.+ПЛАЦ ЕН.
1.	Контроль	0,13 $\pm$ 0,04		2,03 $\pm$ 0,51	
2.	6 год	0,34 $\pm$ 0,08*	0,32 $\pm$ 0,05*	3,31 $\pm$ 0,73	2,39 $\pm$ 0,67
3.	12 год	0,32 $\pm$ 0,09	0,27 $\pm$ 0,04*	3,52 $\pm$ 0,80	2,69 $\pm$ 0,50
4.	1 д	0,25 $\pm$ 0,12	0,22 $\pm$ 0,05	4,28 $\pm$ 1,23	2,765 $\pm$ 0,57
5.	2 д	0,19 $\pm$ 0,08	0,15 $\pm$ 0,06	3,83 $\pm$ 0,63*	3,37 $\pm$ 0,82
6.	3 д	0,28 $\pm$ 0,05*	0,22 $\pm$ 0,06	3,27 $\pm$ 0,55	4,69 $\pm$ 1,06*
7.	5 д	0,44 $\pm$ 0,11*	0,08 $\pm$ 0,04**	6,21 $\pm$ 0,67**	3,785 $\pm$ 0,71*
8.	7 д	0,10 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,03	3,35 $\pm$ 1,11	2,30 $\pm$ 0,63
9.	10 д	0,15 $\pm$ 0,04	0,02 $\pm$ 0,02* ⁻	2,13 $\pm$ 0,25	1,32 $\pm$ 0,28
10.	14 д	0,13 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,02* ^{***}	1,92 $\pm$ 0,28	1,58 $\pm$ 0,29

Примітка: Вірогідність різниці між групою контролю і дослідженими групами * $<0,05$; ** $<0,01$; *** $<0,001$; та ⁻ між аналогічними показниками при звичайному плинні запалення та на тлі застосування плаценти

Кількість паличкоядерних нейтрофілів збільшувалась на 6-у і 12-у годину, а на 5-у–14-у була значно нижчою, ніж при звичайному плинні запалення (табл. 6.3). Вміст сегментоядерних нейтрофілів досягав максимуму на 3-у добу, у порівнянні з 5-ю при звичайному плинні запалення, після чого повертався до вихідного. На 5-у і 10-у добу він був меншим, ніж при звичайному плинні запалення (табл. 6.3).

Число моноцитів зростало на 2-у–5-у добу з максимумом на 3-ю (табл. 6.4).

Дані аналізу клітинних реакцій у вогнищі запалення представлені в таблиці 6.5. Як видно з таблиці відсоткова акумуляція нейтрофілів у вогнищі була помітно знижена, у порівнянні з природним плином процесу, на 6-у годину–5-у добу.

Таблиця 6.4

Моноцити периферичної крові щурів ($\times 10^9/\text{л}$) в динаміці карагієнового гострого асептичного запалення м'яких тканин стегна та на тлі застосування кріоконсервованої плаценти

№ п/п	Терміни дослідження	Моноцити при звичайному плинні асептичного запалення	Моноцити при асептич, запаленні на тлі застосування плаценти
1.	Контроль	$0,27 \pm 0,06$	$0,27 \pm 0,06$
2.	6 год	$0,28 \pm 0,12$	$0,165 \pm 0,04$
3.	12 год	$0,31 \pm 0,05$	$0,16 \pm 0,04^*$
4.	1 д	$0,21 \pm 0,06$	$0,20 \pm 0,05$
5.	2 д	$0,405 \pm 0,13$	$0,57 \pm 0,07^{**}$
6.	3 д	$0,70 \pm 0,25$	$1,19 \pm 0,24^{**}$
7.	5 д	$0,71 \pm 0,17^*$	$0,845 \pm 0,115^{***}$
8.	7 д	$0,46 \pm 0,10$	$0,50 \pm 0,13$
9.	10 д	$0,30 \pm 0,09$	$0,49 \pm 0,10$
10.	14 д	$0,31 \pm 0,06$	$0,24 \pm 0,04$

Примітка: Вірогідність різниці між групою контролю і дослідженими групами $* < 0,05$; $** < 0,01$; $*** < 0,001$; та $_*$ між аналогічними показниками при звичайному плинні запалення та на тлі застосування плаценти

Відсоткове накопичування моноцитів-макрофагів – збільшувалося на 1-у і 3-у добу, і зменшувалося на 7-у і 10-у, пік їх визначався раніше – на 2-у добу проти 3-ої при звичайному плинні запалення. Відсоткова кількість незрілих фібробластів була більшою на 2-у–7-у добу, пік їх спостерігався раніше – на 3-у добу проти 5-ої, зрілих фібробластів було більше на 3-10-у добу з максимумом на 5-у добу проти 7-ої доби при звичайному плинні запалення; відсотковий вміст фіброцитів збільшувався на 3-7-у добу і повертався до вихідного вже на 10-у добу.

Таблиця 6.5

Клітинний склад в м'яких тканинах стегна щурів (в %) в динаміці карагієнового гострого асептичного запалення на тлі застосування плаценти

№ п/п	Терміни дослідж.	<i>Нейтрофіли</i>	Макрофаги	Фібробласти		Фіброцити
				незрілі	зрілі	
1.	Контроль	1,50±0,22	25,67±1,63	2,17±0,31	18,83±0,65	51,83±1,54
2.	6 год	65,00±1,48*** **	13,00±0,82*** **	1,00±0,26*	9,50±0,62*** **	11,50±1,20***
3.	12 год	55,17±2,09*** **	19,83±0,48** -	1,83±0,31	9,83±0,65***	13,33±1,73***
4.	1 д	36,33±1,02*** ***	39,17±0,60*** ***	2,17±0,60	11,83±0,60***	9,67±0,42*** **
5.	2 д	22,67±1,17*** ***	42,00±0,89*** ***	7,67±0,33*** ***	17,00±0,89	10,67±1,41***
6.	3 д	8,50±0,22*** **	32,00±0,63** ***	13,50±0,72*** ***	31,17±0,95*** ***	14,83±0,48*** -
7.	5 д	4,33±0,61*** **	24,67±1,02***	9,67±0,76*** ***	40,33±1,09*** ***	20,83±2,15*** **
8.	7 д	1,17±0,31	20,17±0,70* -	6,00±0,37*** ***	33,17±0,65*** **	39,33±0,67*** ***
9	10 д	1,17±0,17	19,83±0,79** **	1,83±0,31***	28,83±1,33***	48,33±0,56***
10.	14 д	1,33±0,21	25,50±1,12	2,50±0,43	19,83±0,87***	50,83±0,87***

Примітка: Вірогідність різниці між групою контролю і дослідженими групами *<0,05; **<0,01; ***<0,001;

та _ між аналогічними показниками при звичайному плинні запалення та на тлі застосування плаценти

Слід також зазначити, що при звичайному плинні запалення максимальний розвиток грануляційної тканини спостерігався на 7-у добу, а на 10–14-у вона більш ніж наполовину заміщлася молодого сполучною тканиною. Застосування трансплантації кріоконсервованої плаценти призводило до появи великих площ грануляційної тканини вже на 3-ю добу, а її дозрівання і заміщення молодого сполучною тканиною практично завершувалося на 10-у.

Отримані результати показують, що при застосуванні трансплантації плаценти помітно пригнічується нейтрофільна і підсилюється макрофагально-фібробластична реакція. З огляду на ведучу роль нейтрофілів у розгортанні, а моноцитів-макрофагів і фібробластів – у стиханні запалення [139], можна вважати, що в даному випадку протизапальний ефект кріоконсервованої плаценти складається в обмеженні альтеративних і посиленні репаративних явищ і захисно-приспосувальній ролі запалення в цілому.

Механізм протизапального впливу плаценти, очевидно, пов'язаний із впливом гормонів, які утримуються в ньому, кортизолу, прогестерону, естрадіолу, пролактину, гонодотропіну. Вони можуть впливати на “клітини запалення” (лейкоцити, тканинні макрофаги, фібробласти, тучні клітини, ендотеліоцити), кістковий мозок, мікроциркуляцію, як безпосередньо (через специфічні рецептори), так і опосередковано через медіатори і відповідні рецептори для останніх. В обох випадках цей вплив опосередковується змінами концентрації внутрішньоклітинних циклічних нуклеотидів, ферментних систем, іонів, функціонування іонних транспортних систем і т.д.

Так, естрогени збільшують число моноцитів у крові і їхню продукцію в кістковому мозку [251], проліферацію макрофагів [368] і їхню функціональну активність [354]. Естрадіол гальмує синтез макрофагами макрокортину, що гнітить вивільнення протизапальних арахідонової кислоти й ейкозаноїдів [210], які діють головним чином за рахунок лейкоцитарної інфільтрації [151].

Гормони є індукторами біосинтезу ряду ферментних білків, і, у свою чергу, мають істотне значення в саморегуляції лейкоцитарної інфільтрації при запаленні [144]. Фібробласти мають рецептори для естрогенів і реагують на дію гормонів підвищенням синтезу білків [48]. Крім того, полові гормони, зокрема естрогени, стимулюють проліферацію фібробластів [403]. Одночасно полові гормони, через вазоактивні медіатори і модулятори запалення, регулюють мікроциркуляцію і підвищують судинну проникність [129], що є сприятливою умовою лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення [139]. Тканинним препаратам властивий виражений антиоксидантний ефект, і їхня протизапальна дія, що виражається в змінах клітинної динаміки вогнища запалення і лейкоцитарної реакції крові, може бути зв'язана з усуненням протизапальної модуляції реакцій системи крові активними формами кисню і продуктами перекисного окислювання ліпідів [151], унаслідок стимуляції фізіологічної антиоксидантної системи [13].

Отже, трансплантація кріоконсервованої плаценти модулює плин запалення, що, як відомо, є триєдністю реакцій системи крові, мікроциркуляторного русла і сполучної тканини [103, 152, 316]. Це, у свою чергу, виражається у відповідних змінах клітинного складу вогнища запалення і лейкоцитарної реакції периферичної крові і, в остаточному підсумку, сприяє більш швидкому завершенню запалення.

6.2 Вплив трансплантації кріоконсервованої плаценти на реакцію тучних клітин при запаленні.

На підставі дослідження клітинної динаміки вогнища гострого запалення показано, що плацента викликає протизапальну дію. Вона помітно пригнічує нейтрофільну і стимулює макрофагально-фібробластичну реакції, тобто підсилює захисно-приспосувальну функцію запалення [138]. Вплив плаценти, очевидно, багато в чому здійснюється шляхом активації його біологічно активними речовинами клітин і рідких середовищ організму і посиленого вивільнення або утворення медіаторів запалення. Як відомо, одним з основних джерел медіаторів і початкових клітин-ефекторів запалення є тучні клітки (ТК). Медіаторам початкової фази запалення, продуктам ТК належить істотна роль у реалізації усього медіаторного каскаду, що є, основною ланкою патогенезу запалення, які забезпечують взаємодію безлічі клітин-ефекторів, зміну клітинних фаз вогнища, перехід від розгортання реакції до її стихання [103, 188, 316].

Метою дослідження було вивчення впливу плаценти на реакцію ТК при запаленні.

При звичайному плинні запалення кількість ТК була зниженою в усі терміни дослідження, максимально – на 2-у і 3-ю добу (рис. 6.2.1). На гістологічних препаратах спостерігалась картина, яка характерна для звичайного плину запалення. Як видно з рисунка 6.2.1, вона виражена в стійкості клітинних елементів які характерні для запалення, та реакцією мікроциркуляторного русла на пошкоджуючий агент. Спостерігається зупинка кровообігу з повнокров'ям дрібних судин, та крайовим стоянням лейкоцитів. Поряд з цим, по всьому полю зору переважають нейтрофіли, макрофаги та незрілі фібробласти. Зустрічаються поодинокі тучні клітини зі зрілими гранулами в цитоплазмі та наступним помітним їх відновленням, так що до 14-ї доби вони вірогідно не відрізнялося від контролю (рис 6.2.2а).

Рис. 6.2.1. Запальна реакція в м'яких тканинах стегна у групі тварин при звичайному плинні запалення (пояснення по тексту). 2-а доба експерименту.
 1. Кровоносна судина. 2. Еритроцити. 3. Поодинокі тучні клітини. 4. Нейтрофіли. 5. Лімфо-гістіоцитарний інфільтрат. 6. Фібробласт.
 Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х20, ок. х10.

Аналізуючи в динаміці кількість та якісний стан тучних клітин, які спостерігаються на другу добу звичайного карагіненового запалення, нами відмічено зниження їх чисельності. Поряд з цим, в оточуючій тканині відмічається вільне розташування великої кількості секреторних гранул та

секрета взагалом (рис 6.2.1). Вище описані зміни характерні для голокринового типу секреції. При цьому, весь вміст клітини підвергається дегенеративним змінам та перетворюється в секреторний продукт. В цитоплазмі тучних клітин, котрі зливаються між собою і утворюють єдину секреторну краплю. Ядро та інші органели клітини при цьому способі виведення секрету руйнуються. останній вільно розташовується в осередку запалення.

З іншого боку, дегрануляція ТК, що також була посилена в усі терміни дослідження, була найбільшою на 1-у добу з подальшим помітним її зниженням, і на 14-у добу ще залишалася більше вихідної (рис. 6.2.3).

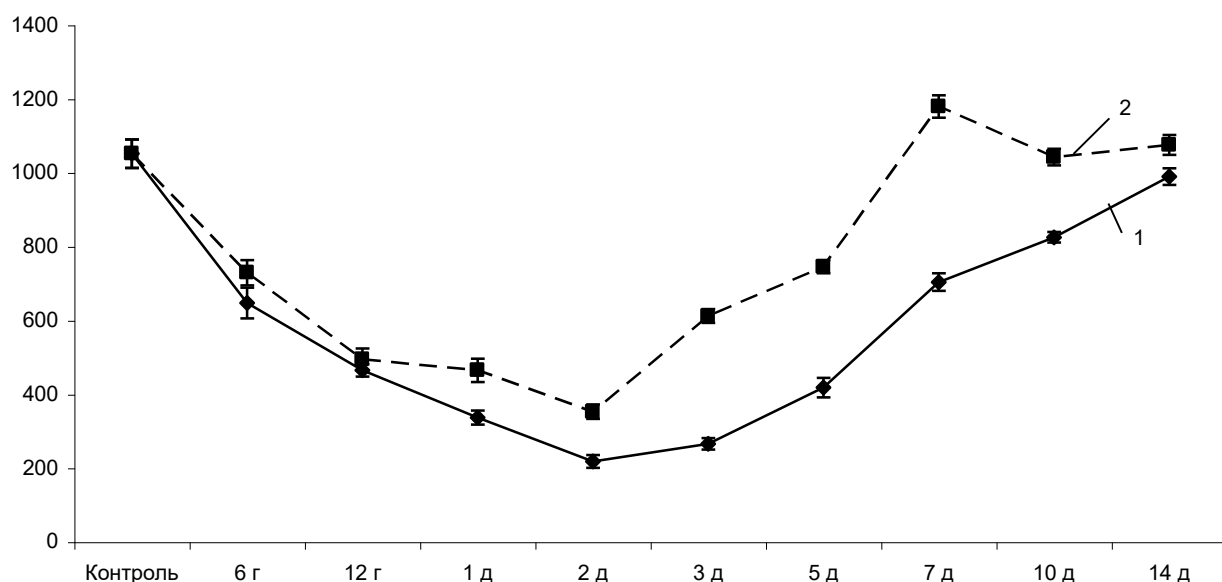


Рис. 6.2.2. Кількість тучних клітин м'яких тканин стегна пацюків в 100 полях зору мікроскопа при збільшенні $\times 400$ в динаміці карагієнового гострого асептичного запалення при звичайному його розвитку (1) та на фоні застосування плаценти (2).

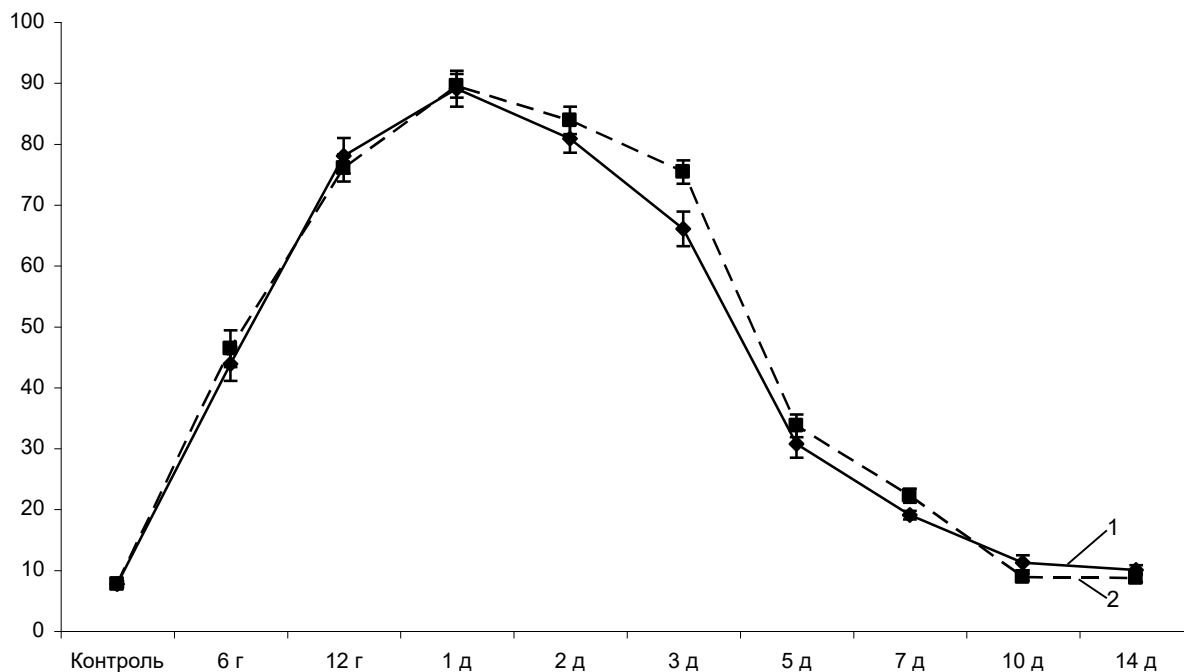


Рис. 6.2.3. Кількість дегранульованих тучних клітин м'яких тканин стегна пацюків в 100 полях зору мікроскопа при збільшенні $\times 400$ (в %) в динаміці карагієнового гострого асептичного запалення при звичайному його розвитку (1) та на фоні застосування плаценти (2).

При запаленні на тлі введення кріоконсервованої плаценти кількість ТК на 1-у–5-у добу знижувалося значно менше, ніж при природному його плині, і відновлювалося раніш, та досягало піка на 7-у добу (рис. 6.2.4).

Як видно з рисунка 6.2.4, дещо по-іншому спостерігалась морфологічна картина на тлі введення кріоконсервованої плаценти експериментальним тваринам. Перш за все встановлена велика кількість макрофагів та зрілих фібробластів, в той час як реакція мікроциркуляторного русла виражена в незначній мірі. Зустрічаються поодинокі тучні клітини, які розташовуються навколо кровоносних судин, та мають периферичне розташування гранул в цитоплазмі.

Рис. 6.2.4. Клітинна реакція в вогнищі запалення у експериментальних тварин (пояснення по тексту). 7-а доба експерименту.

1. Тучні клітини на різних етапах розвитку. 2. Кровоносна судина. 3. Моноцити. 4. Фібробласти. 5. Макрофаги.

Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х40, ок. х10.

Необхідно відмітити, що іноді тучні клітини локалізувалися навколо кровоносних судин, часом порушуючи цілісність їх стінки та виводячи свій секрет безпосередньо в отвір судини, шляхом апокрінової секреції. При

цьому, в судині накопичувалась гомогенна речовина, яка і обумовлювала протизапальну дію (рис. 6.2.5).

Рис. 6.2.5. Клітинно-судинні співвідношення в вогнищі запалення. 7 доба експерименту.

1. Тучні клітини в фазі накопичення секрету. 2. Апокриновий тип секреції тучної клітини. 3. Порушення ендотелію в стінці кровоносної судини. 4. Вільне розташування секрету в сполучній тканині.

Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х40, ок. х10.

При більш детальному вивченні способу виведення секрету тучними клітинами (масляна імерсія), встановлено, що секреторні гранули розташовуються на термінальних виростах клітин.

Рис. 6.2.6. Апокриновий тип секреції тучної клітини.

1. Зруйноване ядро. 2. Концентрація секрету на термінальному полюсі клітини. 3. Відрив від клітини секреторної краплі. 4. Інвагінація цитоплазматичної оболонки.

Забарвлення: толудіновий синій. Зб.: об.х10, ок. х10.

Потім вони відриваються від цитоплазматичної оболонки, яка утворює інвагінації. Ядро при цьому руйнується (рис. 6.2.6). На 10-у добу плин запалення не відрізнявся від контролю, але був більшим, ніж при звичайному плині запалення, на 10-у і 14-у добу (див. рис. 6.2.3, 6.2.6).

Рис. 6.2.7. Реакція тучних клітин при введенні кріоконсервованої плаценти. 14 доба експерименту.

1. Кровоносна судина (венула). 2. Тучні клітини. 3. Сполучна тканина. 4. Фіброцити.

Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х40, ок. х10.

В більш пізні терміни експерименту (14 доба), нами спостерігалось збільшення кількості тучних клітин в вогнищі запалення. В ці терміни спостерігається відновлення реологічних властивостей крові.

Рис. 6.2.8. Тучна клітина в фазі накопичення секрету (пояснення по тексту).

1. Ядро. 2. Про секреторні гранули. 3. Дозріваючі гранули.

Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х10, ок. х10.

З'являються фіброцити, та молода сполучна тканина (рис. 6.2.6).

Переважає більшість тучних клітин знаходиться в фазі накопичення секрету.

В цитоплазмі тучних клітин розташовуються світлі „просекреторні” гранули, котрі знаходяться поблизу ядра.

Рис. 6.2.9. Дегрануляція тучних клітин після введення кріоконсервованої плаценти. 2-а доба експерименту.

1. Вільне розташування секрету в тканині. 2. Зруйнована тучна клітина. 3. Сполучна тканина. 4. Дегранулююча тучна клітина.

Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х40, ок. х10.

По мірі дозрівання секрету, вони зливаються між собою та переходять на периферію клітини, утворюючи „зрілі” гранули, які обумовлюють протизапальний ефект (рис. 6.2.8).

Рис. 6.2.10. Мерокриновий тип секреції тучної клітини.

1. Ядро. 2. Зрілі секреторні гранули в цитоплазмі клітини. 3. Язикоподібні вирости цитоплазматичної оболонки.

Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х10, ок. х10.

Що стосується дегрануляції ТК, то вона була порівнянна з такою при звичайному плинні запалення на 6-у годину, 2-у добу, та виражена більше на 3-ю 7-у, і не відрізнялася від вихідної – на 10-у і 14-у добу (див. рис. 6.2.3).

Рис. 6.2.11. Спорожнена тучна клітина (мерокриновий тип секреції).

1. Пори цитоплазматичної оболонки. 2. Спорожнені секреторні гранули в цитоплазмі клітин. 3. Залишки секреторних крапель, розташованих по периферії клітини.

Забарвлення: толуїдиновий синій. Зб.: об.х10, ок. х10.

Як показують результати наших досліджень, швидкий тип реагування організму на введення стороннього агенту, обумовлений дегрануляцією тучних клітин (рис. 6.2.9). При цьому спостерігається вільне розташування секрету в оточуючій тканині.

Цей тип реакції характерний для мерокринового типу секреції. Біологічно активні речовини накопичуються рівномірно по всій поверхні цитоплазми. В подальшому, по язикоподібним виростам цитоплазматичної оболонки через отвори останньої, гранули секрету виходять за межі клітин (рис. 6.2.10).

Після вищеописаних змін, в тучних клітинах подекуди залишаються секреторні краплі, які розташовуються по периферії цитоплазми, іноді в ній спостерігаються пори, через які відбувалась секреція з виходом біологічно активних речовин. При цьому, клітина функціонально інертна, тобто не здатна виконувати свої біологічні ефекти. Вона переходить в фазу накопичення секрету (рис. 6.2.11).

Нами встановлено, що трансплантація кріоконсервованої плаценти викликає посилену дегрануляцію тучних клітин під час запалення, особливо на 3-ю і 7-у добу, менше виражене зниження і більш раннє відновлення їх кількості, тобто відбувається стимуляція секреції і синтезу біологічно активних речовин ТК.

Як відомо, ТК відіграють дуалістичну роль у патогенезі запалення, викликаючи, поряд із протизапальними судино-ексудативними ефектами, протизапальні клітинні [148]. Продукти тучних клітин, особливо гістамін і серотонін, є одними з основних медіаторів фази підвищення проникності судин (ПС) вогнища запалення [145, 146]. Через лейкоцити ТК беруть участь у регуляції ПС в уповільненій фазі її підвищення [103, 135]. Установлено що вплив модулює інфільтративні і репаративні явища при запаленні. ТК гнітять нейтрофіли і стимулюють моноцити і фібробласти, і в механізмах цього впливу мають значення головним чином гістамін, а також серотонін і

гепарин; при цьому гістамін діє на нейтрофіли в основному через H_2 - рецептори, на моноцити – через H_1 -рецептори, на фібробласти – через H_1 - і H_2 -рецептори [140, 146, 147, 149, 150].

Одним з можливих механізмів протизапальної дії кріоконсервованої плаценти може бути посилення секреторної активності тучних клітин під впливом естрогенів. Показано, що статеві гормони через вазоактивні медіатори і модулятори запалення регулюють мікроциркуляцію і судинну проникність [259], тобто ексудацію, що, у свою чергу, позначається і на лейкоцитарній інфільтрації вогнища запалення.

З іншого боку, лейкоцити впливають на ТК, при цьому активну роль відіграють лізосомальні ферменти, активні форми кисню, циклооксигеназні і ліпооксигеназні ейкозаноїди [136, 141-143]. ТК і лейкоцити взаємодіють у регуляції запальних явищ [135].

Таким чином, результати проведених нами морфологічних та морфометричних досліджень впливу трансплантації кріоконсервованої плаценти при запаленні показують, що провідну роль тут відіграють тучні клітини. Так, в перші дві доби спостерігається їх достовірне зниження в обох досліджуваних групах. Але при цьому кількість дегрануючих клітин, різко підвищується за рахунок переважно мерокринового типу секреції при введенні кріоконсервованої плаценти. В подальшому, завдяки їх відновленню, на 14 добу експерименту, відбувається відповідність кількості клітин нормі. При звичайному плинні карагіненового запалення, тучні клітини руйнуються, виводячи свій секрет шляхом голокринової секреції. клітини при цьому гинуть. відновлення їх кількості популяції відбувається за рахунок міграції тучних клітин в осередок запалення з інших тканин. Поряд з цим, для підтримки тканинного гомеостазу, на 7-й день експерименту виявляється так званий апокриновий тип секреції тучних клітин безпосередньо в судини мікроциркуляторного русла. Можливо останнє і зумовлює сталість внутрішнього середовища, та реакцію інших клітин на запалення в умовах

трансплантації плаценти. Тобто, виявлені раніше зміни клітинної динаміки вогнища запалення при дії плаценти багато в чому можуть бути зв'язані зі змінами синтезу та засобів виведення секрету медіаторів ТК.

РОЗДІЛ 7

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Розвиток тканинної трансплантації як фактора, що впливає на організменний гомеостаз, відкриває нові можливості в лікуванні патологій, таких, як ішемічна хвороба серця, стабільна стенокардія та цукровий діабет, при яких, у ряді випадків, фармакологічні засоби не дають ефекту. Це спонукає до пошуку альтернативних шляхів впливу на організм із метою активації природного потенціалу відбудовних, репаративних можливостей цілісного організму [90, 94–96, 215–218, 222, 339, 397].

Плацента є високоактивною залозою внутрішньої секреції і містить велику кількість ростостимулюючих факторів, будучи природним „депо” різних біологічно активних речовин [261], що забезпечують ріст і розвиток організму плоду. Крім того, плацента є слабко імуногенним органом і має яскраво виражені імунні функції за рахунок репродуктивних протеїнів [33, 53, 288, 344].

У Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України розроблений метод кріоконсервації фрагментів плаценти, і на базі Українського Банку біологічних об’єктів накопичений банк цієї тканини. Лабораторні дослідження показують, що після кріоконсервування у тканині плаценти не відбувається зниження біологічно активних речовин, а робота в рамках Банку біологічних об’єктів дозволяє провести ретельне тестування матеріалу для забезпечення безпеки реципієнта.

Отже, ставиться проблема про системну дію при трансплантації плаценти на морфофункціогенез органів. При цьому варто з’ясувати відмінність ефектів дії нативної і кріоконсервованої плаценти. У цьому відношенні даних літератури вкрай мало, що, при врахуванні імуномодуючої і гормонопродукуючої функції плаценти, вимагає спеціального дослідження.

Нами проведено дослідження, спрямоване на вивчення тканини плаценти, яка в подальшому буде використана в якості трансплантата.

Плодова поверхня була гладкою, блискучою. Будова котиледонів залежала від особливостей гілок пуповинних артерій і місця прикріплення пуповини.

За нашими даними, прикріплення пуповинного канатика було у 78,6% випадках парацентральним, у 9,4% – центральним, у 12% – периферичним або оболонковим. Розрізняють три типи розподілу судин пуповини: магістральний, розсипний і змішаний. Найбільш поширений змішаний і розсипний типи, що спостерігається при парацентральному прикріпленні пуповини у 65,8% спостережень. Магістральний тип частіше зустрічається при периферичному або оболонковому прикріпленні пуповини у 34,2%. При розсипному типі будови основні (котиледонні) артерії першого порядку розташовуються в центральній частині стовбурної ворсини. Вони розгалужуються на 2–7 артерій другого порядку, що поділяються на більш тонкі гілки третього порядку (інтракотиледонні) і утворюють сферичну судинну систему – субкотиледон. У так званій магістральній плаценті основні артерії можуть відразу розгалужуватися на тонкі стовбури третього порядку. Васкуляризація ворсин має свої закономірності. У добре розвинутій великій ворсині утримується 10–15 судин. Спочатку судини розвиваються в центрі ворсин, а потім – по периферії. У їхніх стінках немає еластичних волокон, відсутні судини судин, і роль адвентиціальної оболонки виконує периваскулярна сполучна тканина. У стовбурних ворсинах є наявні артеріовенозні анастомози по типу замикаючих артерій.

Дрібні термінальні ворсини містять тільки капіляри (4–6), що розташовуються в незрілій плаценті центрально. У процесі росту і дозрівання ворсин капіляри починають рости ексцентрично, і в зрілій плаценті багато з них мають периферичне розташування. Вони розширюються і перетворюються в синусоїди, що займають до 2/3 обсягу ворсини.

Збільшення просвіту судин сприяє більш активному проходженню крові, що важливо для здійснення обмінних процесів.

Важливою функціональною одиницею плаценти є кінцеві (термінальні) ворсини. Їхня центральна частина представлена строною, що складається, крім колагенових волокон, із клітинних елементів (фібробласти, гістіоцити, макрофаги й ін. клітини), що мають високу ферментативну активність.

В міру прогресування вагітності площа фібриноїду в плаценті збільшується (до 10% при своєчасних родах). Кількість ворсин із дистрофічними змінами в стромі збільшується, становлячи близько 3% при доношеній вагітності. У великих ворсинах підсилюється фіброз строми.

До змін дистрофічного характеру в плаценті відносять відкладення солей. В одних випадках солі кальцію випадають у вигляді кристалів, в інших – у вигляді брилок і безформних мас. Звапнінню піддаються маси фібриноїду, тромби, інфаркти, тобто ті ділянки, де маються явища дезорганізації і некрозу.

Важливою структурною одиницею плаценти є міжворсинчатий простір. Він заповнений кров'ю, що надходить зі спіральних артерій, у яких протягом вагітності відбуваються виражені фізіологічні зміни. Кінцеві ділянки цих артерій характеризуються гіпертрофією ендотеліальних клітин, дегенерацією м'язового шару і фібринозним некрозом. У результаті цього стінка судини цілком позбавляється гладком'язових елементів і втрачає здатність скорочуватися і розширюватися.

Всі описані вище структурні елементи плаценти обумовлюють її функцію, спрямовану на забезпечення росту і розвитку плоду [88, 227].

На розрізі плацента має червонуватий колір. Епітелій має клітини зі слабо базofilною цитоплазмою, ядра клітин містять еухроматин, на мембрані є глікопротеїди. Амніон лежить на колагенових волокнах хоріальної пластинки. Мабуть, у рамках норми можуть бути деякі розширення амніон-хоріального простору, зумовлені набряком. Судини

повнокровні, навколо судин колагенові волокна. Хоріон має крупні стовбурові ворсини з центрально розташованими судинами. Біля них є фіброцити. Ворсинчате дерево представлено опірними ворсинами I, II і III порядків. Імунологічно виявлено переважно колаген I типу та, у меншій мірі, III і IV типів. Базальні мембрани судин та хоріального епітелію містять глікопротеїди з колагеном IV типу. Дефекти епітелію крупних ворсин закриті фібриною, серед якого є веретеноподібні, інколи двоядерні клітини, що вказує на адаптаційні процеси та велику інтенсивність обміну речовин. У стромі ворсин є колаген II типу. Гіперхромні ядра синцитіотрофобласту маскують крупні клітини цитотрофобласту. Відзначаються фігури мітозу, різко збільшена кількість рибонуклеопротейдів, що вказує на інтенсивний синтез білків. Велика інтенсивність обміну речовин підтверджена багатоядерністю (5–7) синцитіотрофобласту. Наявні кислі глікозаміноглікани. Відзначались малі частки інфарктів і кальцифікатів, що відповідає ознакам доношуваності. На межі між ворсинчатим простором базальна пластинка має дрібні трофобластичні клітини. Тут може бути накопичення лімфоцитів. На межі між трофобластом і децидуальною тканиною є зона коагуляційного некрозу. У центральних відділах плаценти зустрічаються дистрофічні зміни. А помірне колагеноутворення може бути пов'язане з початком склеротичних змін. Компенсаторно-пристосувальні реакції проявляються у багатоядерності, вогнищевій гіперплазії ворсин та судин, вогнищевій проліферації трофобластичного епітелію.

У цілому наявні значні відмінності адаптаційних процесів між крайовими та центральними частинами плаценти.

Плацента є місцем активного синтезу білків [126]. Показано, наприклад [310], що екстракт гомогенату містить більше число білкових фракцій, ніж, наприклад, сироватка крові пуповини, при цьому основні розходження зосереджені в ділянці преальбумінів і посттрансферинів. Відносна рухливість фракцій постальбумінової зони водорозчинних білків плаценти збігається з

рухливістю постальбумінів сироватки крові. В ділянці β -глобулінів виявлений специфічний β -глікопротеїд, концентрація якого зростає в процесі нормальної вагітності. Фізіологічна роль хориального – β -глікопротеїда пов'язана з транспортуванням стероїдних гормонів і імунодепресивним ефектом [414].

Встановлено, що плацента містить усі основні групи білків. Наприклад, протаміни – прості білки основного характеру з дуже невеликою молекулярною масою (близько 4 кДа), надзвичайно багаті аргініном (основною амінокислотою). Гістони – основні білки, з мол. мас. – 10–18 кДа, як і протаміни, містять багато аргініну (13%) й інших залишків основних амінокислот, у тому числі лізину і гістидину. Відомо, що існує кореляція між кількістю гістонів і метаболічною активністю хроматину [310], що дуже важливо для реалізації біосинтетичної активності препаратів отриманих з фетальних органів. Наприклад, при зниженні білкового синтезу різко падає кількість рибосом. При цьому синтез білка в плаценті відбувається скоріше паралельно концентрації РНК, ніж в абсолютній кількості амінокислот, включених у РНК і білок. Попередниками плодового білка є вільні амінокислоти матері, передані плодові плацентою [414].

Згідно з даними [310], у плаценті виявляється особливо багато таких вільних амінокислот, як глютамінова й аспарагінова кислоти, аланін, глютамін. Виявлено залежність між активністю плацентарного пентозофосфатного циклу, швидкістю білкового обміну і синтезу РНК на різних стадіях вагітності. Показано, наприклад, що в результаті зменшення утворення РНК і загального скорочення синтезу протеїнів відбувається ослаблення розщеплення глюкози по пентозному шляху.

У плаценті виявлена лейцинамінопептидаза [39], активність якої виявляється на початку вагітності в цитоплазмі синцитіотрофобласту, пізніше – у клітинах судин і стромі. Набагато більша кількість амінокислот, обумовлена в ретроплацентарній крові породілей, у порівнянні з кров'ю,

узятою з ліктьової вени, досить переконливо говорить про наявність у плаценті ферментів, що розщеплюють білок. Показано високу активність арилсульфатази в плаценті. При інкубації мічених амінокислот по ^{14}C з мітохондріями плаценти відзначається інтенсивне окислювання гліцину, аспарагінової і глютамінової кислот із пропорційним зниженням інтенсивності до кінця розвитку плоду.

Слід зазначити, що серед вільних амінокислот, що поставляються плодові плацентою, глютамінова кислота і глютамін заслуговують на особливу увагу, що виявляють у період внутрішньоутробного росту велику спорідненість до мозкової тканини плоду. Саме у зв'язку з цим порушення метаболізму даних речовин може бути пов'язане з виникненням патології нервової тканини. Білкова недостатність матері може стати причиною припинення розподілу клітин плаценти, порушення розвитку мозкової тканини.

Отримані дані свідчать, що плацента характеризується високим вмістом низькомолекулярних білків, які мають близьку молекулярну масу.

Нами вивчалися якісний і кількісний склад білків у плаценті, отриманій при нормальній доношеній вагітності після кесаревого розтину.

Після електрофоретичного фракціонування білків їх умовно можна розділити на 3 групи: 1) високомолекулярні з м.м. 100 кДа; як правило, такі білки є складовою частиною цитоскелету клітин, 2) білки з м.м. 30–100 кДа, які, в основному, функціонально представлені білками–ферментами, які беруть участь у забезпеченні життєдіяльності клітин і тканин, і 3) низькомолекулярні білки і пептиди з м.м. менше 30 кДа, які відносяться до тих, що секретують регуляторними або біологічно активними компонентами тканин.

У плаценті наявні три основних білкових піки, що відповідають молекулярним масам 14,5 кДа, 28,5 кДа і 67 кДа, а також фракція 55 кДа.

Білки молекулярною масою від 28 кДа і вище складають біля половини

всіх білків зразка плаценти, причому максимальна кількість їх утримується в білковій смузі, що відповідає 29 кДа.

Вміст високомолекулярних білків 50 кДа складає приблизно 30% від загальної кількості білків у зразках. Білковий пік, що відповідає молекулярній масі 67 кДа, складає близько 15% від загальної кількості білка.

Альфа-фетопротейн, який, за нашими даними, складає $584,2 \pm 150,5$ мМО/мл у плаценті, має імуносупресивну дію, що важливо для пояснення механізму невідторгнення плаценти при трансплантації.

Викладене вище дозволяє зрозуміти необхідність збереження в препаратах визначеної якісної і кількісної сполуки білків, що роблять істотний внесок у прояв їх загального клінічного ефекту.

У даний час на перший план висувається роль ліпідів, як найважливіших структурно-функціональних з'єднань [132].

У плаценті були представлені фосфоліпіди та моногліцериди, холестерин, вільні жирні кислоти, тригліцериди й ефіри холестерину.

Аналіз двовимірних хроматограм фосфоліпідів досліджуваних зразків свідчить про те, що спектр фосфоліпідів у зразках представлений такими основними фракціями, як фосфатиділхолін, фосфатиділеталамін, сфінгомієлін і фосфатиділсерін.

У плаценті виявляються також невеликі плями лізофосфатидилхоліну і цереброзидів, що представлені двома класами цих видів молекул з нормальними жирними окисними кислотами.

Наявні також плями фосфатидної кислоти – найпростішого представника природних фосфогліцеридів – і деякі не ідентифіковані фракції.

Молекули складних ліпідів володіють своєрідними фізико-хімічними властивостями, що характеризують їх як універсальний матеріал для утворення різних клітинних і субклітинних мембран і потенційно ефективних біодобавок при розвитку мембранної патології *in vivo* і в модельних системах *in vitro*.

Завдяки вмістові в молекулах складних ліпідів полярних компонентів неполярних вуглеводородних радикалів, вони можуть взаємодіяти одночасно з гідрофобним і гідрофільним оточенням і розташовуватися на межі розподілу двох фаз.

Якісний і кількісний склад ліпідів спричиняють порушення в активності мембранозв'язаних ферментів, що у свою чергу може викликати глибокі зміни всього метаболізму клітини.

Фосфоліпіди, визначені нами, у всіх досліджених препаратах, як відомо [269], беруть участь у проведенні нервового імпульсу, контролюючи транспортування катіонів через клітинні і субклітинні мембрани. Фосфоліпіди беруть участь також у транспортуванні електронів, будучи обов'язковим компонентом багатьох елементів дихального ланцюга переносу електронів: ЦХО, сукцинат-цитохром-с-оксидоредуктази, НАДН-цитохром-с-оксидоредуктази й ін. Фосфоліпіди складають близько 90% від усіх ліпідів мітохондрій, основних енергопродукованих мембранних структур клітини, і при їхньому видаленні мітохондрії втрачають здатність переносити електрони. Фосфоліпіди активують ряд ферментів, наприклад, фосфоліпази В і Д.

Моно-, ди- і тригліцериди, що утримуються в плаценті, мають велике значення в біохімічних процесах, що протікають в організмі. Установлено, що ди- і тригліцериди займають одне з центральних місць у біосинтезі таких функціонально важливих ліпідів, як фосфоліпіди, що, як указувалося вище, сприяють транспортуванню катіонів через клітинні мембрани. Вважають [92], що гліцериди беруть участь і в окислювально-відновних процесах, оскільки під час відсутності тригліцеридів порушується передача електронів по дихальному ланцюзі.

Найважливішими компонентами ліпідів, що визначають їхні фізико-хімічні властивості і функціональні особливості, є жирні кислоти.

Склад жирних кислот – це своєрідна характеристика окремих ліпідних класів і індивідуальних ліпідів, а значить – і різних властивостей виділених фетальних біопрепаратів. Наприклад, гліцероліпіди містять переважно жирні кислоти середньої довжини, насичені і ненасичені, причому в ненасичених кислотах може бути до 5–6 подвійних зв'язків. У сфінголіпідах, тобто у сфінгомієліні, цереброзидах, гангліозидах, полієнові кислоти не зустрічаються. Для цих ліпідів характерні довголанцюгові жирні кислоти, насичені і моноєнові. Специфічний також жирнокислотний склад і окремих представників ліпідів, наприклад, фосфатиділхоліну, фосфатдіетаноламіну й ін.

Як і полярні „голівки” фосфоліпідів, жирні кислоти беруть участь в інтеграції біологічних мембран, обумовлюючи їх структурні і функціональні особливості. Вуглеводородні ланцюги жирних кислот беруть участь у молекулярній організації біомембран, взаємодіючи з іншими ліпідами (наприклад, з холестеринном) і гідрофобними ділянками мембранних білків. Так називані фазові переходи, тобто трансформація подвійних ліпідних шарів у мембранах з гель-кристалічного (упорядкованого) стану в гель-рідинне (дезорганізоване), контролюються точкою плавлення жирних кислот, що входять до їхнього складу.

Отримані результати становлять інтерес з погляду, наприклад, їхнього впливу на один з основних процесів обміну організму – тканинного дихання, інтенсивність окисного фосфорилування у тканинах, тому що неорганічний фосфат, будучи складовою частиною ліпідів, – один із головних і необхідних компонентів процесу окисного фосфорилування. Металопротейди, убіхінон і цитохроми дихального ланцюга також пов'язані з її ліпідними структурами.

Таким чином, вміст у плаценті широкого спектра ліпідів різнонаправленої дії дозволяє припустити, що при введенні в організм він буде впливати не тільки на структурну організацію мембранних компонентів клітин, але й на різні метаболічні процеси.

Біологічна роль вітамінів значима, оскільки вони необхідні для плинного нормального обміну речовин. Група жиророзчинних вітамінів: А (ретинол) – за нашими даними – його вміст $0,67 \pm 0,10$ мкмоль/л, активує включення сульфатів у глікани, протеоглікани; у гепарини – поліпшуючи реологію крові; у сульфацеребрози, які беруть участь у депонуванні медіаторів нервових імпульсів і синтезу мієліну. Вітамін А є антиоксидантом і необхідний для функціональної активності ендоплазматичної мережі печінки, диференціювання епітеліальних клітин, розподілу імунокомпетентних клітин [418, 424, 434]. Вітамін Е (токоферол) – за нашими даними – його вміст у плаценті становить $120,33 \pm 2,76$ мкмоль/л, також є активним антиоксидантом, стимулює синтез гема і гемутримуючих ферментів, бере участь в активізації синтезу білків: колагену, скорочувальних білків скелетних та гладких м'язів, міокарда [306, 392, 468].

Водорозчинні вітаміни групи В: В₁ (тіамін) – за нашими даними – вміст його в плаценті складає $32,28 \pm 3,66$ нмоль/л, бере участь в окисному декарбоксиляції α -кетокислот (пірувата і α -кетоглутаратдегідрогенази) і 2-кетосахаров (транскетолази). В₆ (піридоксин) – за нашими даними – його вміст у плаценті складає $224,67 \pm 8,75$ нмоль/л, виконує трансамінування і декарбоксиляцію (багато амінотрансфераз і декарбоксилази). В₁₂ (ціанокобаламін) – за нашим даним – його вміст у плаценті складає $0,73 \pm 0,02$ нмоль/л, виконує метилірування гомоцистеїну в метіонін, перетворення метилмалоніл-СоА в сукцинат-СоА. Вітамін Д₃ (холекальциферол) – за нашими даними – його вміст у плаценті складає $100,33 \pm 9,94$ мкмоль/л, бере участь в обміні мінеральних речовин.

Таким чином, проведений аналіз показує, що в плаценті мається різний спектр, до складу якого входять водо- і жиророзчинні вітаміни.

Аналіз особливостей будови і функціонування плаценти, використаної нами для одержання препаратів, дає можливість припустити певну спрямованість дії отриманих препаратів. Це значною мірою відноситься до

вмісту в них деяких важливих для життєдіяльності людини гормонів, тому що ендокринній системі в організмі людини належить одна з основних функцій. Наприклад, імунітет, як система захисту організму від генетично чужорідного субстрату, формується і функціонує в результаті різних регуляторних впливів з боку ендокринної системи [43].

Гормони контролюють основні характеристики клітини, включаючи синтез білка, процес розподілу, функціонування мембран, концентрацію циклічних нуклеотидів, зокрема, і діяльність імунокомпетентних клітин [269, 331].

Статеві гормони включають відповідно до їх хімічної класифікації, представників двох груп: пептидні і стероїдні гормони.

Відомо, що ХГ (поліпептид) – концентрація його в плаценті складає, за нашими даними, $1100,3 \pm 16,05$ мМО/мл, відноситься до пептидних гормонів і утворюється клітинами Ланганса ворсинок плаценти. Це глікопротеїд з мол. масою близько 100 тис., містить 10% галактози і 5,2% гексозаміну. Він стимулює строїдогенез у жовтому тілі яєчника, і його інтенсивність (вміст у 1000 разів вище добової дози тропних гормонів гіпофіза) є показником активної діяльності плаценти. Концентрація ХГ найбільша на поверхні мікроворсин, клітин периферичного трофобласту і клітинних острівців [230].

До групи пептидних гормонів відноситься також пролактин, який необхідний для підтримки функції жовтого тіла. Пролактин (мамотропний гормон) – концентрація його в плаценті складає, за нашими даними – 1543 ± 151 мМО/мл, просто білок з мол. мас 24000, у якому міститься велика кількість речовин: лейцин, валін, ізолейцин, аспарагінова і глутамінова кислоти, серин, метіонін. Виходячи зі складових, пролактин має широкий спектр дії – підсилює ефект стероїдів на вторинні статеві органи в самців, має еритропоетичну, діабетогенну дію, регулює жировий обмін, разом з АКТГ нормалізує водно-сольовий обмін [331].

Другою групою гормонів, відповідно до хімічної класифікації, є стероїдні гормони, до яких відносяться плацентарні естрогени (жіночі статеві гормони). Їхній синтез може відбуватися тільки у випадку нормального функціонування плодової і плацентарної систем метаболізму. Найбільш активний естроген – естрадіол, концентрація його в плаценті складає, за нашими даними – $755,0 \pm 47,7$ пгмоль/мг. Показана [107] можливість прямого стимулювання синтезу РНК за допомогою естрогенів. В окремих роботах указується, що естрогени здатні контролювати процеси синтезу нуклеїнових кислот і білка.

До групи стероїдних жіночих статевих гормонів вагітності відноситься також і прогестерон, концентрація його в плаценті складає, за нашими даними – $325,7 \pm 110,0$ нгмоль/мг. Він виробляється в яєчниках лютеїновими клітинами жовтих тіл (плацентою), сприяє проходженню яйцеклітин через яйцепроводи й утворенню їхньої білкової оболонки, що захищає яйцеклітини. Його фізіологічна дія пов'язана, в основному, з підготовкою організму самок до вагітності і регуляції процесів зачаття, пологів і лактації. У матці він викликає секреторні зміни ендометрію. Під впливом прогестерону ендометрій підготовляється до імплантації плоду, що розвивається.

Наведений вище короткий аналіз дає уявлення про стан гормоноутворення і функціонування пептидних і стероїдних гормонів у тканині плаценти [98].

З огляду на унікальність гормонального складу й особливості функції плаценти, ми використовували її для одержання препарату. Однак через малі кількості вмісту гормонів у препаратах із плаценти, вони не можуть розглядатися як винятково гормональні, але при введенні в організм можуть впливати на метаболізм [29, 36, 165]. Розглядаючи отримані дані з погляду можливих механізмів дії гормонів (табл. 3.2) ми опиралися на існуюче у даний час уявлення про те, що рецепторний комплекс є медіатором у їхній

первинній дії на клітину [79]. Виходячи з цього, можна припустити внесок досліджених гормонів у сумарну дію препарату.

В даний час розшифрований молекулярний механізм біологічної дії пролактину. Перший етап цього процесу – специфічна взаємодія з рецепторами, що протікає в тканині молочної залози й інших органах [107]. Описано, що після зв'язування пролактину з рецептором у цитоплазматичних мембранах і ядрі індукується транскрипція РНК, необхідної для синтезу нових молекул протеїнкінази. Механізм стимуляції поки не відомий. Протеїнкіназа сприяє подальшій дії пролактину в молочній залозі шляхом фосфорилування специфічних білків у мембранах, рибосомах, хроматині.

ХГ володіє імунодепресивним ефектом на продукцію антитіл материнськими клітинами [107, 229], може виконувати роль каталізатора процесів гідроксилювання естрогенів, що збільшують активність РНК-полімерази в клітинах матки й у такий спосіб стимулюють синтез усіх фракцій РНК. ХГ, як соматотропін і прогестерон, помітно інгібує трансформацію лімфоцитів, викликану ФГА [107].

Говорячи про механізми дії естрадіолу [107] в плаценті, можна допустити не його депресивний вплив на рівні генних структур, а зміну проникності мембран різних внутрішньоклітинних систем. За сучасними уявленнями естрогени діють на клітину опосередковано через систему спеціальних рецепторів [107].

Описаний у літературі механізм дії прогестерону в тканині плаценти включає два припущення. Гормон, беручи участь у регуляції обмінних процесів, регулює механізми переносу електронів і визначає селективну проникність мембран. Крім цього відомо, що стероїди, у тому числі естрадіол і прогестерон, що входять до складу плаценти, мають анаболічну дію: вони стимулюють синтез білка в організмі, індукують біосинтез лактатдегідрогенази. Кортикостероїди стимулюють активність нуклеаз [107]. Показано також участь прогестерону й естрадіолу в регуляції жирового

обміну і контролю вмісту ліпідів. Виходячи з описаного в літературі механізму дії цих гормонів, можна також припустити, що вони гальмують лімфопоез, інгібуючи в такий спосіб мультиплікацію імунокомпетентних клітин.

У даний час встановлено, що цілий ряд речовин, синтезованих плацентою, має властивості інгібувати трансформацію лімфоцитів, викликану ФГА й іншими мітогенами. Широко відома властивість впливу на лімфопоез речовин стероїдної природи, у великій кількості синтезованих плацентою. Гідрокортизон, α -фетопротейн, специфічний трофобластичний антиген, а також естрогени, прогестерон, що містяться в плаценті, пригнічують імунітет і знижують імунні процеси у відношенні введених тканин [326].

Усі зазначені з'єднання можуть змінювати проникність клітинних мембран, синтез нуклеїнових кислот і білків.

Застосування трансплантації препаратів плаценти тісно пов'язано з вивченням їхнього хімічного складу. Наприклад, відомо [269], що мікроелементи беруть участь у регуляції обміну речовин в організмі, і їхня біологічна роль визначається тим, що вони входять до складу таких біологічно важливих речовин, як ферменти, гормони, вітаміни й ін. Іонний склад мінеральних речовин робить також істотний вплив на фізико-хімічні властивості білків, змінюючи ступінь їхньої гідратації, розчинності.

Високі концентрації атомів металів Cu, Ca і P_n у плаценті свідчать про особливості її функції [60, 135], яка направлена на корекцію метаболічних процесів при введенні в організм. Отримані результати цікаві також з погляду, наприклад, тканинного дихання, а саме — процесу окисного фосфорилування, тому що, наприклад, P_n — один з головних і необхідних компонентів процесу окисного фосфорилування. Атоми цих металів, виявлені в складі плаценти, входять до складу флавінових дегідрогеназ, що є акцепторами атома водню і здійснюють перенос водню (протонів і

електронів) від відновленого НАДН або НАДФН у дихальному ланцюзі. Наприклад, відомо також, що процес нагромадження Са й ін. двовалентних іонів заміщає собою систему переносу електронів, тому що мітохондрії в присутності Са втрачають здатність фосфорилувати АДФ до АТФ і замість цього починають накопичувати Са і Р. Ці обидва процеси залежать від рівня клітинного дихання. Наприклад, нагромадження Са й інших катіонів у мітохондріях супроводжується втратою Н [92]. Таким чином, в експериментах встановлено, що використаний нами методичний підхід, а саме – кріоконсервування тканин з використанням знижених температур, дозволяє одержати в плаценті досліджений склад і концентрацію важливих для організму макро-, олиго- і мікробіогенних елементів.

Виходячи з наведених даних, визначення складу мікроелементів має визначену біологічну цінність і є необхідним для з'ясування окремих сторін механізму дії препарату плаценти. Володіння такою інформацією дасть можливість рекомендувати його як при розладах метаболізму, так і з профілактичною метою.

Розвиток автолізу в тканині плаценти починається безпосередньо після пологів, однак темпи його розвитку трохи уповільнені в порівнянні з іншими тканинами, що і створило передумови як для гіпотермічного зберігання, так і для низькотемпературної консервації, оскільки в етапах останньої обов'язково є наявним фактор зберігання при помірних низьких температурах.

Поряд з проблемою автолітичного ушкодження тканин при низькотемпературному зберіганні знаходяться питання дослідження характеру перебудов у біологічних об'єктах, що піддавалися дії факторів низькотемпературної консервації, що пов'язано з визначенням життєздатності клітин як до застосування низьких температур, так і після розморожування.

Численні методи оцінки якості трансплантата, як правило, характеризують одну зі сторін або один із циклів життєдіяльності клітини.

Найбільше поширення одержали такі методи дослідження життєздатності такі як: вивчення проникності зовнішньої клітинної мембрани для вітальних барвників, гістохімічне визначення ферментів, скануюча і трансмісійна електронна мікроскопія, тканинне дихання, культивування клітин на штучному живильному середовищі та деякі інші. Застосування декількох методів підвищує вірогідність результатів, особливо якщо в їхнє число включається експериментальна трансплантація, що дозволяє одержати уявлення і про трансплантабельність тканини в цілому.

З огляду на викладене, ми вважали обґрунтованим застосування морфофункціональних методів дослідження й експериментальної трансплантації для вирішення поставлених завдань.

Для функціональної морфології істотний інтерес представляє виявлення окислювально-відновних ферментів у клітинах і тканинах. Особливо велике значення має застосування цих методів при вивченні гіпоксичного стану тканини, що розвивається при підготовці біологічного об'єкта до трансплантації у зв'язку з тим, що основним механізмом ушкодження при цьому є зниження споживання кисню, зміна ходу окислювально-відновних реакцій у клітині і прогресуючі руйнування внутрішньоклітинних структур.

При проведенні всіх гістоензимологічних реакцій як акцептор електронів водню був використаний нітросиній тетразолій, який, відновлюючись, утворював нерозчинний у воді осад синього кольору – диформазан. Характеристика цієї солі тетразолія наведена в монографії [113], у зв'язку з цим ми не зупиняємося докладно на її описі.

Не протиставляючи один одному два методи дослідження – біохімічний і гістохімічний – слід зазначити, що останній має ряд переваг. До числа основних із них відноситься можливість топічної локалізації ферменту

без руйнування клітини і виділення з неї внутрішньоклітинних структур, що практично обов'язково при біохімічних методах [402]. Крім того, вважається доведеним, що чутливість ферментних систем до деяких впливів різні в залежності від того, піддаються дослідженню ізольовані ферменти (або компоненти клітини, з якими вони асоційовані) або вивчається клітина в цілому, як відносно автономна одиниця, біологічна система, здатна до гомеостатичних перебудов під час дії екзогенного фактора.

Думки про те, на скільки дегідрогеназні реакції специфічні і відбивають об'єктивну активність ферментів, обговорюється в літературі досить широко [4, 113, 273]. При дотриманні визначених методичних вимог можна вважати обґрунтованим висновок про збіг понять „активність ферментів” і „цитoenзимологічна активність ферменту”, що виявляється [113, 273]. До методичних труднощів, що виникають при виконанні цитoenзимологічних досліджень відноситься облік характеру й інтенсивності реакції в препараті. На початковому етапі розвитку гістохімії як методичного підходу, що дозволяє оцінити метаболічні порушення в клітинах, оцінка кількості продукту реакції (диформазану) вироблялася візуально, із застосуванням бальної системи оцінки.

Такий метод обліку цитохімічних показників дозволив авторам об'єктизувати отримані результати і провести зіставлення активності ферментів у різних клітинних елементах, як в інтактних тканинах, так і при деяких патологічних станах. У той же час загальновідомі недоліки цього методу обліку ферментогістохімічних реакцій, що можуть значною мірою вплинути на інтерпретацію отриманих даних, оскільки не можна ставити знак рівності між кількістю гранул і кількістю продукту реакції. Крім того, іноді при зменшенні кількості зерен диформазану, що утворюються, розмір їх збільшується, що може дати помилкову картину зміни активності досліджуваного ферменту.

З огляду на викладене, нами був використаний метод кількісного цитофотометричного обліку інтенсивності цитоензимологічної реакції, що дозволило в значній мірі підвищити вірогідність отриманих експериментальних даних [34].

Для визначення ступеня автолізу тканини у зв'язку з розвитком гіпотермії визначали гістохімічну активність п'яти дегідрогеназ [323, 357]. При цьому враховували, що ЛДГ локалізована в цитоплазмі, НАДФНДГ в ендоплазматичній сітці, а СДГ, α -ГФДГ, НАДНДГ на внутрішній мембрані мітохондрій. При кріоконсервації найбільш знижувалась активність ферментів не мітохондріального походження (ЛДГ на 21% і НАДФНДГ на 16% за 2 дні гіпотермії). Мітохондріальні ферменти суттєво не змінили активності, а для НАДНДГ вона навіть трохи збільшилася. Отже, можна вважати, що проявляються деякі порушення процесів гліколізу.

Використання диметилсульфоксиду в якості кріопротектора майже не змінило активності більшості ферментів, але суттєво збільшило активність НАДНДГ. Слід відзначити, що просто тимчасове зберігання у контрольній групі плаценти з додаванням кріопротектора теж сприяло підвищенню активності всіх досліджених ферментів, окрім НАДНДГ. Можна вважати, що диметилсульфоксид сприяє транспортуванню крізь мембрани субстратів цих ферментів.

У відношенні α -ГФДГ є пояснення стабілізації її активності, пов'язане з активуючим впливом тироксину, який, як показано нами, є в плаценті.

Таким чином, гіпотермію кисень-залежні ферменти витримують краще, ніж анаеробні, такі, як ЛДГ.

Розглядаючи розходження в поведженні ферментів при низькотемпературному консервуванні зразків нативної й обробленої кріопротектором плаценти, варто звернутися до результатів проведених досліджень [355, 356] про вплив кріопротектора Me_2SO на активність окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти. Було встановлено,

що експозиція в розчині кріопротектора Me_2SO приводить до істотного збільшення активності усіх ферментів (за винятком НАДФ, зміна активності якого статистично не вірогідна) на 17–49%, а саме: СДГ – на 17, ЛДГ – на 28, а-ГДФГ – на 49 і НАДНДГ – на 28%.

Аналіз наведених вище результатів дозволив запропонувати наступний механізм дії кріопротектора на протікання і результат гістохімічних реакцій. Будучи проникаючим кріопротектром, Me_2SO , вступаючи у взаємодію із субстратом або барвником, забезпечує краще проникнення цих речовин у різні тканинні структури, що забезпечує їхній доступ до активних центрів ферментів, а це приводить до збільшення кількості продукту гістохімічної реакції – диформазану.

Після того, як проникаючий кріопротектор Me_2SO забезпечив доступ субстрату і барвника до ферментів і створив оптимальні умови гістохімічної реакції, процедура заморожування-розморожування не призводить до істотної зміни кінетики гістохімічних реакцій і, як наслідок, спостерігається відсутність достовірних розходжень активності ферментів між групою зразків плаценти після обробки кріопротектором і обробки кріопротектором при заморожуванні-розморожуванні.

Заморожування зразків нативної плаценти без захисту кріопротектора призводить до часткового ушкодження цілісності цитоплазматичних мембран, що приводить до поліпшення проникності тканинних структур для субстрату і барвника і, як наслідок, зміни в кінетиці гістохімічних реакцій, що, у свою чергу, збільшує кількість продукту реакції – диформазану.

Таким чином, можна стверджувати, що дія низькотемпературного консервування на активність окислювально-відновних ферментів у тканині плаценти аналогічна дії на цю тканину проникаючого кріопротектора Me_2SO .

У результаті при розгляді зразків плаценти після низькотемпературного консервування різними способами (без кріопротектора і під його захистом) не спостерігається достовірних розходжень у вмісті диформазану в

препаратах із усіма ферментами, за винятком препаратів з НАДНДГ, де концентрація диформазану в зразках консервованих під захистом Me_2SO на 44% перевищує рівень його концентрації в зразках консервованих без кріопротектора. Можливо, це обумовлено наявністю деяких відмінностей у зміні проникності тканинних структур для різних субстратів під дією кріопротектора і низьких температур.

Результати однофакторного аналізу, проведеного для виявлення ступеня впливу різних способів кріоконсервування фрагментів плаценти на активність окислювально-відновних ферментів (табл.4.2), так само вказують на те, що спосіб консервування впливає на зміну активності тільки НАДНДГ (у $14,4 \pm 0,3\%$ випадках), а для інших досліджених ферментів вплив фактора застосування різних способів кріоконсервування на зміну активності ферментів є статистично не достовірним – $P > 0,05$.

Суттєвим руйнуючим фактором у переживаючих клітин є посилення неферментативного вільнорадикального перекисного окислення. Літературні джерела про вплив кріоконсервованої плаценти на стан ВРПО та АОЗ при кріоконсервації дуже скупі. В наших дослідженнях оцінювався вміст первинних, вторинних та третинних продуктів ВРПО при різних режимах низькотемпературного зберігання. Одночасно у цих плацентах за допомогою гістохімічних реакцій визначали активність анаеробних дегідрогеназ, вміст білка та ключових білкових та стероїдних гормонів. Отримані дані співпоставляли між собою [98, 279, 327, 335].

Дослідження процесів ПОЛ показало, що при зберіганні в умовах 1 доба -196°C і 1 рік при -20°C (5-а серія) проходить зниження подвійних зв'язків на 35%, при збільшенні первинних продуктів пер оксидації в 1,5–2 рази. Збільшується в умовах 2-ї і 5-ї серії дослідів вміст МДА, шиффових основ, при максимальному зниженні концентрації глутатіона. Ці дані вказують на різний характер зміни системи ВРПО-АОЗ при різних режимах кріозберігання.

При зберіганні плаценти одну і дві доби при 4°C, тобто в умовах близьких до 2 серії дослідів, найбільш суттєві зміни виявляються у вигляді зниження активності ЛДГ-гліколізу, НАДФНДГ мікросомальної ланки окислення, та в деякому посиленні активності НАДНДГ (мітохондріальної ланки окислення). Можливо, ці різнонаправлені зміни підвищують утилізацію кисню в мітохондральному окисленні та знижують рівень мікросомального окислення. Звідси можуть витікати кисневі радикали та руйнуватись стероїдні гормони. Звісно, найбільш вірогідною причиною гальмування біохімічних процесів при зниженні температури є зменшення швидкості доступу субстрату до ферменту.

Таким чином, найбільше достовірне посилення ВРПО у тканинах плаценти відбувалося при збереженні її 1 добу при – 4°C (2-а серія) і 1 добу при –196°C, а потім 1 рік при –20°C (5-а серія). Очевидно, при 4°C біохімічні процеси послабляються, сповільнюється дифузія субстратів до ферментів, що створює умови для альтернативного неферментативного процесу ВРПО. В умовах швидкого заморожування до –196°C в плінні 1-єї доби з наступним збереженням зразків 1 рік при –20°C не виключена деструкція кристалами льоду мембран клітин в умовах ультранизких температур з наступним ушкодженням клітинних структур під час тривалого зберігання при –20°C. У цих умовах збільшується їхній контакт зі зв'язаним, розчиненим у біосередовищах і оточуючим тканину киснем. При цьому можливий контакт O₂ з іонами заліза, ферментів і індукція утворення активних форм кисню. Утворені продукти ПОЛ можуть бути стресинами, факторами променевої патології, тобто бути токсикантами організму і деструктуючими факторами у відношенні біологічно активних речовин трансплантованої плаценти [179].

Температурні умови 4-ої серії (1 доба –20°C, а потім 1 рік –196°C), створюють умови майже повного припинення всіх біохімічних окисних процесів, у тому числі ПОЛ. Слід зазначити, що ці умови збереження є найсприятливішими. Деяке збільшення продуктів ВРПО в цих серіях дослідів

може викликати деструкцію білків, даючи слабкі антигени, що може стимулювати імунну систему реципієнта.

Таким чином, зберігання плаценти при температурі -20°C , а потім з переносом у рідкий азот (-196°C) привводить до мінімальних біохімічних порушень у тканині на рівні ліпопероксидації, розвитку ПОЛ, збереженню значною мірою біологічно активних речовин і білка.

Важливу інформацію про процеси ліпопероксидації в тканині плаценти дає відносний вміст первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ (табл. 4.6), який демонструє нам близькі до контрольних значень величини у випадку використання режиму знаходження плаценти при -20°C і наступним зануренням у рідкий азот. На активацію процесів пероксидації фосфоліпідів у тканині плаценти вказує збільшення відносних показників ДК/ПЗ, ТК/ПЗ, ОДК/ПЗ, ДК/ОДК і ШО/ПЗ у порівнянні з контролем.

Найбільш виражені метаболічні зміни в тканинах плаценти характерні при її зберіганні протягом 1-ї доби при 4°C (2-а серія) і 1 доба при -196°C з наступним зберіганням 1 рік при -20°C (5-а серія). Виходячи з відсутності вірогідних змін досліджуваних показників, найбільш оптимальними способами низькотемпературного зберігання плаценти є її витримування 1 добу при -20°C (3-а серія) і 1 доба при -20°C з наступним зберіганням 1 рік при -196°C (4-а серія).

Таким чином, руйнацію внутрішньоклітинних структур спочатку забезпечують процеси ПОЛ мембран, в тому числі й мембран лізосом, а потім в умовах гальмування ЛДГ накопичується молочна кислота, яка створює умови для функціонування ферментів автолізу з лізосом. Вважаємо, що найбільш виражено ці процеси проходять при повторних циклах заморожування-розморожування.

Вміст білка в цих серіях кріоконсервування та зберігання практично не відрізняється від норми. Але білковий гормон пролактин суттєво зменшувався в умовах 1 доба при 4°C (2-а серія) і 1 доба -196°C і 1 рік при

-20°C (5-а серія). У цих же серіях найбільш суттєво зменшився вміст тестостерону та кортизолу (63% і 54% відповідно).

Можливо, в розпаді цих стероїдних гормонів велике значення відіграє відновлення за допомогою НАДФН-2, який у свою чергу виснажує активність НАДФНДГ.

Слід підкреслити, що при зберіганні в умовах 1 доба при -20°C (3-а серія) і 1 доба -20°C і 1 рік при -196°C (4-а серія) вміст пролактину, тестостерону і кортизолу у плаценті зменшується помірно, враховуючи, що вміст білка суттєво та вірогідно не зменшився. Можна вважати помірним зменшення інших БАР білкової природи, таких як АФП, пептидні гормони.

Таким чином, біохімічними та гістохімічними дослідженнями доведено, що найбільш зберігаючими умовами кріоконсервації є 1 доба при -20°C (3-я серія дослідження) та 1 доба -20°C , а потім 1 рік -196°C (4-а серія дослідження). В умовах 2-ої та 5-ої серії дослідження проявляються необоротні зміни, посилення руйнівних процесів перекисного окислення, що призводить до гальмування ключових ферментів головних шляхів обміну інактивованих гормонів та, мабуть, інших біологічно активних речовин.

В останні роки у світовій практиці й на Україні все більшого поширення набуває використання фетальних і плацентарних тканин. Розширюється галузь їхнього застосування при різних патологічних процесах у випадках неефективності стандартних методів лікування. Підшкірна трансплантація плаценти справляє виражений стимулюючий вплив на різні органи і системи, що пояснюється наявністю в її тканині великої кількості фетальних білків, факторів росту, цитокінів, інтерлейкінів. Дані літератури свідчать, що серед ембріональних білків великої уваги заслуговує α -фетопротейн (АФП) як багатофункціональний білок із селективною клітинною стимулюючою активністю. Зв'язування АФП із мембранними рецепторами є стимулом для росту і проліферації клітин. Виявлена атерогенна функція фетальних тканин [1, 96].

Розглядаючи отримані результати, з погляду можливих ушкоджень і проявів фізіологічної регенерації [74, 78, 89, 261] при трансплантації фрагментів нативної і кріоконсервованої плаценти і дії екзогенного подразника (розріз) [35, 307], виявлено, що у групі тварин (контроль з розрізом) протягом усіх термінів спостереження, гістоструктура досліджених органів достовірно не відрізняється від контролю [420].

Дослідження фізіологічних механізмів регуляції росту тканин дозволили знайти факт наявності в органах і тканинах факторів, що специфічно впливають на ріст органів і тканин [169]. Вони були виявлені за здатністю трансплантатів, гомогенатів і екстрактів тканин вибірково впливати на ріст відповідних органів при введенні в організм у постнатальному періоді [293].

Печінка. Трансплантація нативної і кріоконсервованої плаценти [326, 332, 334, 336] в ранній термін спостереження виявляє стимулюючий ефект на стромальні і паренхіматозні елементи в печінці, що супроводжується посиленням порталльної гемодинаміки, розширенням синусоїдних капілярів. Купферові клітини при цьому збільшені в розмірах, мають зірчастий вигляд і, нерідко, перетворюються у вільні макрофаги, що свідчить про потенційні можливості захисної функції печінки.

При ТКП і ТНП в ранній термін спостереження (до 14 доби) виявлена виражена реакція паренхіми у вигляді збільшення кількості двоядерних клітин. Це свідчить про те, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з регенераційними процесами, без збільшення маси печінкових клітин.

Морфофункціональний стан паренхіми печінки характеризується великими, активно функціонуючими гепатоцитами з округлими світлими ядрами і рівномірно розташованим хроматином. Ознак репаративної регенерації не спостерігається, оскільки низький індекс мітозів гепатоцитів не відрізняється від контролю.

Виявлене нами достовірне збільшення (14 доба) двоядерних гепатоцитів, а потім їх достовірне зменшення (60 доба) свідчить про активізацію адаптаційних та фізіологічних процесів у печінці.

Алотрансплантація нативної і кріоконсервованої плаценти стимулює структурні елементи печінки, які відповідають за трофічну, захисну та інші функції органа, не викликаючи їхніх ушкоджень. Важливо відзначити, що в печінці не спостерігається розростання міжчасточкової сполучнотканинної основи навіть до кінця експерименту (60 доби). Це характеризує стійкий баланс стромально-паренхіматозних відносин при ініціації різноманітних функцій органа за рахунок дії ряду вільних біологічно активних компонентів, що знаходяться в складі кріоконсервованого фрагмента.

Морфологічна характеристика препаратів дозволила також зробити висновок, що кількість „темних” і „світлих” клітин на протязі експерименту варіює. У літературі „темні” і „світлі” клітини печінки розглядаються як клітини, що знаходяться в різному функціональному стані [174, 305]. У „світлих” клітинах відбувається інтенсивна секреторна діяльність, яка супроводжується зростанням їхньої фосфорилуючої функції [333]. Завершується процес просвітлення цитоплазми набряканням і редукцією кріст у мітохондріях. „Темні” клітини – це молоді часточки, які знаходяться у стані відносного спокою, але в міру наростання метаболічних процесів – клітини просвітлюються [161, 385]. Збільшення кількості „темних” гепатоцитів свідчить про помірний плин процесів фізіологічної регенерації. До кінцевого терміну спостереження гістоструктура печінки приймає свій звичайний морфофункціональний стан.

Таким чином, відповідь на введення в організм експериментальних тварин кріоконсервованого і нативного фрагментів плаценти в системі алотрансплантації відбувається інтенсифікація фізіологічної регенерації структурних елементів печінки, що відповідають за трофічну, захисну й інші

функції органа, не викликаючи їхніх ушкоджень. Причому, ТКП дає більш виражену реакцію структурних елементів печінки, ніж ТНП.

Селезінка. При трансплантації фрагментів нативної і кріоконсервованої плаценти [328, 333, 336] структурні елементи селезінки переживають велику функціональну напругу, більше виражену в ранні терміни спостереження. Вона проявляється у потовщенні капсули за рахунок збільшення колагенових і еластичних волокон, з частковою фрагментацією.

Виявлена виражена реакція паренхіми селезінки, яка характеризується змінами у співвідношенні червоної і білої пульпи. При трансплантації плаценти в ранні терміни дослідження (2–14 діб) відзначається збільшення білої пульпи за рахунок відносного зменшення червоної. Установлено також збільшення кількості лімфатичних фолікулів білої пульпи, а це свідчить, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з активізацією фізіологічної регенерації.

Можливо, це пов'язано з реакцією органа на антигени, в результаті чого виробляються лімфоцити, а також незрілі і зрілі плазматичні клітини.

Таким чином, у ранні терміни орган активно реагує на трансплантацію плаценти, причому кріоконсервована плацента викликає більш виражену відповідну реакцію, ніж нативна.

Наднирники. Під впливом факторів при трансплантації нативної і кріоконсервованої плаценти [97, 324, 325, 333] зона коркової речовини може значно розширюватися за рахунок периферичних і більш глибоко лежачих шарів.

Прийнято вважати, що клітини коркового шару наднирників проходять визначений цикл розвитку, який починається в клубочковій зоні, продовжується в пучковій і закінчується сітчастою зоною [294]. Гормони на шляху реалізації своєї функції вступають у довгий ланцюг обмінних відносин, включаючи обмін у крові і тканинах, обмін між специфічно зв'язаним у цитоплазмі клітин і позаклітинним гормоном, між похідними

гормону різної інтенсивності і незворотних метаболічних перетворень молекул гормону, перехід гормону і його метаболітів в органи виведення [40].

На прикладі інфаркту міокарда було показано, що система реагування піддається змінам досить швидко. Уже через годину після експериментально викликаного інфаркту відзначена гостра гіпертрофія клубочкової зони, вона стає ширшою, губиться чіткість її межі із пучковою зоною. Клітини клубочкової зони за своїми розмірами і виглядом стають близькі до світлих великих клітин пучкової зони. Мозковий шар при цьому чітко виражений, клітини його зі світлою цитоплазмою [172]. У міру розвитку патологічного процесу продовжувалася перебудова коркового шару з гіпертрофією клубочкової зони і її ядер.

Таким чином, трансплантація нативної і кріоконсервованої плаценти викликає активацію секреторних елементів наднирника, яка проявляється в ранній термін спостереження (7–14 діб). Причому, ТКП проявляє більш виражену реакцію з боку структурних елементів наднирника, ніж ТНП.

Яєчники. При трансплантації фрагментів нативної і кріоконсервованої плаценти [330, 333, 420] структурні елементи яєчника переживають функціональну напругу, більше виражену в ранні терміни спостереження (2–14 діб). Більше виражена реакція структурних елементів у відповідь на трансплантацію нативної і кріоконсервованої плаценти пов'язана, очевидно, із впливом глибоких низьких температур і частковим руйнуванням зсередини і зовні клітинних структур, тобто на введення з тканиною плаценти великої кількості біологічно активних речовин, гормонів і інших факторів [389].

Виявлена виражена реакція структурних елементів яєчника у вигляді збільшення кількості фолікулів та незначної функціональної стимуляції строми. Це свідчить про те, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з активізацією фізіологічної регенерації.

Тимус. При трансплантації фрагментів нативної і кріоконсервованої плаценти [329, 333] структурні елементи тимуса переживають функціональну напругу, більше виражену в ранні терміни спостереження (2 – 14 діб). Причому, ТКП викликає більш виражену реакцію з боку структурних елементів тимуса, ніж ТНП. Можливо, це пов'язано з реакцією органа на БАР, які знаходяться у великій концентрації у тканині плаценти [307].

Таким чином, при трансплантації кріоконсервованої і нативної плаценти в ранній термін спостереження виявлена виражена реакція структурних елементів тимуса у вигляді збільшення кількості мітозів, макрофагів, судин у міжчасточкових перегородках та незначної функціональної стимуляції стромы, яке свідчить, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з активізацією фізіологічної регенерації.

Результати дослідження впливу плаценти на клітинні реакції вогнища запалення і периферичної крові [337, 338] показують, що при застосуванні трансплантації плаценти помітно пригнічується нейтрофільна і підсилюється макрофагально-фібробластична реакція. З огляду на ведучу роль нейтрофілів у розгортанні, а моноцитів-макрофагів і фібробластів – у стиханні запалення [138], можна вважати, що в даному випадку протизапальний ефект полягає в обмеженні альтеративних і посиленні репаративних явищ і захисно-приспосувальній ролі запалення в цілому.

Механізм протизапального впливу трансплантації плаценти, очевидно, пов'язаний із впливом гормонів, які утримуються в ньому, прогестерону, естрадіолу, пролактину, гонодотропіну. Вони можуть впливати на „клітини запалення” (лейкоцити, тканинні макрофаги, фібробласти, тучні клітини, ендотеліоцити), кістковий мозок, мікроциркуляцію, як безпосередньо (через специфічні рецептори), так і опосередковано через медіатори і відповідні рецептори для останніх. В обох випадках цей вплив опосередковується змінами концентрації внутрішньоклітинних циклічних нуклеотидів, ферментних систем, іонів, функціонування іонних транспортних систем і т.п.

Так, естрогени збільшують число моноцитів у крові і їхню продукцію в кістковому мозку [251], проліферацію макрофагів [369] і їхню функціональну активність [354]. Естрадіол гальмує синтез макрофагами макрокортину, що гнітить вивільнення протизапальних арахідонової кислоти й ейкозаноїдів [210], які діють головним чином за рахунок лейкоцитарної інфільтрації [151]. Гормони є індукторами біосинтезу ряду ферментних білків, і, у свою чергу, мають істотне значення в саморегуляції лейкоцитарної інфільтрації при запаленні [144]. Фібробласти мають рецептори для естрогенів і реагують на дію гормонів підвищенням синтезу білків [48]. Крім того, статеві гормони, зокрема естрогени, стимулюють проліферацію фібробластів [404]. Одночасно статеві гормони, через вазоактивні медіатори і модулятори запалення, регулюють мікроциркуляцію і підвищують судинну проникність [129], що є сприятливою умовою лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення [138]. Тканинним препаратом властивий виражений антиоксидантний ефект, і їхня протизапальна дія, що виражається в змінах клітинної динаміки вогнища запалення і лейкоцитарної реакції крові, може бути пов'язана з усуненням прозапальної модуляції реакцій системи крові активними формами кисню і продуктами перекисного окислювання ліпідів [151], унаслідок стимуляції фізіологічної антиоксидантної системи [13].

Отже, трансплантація плаценти модулює плин запалення, що, як відомо, є триєдністю реакцій системи крові, мікроциркуляторного русла і сполучної тканини [45, 103, 188, 316]. Це, у свою чергу, виражається у відповідних змінах клітинного складу вогнища запалення і лейкоцитарної реакції периферичної крові і, в остаточному підсумку, сприяє більш швидкому завершенню запалення.

Трансплантація плаценти викликає посилену дегрануляцію тучних клітин (ТК) під час запалення, особливо на 3-ю і 7-у добу, менше виражене зниження і більш раннє відновлення їх кількості, тобто стимулює секрецію і синтез біологічно активних речовин ТК [338].

Як відомо, ТК відіграють дуалістичну роль у патогенезі запалення, викликаючи, поряд із протизапальними судино-ексудативними ефектами, протизапальні клітинні. Продукти тучних клітин, особливо гістамін і серотонін, є одними з основних медіаторів негайної фази підвищення проникності судин (ПС) вогнища запалення [145]. Через лейкоцити ТК беруть участь у регуляції ПС в уповільненій фазі її підвищення [103, 135]. Установлено, що вплив модулює інфільтративні і репаративні явища при запаленні. ТК пригнічують нейтрофіли і стимулюють моноцити і фібробласти. У механізмах цього впливу мають значення головним чином гістамин, а також серотонін і гепарин; при цьому гістамін діє на нейтрофіли в основному через H_2 -рецептори, на моноцити – через H_1 -рецептори, на фібробласти – через H_1 - і H_2 -рецептори [140, 146, 147, 149, 150].

Одним із можливих механізмів протизапальної дії трансплантації плаценти може бути посилення секреторної активності тучних клітин під впливом естрогенів. Показано, що статеві гормони через вазоактивні медіатори і модулятори запалення регулюють мікроциркуляцію і судинну проникність [259], тобто ексудацію, що, у свою чергу, позначається і на лейкоцитарній інфільтрації вогнища запалення.

З іншого боку, лейкоцити справляють на ТК регулюючий вплив, у механізмах якого відіграють роль лізосомальні ферменти, активні форми кисню, циклооксигеназні і ліпооксигеназні ейкозаноїди [136, 141–143]. ТК і лейкоцити взаємодіють у регуляції запальних явищ [135].

Таким чином, виявлені раніше зміни клітинної динаміки вогнища запалення при дії трансплантації плаценти багато в чому можуть бути пов'язані зі змінами синтезу і секреції медіаторів ТК.

ВИСНОВКИ

Гіпотермічний та низькотемпературний вплив на тканину плаценти викликає різного ступеня вираженість змін, які обумовлені режимами охолодження і зберігання; на підставі отриманих даних удосконалений метод низькотемпературного збереження, а експериментальна трансплантація свідчить, що реакція введених в організм реципієнта біологічно активних речовин реалізується через складні механізми взаємодії біологічно активних речовин плаценти і структурно-функціональним профілем досліджуваних внутрішніх органів.

1. Гіпотермічне зберігання плаценти при $t^{\circ} 4^{\circ}\text{C}$ терміном дві доби (перший підготовчий етап при проведенні кріоконсервування), а також застосування в якості кріопротектора диметилсульфоксиду не призводить до істотного порушення активності дегідрогеназ у тканинах плаценти людини. Спостерігається лише невелике порушення процесу гліколізу та перекисного окислення ліпідів. У процесі кріоконсервування активуються ферменти обмеженого протеолізу, які здатні частково розщеплювати білок, у тому числі і пролактин, що може бути обумовлено розривом кристалами льоду лізосом. Відзначається вірогідне зниження концентрації ряду гормонів (пролактин, тестостерон, кортизол), при цьому в досліджених зразках плаценти, що піддані зберіганню при різних температурах, та варіантах кріоконсервування не спостерігається достовірних змін концентрації білка.

2. Найбільше достовірне посилення вільнорадикального перекисного окислення в тканинах плаценти відбувалося при зберіганні її в умовах дослідів: 1 добу при 4°C (2-а серія) і 1 добу при -196°C , а потім 1 рік при -20°C (5-а серія). Відносний вміст первинних, вторинних і кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів характеризується близькими до контролю значеннями у випадку використання режиму знаходження плаценти при 1 добу при -20°C (3-а серія) та 1 добу при -20°C з наступним

зануренням у рідкий азот на 1 рік (4-а серія). Це свідчить про те що умови кріоконсервування в 3 та 4 серіях є оптимальними в порівнянні з умовами 2-ї та 5-ї серії. На підставі отриманих експериментальних даних оптимізований технологічний процес низькотемпературного довгострокового зберігання плацентарної тканини з урахуванням її структурно-функціональних характеристик, результатів дослідження ферментативних гістохімічних показників і перекисного окислення ліпідів.

3. При морфологічному дослідженні плаценти встановлено: збільшення в крайовій зоні стромальних елементів та щільне розташування ворсин, кількісне збільшення в центральній зоні судинно-нервового та залозистого компонентів, що дозволяє визначити оптимальні ділянки, які володіють найбільшою функціональною активністю, що необхідно враховувати при підготовці матеріалу для подальшого використання в якості трансплантаційного матеріалу.

4. У плаценті, що вилучена внаслідок кесаревого розтину, при нормально доношеній вагітності, переважають середньо- і низькомолекулярні білки. Кількісний вміст α -фетопротейну досягає $584,3 \pm 150,4$ мМО/мл, що важливо для здійснення механізму імуносупресивної дії фетоплацентарних препаратів. Ліпідний склад плаценти включає фосфоліпіди, моногліцеріди, тригліцериди, цереброзиди, тобто широкий спектр біополімерів різнонаправленої дії з впливом не тільки на структуру мембранних компонентів клітин, а й на різні метаболічні процеси. У плаценті знаходяться водо- та жиророзчинні вітаміни (А, Е, В₁, В₆, В₁₂, Д₃), широкий спектр гормонів (пролактин, тестостерон, кортизол) та мікроелементів (мідь, цинк, залізо, магній, калій, натрій, кальцій, фосфор). Тому плацента є джерелом різноманітних біологічно активних речовин.

5. Введення алогенної плацентарної тканини (нативної і кріоконсервованої) в організм експериментальних тварин стимулює функціональну активність органів за рахунок біологічно активних речовин,

гормонів і інших факторів, що знаходяться у великих концентраціях у тканині плаценти. При цьому переважають адаптивні процеси в структурних елементах печінки, селезінки, тимуса, наднирників, яєчників. На трансплантацію кріоконсервованої плаценти організм відповідає активною реакцією, яка проявляється в ранні терміни спостереження (7–14 діб). У пізні терміни дослідження (60 діб) ця реакція суттєво не відрізняється від контролю, в той час як трансплантація нативної плаценти у пізні терміни дослідження викликає більш виражену, кількісно і якісно, реакцію з боку структурних елементів.

6. У печінці експериментальних тварин стимулюючий ефект на стромальні і паренхіматозні елементи супроводжується посиленням портальної гемодинаміки, розширенням синусоїдних капілярів. Купферові клітини збільшені в розмірах, мають зірчастий вигляд і, нерідко, перетворюються у вільні макрофаги. Встановлено адаптивне збільшення кількості двоядерних клітин. Кількість „темних” і „світлих” клітин на протязі експерименту варіює. У печінці не спостерігається розростання міжчасточкової сполучнотканинної основи в термін експерименту. Тобто, виражені потенційні можливості захисної функції печінки, які проявляються без збільшення маси печінкових клітин і ознак їх пошкодження.

7. У селезінці реакція структурних елементів проявляється у потовщенні капсули за рахунок збільшення колагенових і еластичних волокон, з частковою фрагментацією. Виявлена виражена реакція паренхіми селезінки, яка характеризується змінами в співвідношенні червоної і білої пульпи, відзначається збільшення білої пульпи за рахунок відносного зменшення червоної. Встановлено збільшення кількості лімфатичних фолікулів білої пульпи, що пов'язано з реакцією органа на введення алогенної тканини, в результаті чого посилюється вироблення лімфоцитів, а також незрілих і зрілих плазматичних клітин.

8. У наднирниках відзначена гіпертрофія клубочкової зони, губиться

чіткість її меж з пучковою зоною. Ця зона може значно розширюватися за рахунок периферичних і більш глибоко лежачих шарів. Клітини клубочкової зони за своїми розмірами і виглядом стають близькі до світлих великих клітин пучкової зони. Мозковий шар чітко виражений, клітини його мають світлу цитоплазму. В цілому це може свідчити про те, що введення плаценти модулює синтез секрецію стероїдних гормонів та катехоламінів у наднирниках.

9. Виявлена виражена реакція структурних елементів яєчника яка проявляється у вигляді збільшення кількості первинних фолікулів. У вторинних фолікулах стінка представлена 3–5 шарами клітин, які оточують порожнину з фолікулярною рідиною, виявляються третинні (граафові) фолікули. Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі й дисперсні, ядерця добре виражені. Сполучнотканинна основа мозкової речовини представлена фрагментованими еластичними волокнами, між якими розташовуються гілусні клітини, та звивистими спіральними артеріями і венами.

10. Реакція структурних елементів тимуса проявляється у вигляді потовщення сполучнотканинної капсули (фрагментація колагенових та еластичних волокон), збільшення кількості судин у перегородках між часточками, в корковій речовині – збільшена кількість мітозів клітин, макрофагів. Епітеліоретикулярні клітини при цьому мають вигляд світлих, оксифільних, зі світлим ядром, великим ядерцем клітин. У мозковій речовині збільшується кількість тілець Гассаля в міжклітинному просторі.

11. При експериментальному запаленні застосування вихідних плаценти дозволяє нормалізувати клітинні реакції у вогнищі запалення і стан периферичної крові. Це проявляється у вірогідному пригніченні нейтрофільної і підсиленні макрофагально-фібробластичної реакції в більш короткі (різниця в 2-і доби) терміни у порівнянні зі звичайним плином запалення. Тобто, протизапальний ефект плаценти проявляється в обмеженні

альтеративних і посиленні репаративних явищ. Зміни клітинної динаміки вогнища запалення багато в чому можуть бути пов'язані зі змінами синтезу і секреції медіаторів тучних клітин особливо на 3–7 добу запалення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ:

1. Абелев Г.И. Альфа-фетопротеин: Биология, биохимия, молекулярная генетика // Иммунология. – 1994. – № 3. – С. 4-9.
2. Абелев Г.И. Альфа-фетопротеин – взгляд в биологию развития и природу опухолей // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 9. – С.8-13.
3. Абрамченко В.В., Костюков Е.В., Щербина Л.А. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. – СПб.: Logos, 1995. – 115 с.
4. Автандилов Г.Г. Проблемы патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. – М.: Медицина, 1984. – 228 с.
5. Александров П.Н., Сперанская Т.В. Динамика карагиненового воспаления в условиях введения оксибутирата лития // Бюлл. экспер. биологии и мед. – 1988. – Т. 106, № 8. – С. 233-235.
6. Алексеенко А.В. Роль липидов и продуктов перекисного окисления в биосинтезе и функциональной активности ДНК // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. – М.: Наука, 1981. – С. 3-16.
7. Алексеенко А.В. Роль липидов и продуктов перекисного окисления в биосинтезе и функциональной активности ДНК // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. – М.: Наука, 1981. – С. 3-16.
8. Алферов А.Н., Гриневич Ю.А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. – 1981. – №3. – С. 439-496.
9. Анишин А.Ю., Козлова М.В., Блитченко Ю.А. Опиоидные пептиды увеличивают выживаемость нервной ткани плода человека после криопрезервации в культуре // Бюлл. экспер. биологии и мед. – 1994. – Т. 117, № 4. – С. 408-411.
10. Аношина М.Ю., Суховий М.В., Ющенко П.В., Яговдик М.В. Свободнорадикальное окисление липидов и стойкость к гемолизу эритроцитов у больных гемофилией в патогенезе развития осложнений болезни // Лаб. диагностика. – 2000. – №1. – С.12-15.

11. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зубикина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы в организме. – СПб.: ИФК «Фолиант», 2000. – 104 с.
12. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. – М.: Наука, 1975 – 327 с.
13. Аряев Н.Л. Хемилюминисценция плазмы крови и активность супероксиддисмутазы у детей первого года жизни, больных пневмонией, в условиях антиоксидантной и тканевой терапии. – В кн.: Тканевая терапия. – Одесса, 1983. – С. 10-12.
14. Аутеншлюс А.И., Рудаков С.Ю., Пак Н.А. Динамика показателей иммунного статуса онкологических больных в процессе терапии препаратами фетального происхождения // Бюлл. экспер. биологии и мед. – 1997. – Т. 123, № 4. – С. 576-578
15. Афонина Г.Б. Участие липидов в регуляции цитокинов // Імунол. та алергологія. – 2000. – № 2-3. С. 7-16.
16. Бабаева А.Г., Зотиков Е.А. Иммунология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений. – М.: Наука, 1987. – 207 с.
17. Баланчук О.В. Материалы по гистохимии углеводов и белков в тканях плаценты человека: Автореф.дис...канд.мед.наук. – Новосибирск, 1967. – 27 с.
18. Банкова В.В. Роль малонового диальдегида в регуляции перекисного окисления липидов в норме и патологии. Автореф.дис...д-ра биол. наук. М., 1990. – 38 с.
19. Барабай В.А., Брехман И.И. Перекисное окисление и стресс. – СПб.: Наука, 1992. – 148 с.
20. Барабай В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 2 части. – 422 с.
21. Бахметьева Б.А., Лихачева Н.С. Влияние соматотропного гормона на функции фагоцитирующих клеток человека // Пробл. эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 3. – С. 25-28.

22. Белоенко Е.Д., Никитин И.Г. Влияние препаратов из плаценты человека на репаративный остеогенез // Здоровоохр. Белоруссии. – 1996. – №12. – С. 16-18.
23. Белокрылов Г.А., Туровский В.С. Влияние различных субклеточных фракций из коры сингенного головного мозга на клеточные и гуморальные показатели иммунитета у взрослых тимэктомированных и интактных мышей // Иммунология. – 1982. – № 5. – С. 37-41.
24. Белоус А.М., Бондаренко В.А. Структурные изменения биологических мембран при охлаждении. – К.: Наук. думка, 1982. – 256 с.
25. Белоус А.М., Грищенко В.И. Криобиология. – К.: – 1994. – 432 с.
26. Бобирьова Л.Є. Експериментальне та клінічне обґрунтування застосування препаратів антиоксидантів у комплексній терапії діабетичних ангіопатій.: Автореф дис...д-ра мед.наук. – Київ, 1997. – 43 с.
27. Бодяжина В.И. Влияние кислородного голодания на развитие плаценты (экспериментально-клиническое исследование) // Акушерство и гинекология. – 1968. – № 5. – С. 510-515.
28. Бодяжина В.И. О структуре и функциях амниона и гладкого хориона // Акушерство и гинекология. – 1982. – № 9. – С. 8-12.
29. Босацкий В.М. Лечение хронических воспалительных заболеваний внутренних женских половых органов подсадками консервированной хориоальной ткани ранних сроков беременности // Автореф.дис...канд.мед.наук. – Черновцы, 1975. – 19с.
30. Бровина Н.Н., Задорожный В.В., Рогачев И.А., Ситенко Л.Н. Проблемы и перспективы трансплантации криоконсервированной эмбриональной нервной ткани в лечении эпилептического синдрома // Актуальные вопросы репродуктологии и криомедицины: Сб. науч. труд. – Харьков, 1998. – С. 209-213.
31. Бровина Н.Н., Шатилло А.В. Проблемы и перспективы трансплантации криоконсервированной эмбриональной нервной ткани в лечении

- эпилептического синдрома // Актуальные вопросы репродуктологии и криомедицины: Сб. науч. труд. – Харьков, 1998. – С. 185-189.
32. Брусиловский А.И. Развитие и строение тканей хориона в раннем онтогенезе человека (морфология, гистохимия и кардиометрические исследования) // Автореф.дис...канд.мед.наук. – Новосибирск, 1963. – 22 с.
 33. Брюховецкий А.С., Иконников Д.Г., Грибоедов В.Н., Лускинович П.Н. Применение высоких технологий в клеточной трансплантации // Бюлл. экспер. биологии и мед. – 1998. Прилож. 1. – С. 193-195.
 34. Буйкис И.М. Количественная гистохимия окислительно-восстановительных ферментов методом цитоспектрометрии. В кн.: Морфология процессов адаптации клеток и тканей. Мат. конф. - М., 1971. - С. 178-180.
 35. Быков В.Л. Частная гистология человека (краткий обзорный курс). – С.Пб.: СОТИС, 1999. – 300 с.
 36. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: наука. – 1972. – 252 с.
 37. Валуйских А.Н., Ромашкова Ю.А., Данилкович А.В. и др. Биологическое действие хорионического гонадотропина и его синтетического полипептидного фрагмента на клеточную линию HL-60 // Бюлл. эксперимен. биол. и мед. – 1997. – Т. 123, №4. – С. 424-426.
 38. Васильев Н.В., Коляда Т.И., Волянский Ю.Л. и др. О возможных механизмах метода терапевтического использования фетальных клеток и тканей. Сб. ст. Трансплантация фетальных тканей и клеток человека. Москва, 1996. – С. 28-30
 39. Вдовин С.В., Аксенова А.В. Интенсивное лечение больных с острым воспалительным процессами гениталий // Акушерство и гинекология. - 1990. - № 4. С. 65-66.

40. Виру А.А. Обмен кортикостероидов в состоянии стресса // Пробл. эндокринологии. – 1979. – Т.25, №2. – С. 86-93.
41. Влияние охлаждения на структуру клетки / Под. ред. Т.Н.Юрченко. – Наук.Думка, 1992. – 148 с.
42. Волкова Л.С. Иммунобиологические взаимоотношения организмов матери и плода. – М.: Медицина, 1970. – 264 с.
43. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-130.
44. Вольский Н.Н., Козлов В.А. Влияние гидрокортизона на продукцию супероксидного радикала фагоцитирующими клетками селезенки. // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1987. – Т. 103, №6. – С.694-696.
45. Воспаление. Руководство для врачей / Под ред. В.В.Серова, В.С.Паукова. – М.: Медицина, 1995. – 640 с.
46. Гавриленко Т.И., Клубов А.Ф., Корнилова Е.М. и др. Роль цитокинов при прогрессировании ревматоидного артрита // Імунол. та алергологія. – 2000. – № 2-3. – С. 68-69.
47. Гармашева Н.Л., Константинова Н.Н. Введение в перинатальную медицину – М.: Медицина, 1978. – 269 с.
48. Гвоздова М.Д., Панасюк А.Ф., Кашникова Л.Н. Влияние эстрадиола на культивируемые фибробласты кожи и содержание половых стероидных гормонов в крови женщин, страдающих системной склеродермией // Терап. архив. – 1984. – Т. 56, № 5. – С. 39-42.
49. Гинцбург Г.И. Гомопластические пересадки некоторых тканей и органов зародышей к взрослым млекопитающим // Докл. АН СССР. – 1951. – Т.81, N3. – С. 447-480.
50. Гистология / Под ред. Э.Г.Улумбекова, Ю.А.Челышева. – М.: Медицина, 1998. – 947 с.

51. Глухова Т.Н., Чеснокова Н.П., Анисимова М.И. Патогенез и принципы фармакологической коррекции метаболических и функциональных расстройств при инфицированном аборте // Патофизиология инфекционного процесса. Сб. науч. труд. мед. института. – Саратов, 1991. – С. 101-109.
52. Говалло В.И. Иммунология репродукции. – М.: Медицина, 1987. – 303 с.
53. Говалло В.И. Иммуноэмбриотерапия (постановка вопроса) // Трансплантация фетальных тканей человека. – М: Международный институт биологической медицины, 1996. – С. 14-18.
54. Говорка Э. Плацента человека. – Варшава : Пол. гос. мед. изд-во, 1970. – 471 с.
55. Голиков А.П., Голиков П.П., Давыдов Б.В. и др. Перекисное окисление липидов при ишемической болезни сердца // Физиология человека. – 1997. – Т. 23. – № 6. – С. 49 – 57.
56. Голиков А.П., Полумисков В.Ю., Овчинников В.Л., Давыдов Б.В. Антиоксиданты в патогенетической терапии инфаркта миокарда // Лечебная тактика в неотложной кардиологии. М., 1992. – 12 с.
57. Голиков П.П., Давыдов Б.В., Матвеев С.Б. Механизмы активации перекисного окисления липидов и мобилизации эндогенного биоантиоксиданта α -токоферола при стрессе // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 47-50.
58. Голумб С.Б. Оценка функционального состояния плаценты при нормальном и осложненном течении беременности биохимическими методами исследования. Автореф.дис...канд.мед.наук. Л., 1978. 19 с.
59. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Богдашин И.В. и др. Роль гуморальных факторов в регуляции гемопоэза при стрессе // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1991. – Т.112, №7. – С. 15-17.

60. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. и др. Динамическая теория регуляции кроветворения // Бюлл. эксперимент. биол. и мед. – 1999. – Т. 127, №5. – С 484-494
61. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Карпова Г.В. и др. О механизмах стимулирующего влияния D-глюкуроновой кислоты на процессы костно-мозгового грануломоноцитопоеза в условиях цитостатической миелодепрессии // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1993. – Т. 115, №4. – С. 350-352.
62. Гольцев А.Н. Возможные причины развития аутоиммунной патологии и поиск путей ее лечения // Пробл.мед.науки та освіти. – 2000. – № 1. – С.22-37.
63. Гольцев А.Н., Луценко Е.Д. Кримоконсервирование как возможный метод оценки роли компонентного состава миелотрансплантата в проявлении функциональной активности кроветворных клеток // Пробл. криобиологии – 1994. – № 1. – С.3-13.
64. Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Останкова Л.В. и др. Возможности криобиологии в решении иммуноконфликтных проблем при пересадке гистонесовместимого костного мозга // Пробл. криобиологии. – 1996. – № 2. – С.3-10.
65. Гольцев А.Н., Грищенко О.В., Кушниренко Н.Н., Опанасенко Е.В. Патологические основы изменения иммунореактивности организма после введения продуктов фетоплацентарного комплекса // Вестн. проблем биол. и мед. – 1997. – № 10. – С.95-106.
66. Гольцев А. Н., Луценко Е.Д., Дубрава Т. Г. и др. Экспериментальное обоснование возможности применения продуктов фетоплацентарного комплекса (ПФПК) для лечения аутоиммунных заболеваний // Имунологія та алергологія. – 1999. – №3. – С.47.
67. Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Дубрава Т.Г. и др. Поиск альтернативных кримоконсервированию путей модификации иммунореактивности

- алломиелотрансплантата. Часть II. Возможность сотрансплантации эмбриональной печени // Пробл. криобиологии. – 2000. – №1. – С.10-21.
68. Гольцев А.Н., Останкова Л.В., Луценко Е.Д. и др. Ответ лимфогемопатической системы организма на введение продуктов фетоплацентарного комплекса // Пробл. криобиологии. – 2000. – №2. – С.15-30.
69. Гольцев А.Н., Михалин М.А., Останкова Л.В., Дубрава Т.Г., Луценко Е.Д., Розсоха И.В., Горская А.Ю. Состояние лимфогемопоетической системы организма после трансплантации продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса // Пробл. криобиологии. – 2001. – № 3. – С. 40.
70. Гомазков О.А. Физиологически активные пептиды. Справочное руководство. – М., 1995. – 144 с.
71. Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лаб. дело. – 1982. – № 1. – С. 60 – 61.
72. Гонський Я.І., Корда М.М., Кліщ І.М. Стан вільнорадикального окислення і антиоксидантної системи у щурів з токсичним ураженням печінки: вплив токоферолу і диметилсульфоксиду // Укр. біохім. журнал. – 1995. – № 5. – С. 112-116.
73. Горпинченко Н.И. Применение ткани плаценты в лечении половых расстройств у мужчин старшего возраста // Врач. дело. – 1986. – №4. – С. 24-26.
74. Грищенко В.И. Фундаментальные и прикладные исследования в области криобиологии и криомедицины и перспективы основных направлений отрасли // Пробл. криобиологии. – 1993. – № 4. – С. 3-6.
75. Грищенко В.И. Достижения и перспективы развития клеточной и тканевой терапии // Межд. медицинский журнал. – 1999. – Т. 5, № 4. – С. 6-10.

76. Грищенко В.И. Роль криобиологии в создании биотехнологий клеточной и тканевой трансплантации // Пробл. криобиологии. – 2001. – № 3. – С. 7-9.
77. Грищенко В.І., Гольцев А.М. Модифікація стану лімфо-гемопоетичного комплексу організму в умовах застосування продуктів фетоплацентарного комплексу // Трансплантологія. – 2001. – № 3. – С.5.
78. Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // Пробл. криобиологии. – 2002. – № 1. – С. 54-85.
79. Грищенко В.И., Яковцова А.Ф. Антенатальная смерть плода – М.: Медицина, 1978. – 280 с.
80. Грищенко В.И., Лобынцева Г.С., Вотякова И.А., Шерешков С.И. Гемопоетические клетки эмбриональной печени (эмбриогенез, трансплантация и криоконсервирование). – Киев: Наук. думка, 1988. – 192 с.
81. Грищенко В.І., Кузьміна І.Ю., Прокопюк О.С. та ін. Структурні зміни плаценти під впливом тканинної терапії // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 1996. – № 5. – С. 67-69.
82. Грищенко В.І., Прокопюк О.С., Кузьміна І.Ю., Юрченко Т.М., Страна В.І. Заготівля, кріоконсервування плацентарної тканини і її клінічне застосування: Метод. рекомендації. – Харків, 1996. – 16 с.
83. Грищенко В.И., Суббота Н.П., Галоян А.Р. Получение, хранение, и применение криоэкстрактов фетальных тканей человека: Методич. рекомендации. – Харьков, 1996. – 6 с.
84. Грищенко В.И., Суббота Н.П. Аспекты создания новых криобиологических технологий и перспективы реализации в Украине // Журн. национальной академии наук. – 2000. – № 4. – С. 25-28.

85. Грищенко В.І., Морозова Т.Ф., Воротилін О.М. та ін. Приготування та зберігання кріоконсервованої суспензії плаценти для клінічного використання: Метод. рекомендації. – Харків, 1997. – 14 с.
86. Грищенко В.І., Юрченко Г.Г. Влияние факторов низкотемпературного консервирования на репродуктивные эмбриональные и фетальные клетки // Пробл. криобиологии. – 1998. – № 4. – С 7-13.
87. Грищенко В.І., Прокопюк О.С., Юрченко Т.М., Страна В.І. Заготівля, кріоконсервування екстрактів фетальних тканин та їх клінічне застосування: Метод. рекомендації. – Харків, 1999. – 4 с.
88. Грищенко В.І., Щербина М.О., Танько О.П. Впровадження новітніх біогенних технологій в акушерство та гінекологію // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 1999. – №6. – С110-113.
89. Грищенко В.І., Юрченко Т.Н., Прокопюк О.С., Страна В.І., Снурников А.С. Низкотемпературное хранение эмбриональных и фетоплацентарных тканей в Украинском банке биологических объектов // Международный медицинский журнал. – 1999. – Т. 5, № 5. – С. 113-115.
90. Грищенко В.І., Бобырева Л.Е., Шепитко В.І., Юрченко Т.Н. Клинические основы применения кріоконсервированной фетоплацентарной ткани в комплексной терапии сахарного диабета / Зб.: П Російський конгрес по патфізіології з між. участю. „Патофізіологія органів і систем. Тип. патол. процесів (експериментальний і клініч. аспекти) Тез. докл. Москва. – 2000. – С. 315.
91. Грищенко В.І., Петренко О.Ю., Снурніков О.С. Трансплантація кріоконсервованих клітинних суспензій ембріонів і плодів людини // Трансплантологія. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 137-138.
92. Грищенко В, І., Пітько В.А., Субота Н.П. Вплив тканинних біостимуляторів на імунологічні показники у жінок з підгострим сальпінгофоритом // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 2000. – № 3. – С.27-31.

93. Грищенко В.И., Сандомирский Б.П. Концепция клеточной терапии // Пробл. криобиологии. – 2000. – №1. – С.3-7.
94. Грищенко В.И., Бобирева Л.Е., Шепитько В.И. Козлова В.Ф., Юрченко Т.Н., Строна В.И., Прокопюк О.С. Использование криоконсервированной плацентарной ткани в комплексной терапии сахарного диабета и его осложнений / Зб.: „Биоимплантология на порого XXI века” симпозіум по проблемам тканевих банків з міжнародним участ (Москва, 2001). – 2001. – С.148.
95. Грищенко В.И., Бобырева Л.Е., Бугаев В.Н., Шепитько В.И., Дворник И.Л., Катеринчук В.И., Бобырев В.Н. Биологические аспекты эмбрионально-тканевой терапии инсулинзависимого сахарного диабета // Вісн. проблем біології і медицини. – 2002. – Вип. 2. – С. 31-38.
96. Грищенко В.І., Прокопюк О.С., Шепітько В.І., Строна В.І., Юрченко Т.М., Бобирьова Л.Є., Рязанцев В.В. Використання кріоконсервованої плаценти в лікувальній практиці // Трансплантологія. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 32-37.
97. Грищенко В.І., Шепітько В.І., Юрченко Т.М. Вплив трансплантації плаценти на структурні елементи наднирника // Програма і матеріали Пленуму Асоціації ендокринологів України (Львів, 2003). – Львів, 2003. – С. 30-31.
98. Грищенко В.І., Шепітько В.І., Строна В.І., Юрченко Т.М., Рязанцев В.В., Цебржинський О.І. Зміна активності дегідрогеназ, вміст гормонів та стан ліпопероксидації в алогенній плаценті в залежності від дії низьких температур // Пробл. криобиологии. – 2004. – №. 1. – С. 62-69.
99. Гулевский А.К., Бондаренко В.А., Белоус А.М. Барьерные свойства биомембран при низких температурах. – К.: Наук. думка, 1988. – 206 с.
100. Гулькевич Ю.В., Маккавеева М.Ю., Никифорова В.И. Патология последа человека и ее влияние на плод – Минск, Беларусь, 1968. – 196 с.

101. Дацюк А.В., Брюховецкий А.С. Динамика содержания β -эндорфина у больных с рассеяным склерозом при трансплантации фетальных нервных клеток // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека. – М., 1996. – С. 112-113.
102. Дьомін Ю.А. Морфофункціональна характеристика кріоконсервованих ембріональних клітин та їхнє використання для лікування хворих із судинною патологією органа зору : Автореф. дис...докт.мед.наук. – Харків, 2003. – 33 с.
103. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. – Томск, 1992. – 275 с.
104. Де Робертис Э., Новинский В., Саэс Ф. Биология клетки: Пер. с нем. – М.: Мир. – 1973. – 64 с.
105. Добротворская Т.Е., Мазур Н.А. Липиды и значение их контроля для снижения связанных с атеросклерозом заболеваемости и смертности // Русск. мед. журнал. – 1997. – № 7 – С. 9 – 14.
106. Дорохин К.М., Спас В.В. Патофизиологические аспекты синдрома эндогенной интоксикации // Анестезиология и реаниматология. – 1994. – №1. – С. 56-58.
107. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Одесса: Астропринт, 1999. 604 с.
108. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови // Укр. биохимический журнал. – 1992. – № 2. – С. 3-15.
109. Дудич Е.И., Семенова Л.Н, Дудич И.В. и др. Роль α -фетопротейна в индукции апоптоза и в регуляции апоптотических сигналов, генерируемых другими факторами. Трансплантация фетальных тканей и клеток. Сб. науч.ст. / Под ред. В.И. Кулакова, Г.Т. Сухих // Бюлл. exper. биол. и мед.. – 1998. – Т. 126. – Прил. 1. – С. 141-146
110. Епифанова О.И. Гормоны и размножение клеток: Клеточный цикл. Проблемы регуляции. – М.: Наука. – 1973. – 195 с.

111. Жаворонков А.А. Цинкдефицитные состояния у человека // Арх. патол – 1983 – №9 – С. 77-80.
112. Жемкова З.П., Топчиева О.И. Клинико-морфологическая диагностика недостаточности плаценты – Л.: Медицина, 1973. – 182 с.
113. Журавлев Т.Б., Прочуханов Р.А. Введений в количественную гистохимию ферментов. - М.: Медицина, 1978. - 245 с.
114. Зборовская И.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме. Клинические аспекты // Вестник Российской академии медицинских наук. – 1995. – № 6. – С. 53-60.
115. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Вольский Н.Н., Козлов В.А. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Успехи соврем, биол. – 1999. – Т.119. – № 5. – С. 440 – 450.
116. Зонов А.В., Самарин Д.М., Дума́й О.В. и др. Опыт применения трансплантационной фетальной терапии в экстренной хирургии // Трансплантация фетальных тканей человека. – М: Международный институт биологической медицины, 1998. – С. 130.
117. Іванюта Л.І., Іванюта С.О., Корнацька А.Г. та ін. Поліензими в терапії хронічного сальпінгіту у жінок з неплідністю // Фармацевтичний журнал. – 1998. – №2. – С. 89-92.
118. Игнатьева Г.А. Иммунная система и патология // Журн. патфизиологии и экспериментальной медицины. – 1997 – №4. – С.26-37.
119. Иммунологические методы / Под ред. Т.Фримеля: Пер. с нем. – М.: Медицина, 1987. – 357 с.
120. Йегер И. Клиническая иммунология и алергология : Пер. с нем. – М.: Медицина, 1990. – Т. 1. – С. 17-60.
121. Йегер И. Клиническая иммунология и алергология : Пер. с нем. – М.: Медицина, 1990. – Т. 2. – С. 264-298.
122. Йегер Л. Клиническая иммунология и алергология. – М.: Медицина, 1990. – Т. 3. – 529 с.

123. Казанцева С.Т. Роль пептидных биорегуляторов (цитомидинов) в регуляции гомеостаза. – Л.: Наука, 1987. – 146 с.
124. Кайдашев И.П., Катрушов А.В., Мищенко В.П., Цебржинский О.И. К механизму действия тканевых полипептидов // Физиология и патология гемостаза. – Полтава, 1992. – С. 33.
125. Кайдашев І.П., Цебржинський О.І., Катрушев О.В. Пептидергічна регуляція препаратами цитомединів в організмі // Системно-антисистемная регуляція в нормі і патології. – Київ, 1993. – С. 44-45.
126. Карлсон Б. Основы эмбриологии по Пэттену. - М.: Мир, 1983. - Т. 1. - 316 с.
127. Кахновер Н.Б., Хмелевский Ю.В. Глутатион s-трансферазы, ферменты детоксикации // Украинский биохимический журнал. 1983. – Т. 55, № 1. – С. 88-92.
128. Калинина Е.В., Комиссарова И.А., Заславская Р.М. и др. Влияние метаболической терапии на внутриклеточный уровень антиоксидантной системы больных ишемической болезнью сердца пожилого возраста // Клин, медицина. – 2000. – № 1. – С. 40 – 43.
129. Караченцев А.Н., Серов В.П. Вазоактивные эффекты половых гормонов // Проб. эндокринологии. – 1997. – Т. 43, № 2. – С. 45-53.
130. Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность // Клин. мед. – 1998. – № 11. – С. 21-32.
131. Кеворков Н.Н., Шилов Ю.И., Ширшев С.В., Черешнев В.А. Гормоны репродукции в регуляции процессов иммунитета. Екатеринбург.: УИФ «Наука», 1993 – 172с.
132. Кейтс М. Техника липидологии: Выделение, анализ и идентификация липидов: Пер. с англ. - М.: Мир. - 1975. - 322 с.
133. Киселева Н.Г., Метельская В.А., Перова Н.В. Обоснованность и тактика применения витаминов-антиоксидантов в профилактике атеросклероза // Кардиология. – 1998 – № 12. – С. 77 – 81.

134. Клебановская Л.Р. Костная гемопластика эмбриональными трансплантатами : Автореф.дис...канд.мед.наук. – Омск, 1967. – 30с.
135. Клименко Н.А. Взаимодействие тучных клеток с лейкоцитами в повышении проницаемости сосудов очага воспаления // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – Т. 113, № 1. – С. 28-31.
136. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1993. – Т. 116, № 9. – С. 249-253.
137. Клименко Н.А. Общие принципы противовоспалительной терапии // Харьк. мед. журн. – 1997. – № 1. – С. 5-11.
138. Клименко Н.А. О единстве повреждения и защиты в воспалении // Врач. практика. – 1998. – № 6. – С. 4-8.
139. Клименко Н.А. Современные аспекты общей патологии воспаления // Експериментальна і клінічна медицина. – 1998. № 1. – С. 8-14.
140. Клименко Н.А., Дыгай А.М., Абрамова Е.В. и др. Роль тучных клеток в реакциях системы крови при воспалении // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1991. – Т. 112, № 9. – С. 305-307.
141. Клименко Н.А., Козырева Г.Ф. Механизмы регулирующего влияния лейкоцитов на тучные клетки при воспалении. I. Роль лизосомальных протеиназ // Эксперим. і клін. мед. – 2001. – № 1. – С. 6-10.
142. Клименко Н.А., Козырева Г.Ф. Механизмы регулирующего влияния лейкоцитов на тучные клетки при воспалении. II. Роль активных форм кислорода // Эксперим. і клін. мед. – 2001. – № 4. – С. 11-14.
143. Клименко Н.А., Козырева Г.Ф. Механизмы регулирующего влияния лейкоцитов на тучные клетки при воспалении. III. Роль эйкозаноидов // Эксперим. і клін. мед. – 2002. – № 2. – С. 11-18.
144. Клименко М.О., Ліпшиць Р.У., Татарко С.В. Модуляція судинних та клітинних реакцій модуляторами запалення. Матеріали пленуму

- товариства патофізіологів України (м. Черновці, 1998) // Фізіол. журн. – 1998. – Т. 44, № 4. – С. 83.
145. Клименко М.О., Павлова О.О. Тучні клітини у вогнищі карагієнового гострого асептичного запалення // Фізіол. журн. – 1997. – Т. 43, № 1-2. – С. 83-88.
 146. Клименко Н.А., Пышнов Г.Ю. Механизмы модулирующего влияния тучных клеток на лейкоцитарную реакцию при воспалении // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1993. – Т. 115, № 1. – С. 29-30.
 147. Клименко М.О., Пишнов Г.Ю. Роль тучных клеток в инфильтративных явищах при запаленні // Фізіол. журн. – 1997. – Т.43, № 3-4. – С. 33-39.
 148. Клименко М.О., Татарко С.В. Тучні клітини у вогнищі гострого інфекційного запалення // Физиол. журн. – 1992. – Т. 38, № 1. – С. 64-68.
 149. Клименко Н.А., Татарко С.В. Роль тучных клеток в репаративных явлениях при воспалении // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – Т. 119, № 3. – С. 262-265.
 150. Клименко Н.А., Татарко С.В. Механизмы стимулирующего влияния тканевых базофилов на репаративные процессы при воспалении // Морфология. – 1997. – Т. 111, № 2. – С. 69-72.
 151. Клименко М.О., Шевченко А.Н. Роль активних радикалів кисню в реакціях системи крові при запаленні // Фізіол. журн. – 1997. – Т. 43, № 5-6. – С. 70-75.
 152. Клименко М.О., Субота Н.П., Пітько В.А., Татарко С.В. Вплив кріоекстракту хоріона на клітинні реакції вогнища запалення // Фізіологічний журнал. – 1999. – Т. 45, № 6. – С. 75-80.
 153. Клиническая иммунология / Под ред. А.В.Караулова. – М.: МИА, 1999. – 603 с.
 154. Коваленко В.Н., Синяченко О.В. Игнатенко Г.А. и др. Системная энзимотерапия внутренних органов // Архив клин. и эксп. мед. – 1998. – Т.7, №4. – С. 206-211.

155. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии: обзор // Вопросы медицинской химии. – 1985. – № 5. – С. 2-7.
156. Колесниченко Л.С., Монторова Н.С., Шапиро Л.А., Ольховский И.А., Барон А.В., Кулинский В.И. Влияние эмоционального стресса на активность ферментов метаболизма глутатиона // Вопросы медицинской химии. – 1987. – № 3. – С. 85-88.
157. Конюшко О.И., Миронова Л.Л. Криоконсервация – фактор трансформации клеток // Пробл. криобиологии. – 2001. – № 3. – С. 46.
158. Корнева Е.А., Головки О.И., Казакова Т.В. Молекулярно-биологические аспекты взаимодействия нервной и иммунной систем // Вопр. мед. химии. – 1997. – №5. – С. 321-329.
159. Косовер Н., Косовер Э. Глутатион-дисульфидная система // Свободные радикалы в биологии. – М.: Мир, 1979. – Т. 2. – С. 85-97.
160. Кузнецов С.И., Семенова И.В. Клетки иммунной системы как посредники в реакции других систем организма на стрессорное воздействие // Патологическая физиология и эксперим. терапия. – 1997. – №2. – С.27-29.
161. Кузнецова Э.Э., Никифоров С.Б., Кузнецов Н.П., Курильская Т.Е., Андреева Т.В., Горохова В.Г., Рунович А.А. Функциональное состояние печени у больных коронарным атеросклерозом после проведения трансплантации комплекса фетальных тканей // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1998. – Т. 126. – Прилож. 1. – С. 154-156.
162. Кузьмина И.Ю., Грищенко В.И., Прокопюк О.С. Использование криоконсервированной ткани плаценты для лечения фетоплацентарной недостаточности / Матер. 1 з'їзду Українського товариства кріобіології і кріомедицини. Зб. тр. – Харків, 1995. – С. 130-131.
163. Кулаков В.И., Адамян Л.В., Аскольская С.И. Терапия фетальными тканями больных после гистерэктомии // Трансплантация фетальных

- тканей человека.-М: Международный институт биологической медицины, 1998. -С. 171.
164. Кулаков В.И., Воропаева С.Д., Анкирская А.С. Облигатно-анаэробные микроорганизмы при акушерско-гинекологической патологии // Вестник РАМН. – 1996. – №2. – С. 26-29.
 165. Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Молнар Е.М. Иммуноцитотерапия. Новое направление в трансплантации фетальных тканей // Бюлл. exper. биологии и мед. – 1994. – Т. 117, №4. – С. 412-416.
 166. Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Молнар Е.М. Трансплантация фетальных тканей человека: анализ состояния проблемы и перспективы развития // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека – М., 1996. – С. 5-10.
 167. Кулинский В.И., Колисниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биологической химии. – М.: Наука, 1990. – Т. 31. – С. 157-179.
 168. Курильская Т.Е., Никифоров С.Б., Аксаментов Г.В., Курильский Д.К., Подвезко О.В., Явербаум П.П., Рунович А.А. Необходимость и целесообразность повторных трансплантаций фетальных тканей при коронарной болезни сердца // Бюлл. exper. биологии и мед. – 1998. – Прилож. 1. – С. 115-116.
 169. Кусень С.И., Стойка Р.С.. Молекулярные механизмы в действии полипептидных факторов роста. – М.: Наука, 1985. – 227 с.
 170. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 366 с.
 171. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиология. – 2000. – № 7. – С. 48 – 61.
 172. Латфуллин И.А. Состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при экспериментальном инфаркте миокарда. Изд. Казанского ун-та. – 1982. – 110 с.

173. Лахно І.В. Результати клінічного застосування кріоконсервованої суспензії плаценти з метою лікування фетоплацентарної недостатності // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 1998. – №5. – С.65-68.
174. Лепехова С.А., Гладышев Ю.В., Гольдберг О.А., Рунович А.А. Влияние ксенотрансплантации фетальных тканей на ультраструктуру гепатоцитов при остром токсическом гепатите // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1998. – Т. 126. – Прилож. 1. – С. 169-170.
175. Леуш С.С. Плід-алотрансплантат. Невиношування вагітності // Зб.: тез наук. праць. – Київ, 1997. – С.244-247.
176. Лиманов Ю.Б., Крылатов А.В., Нарышная Н.В., Маслов Л.Н. Использование лигандов опиатных рецепторов для коррекции электрической нестабильности сердца // Бюлл. exper. биологии и мед. – 1998. – Т. 126, № 10. – С. 399-401.
177. Ломакин М.С., Арцимович Н.Г. Биологически активные вещества, ассоциированные с плацентой // Акушерство и гинекология. – 1991. – №9. – С.6-10.
178. Ломакин М.С., Арцимович Н.Г. Биологически активные вещества, ассоциированные с плацентой // Акушер. и гинекол. – 1991. – № 9. – С.6-9.
179. Лукьянова Л.Д., Балмуханов Б.С., Усолов А.Т. Кислородзависимые процессы в клетке и их функциональное состояние. – М.: Наука, 1982. – 298 с.
180. Лушников Е.Ф., Шапиро Н.А. Возможности гистохимического изучения активности ферментов в тканях после смерти // Арх. патол. – 1969. – №1. – С.8-14.
181. Лушников Е.Ф., Шапиро Н.А. Аутолиз. Морфология и механизмы развития. – М.: Медицина, 1974. – 199 с.
182. Мазурова В.И., Лилы А.М., Стернина Ю.И. Системная энзимотерапия // СПб.: Моби Дик. – 1995. – С.160.

183. Макаренко Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени // Лаб. дело. – 1988. – Т. 11. – С. 48-50.
184. Мальцев В.В., Молнар Е.М., Сухих Г.Т., Богданова И.М. Трансплантация фетальной ткани человека – перспективный метод лечения сахарного диабета // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1994. – N.4. – С. 350-354.
185. Мари Р., Кроменн Д., Мейе Т., Родуэлл В. Биохимия человека – М.: Мир, 1993. – Т. 2. – 415 с.
186. Мартынов А.И., Степура О.Б., Пак Л.С., Мельник О.О. Магний и сердечно-сосудистая система (По материалам XVI, XVII, XVIII и XIX конгрессов Европейского общества кардиологов) // Клин, медицина. – 1998. – № 8. – С. 63 – 65.
187. Масловский С.Ю., Зайченко Л.А., Прокопюк В.Ю. Трансплантация хориальной ткани // Актуальные вопросы репродуктологии и криомедицины: Сб. научн. трудов. – Харьков, 1998. – С. 162-165.
188. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. – М.: Медицина, 1991. – 272 с.
189. Медведев П.М., Приезжаева Л.С., Теодорович В.П. и др. Некоторые данные по организации заготовки, консервирования и практического применения тканей плодов человека // Проблемы гемопластики и аллопластики. – Киев, 1967. – С. 115-117.
190. Медицинская лабораторная диагностика. / Под ред. Карпищенко А.И. – С – Пб.: Интермедика, 1997. – 304 с.
191. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Шергин С.М. Биохимия окислительного стресса (оксиданты и антиоксиданты). – Новосибирск, 1994.-203 с.
192. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. Серия: Физиология растений. Т.6. – М.: ВИНТИ. – 1989. – 184 с.

193. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. – М.: Медгиз, 1961. – 341 с.
194. Мешавкин В.К., Торопов А.В., Соколов О.Ю. и др. Стимулирующее действие белково-пептидного препарата из фетальных тканей человека на репаративные процессы у крыс // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека, – М.: Международный институт биологической медицины, 1996. -С. 114-116.
195. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С.; АМН СССР – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
196. Милованов А.П. О рациональной морфологической классификации нарушений созревания плаценты // Архив патологии. – 1991. – №12. – С. 3-9.
197. Милованов А.П., Ляшко Е.С. Структурные основы белоксинтезирующей функции плаценты децидуальной оболочки // Вестник Российской Ассоциации акушеров-гинекологов. – 1999. – №4. – С. 32-37.
198. Митин К.С., Савельев Г.В., Лыскин Г.И., Клейменова Н.Н. Изменение структуры изолированного сердца при консервации с помощью гипербарической оксигенации // Арх. патол. – 1969. № 4. – С. 22-27.
199. Моисеев А.Я., Самарин Д.М., Кустов С.М. и др. Опыт применения трансплантационной фетальной терапии в гинекологической практике при лечении рубцово-спаечных процессов // Трансплантация фетальных тканей и клеток. -М.: Международный институт биологической медицины, 1998. – С. 29.
200. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). – СПб.: Наука, 1996. – 72 с.

201. Морозова Р.П., Козулина Е.П., Николенко И.А. и др. Плацента – источник биологически активных веществ // Укр. біохім. журн. – 1999. – Т. 71, № 4. – С.21-29.
202. Нагорнев В.А., Зота Е.Г. Цитокины, иммунное воспаление и атерогенез // Успехи современ. биологии. – 1996 – Т. 116. – Вып. 3 – С. 320-331.
203. Назаренко Л.З. Об использовании внутриматочных инсталляций экстракта алоэ на фоне сакро-абдоминального электрофореза при лечении хронического салышноофорита / Тканевая терапия, том 2. / Под ред. А.Н.Пучковской. – Одесса, 1983. – С. 51-52.
204. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Беленков Ю.Н., Фукс Д.Л. Иммунопатология застойной сердечной недостаточности: роль цитокинов // Кардиология. – 1999. – №3. – С. 66-73.
205. Никитин И.Г., Белоенко Е.Д. Влияние препарата «взвесь плаценты» на стимуляцию репаративного остеогенеза // Здравоохранение Беларуси. – 1997. – №11. – С. 24-29.
206. Ноздрюхина Р.Л. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека . – М.: Наука, 1977. – 183 с.
207. Ноздрюхина Р.Л., Нейко Е.М., Ванджура И.П. Микроэлементы и атеросклероз. – М.: Наука, 1985. – 221 с.
208. Ноуза К. Механизмы действия системной энзимотерапии // Системная энзимотерапия: исследования и клиническая практика. – Мюнхен; Прага: Медицинское общество по изучению энзимов, – 1994. – С. 42-47.
209. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода // Успехи биологической химии. – М.: Наука, 1990. – Т. 31. – С. 180-200.
210. Осняч В.С. Возможные пути регуляции макрофагов // Фармакология и токсикология. – 1986. – Т. 49, № 4. – С. 115-120.

211. Панков Ю.А. Гормоны – регуляторы жизни в современной молекулярной эндокринологии // Биохимия. – 1998 – Т. 63. – № 12. – С. 1600-1615.
212. Панков Ю.А. Новые системы проведения сигналов в механизмах гормональной регуляции // Проблемы эндокрин – 2000 – №3 – С. 3-7.
213. Паранич А.В. Молекулярные и физиологические механизмы действия витамина Е. Автореф.дис...д-ра биол. наук. – Харьков, 1996. – 34 с.
214. Пат. № 30723А України МПК 6 А61К35/50 Спосіб лікування аутоімунних захворювань / А.М.Гольцев, В.І.Грищенко, Т.Г.Дубрава та ін. Заявлено 28.04.98. Публ.15.12. 2000. – Бюл. № 7-ІІ.
215. Пат. № 32254А України МПК 6 А 61К31/00. Спосіб лікування хронічного пієлонефриту у хворих на цукровий діабет / Бобирьова Л.Є., Катеренчук В.І., Шепітько В.І., Юрченко Т.М., Бобирьов В.М., Куроедов Л.Ф. Заявл. 29.01.99. Опубл. 15.12. 2000. – Бюл. № 7-ІІ.
216. Пат. № 32255А України МПК 6 А61К31/00. Спосіб лікування цукрового діабету / Бобирьова Л.Є., Дворнік І.Л., Рябушко М.М., Шепітько В.І., Сухачова Л.О., Скрипнікова Т.П., Снурніков О.С., Бобирьов В.М. Заявл. 29.01.99. Опубл. 15.12.2000. – Бюл. № 7-ІІ.
217. Пат. № 32295А України МПК 6 А61К31/00. Спосіб лікування порушень фертильності у хворих на цукровий діабет / Бобирьова Л.Є., Гончаренко О.В., Шепітько В.І., Грищенко В.І., Бобирьов В.М., Прокопюк О.С. Заявл. 19.02.99. Опубл. 15.12.2000. – Бюл. № 7-ІІ.
218. Пат. № 39046А України МПК 7 А61К38/28 А61К35/48. Спосіб лікування інсулінозалежного цукрового діабету / Бобирьова Л.Є., Дворнік І.Л., Муравльова О.В., Бобирьов В.М., Шепітько В.І., Юрченко Т.М. Заявл. 23.01.2001. Опубл. 15.05.2001. – Бюл. № 4.
219. Пат. № 33888А України МПК 6 А61К35/407. Спосіб зменшення імунореактивності алогенного кісткового мозку експериментальних

- тварин / В.І.Грищенко, А.М.Гольцев, Л.В.Останкова та ін. Заявлено 24.04.99; Публ.15.02.2001. – Бюл. № 1.
220. Пат. № 34962А України МПК 6 А61В17/00. Спосіб профілактики рецидивів спайкового процесу / В.І.Грищенко, Г.В.Іванов, Л.В.Потапова. Заявлено 22.07.99. Публ.15.03.2001. – Бюл. № 2.
221. Пат. № 44560А України МПК 7 А61В17/00. Хірургічний спосіб лікування цукрового діабету / Є.Д.Хворостов, Б.П.Сандомирський, О.М.Побеленський, І.В.Бєлочкіна, В.М.Лебідь. Заявлено 23.05.2001. Публ.15.02.2002. – Бюл. № 2.
222. Пат. № 59266А України МПК 7 А61К31/60. Спосіб лікування стабільної стенокардії / Шепітько К.В., Шепітько В.І., Гаєвський С.О. Заявл. 23.12.02. Опубл. 15.08.03. – Бюл. № 8.
223. Пауков В.С., Гостищев В.К., Ермакова Н.Г. и др. Иммунопатология и морфология хронического воспаления // Архив патологии. – 1996. – Т.58, Вып.1. – С.28-33.
224. Пересадка органов и тканей у человека / Под ред. Ф.Рапопорта и Ж.Доссе. – М.: Медицина, 1973. – 527 с.
225. Петренко А.Ю., Сукач А.Н. Трансплантация аллогенных гепатоцитов взрослых крыс и криоконсервированных клеток эмбриональной печени человека гепатэктомизированным крысам. Сб. ст.: Актуальные вопросы репродуктологии и криомедицины. – Харьков. – 1998. – С. 193-198.
226. Петрунькина А.В. Определение глутатиона в крови // Практическая биохимия. – Медгиз, 1961. – С. 152-154.
227. Плацентарная недостаточность / Савельева Г.М., Федорова М.В., Клименко П.А., Сичинава Л.Г. – М.: Медицина, 1991. – 276 с.
228. Погорелова Т.Н. Свободные аминокислоты и некоторые ферменты аминокислотного обмена плаценты на разных этапах ее развития // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1975. – № 10. – С. 52-56. .

229. Погребной П.В. Эндогенные пептидные антибиотики как факторы иммунитета животных // Биополимеры и клетка. – 1998. – Т. 14, №6. – С. 512-517.
230. Потапнев М.П. Цитокиновая сеть нейтрофилов при воспалении // Иммунология. – 1995. – № 4. – С. 34-40.
231. Прибылова О.В. Возможности использования гетеротопической трансплантации криоконсервированной плацентарной ткани при лечении климактерического синдрома // Мед. сегодня и завтра. – 1997. – Вып. 2. – С. 109.
232. Пушкарь Н.С., Белоус А.М. Введение в криобиологию. – Киев: Наук. думка, 1975. – 344 с.
233. Пушкарь Н.С., Белоус А.М. Актуальные проблемы криобиологии. – Киев: Наук. думка, 1981. – 608 с. 1981
234. Пушкарь Н.С., Белоус А.М., Цветков Ц.Д. Теория и практика криогенного и сублимированного консервирования. – Киев: Наук. думка, 1984. – 264 с.
235. Радзинский В.Е. Скрининг молекулярных, клеточных и тканевых параметров в оценке исхода плацентарной недостаточности // Кардиотопография в акушерской практике: Тез. докл. респ. симп. – Вильнюс : Б.и., 1984. – С 106-107.
236. Радзинский В.Е. Особенности развития плацентарной недостаточности при акушерской и экстрагенитальной патологии : Автореф. дис...д-ра мед. наук. – Л., 1985. – 40 с.
237. Радзинский В.Е., Голота В.Я., Корнюшина Т.В., Смалько П.Я. Биосинтез белка и нарушение биоэнергетики плаценты в патогенезе фетоплацентарной недостаточности // Тез. докл. V съезда акушеров-гинекологов РСФСР, – Челябинск: Б.и. 1982. – С. 163-164.
238. Радзинский В.Е., Губский Ю.М., Смалько П.Я., Корнюшина Т.В. Биосинтез белка в печени и плаценте крыс при экспериментальной

- интоксикации тетрахлорметаном // Акушерство и гинекология. – 1983. – № 4. – С. 77-80.
239. Радзинский В.Е., Кондратьева Е.Н., Милованов А.П. Патология околоплодной среды. – К.: Здоров'я, 1993. – С. 125-128 .
240. Радзинский В.Е., Кондратюк Т.П., Слинченко Н.Н. Роль циклических нуклеотидов в патологии фетоплацентарного комплекса // Циклические нуклеотиды. – Минск: Беларусь, 1982. – С.121.
241. Радзинский В.Е., Кондратюк Т.П., Слинченко Н.Н. Циклические нуклеотиды плаценты в динамике нормальной беременности и при плацентарной недостаточности // Акушерство и гинекология. – 1983. – №3. – С. 79-81.
242. Радзинский В.Е., Кондратюк Т.П., Слинченко Н.Н. Содержание циклических аденозин-3,5-монофосфата и гуанозин-3,5-монофосфата в клетках плаценты при физиологической и осложненной беременности и родах // Акушерство и гинекология. – 1984. – № 1. – С. 33-34.
243. Радзинский В.Е., Корнюшина Т.В., Смалько П.Я. Белоксинтезирующий аппарат плаценты человека в динамике нормальной, перенесенной и осложненной поздним токсикозом беременности // Акушерство и гинекология. – 1982. – № 3. – С. 28-30.
244. Радзинський В.Е., Корнюшина Т.В., Смалько П.Я. Біосинтез РНК, білка і особливості білоксинтезуючого апарата плаценти щурів в динаміці нормальної вагітності // IV Укр. біохім. з'їзд : Тез. доп. – К., 1982. – Ч. 2. – С 155.
245. Радзинский В.Е., Мельник Ю.В. Молекулярные и клеточные механизмы адаптационно-гомеостатических реакций плаценты у беременных с ревматическими пороками сердца // Системно-антисистемная регуляция в норме и патологии. – Киев: Вища шк., 1983. – С. 169-172.
246. Радзинский В.Е., Смалько П.Я. Биосинтез белка в плаценте человека в динамике нормальной, перенесенной и осложненной поздним

- токсикозом беременности // VII съезд акушеров-гинекологов УССР: Тез. докл. – Донецк: Б.и., 1981. – С. 216-217.
247. Радзинский В.Е., Смалько П.Я. Биохимия плацентарной недостаточности. – К.: Наукова думка, 1992. – 168 с.
248. Радзинский В.Е., Смалько П.Я., Корнюшина Т.В. Белоксинтезирующий аппарат плаценты в динамике нормальной беременности и при острой интоксикации // Докл. АН УССР. Сер. Б. – 1982. – № 6. – С. 75-78.
249. Радзинский В.Е., Смалько П.Я., Корнюшина Т.В. Платонов О.М. Сравнительное изучение свободных и мембранно-связанных полирибосом плаценты человека в различные сроки беременности // Укр. биохим. журн. – 1981. – Т53, № 3. – С. 39-42.
250. Радзинский В.Е., Чистякова М.Б., Тучинский Б.Г. Прогнозирование исхода беременности и родов с помощью интегрального информационного индекса структурных соотношений в плаценте // Кардиотопография в акушерской практике: Тез. докл. Респ. симп. – Вильнюс : Б.и., 1984. – С. 107-109.
251. Ремизова В.А. Действие ДОКСА и эстрогенов на лейкоцитарную систему – В кн.: Проблемы реактивности и адаптации – Иркутск, 1982. – С. 129-131.
252. Репин В.С. Медицинская клеточная биология: Новые фундаментальные и прикладные исследования // Трансплант. фетал. тканей и клеток человека. – М. – 1996. – С. 14-23.
253. Репин В.С. Трансплантация клеток: новые реальности в медицине Трансплантация фетальных тканей и клеток. Сб. науч.ст./ Под ред. В.И. Кулакова, Г.Т. Сухих // Бюлл. exper. биологии и медицины. – 1998. – Т. 126. – Прил. 1. – С.14-28.
254. Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология. М: Российская академия мед. наук: БЭБиМ, 1998. – 200 с.

255. Репина М.А. Системная энзимотерапия в акушерстве и гинекологии. – СПб. – 1996. – 42 с.
256. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Цитокины – возможные активаторы роста патологических бактерий // Вестник Российской АМН. – 2000. – № 1. – С. 13-17.
257. Румянцев Г.Е. Тканевая терапия. М.: Росиздат, 1950. – 130 с.
258. Румянцев Г.Е. Тканевая терапия. К теоретическим основам тканевой терапии. М.: Госиздат, 1953. – 175 с.
259. Рязанцев В.В., Юрченко Т.Н., Строна В.И., Прокопюк О.С. Изучение белковых фракций некоторых фетальных препаратов (ткани мозга и печени эмбриона, экстракта плаценты) / Сб.: „Биоимплантология на пороге XXI века” симпозиум по проблемам тканевых банков с международным участием (Москва, 2001). – 2001. – С. 51-52.
260. Савельев В.И. Химическая стерилизация тканевых трансплантатов и применение их в хирургии.: Автореф.дис...д-ра мед. наук. – Омск, 1967. – 30 с.
261. Савельев В.И., Корнилов Н.В., Калинин А.В. Актуальные проблемы трансплантации тканей. – С-Пб.: МОРСАР АВ, 2001. – 152 с.
262. Савельев С.В. Трансплантация ткани эмбрионального головного мозга. // Архив патологии. – 1992. – Т.54, №11. – С.43-45.
263. Савельева Г.М., Антонова Л.В. Острые воспалительные заболевания внутренних половых органов женщины. – М.: Медицина, 1987. – 160 с.
264. Савушкина Н.М. Пересадка роговичной оболочки, сохраняемой при низкой температуре (экспериментальное исследование).: Автореф. дис...канд.мед.наук. – Саратов, 1963. – 24 с.
265. Савченко Ю.И. Методологические аспекты изучения плодоматеринских отношений // Акушерство и гинекология. – 1982. – № 12. – С. 9-12.
266. Савченко Ю.И., Лобынцев К.С. Очерки физиологии и морфологии функциональной системы мать-плод. – М.: Медицина, 1980. – 254 с.

267. Саркисов Д.С., Пальцин А.А., Втюрин Б.В. Принцип асинхронности рабочих циклов одноименных структур // Арх. патол. – 1976. – № 5. – С. 48-55.
268. Сергеева Е.Г., Огурцов Р.П., Зиновьева Н.А. и др. Туморнекротический фактор и состояние иммунореактивности у больных ишемической болезнью сердца: клинико-иммунологические сопоставления // Кардиология. – 1999. – № 3 – С. 26-28.
269. Скалецкий Н.Н., Шумаков В.И. Лечение инсулинзависимого сахарного диабета методом трансплантации островковых клеток поджелудочной железы плодов и новорожденных // Трансплантация фетальных органов и тканей человека. - М.: Международный институт биологической медицины, 1996. - С. 33-41.
270. Слинченко Н.Н., Губский Ю.И., Радзинский В.Е., Кондратюк Т.П. Определение циклических нуклеотидов цАМФ, цГМФ и биохимических показателей активности циклазной системы в диагностике токсических поражений печени и плаценты // Новое в лабораторной диагностике хронических болезней внутренних органов: Тез. докл. III Укр. съезда врачей-лаборантов. – Ужгород, 1983. – С. 183-184.
271. Словеснова Т.А. Роль аллотрансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы плодов человека в комплексной терапии больных сахарным диабетом: Автореф.дис...канд.мед.наук. – М., 1989. – 27 с.
272. Смалько П.Я., Радзинский В.Е., Кондратюк Т.П. и др. Молекулярные и клеточные изменения при плацентарной недостаточности // Актуальные проблемы перинатологии. Диагностика и лечение женского бесплодия: Тез. докл. XIV Всесоюз. съезда акушеров-гинекологов. – М., 1983. – С. 575-576.
273. Соколов В.В., Нарцисов Р.П., Иванова Л.А. Цитохимия ферментов в профпатологии. - М.: Медицина, 1975. - 118 с.

274. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экспериментальных воздействиях // Вопросы медицинской химии. – 1988. – № 5. – С. 2-11.
275. Соляник-Шилейко В.А., Зелинский А.А. Опыт дифференцированного использования тканевых препаратов для терапии воспалительных заболеваний женских половых органов // Тканевая терапия, том 2. Под ред. А.Н.Пучковской. – Одесса, 1983. – С. 45-47.
276. Спиричев В.Б., Матусис И.И., Бронштейн Л.М. Витамин Е // Экспериментальная витаминология. – Минск: Наука и техника, 1979. – С. 17-57.
277. Стрекаловский Д.В., Никифоров С.Б., Гольдберг О.А. и др. Влияние трансплантации фетальной ткани печени на морфологические изменения при экспериментальном атеросклерозе. Трансплантация фетальных тканей и клеток / Сб. науч. ст. Под ред. В.И. Кулакова, Г.Т. Сухих // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1998. – Т. 126. – Прил. 1 – С. 134- 138.
278. Строев Е.А. Биологическая химия. М.: Высшая школа. – 1986. – С. 396-400.
279. Строна В.И., Юрченко Т.Н., Рязанцев В.В., Шепитько В.И., Прокопюк О.С., Гордиенко А.И. Изучение влияния экстракта плаценты и нейроткани на мембранно-метаболическую функцию митохондрий и микросом из печени крыс в системе *in vitro* // Пробл. криобиологии. – 2002. – №4. – С. 24-29.
280. Стуков А.И. Общая патология человека. – М.: Медицина, 1982. – 655 с.
281. Суббота Н.П. Опыт приоритетных разработок института в области получения и криоконсервирования аллогепатоцитов // Проблемы криобиологии. – 1997. – №1-2. – С. 48-54.
282. Суббота Н.П. Перспективы создания нового класса лекарственных соединений на основе фетального сырья // Провизор. – 1999. – № 2. – С. 35-36.

283. Суббота Н.П., Грищенко В.И., Питько В.А. Получение, хранение и применение фрагментов, суспензий и криоэкстракта хориона: Метод. рекомендации. – Харьков, 1996. – 8 с.
284. Суббота Н.П., Пашинский П.П., Розанова Е.Д. Биологические свойства криоэкстрактов фетальных тканей // Пробл. криобиологии. – 1998. №3. – С.35-42.
285. Субота Н.П., Питько В.А., Грищенко В.І. Біохімічні та імунологічні механізми дії трансплантованих фетальних препаратів // Трансплантологія. – 2000. – Том 1, № 1. – С. 290-292.
286. Сукач А.Н., Семенченко Ю.П., Петренко А.Ю. Изучение биохимического состава криоконсервированных препаратов эмбриональных тканей человека // Пробл. криобиологии. – 2001. – № 3. – С. 34.
287. Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее. Трансплантация фетальных тканей и клеток. Сб. науч.ст./ Под ред. В.И. Кулакова, Г.Т. Сухих // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1998. – Т. 126. – Прил. 1. – С. 3-13.
288. Сухих Г.Т., Богданова И.М., Малайцев В.В., Фисенко А.П. Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1998. – Т. 126, № 1. – С.178-181.
289. Сухих Г.Т., Молнар Е.М., Малайцев В.В., Богданова И.М. Трансплантация фетальных тканей человека в гематологии // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1994. – N.4. – С. 375 – 377.
290. Татаринев Ю.С. Трофобластический β_1 -гликопротеин // Успехи совр. биологии. – 1983. – Т. 95, № 1. – С. 57-67.
291. Татаринев Ю.С., Олефиренко Г.А., Петрунин Д.Д. Альфа А₂-микроглобулин фертильности // Успехи совр. биологии. – 1985. – Т. 100, № 3. – С. 465-471.

292. Тепперман Дж., Тепперман Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – 656 с.
293. Тканевая терапия / Под ред. акад АМН СССР Н.А.Пучковской. – К.: Здоров'я, 1975. – 206 с.
294. Тонких А.В. Роль гипоталамо-гипофизарной области и симпатoadреналовой системы в реакциях организма при экстремальных (стрессорных) ситуациях // Успехи физиол. наук. – 1976. – Т. 7, № 2. – С. 3-12.
295. Ускина Е.В., Маслов Л.Н., Лиманов Ю.Б. Профилактика аритмий с помощью периодической гипоксии опосредованной активацией α - и β -опиотных пептидов // Бюлл. экспер. биологии и мед. – 1995. – Т. 125, № 3. – С. 272-274.
296. Федорова М.В., Калашникова Е.П. Плацента и ее роль при беременности. – М.: Медицина, 1986. – 252 с.
297. Федорова Т.Н., Коршунова Т.С. Определение МДА крови по реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1983. – №3. – С. 25-27.
298. Филатов В.П. Несколько соображений по поводу пересадки роговицы // Сов. вест, офтальм. – 1933. – Т.Н, Кн.2. – С. 141.
299. Филатов С.В. Скорость рассасывания тканевых имплантатов в зависимости от их консервации / 3б. тр.: „Тканевая терапия по В.П.Филатову”. – Одесса, 1977. – С. 29-30.
300. Фуллер Б., Грин К., Грищенко В.И. Криоконсервирование для создания банка клеток: современные концепции на рубеже XXI столетия // Пробл. криобиологии. – 2003. № 2. – С. 62-83.
301. Фогель П.И. Вопросы патогенеза самопроизвольного преждевременного прерывания беременности (Клинико-экспериментальное исследование) // Автореф. дис...д-ра мед. наук. – Львов, 1973. – 41 с.
302. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы // Росс. физиол. журнал. – 2000. – Т. 86, № 3. – С. 252-267.

303. Хлыстова З.С. Закономерности превращения тканей в условиях их трансплантации // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1994. – N.4. – С. 341 -348.
304. Хлыстова З.С. Закономерности превращения тканей в условиях их трансплантации // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1994. – Т. 117. – № 4. – С. 341-349.
305. Хлыстова З.С., Шмелева С.П., Минина Т.А., Кузнецова Л.В., Рябчиков О.П. Реакция печени мыши на введение фетальных тканей печени и плаценты человека // Бюлл. exper. биологии и мед. – 1998. – Прилож. 1. – С. 176-178.
306. Хокси Д.К. Витамины и микроэлементы при нарушениях гемостаза // Клин. медицина. – 1998. – № 8. – С. 15-18.
307. Хэм А., Кормак Д. Гистология: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – Т.2. – 254 с.
308. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза, иммуногенеза. – Полтава, 1992. – С. 120-155.
309. Цебржинский О.І. Модифікація основ ДНК печінки при різних джерелах активних форм кисню в печінці при експериментальних інтоксикаціях // Медична хімія. – 2000. – Т. 2, № 3. – С. 33-36.
310. Цирельников Н.И. Гистофизиология плаценты человека. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1980. – 183 с.
311. Цирельников Н.И., Амирова Т.Д., Ивакина Л.Л. Морфологические особенности плаценты при невынашиваемости беременности // Актуальные проблемы перинатологии. – М.: Медицина, 1983. – 290 с.
312. Цирельников Н.И., Шитиков В.Ю. Роль плаценты в метаболизме сывороточного гемоглобина плода // Механизмы регуляции эритропоэза. – Красноярск, 1978. – Ч.2. – С. 56-57.

313. Цыбульская Н.С. Адаптационно-компенсаторные реакции новорожденных // Тез. докл. VII съезда акушеров-гинекологов УССР. – Донецк, 1981. – С. 267-268.
314. Чалисова Н.И., Хавинсон В.Х. Исследование цитокинов в культуре нервной ткани // Росс. физиол. журнал. – 1999. – Т. 85, № 1. – С. 29-35.
315. Чередеев А.Н. Интерлейкины: функциональная роль как медиаторов функциональной системы // Лаб. дело. – 1990. – № 10. – С. 4-11.
316. Чернух А.М. Воспаление: Очерки патологии и экспериментальной терапии. – М.: Медицина, 1979. – 448 с.
317. Чернышев В.П., Валицкий В.Л. Сравнительный анализ белков беременности в регуляции функциональной активности Т-супрессоров // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1989. – Т. 108, №8. – С. 229-231.
318. Чертков И.Л., Дризе Н.И. Взлеты и падения клеточной гематологии за три четверти века // Гематология и трансфузиология. – 2001. – Т. 3, № 2. – С.10-14.
319. Чикало И.И., Степанова О.С., Козак С.А. Биологическая активность и состав микроэлементов тканевых препаратов экстракта и взвеси плаценты // Физиологически активные соединения. Респ. межвед. сб. - К.,1972. - Вып.4. - С. 145-147.
320. Шваб О.В., Тришкин С.В., Демушкин В.П. Хроматографический анализ пептидов фетальных тканей // Бюлл. exper. биологии и мед. – 1998. – Прилож. 1. – С. 191-193.
321. Шевченко С.И., Иванов Э.Н., Питько В.А. Воспаление и иммунитет: Методическое пособие. Выпуск 2. Эйкозаноиды и производные кислорода как медиаторы воспаления. Реакция острой фазы на воспаление. – Харьков, 2000. – 32 с.
322. Шепелев А.П., Корниенко И.В. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней // Вопр. мед. химии. – 2000. – Т.46, №2. – С. 110-116.

323. Шепітько В.І. Дослідження активності деяких дегідрогеназ у тканинах аlogenної плаценти при дії гіпотермії // Вісн. проблем біології і медицини. – 2002. – Вип. 5. – С. 101-104.
324. Шепітько В.І. Реакція паренхіми наднирників на введення аlogenної нативної та кріоконсервованої плаценти // Вісн. проблем біології і медицини. – 2003. – Вип. 2. – С. 122-124.
325. Шепітько В.І. Вплив трансплантації кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан наднирників // Вісн. морфології. -2003 – Вип. 9, № 1. – С. 59-61.
326. Шепітько В.І. Морфофункціональний стан печінки при алотрансплантації нативної і кріоконсервованої плаценти // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2003 – Т. 3, Вип. 1 (5). – С. 26-27.
327. Шепітько В.І. Состояние липопероксидации в плаценте в зависимости от разных режимов низкотемпературного хранения // Український медичний альманах. – 2003. – Т. 6, № 6. – С. 180-182.
328. Шепітько В.І. Морфофункціональний стан селезінки після алотрансплантації плаценти // Вісн. морфології. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 198-200.
329. Шепітько В.І. Морфофункціональний стан структурних елементів тимуса після алотрансплантації плаценти // Український медичний альманах. – 2003. – Т. 6, № 5. – С. 194-196.
330. Шепітько В.І. Морфофункціональний стан структурних елементів яєчника після алотрансплантації плаценти / Зб.: „Проблеми екології та медичної генетики і клінічної імунології”. – Київ-Луганск-Харків, 2003. – Вип. 5 (51). – С. 339-346.
331. Шепітько В.І. Влияние разных режимов температурного хранения на содержание гормонов в плаценте / Зб.: „Проблеми екології та медичної

- генетики і клінічної імунології”. – Київ-Луганськ-Харків, 2004. – Вип. 6 (59). – С. 463-468.
332. Шепітько В.І. Реакція структурних елементів печінки на трансплантацію кріоконсервованої плаценти та екзогенний подразник (розріз) // Вісн. проблем біології і медицини. – 2004. – Вип. 1. – С. 96-100.
333. Шепітько В.І., Козлова В.П., Юрченко Т.М., Строна В.І. Морфологічні аспекти механізму дії нативних і кріоконсервованих трансплантатів плаценти в експерименті // Трансплантологія. – 2000. – Т.1, №1. – С.294-295.
334. Шепітько В.І., Жуликова Е.П., Юрченко Т.Н., Шенберг М.Г. Реакция структурных элементов печени на имплантацию нативной и криоконсервированной плаценты в эксперименте / Матеріали Всеукраїнської наук. конф. “Успехи и перспективы развития криобиологии и криомедицины” (Харьков, 2001) // Пробл. криобиологии. – 2001. – №3. – С. 39.
335. Шепітько В.І., Стецук Є.В., Цебржинський О.І. Прооксидантно-оксидантна система плаценти при різних режимах низькотемпературного збереження // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. 3, № 2, ч. 2. – С. 489-490.
336. Шепітько В.І., Юрченко Т.М., Жулікова О.П., Котик Є.О., Білоножко О.П., Прокопюк В.Ю. Структурна характеристика гепато-лієнальної системи після застосування кріоконсервованої плаценти в експерименті / Мат. міжнародної наук.-практ. конф. „Проблеми клітинної та тканинної трансплантації” (Ів-Франківськ 2003). // Трансплантологія. – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 118-120.
337. Шепітько В.І., Юрченко Т.М., Клименко М.О., Татарко С.В., Стецук Є.В. Вплив кріоекстракту плаценти на клітинні реакції вогнища запалення і периферичної крові // Актуальні проблеми сучасної

- медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2004. - Т. 4, Вип. 1 (7). - С. 31-37.
338. Шепітько В.І., Юрченко Т.М., Клименко М.О., Татарко С.В., Стецук Є.В. Вплив кріоекстракту плаценти на реакцію тучних клітин при запаленні // Вісн. проблем біології і медицини. – 2004. – Вип. 2. - С. 103-106.
339. Шепітько К.В., Гаєвський С.О., Потяженко М.М., Шепітько В.І. Лікування стабільної стенокардії із застосуванням кріоконсервованої фетоплацентарної тканинної трансплантації / Матер. Всеукраїнської научн. конф. „Успехи и перспективы развития криобиологии и криомедицины” (Харьков, 2001) // Пробл. криобиологии. – 2001. № 3. – С. 43.
340. Шепітько К.В., Стародубцев С.Г. Вплив кріоконсервованої плацентарної трансплантації на гемодинамічні показники у хворих на ішемічну хворобу серця // Вісник Української медичної стоматологічної академії: Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2002. – Т. 3, вип. 1(5). – С. 63-65.
341. Шинкаренко Н.В. Химическая основа поведения синглетного кислорода в организме человека // Вопросы мед. химии. – 1986. – № 5 С. 2-7.
342. Ширшев С.В. Белки фетоплацентарного комплекса в регуляции иммунных реакций // Успехи современной биологии. – 1993. – №2. – С. 230-246.
343. Ширшев С.В. Цитокины плаценты в регуляции иммуноэндокринных процессов при беременности // Успехи современной биологии. – 1994. – Т. 114, № 2. – С. 223-239.
344. Ширшев С.В., Кеворков Н.Н. Репродуктивные гормоны белково-пептидной природы как регуляторы иммунных реакций // Успехи совр. биологии. – 1991. – Т. 111, №5 – С.683-697.

345. Шишкина Л.Н., Смотряева М.А. Связь повреждения мембраны и ДНК с процессом перекисного окисления липидов при слабых воздействиях // Биофизика. – 2000. – Т.45, вып.5. – С. 844-852.
346. Шостя А.М. Вікова динаміка активності каталази в крові свиней різних генотипів // Вісн. проблем біології і медицини. – 2002. – Вип. 2. – С. 26-31.
347. Шумаков В.И. Трансплантация органов и тканей – настоящее и будущее // Вест. РАМН. – 1999. – № 10. – С. 46- 47.
348. Шумаков В.И., Блюмкин В.Н., Скалецкий Н.Н. и др. Трансплантация островковых клеток поджелудочной железы (очерки). М.: 1994 – 384 с.
349. Шумаков В.И., Козин С.М., Брюховецкий А.С., Чехонин В.П. Особенности раннего периода и осложнения при эндолюмбальной трансфузии клеток эмбриональной нервной ткани. Трансплантация фетальных тканей и клеток. Сб. науч.ст./ Под ред. В.И. Кулакова, Г.Т. Сухих // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1998. – Т.126. – Прил. 1. – С. 72-76.
350. Шумаков В.И., Скалецкий Н.Н. Трансплантация островковых клеток в лечении сахарного диабета. Трансплантация фетальных тканей и клеток. Сб. науч.ст./ Под ред. В.И. Кулакова, Г.Т. Сухих // Бюлл. exper. биол. и медицины. – 1998. – Т.126. – Прил. 1. – С. 109-115.
351. Щербина Н.А., Потапова Л.В., Попов Н.Н. Имплантация криоконсервированной ткани вилочковой железы в комплексном лечении больных наружным генитальным эндометриозом // Актуальные вопросы репродуктологии и криомедицины: Сб. науч. труд. – Харьков, 1998. – С. 122-126.
352. Экспериментальная витаминология (Справочное руководство). Мн.: «Наука и техника», 1979. - 552 с.
353. Эльман А.Р., Пиотровский В.К., Вейко Н.Н. Метод количественного определения антипирина в сыворотке и слюне человека с помощью

- высокоэффективной жидкостной хроматографии // Хим. фарм. журн. – 1984. – №7. – С. 888-898.
354. Юрина Н.А., Радостина А.И. Коррелятивные отношения активности поверхности макрофагов и их лизосом в различных условиях функционирования. – В кн.: IV Всесоюз. конф. по патологии клетки. – М.: И-во АМН СССР. – 1987. – С. 62.
355. Юрченко Т. М., Белоножко А. П., Шарлай Т. М. Динаміка активності НАД·Н² і НАДФ·Н²-діафраз у клітках зростаючого епітелію роговиці, що обновляється, у процесі її гіпотермічного збереження // Пробл. криобиологии. – 2000. – № 2. – С. 31-35.
356. Юрченко Т. М., Белоножко А. П., Шарлай Т. М. Динаміка активності ЛДГ і МДГ у клітках зростаючого епітелію роговиці, що обновляється, у процесі її гіпотермічного збереження // Пробл. криобиологии. – 2000. – № 3. – С. 38-43.
357. Юрченко Т.Н., Белоножко А.П., Жуликова Е.П., Шарлай Т.М., Страна В.И., Шепитько В.И. Влияние криопротектора Me₂SO на активность окислительно-восстановительных ферментов в ткани плаценты // Пробл. криобиологии. – 2003. – № 1. – С. 3-6.
358. Юрченко Т.Н., Козлова В.Ф., Скорняков Б.А. и др. Влияние криопротекторов на биологические системы. – Киев: Наук. думка, 1989. – 240 с.
359. Alien W.E. Investigations into the use of exogenous oxytocin for promoting uterine drainage in mares susceptible to endometritis // Veterinary Record.- 1991. – Vol. 128, №25. – P. 593-594.
360. Alsat E., Guibourdenche J. Human placental growth hormone // Am. J. Obstet. Gynecol.- 1997.- Vol. 177, №6. -P.1526-1531.
361. Ames B.N. Dietary carcinogenesis and anticarcinogenesis, oxygen radicals and degenerative diseases. // Science. – 1983. – Vol. 221, №4617. – P. 1256-1264.

362. Andreani M., Debegai M., Gentis F. et al. Fetal Liver transplantation in the minipigs // Fetal liver transplantation. – New York: Alan R. Liss. Inc., 1985. – P. 205-218.
363. Bairstow B.M., Harveg A.R. The morphology and connectivity of dissociated and reaggregated fetal tectal tissue transplanted to rhemidbrain of newborn rats // Exp. Brain Res. – 1992. – N 89. – P. 560-570.
364. Balkwill F.R., Burke F. The cytokine network. // Immunol. Today, 1989.- Vol.10, №9. – P. 299 – 305.
365. Barve S.S., Cohen D.A. Mechanism of differential regulation of IL-2 in murine TH-1 and TH-2 cells subtests. //J.Immunol. – 1994. – Vol.152, №3.- P. 1171-1181.
366. Beaconsfield P., Birdwood G., Beaconsfield U P. The placenta // Sci Amer. – 1980. – V.243, N 2. – P. 80-90.
367. Bohn H., Kraus Y. Isolierung und Characterisierung eines neuen pflazentaspezifische Proteins (PP₁₀) // Arch. Gynecol. – 1979. – V.227, N 2. – P. 125-134.
368. Boman H.G. Peptide antibiotics and their role in innate immunity // Annu. Rev. Immunol.-1995.- Vol.13.- P.61-92.
369. Borman G.A., Luster M.I., Dean J.H. The effect of adult exposure to diethylstilbestrol in the mouse jn macrophage function and numbers // J. Reticuloendothel. Soc. – 1980. – V. 28, N 6. – P. 547-560.
370. Borth W., Teodorescu M. Inactivation of human interleukin-2 (IL-2) by a2-macroglobulin-trypsin complexes. // Immunology.-1986.- VoI57, N3.- P.367-371.
371. Bulmer J.N., Johnson P.M. Macrophage populations in the human placenta and amniochorion. // Clin. Exp. Immunol. -1984. – Vol. 57, №2.- P. 393 – 403.
372. Cedard L., Alsat E., Urtasum M.I., Varandot I. Studies on the mode of action of luteinizing hormone and chorionic gonadotropin on estrogenic biosynthesis

- and glucogenolysis by human placenta percused in vitro // *Steroids*. – 1970. – V. 16, N4. – P. 361-376.
373. Chatterjee M., Munro H.N. Structure and biosynthesis of human placental peptide hormones // *Vitam. Horm.* – 1977. – V. 35, N 2. – P. 149-208.
374. Chatterjee M., Baliga B.S., Munro H.N. Synthesis of human placental lactogen and human chorionic gonadotropin by polyribosomes and messenger RNAs from early and full term placentas // *Biol. Chem.* – 1976. – V. 251, N 10. – P.2945-2951.
375. Clave H., Sol J.F., Fiorentini M. et al. Le depisatge systeematique de l'infection urinaire gravidique et ses consequences: Pourquoi? Comment? // *Rev. franc. gynecol. et obstet.* – 1982. – V.77, N2. – P.105-112.
376. Cooke N.E., Liebhaber S.A. Molecular biology of the growth hormone-prolactin gene system // *Vitam. Horm.*-1995.- Vol.50, №2.- P.385-459.
377. Damis J. Placental function and fetal nutrition // *The placenta and fetal membranes*. – New York: Acad. ptess, 1960. – P. 85-99.
378. Damis J., Money W.L., Springer D., Lewitz M. Transport of amino acids by placenta // *Amer. J. Obstet. and Gynecol.* – 1968. – V. 101, N 6. – P. 820-829.
379. Dancis J., Baverman M., Leiud J. Plasma protein synthesis in the human fetus and placenta // *J. Clin. Invest.* – 1957. – V. 36, N 3. – P. 398-403.
380. De Loecker W., Koptelov V., Grischenko V., De Loecker P. Effects of cell concentration on viability and metabolic activity during cryopreservation // *Cryobiology*. – 1998. – Vol. 37. – P. 103-109.
381. Donovan P.J., Gearhart J. The end of the beginning for pluripotent stem cells // *Nature*. – 2001. – V. 414, № 1. – P.92-97.
382. Drobyski W.R., Hessner M.J. The use of the polymerase chin reaction to predict for subsequent reiapse in unrelated marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia // *Leuk. Lymphoma*. – 1998. – V. 31, № 3-4. – P. 317-323.

383. Dudley D.J., Colmer D. Inflammatory cytokine mRNA in human gestational tissues: implications for term and preterm labor // J. Soc. Gynecol. Invest.- 1996.- Vol.3, №2. – P.328-335.
384. Durell S.R., Raghunathan G., Guy H.R. Modeling the ion channel structure of cecropin // Biophys.J.-1992.- Vol.63, №6 .- P. 1623-1631.
385. Dye J.F., Leach L., Clark P., Firth J.A. Cyclic AMP and acidic fibroblast growth factor have opposing effects on tight and adherents junctions in microvascular endothelial cells // Microvasc Res. – 2001. – V. 62, № 2. – P. 94-113.
386. Enzyme histochemistry in cryobiology / In: Cruosurgery. Chapter IV. Springfielder, Illinois, 1970. – P. 52-77.
387. Farrant J., Walter C., Lee H. et al. Structural and functional aspects of biological freezing techniques // J. Microscopy. – 1977.- Vol.123.- P. 17-34.
388. Feingold K.R., Soued M., Adi S. et al. Effect of interleukin-1 on lipid metabolism in the rat. Simularities to and differences from tumor necrosis factor // Arteriosclerosis Thromb. – 1991. – V. 11. – P. 495-500.
389. Feldmann K.A., Pittelkow M.R., Roche P.C., Kumar R., Grande J.P. Expression of an immediate early gene, IEX-1, in human tissues // Histochem. Cell. Biol. – 2001. – V. 115, № 6. – P. 489-497.
390. Figari I.S., Mori N.A., Pallandino M.A. Regulation of neutrophils migration and superoxide production // Blood. – 1987. – Vol. 70, №4. – P. 979-984.
391. Fine A. Human fetal tissue research-practice, prospects and policy. // Cell Transplant. – 1994. – V.3, №2. – P.113-145.
392. Free B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanism of action // Am. J. Med. - 1994. - V. 97, N 3. - P. 5S-12S.
393. Fuller B. Organ preservation : the profit and loss account of using hypothermia to maintain viability // Transplantation Rev. – 1998.- Vol. 13.- P. 55-66.

394. Ganz T., Lehrer R.I. Antimicrobial peptides of vertebrates // *Curr. Opin. Immunol.*- 1998.- Vol.10, №1.- P. 41-44.
395. Gennaro R., Skerlavaj B., Romeo D. Purification, composition, and activity of two bactenecins, antibacterial peptides of bovine neutrophils // *Infection and Immunity.*-1989.- Vol.57, №10.- P. 3142-3146.
396. Gibbons J., Mitnich M., Chieff V. In vitro biosynthesis of TSN – and LH – releasing factors by the human placenta // *Am. J. Obstet. Gynec.* – 1975. – V. 121, № 1. – P. 127-131.
397. Grischenco V., Bobyрева L., Yurchenco T., Shepitko V. Usage of cryopreserved fragments of placenta in the complex therapy of diabetes mellitus. 36.: „Allograft against disability”. 2nd World Congress on Tissue Banking and 8th International Conference of EATB. 1999, Warsaw, Poland, s. 207.
398. Grudzinskas J.G., Menabawey M., Milley B.A. et al. The relation between the concentration of placental specific proteins in retroplacental and peripheral blood // *Brit. J. Obstet. and Gynecol.* – 1979. – V. 86, N 11. – P. 891-893.
399. Gudmundsson G.H., Agerberth B. The human gene FALL39 and processing of the cathelin precursor to the antibacterial peptide LL-37 in granulocytes // *J. Biol. Chem.*-1996.- Vol.238, №2.- P. 325-332.
400. Gutteridge J.M.C., Winyard P.G., Blake D.R. et al. The behavior of ceruloplasmin in stored human extracellular fluids in relation to ferroxidase-II activity. // *Biochem J.* – 1985. – V. 230, №2. – P.517-523.
401. Halliwell B., Cross C.E. Reactive oxygen species, antioxidants, and acquired-immunodeficiency-syndrome. // *Arch.Int.Med.* – 1991. – V. 151, №1. – P. 29-31.
402. Hardok M.J., Koudstaal J. Enzyme histochemistry as a link between biochemistry and morphology // *Progr. Histochem. and Cytochem.* - 1976. - V. 8, N 2. - P. 68.

403. Haslam S.Z., Lively M.L. Estrogen responsiveness of normal mouse mammary in primary cell culture: Association of mammary fibroblasts with estrogenic regulation progesteron receptors // Endocrinology. -1985. – Vol. 116, №5. – P. 1835-1844.
404. Haslan S.Z., Lively M.L. Estrogen responsiveness of normal mouse mammary in primary cell culture: Association of mammary fibroblasts with ecstrogenic regulation of progesteron receptors // Endocrinology. – 1985. – V. 116, N 5. – P. 1835-1844.
405. Hershberger M.E., Tuan R.S. Placental 54-kDa Ca^{2+} - binding protein: Regulation of expression and function in trophoblast calcium transport // Dev. Bio. – 1998. – Vol. 199, №1.-P. 80-92.
406. Heyborne K.D., McGregor J.A. Interleukin-10 levels in amniotic fluid at midtrimester: immune activation and suppression in relation to fetal growth // Am.J.Obstet. Gynecol.- 1994.-Vol. 171, №1.- P.55-59.
407. Horne C.H., Towler C.M., Humphreys R.L.R. Pregnancy specific beta-I-glycoprotein: a product of the syncytiotrophoblast // Experientia. – 1976. – V. 32, N 9. – P.1197-1199.
408. James K. Interactions between cytokines and α_2 -macroglobulin // Immun. Today.- 1990.-Vol.11, №5.-P. 163-166.
409. Joel P.B., Hagerman D.D., Villee C.A. Effect of estradiol added in vitro on the metabolism of human placenta // J. Biol. Chem. – 1961. – V. 236, N 12. – P. 3151-3157.
410. Johnson R.D., Walsh S.W. Differentiation and growth on a fibrin matrix modulate the cyclooxygenase expression and thromboxane production by cultured human placental trophoblasts // Prostaglandins Leukot. Essent.Fatty Acids.- 1995.- Vol.52, №1.-P. 21-27.
411. Josimovich J.B. Placental protein hormones in pregnancy // Clin. Obstet. and Ginecol. – 1973. – V. 16, N 3. – P.46-65.

412. Kapeller-Adler E., Hammed W.A. A biochemical study of nucleic acids and protein synthesis in the human fetus and its correlation with relevant embryological data // J. Obstet. and Gynecol.–1972.–79, N 7.–P. 924-930.
413. Kapp A., Freudenberg N., Galanos C. Induction of human granulocyte chemiluminescence by bacterial lipopolysaccharides // Infect. Immun. – 1987. – V. 55, №3. – P. 758-761.
414. Kasama T. Production of interleukin-1 – like factor from human peripheral blood monocytes and polymorphonuclear leukocytes // Clin. Immunol. – 1989. – V. 53, №3. – P. 439-448.
415. Keelan J.A., Marvin K.W. Cytokine abundance in placental tissues: Evidence of inflammatory activation in gestational membranes with term and preterm parturition // AmJ.Obstet. Gynecol.-1999.-Vol.181,№6.-P. 1530-1536.
416. Kim Y.M., Hong S.J., Billiar T.K., Simmons R.L. // Infect. Immun. – 1996. – V. 64, №1. – P. 3074-3080.
417. Klaschka F. Oral enzymes – new approach to cancer treatment: Immunology concepts for general and clinical practice complementary cancer treatment. – Grafelfmg: Forum – Med. – Verl.- Ges., 1996.- 220 p.
418. Knekt P., Reunanen A., Jarvinen R. et al. Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study // Am. J. Epidemiol. - 1994. - V. 139. - P. 1180-1189.
419. Koehig U.D. Immunologie der schwangerschaft und des Abortes // Gynakol. Prax. -1982.–6, N 1.–S. 15-30.
420. Kozlova V., Shepitko V., Yurchenco T. Morphological characteristics of the liver tissue reaction to the placenta cryopreserved fragment implantation in the experiment. 36.: „Allograft against disability”. 2nd World Congress on Tissue Banking and 8th International Conference of EATB. 1999, Warsaw, Poland, s. 203.
421. Krieger D.T. Placenta as a source of brain and pituitary of hormones // Biol. Reprod.–1982.–26, N 1.–P. 55-71.

422. Krieger D.T. Placenta as a source of brain and pituitary hormones // Biol. Reprod.- 1982.-Vol.26, №1.-P. 55-71.
423. Kulhanek J.F., Mechia G., Marowsky E.L, Battaglia F.C. Change in DNA content and urea permeability of the sheep placenta // Amer. J. Physiol.–1974. -226, N9.-P. 1257-1263.
424. Kushi L., Foisom A., Prineas R. et al. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women // N. Engl. J Med. - 1996. - V. 334. - P. 1156-1162.
425. Laga E.M., Baliga B.S., Munro H.N. Isolation and properties of polysomes from human placenta // Biochim. et biophys. acta. – 1970. – 213, N 2. – P. 391-400.
426. Laga E.M., Driscott S.G., Munro H.N. Quantitative studies of human placenta. 2. Biochemical characteristics // Biol. Neonate. – 1973. – 213, N 3/4. – P. 231-259.
427. Larsson P.G., Platz-Christensen J.J., Thejls H. et al. Incidence of pelvic inflammatory disease after first-trimester legal abortion in women with bacterial vaginosis after treatment with metronidazole: a double-blind, randomized study // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 1992. – V. 166, №1. – P. 100-103.
428. Lash G.E., Cartwright J.E., Whitley G.S., Trew A.J., Baker P.N. The effects of angiogenic growth factors on extravillous trophoblast invasion and motility // Placenta. – 1999. – V. 20, № 8. – P. 661-667.
429. Leibo S.P., Farrant J., Mazur P. et at. Effects of freezing on marrow stem cell suspensions: interactions of cooling and warming rates in the presence of PVP, sucrose, or glycerol // Cryobiology. – 1970.- Vol. 6. – P. 315-332.
430. Litonija A.D., Caulas M., Soliman J., Paulino D.Q. Uptake of alpha-aminoisobutyric acid in placental slices at term // Amer. J. Obstet and Gynecol.–1967, -99, N 2.–P. 242-246.
431. Lovell – Badge R. The future for stem cell research // Nature. – 2001. – V.

- 414, № 1. – P. 88-91.
432. Lovelock J. The hemolysis of human red blood cells by freezing and thawing // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1953. – Vol. 10. – P. 414-426.
433. Lundin-Schiller S., Mitchell M.D. The role of prostaglandins in human parturition. // *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.*-1990.- Vol.39.- P. 1-10.
434. Manson J., Gaziano J., Spelsberg A. et al. A secondary prevention trial of antioxidant vitamins and cardiovascular disease in women: Rationale design and methods // *Ann. Epidemiol.* - 1995. - V. 5. - P. 261-268.
435. Matsuzaki N., Taniguchi T. Placental interleukin-6 production is enhanced in intrauterine infection but not in labor // *Am.J.Obstet. Gynecol.*-1993.- Vol.168, №1.- P.94-97.
436. Mazur P. The role of cell membranes in the freezing of yeast and other single cells // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1965. – Vol. 125 – P. 658-676.
437. Mazur P., Cole K.W. Roles of unfrozen fraction, salt concentration, and changes in cell volume in the survival of frozen human erythrocytes // *Cryobiology.* – 1989. – Vol. 26. – P. 1-29.
438. Mazur P. Equilibrium, quasi-equilibrium and non-equilibrium freezing of mammalian embryos // *Cell Biophys.* – 1990. – Vol. 17. – P. 53-92.
439. Mazur P. Principles of cryobiology // In 'Life in the Frozen State'. Eds B. Fuller, E. Benson & N. Lane. Taylor and Francis (London). – In press. – 2003.
440. McGann L.E., Farrant J, Survival of tissue culture cells frozen by a two-step procedure to -196°C. II. Warming rate and dimethyl sulphoxide concentration // *Cryobiology.*- 1976. – Vol. 13. – P. 269-273.
441. McGann, L.E., Janowska-Weiczorek A., Turner A. et al. Water permeability of human hemopoietic stem cells // *Cryobiology.* – 1987. – Vol.24. – P. 112-119.
442. Micallef I.N., Chhanabhai M., Gascoyne R.D. et al. Lymphoproliferative disorders following allogeneic bone marrow transplantation: the Vancouver

- experience // Bone marrow transplantation. – 1998. – V. 22, № 10. – P. 981-987.
443. Mitchell M.D., Koenig J.M. Increased production of 15-hydroxyeicosatetraenoic acid by placentae from pregnancies complicated by pregnancy-induced hypertension // Prostaglandins Leukot. Essent.Fatty Acids.- 1991.- Vol.43, №1.- P.61-62.
 444. Mowbray J.F., Liddell H. Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunization with paternal cells // Lancet. – 1985. – V. 1, №8425. – P. 941.
 445. Muldrew K., McGann L.E. The osmotic rupture hypothesis of intracellular freezing injury // Biophysical J. – 1994.- Vol. 66. – P. 532-541.
 446. Nelson D.M., Walsh S.W. Thromboxane and prostacyclin production by different compartments of the human placental villus // J. Endocrinol. Metabol.- 1989.- Vol.68,№3.-P. 676-683.
 447. Obiekwe B.C., Grudzinskas J.G., Gordon J.B., Chard T. The variation of maternal blood levels of placental protein 5 in late pregnancy // Brit. J. Obstet and Gynecol.–1979.–66, N 11.–P. 897-900.
 448. Olson D.M., Mijovic J.E., Sadowsky D. Control of human parturition // Semin Perinatol.-1995.- Vol.19, №1.- P. 52-63.
 449. Olson R.E., Dhalla N.S., Sun C.N. Changes in energy stores in the hypoxic heart // Cardiology. – 1971. – V. 56, N 1. – P. 114-124/
 450. Oullette A.J., Miller S.I. Purification and primary structure of mouse cryptdin-1, a Panth cell defensin // FEBS Lett.-1992.- Vol.304, №2-3.- P. 146-148.
 451. Panyutich A., Shi J. Porcine polymorphonuclear leucocytes generate extracellular microbicidal activity by elastase-mediated activation of secreted propeptidases //Infection and Immunity.-1997.- Vol.65, №3.7 P. 978-985.
 452. Pegg D.E., Daiper M. The packing effect in erythrocyte freezing // CryoLetters. – 1983. – Vol. 4. – P. 129-136.

453. Petrie R.N. Perinatal pharmacology. – Oradel (N-Y): Medical Economic Books, 1989. – 190 p.
454. Petropoulos E.A. Maternal and fetal factors affecting the growth and function of the rat placenta // *Acta endocrinol*–1973.–73, Suppl.76. -P.1-69.
455. Polge C., Smith A., Parkes A. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures // *Nature (Lond.)*. – 1949. – Vol. 164. – P. 666-667.
456. Rall W., Reid D., Farrant J. Innocuous biological freezing during warming. *Nature (Lond.)*. – 1980. – Vol. 286. – P. 511-514.
457. Reisenberger K., Egarter Ch. In vitro cytokine and prostaglandin production by amnion cells in the presence of bacteria // *Am.J.Obstet. Gynecol.*-1997.- Vol. 176, III.-P.981-984.
458. Reisenberger K., Egarter Ch. Cytokine and prostaglandin production by amnion cells in response to the addition of different bacteria // *Am.J.Obstet. Gynecol.*-1998.- Vol.178, №2.-P.50-53.
459. Ricketts R.M., Jones D.B. Differential effect of human chorionic gonadotropin on lymphocyte-proliferation induced by mitogens // *J. Reprod. Immunol.* – 1985. – Vol.7, №3 P.225-232.
460. Romero R., Brody D.T. Infection and labor, III: interleukin-1: a signal for the onset of parturition//*Am. J.Obstet. Gynecol.*- 1989.- Vol.160, №5.-P. 1117-1123.
461. Rosado A., Bernal A., Sosa A. et al. Human growth retardation. 3. Protein, DNA, RNA, adenine nucleotides and activities of the enzymes pyruvate and adenylate kinase in placenta // *Pediatrics*.–1972.–50, N 6.–P. 568-577.
462. Schraufstatter I.U., Hyslop P.A.Oxydant injury of cells. // *Int.J.Tissue React.* – 1987. – V. 9, №4. – P. 317-324.
463. Shien J.H., Gordon M.S. Modulation of cytokine receptors and superoxide production in neutrophils treated with IL-1. // *Blood*. – 1990. – V. 70. – P. 165-167.

464. Shimoya K., Matsuzaki N. Human placenta constitutively produces interleukin-8 during pregnancy and enhances its production in intrauterine infection. // Biol Reprod.-1992.- Vol.47, №2.- P.220-226.
465. Small T.N., Papadopoulos E.B., Boulad F. et al. Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions // Blood. – 1998. – V. 93, № 2. – P.467-480.
466. Spong C.Y., Sherer D.M. Midtrimester amniotic fluid or maternal serum interleukin-10 levels do not predict small-for-gestational age neonates // Obstet Gynecol.-1996.-Vol.88, №1.-P.24-28.
467. Stallmach T., Hebisch G. Cytokine production and visualized effects in the fetomaternal unit: qualitative and topographic data on cytokines during intrauterine disease. // Lab. Invest.- 1995.- Vol.73, №2.- P. 384-392.
468. Stefens N., Parsons A., Schofield P. et al. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) // Lancet. - 1996. - V. 347. - P. 781-786.
469. Sutcliffe R.G., Brock D.J.H. Immunological studies on the nature and origin of the major proteins in amniotic fluid // J. Obstet and Gynecol. Brit. Commonw. -1973.-80, N8.-P. 721-727.
470. Sybulski S., Tremblay P.S. Uptake and incorporation into protein of radioactive glycine human placentas in vitro // Amer. J. Obstet. and Gynecol.– 1967. -97.N8.-P. 1111-1118.
471. Tax W.J.M., Winkel van de J.G.J. Human Fcγ receptor II: A standly receptor activated by proteolysis? // Immun. Today.-1990.- Vol.11, №9.- P.308-310.
472. Tedde G., Tedde P.A. Mitotic index of the Lenghaus cell in the normal human placenta from the early stages of pregnancy to the term // Acta anat.– 1977. -100, N1.-P. 114-120.
473. Torry D., Ahn H., Barnes E., Torry R. Placenta growth factor: potential role in pregnancy // Amer. J. Reprod. Immunol. – 1999. – V. 41, № 1. – P. 79-85.

474. Touraine J.L. Inutero transplantation of haemopoietic stem-cells in human / Transl.P. – 1991. – V. 23, №1. – P. 1706-1708.
475. Trevanil A.S., Andonegui G.A. Effect of proteolytic enzymes on neutrophil FcyRII activity // Immunology.- 1994.- Vol.82, №4.- P.632-637.
476. Tyndall A., Passweg J., Gratwohl A. Haemopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe autoimmune diseases 2000 // Ann. Rheum. Dis. – 2001. – V. 60, № 7. – P. 702-707.
477. Wasil M., Hallivel B. The antioxidant action of human extracellular fluids // Biochem.J. – 1987. – V. 243, №1. – R 219-223.
478. Wenstrom K.D., Andrews W.W. Elevated fluid interleukin-6 levels at geneticamniocentesis predict subsequent pregnancy loss // Am.J.Obstet Gynecol.- 1996.-Vol. 175, №3.-P. 830-833.
479. Whipple G.H., Him R.B. Jr., Terry R. et al. The placenta and protein metabolism-transfer studies using carbon C-labelled proteins in dogs // J. Exp. Med.–1955. -101, M 6.-P. 617-626. .
480. Winick M., Noble A. Quantitative changes in ribonucleic acids and protein during normal growth of rat placenta // Nature.–1966.–212. N 5057.–P. 34-35.
481. Winick M., Coscia A., Noble A. Cellular growth of human placenta. 1. Normal placental growth // Pediatrics.–1967.–39, N 2.–P. 248-251.
482. Wyinn R.M. Electron microscopic contributions to placental physiology // J. Obstet. and Gynecol.–1965.–72, N 6.–P. 955-563.
483. Wymann M.P., Kernen. Respiratory burst oscillations in human-neutrophils and their correlation with fluctuations in apparent cell-shape. // J.Biol.Chem. – 1989. – V. 264, №27. – P.5829-5834.
484. Wynn R.M., Panigel M., McLennan AM. Fine structure of the placenta and fetal membranes of the babbon // Amer. J. Obstet and Gynecol.–1981–108, N 4. -P.638-648.
485. Yaseen N.R., Maizel A.L. Comparative-analysis of NFAT (nuclear factor of activated T-cells) complex // J. Immunol. -1993. – Vol.150, №8. – P. 264.

486. Yoon B.N., Romero R. Amniotic Fluid IL-6: a sensitive tests for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity // *Am.J.Obstet Gynecol.*-1995.- Vol. 172, №2.- P. 960-970.
487. Young M., Stern M.D..R., Hork J., Noakes D.E. Protein synthesis rate in the sheep placenta in vitro: the influence of insulin // *Placenta.*-1982.-3, N2.- P.I59-164.
488. Younoszai M.K., Haworth J.C. Chemical composition of the placenta in normal proterm, term and interauterine growth-retarded infants // *Amer. J. Obstet and Gynecol.*-1969.-103, N2.-P. 262-264.
489. Zasloff M. Antibiotic peptides as mediators of innate immunity // *Curr. Opin. Immunol*-1992.- Vol.4, №1.- P.3-7.
490. Zeeman G.G., Khan-Dawood P.S., Dawood M.Y. Oxytocin and its receptor in pregnancy and parturition: current concepts and clinical implications // *Obstet. Gynecol.*-1997.- Vol.89, №4.- P. 873-883.