

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

БАБАЄВА ГАННА ГЕОРГІЇВНА

УДК: 616.127-002.4.092.4:615.361.11.014.41:612.015.21

**ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕКРОЗУ МІОКАРДА ПРИ
ВИКОРИСТАННІ ЕКСТРАКТУ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ
СЕРЦЯ ПОРОСЯТ**

14.01.35 – кріомедицина

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Гальченко Сергій Євгенович, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, провідний науковий співробітник відділу експериментальної кріомедицини, м. Харків.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор Яблучанський Микола Іванович, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, завідувач кафедри внутрішньої медицини медичного факультету, м. Харків;

доктор медичних наук, професор Шепітько Володимир Іванович, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології факультету підготовки іноземних студентів, м. Полтава.

Захист дисертації відбудеться «22» листопада 2016 р о 13:30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61015, Харків, вул. Переяславська, 23.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою 61015, Харків-15, вул. Переяславська, 23.

Автореферат розісланий «21» жовтня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор біологічних наук, професор



Л.Ф. Розанов

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Ішемічна хвороба серця та інфаркт міокарда (ІМ), як її прояв, широко поширені в усьому світі, і на сьогоднішній день представляють одну з важливих проблем охорони здоров'я (Фуштей І.М., 2010; Горбась І.М., 2009; Тумаренко А.В., Скворцов В.В., 2013). Вивченню причин розвитку і патогенезу ІМ присвячена велика кількість досліджень (Непомнящих Л.М. и др, 2010; Бабушкіна А.В., 2009; Ewout J. van den Bos et al, 2005). Наявні факти дозволяють припустити, що у клінічних проявах і патогенезі ІМ відіграє роль не тільки сама ділянка некрозу серцевого м'яза, а й процеси, що розвиваються в збережених відділах серця, здатність до своєчасного і достатнього включення компенсаторно-приспосувальних механізмів (Копица Н.П., Литвин Е.И., 2011). В даний час встановлено, що зрушення в обмінних процесах у серцевому м'язі при ІМ поширюються далеко за межі зони порушеного коронарного кровотоку.

Лікування ІМ та вторинна профілактика включає в себе комплекс заходів, в тому числі медикаментозну терапію, зокрема, застосування антиангінальних, а при необхідності також протиаритмічних засобів, серцевих глікозидів і т. ін. (Окорочков А.И., 2002). Але при тривалому застосуванні такого роду препаратів можливі побічні реакції відповідно до фармакологічних властивостей препаратів (Власова І., 2007).

Останнім часом велика увага приділяється пошуку різних факторів, що беруть участь у регуляції тканинного гомеостазу, у тому числі процесів репаративної регенерації в ушкоджених тканинах, у тому числі і в серці (Михайличенко В.Ю., 2012; Дремина Н.Н. и др., 2009; Dhein S. et al. 2010). Не дивлячись на відповідні досягнення сучасних клітинних технологій в області кардіоміопластики, проблема репаративної регенерації міокарду при інфаркті та постінфарктному рубцюванні тканини дотепер актуальна і вимагає поглиблених експериментальних досліджень.

Все більша увага приділяється клінічним та експериментальним дослідженням щодо стимулювання регенерації міокарда за допомогою введення стовбурових клітин крові або кісткового мозку, ксеногенних кардіоміоцитів, мезенхімальних стромальних клітин і та ін. (Wang X. et al., 2011; Penn M.S. et al., 2011; Jawad H. et al., 2007; Miyahara Y. et al., 2006; Давыденко В.В. и др., 2007). Одним із напрямків тканинної і клітинної терапії, що активно розвивається в даний час, є використання відповідних пептидів або їх комплексів для нормалізації процесу фізіологічної і репаративної регенерації (Gassanov N. et al., 2012; Kastrup J. et al., 2006; Дремина Н.Н. и др. 2009; Korf-Klingebiel M. et al., 2008).

Вважається, що дія тканинних екстрактів, які містять регуляторні пептиди, заснована на принципі тканинспецифічності або органотканинної подібності – екстракт органа тварини прямо впливає на гомологічний орган або на стан органних культур (Karelin A.A. и др. 1998; Хавинсон В.Х., Рыжак Г.А. 2010; Kvetnoy I.M. et al., 2003; Upadhyay R. et al., 1999). На відміну від органопрепаратів із нативних клітин, що містять високомолекулярні протеїни і фрагменти клітинних мембран, такі екстракти практично не викликають сенсibiliзації і алергічних реакцій.

Було показано, що використання кріобіологічних технологій дозволяє отримати екстракти фрагментів органів свиней і поросят із високою біологічною активністю (Гальченко С.Е. и др, 2012; Рогоза Л.А. и др., 2013). Їхня дія

проявляється в стимуляції процесів репаративної регенерації при експериментальних патологіях відповідних органів, таких як опікові і холодкові рани, алоксановий цукровий діабет, токсичний гепатит та ін. (Гальченко С.Є. 2005). Їх дія органоспецифічна і видонеспецифічна.

В зв'язку з цим у даній роботі проведено дослідження впливу екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) на перебіг експериментального некрозу міокарда (НМ) у щурів.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Робота виконана в рамках науково-дослідних тем Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України: "Одержання екстрактів з кріоконсервованого ксеногенного матеріалу, їх склад та біологічна дія" (№ держреєстрації 0107U000539) і "Вплив низьких температур та екстрактів серця і селезінки на процеси некротизації і регенерації міокарду, судин та хряща" (№ держреєстрації 0112U003133).

Мета і задачі дослідження. Встановити особливості впливу ЕСцП при його уведенні щурам в черевну порожнину на перебіг експериментального некрозу міокарда.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Створити модель НМ з повторюваною зоною ураження.
2. Дослідити вплив введення ЕСцП щурам з НМ на розміри зони некрозу та електрокардіографічні показники стану серця тварин.
3. Встановити вплив введення ЕСцП на лейкоцитарну формулу крові та активність маркерних ферментів у сироватці крові щурів з НМ.
4. Визначити інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), кількість молекул середньої маси (МСМ) та навантаженість альбуміну лігандами в сироватці крові тварин з НМ та з НМ після введення ЕСцП.

Об'єкт дослідження – деструктивно-відновні процеси в серці щурів при експериментальному кріонекрози міокарда.

Предмет дослідження – вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на перебіг кріонекрозу міокарда.

Методи дослідження – спектрофотометричний для визначення концентрації пептидів, високоефективної гельпроникної хроматографії, гістологічний із морфометрією, спектрофлуориметричний, в т.ч. з використанням флуоресцентного зонда К-35, електрокардіографічний метод, біохімічні методи визначення активності маркерних ферментів, метод світлової мікроскопії, метод статистичної обробки результатів досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів.

В роботі вперше встановлено загальні закономірності розвитку некрозу та ремодуляції серця щурів залежно від часу кріовпливу на стінку лівого шлуночка. Встановлено, що варіація часу кріодеструкції серцевого м'яза дає можливість отримувати як субепікардіальний, так і трансмуральний НМ з високою повторюваністю зони ураження, а ремоделювання міокарда проходить по класичному шляху від асептичного запалення до формування сполучно-тканинного рубця.

При проведенні спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму (BCP) встановлено, що ЕСцП сприяє більш ранньому відновленню співвідношення внеску

симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи в потужність спектру порівняно з контролем та введенням Неотону. Також при введенні ЕСцП тваринам з НМ зменшується діаметр зони кріонекрозу, площа перерізу по центру зони кріонекрозу та площа перерізу зони ішемії, порівняно з тваринами, які не отримували лікування.

Показано, що введення ЕСцП сприяє зниженню лейкоцитарного індексу інтоксикації модифікованого (ЛІМ). На 30 добу в групі з НМ він залишався на високому рівні, а в групі тварин, яким вводили ЕСцП - відновлювався до 14 доби. Введення Неотону справляло дещо менш виражений ефект.

Встановлено, що у тварин з експериментальним некрозом міокарда, яким вводили ЕСцП, інтенсивність вільнорадикального окислення ліпідів і концентрація ТБКАП в сироватці крові зменшуються більш швидкими темпами порівняно з контролем. У тварин із НМ збільшується кількість МСМ в сироватці крові та навантаженість альбуміна лігандами. Введення таким тваринам ЕСцП сприяє нормалізації цих показників в більш ранні строки порівняно з нелікованим некрозом. Вперше показано, що методи спектрофлуориметрії можуть знайти використання для оцінки вираженості і перебігу патологічного процесу при НМ та ефективності терапії.

Практичне значення одержаних результатів. Проведені дослідження показують високу біологічну активність і перспективність застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят при лікуванні інфаркту міокарда. Одержані в роботі дані можуть бути використані при розробці препаратів імунобіологічної дії для лікування інфаркту міокарда та бути основою для подальшого визначення механізмів дії екстрактів тваринного походження з метою оптимізації схем лікування та при розробці нових, патогенетично обґрунтованих підходів до лікування хворих із такою патологією.

Особистий внесок здобувача. Основні результати досліджень одержані здобувачем особисто. Автором дисертаційної роботи разом з науковим керівником визначені тема, мета, задачі роботи та методи досліджень. Автор приймав безпосередню участь у проведенні експериментів. Статистична обробка, аналіз, інтерпретація та узагальнення одержаних результатів, а також формулювання основних положень і висновків проведені автором самостійно.

В опублікованих разом із співавторами роботах особистий внесок здобувача полягав у наступному:

у роботах [1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 19, 20] – планування та проведення експериментів по моделюванню та визначенню особливостей розвитку кріонекрозу міокарда, проведення електрокардіографічних та гістологічних досліджень. Аналіз одержаних результатів;

у роботах [3, 5, 7, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26] – планування та проведення експериментів по визначенню впливу екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на морфометричні характеристики некрозу міокарда, електрофізіологічні показники серця, біохімічні та спектрофлуориметричні дослідження, визначення лейкоцитарної формули крові. Аналіз одержаних результатів;

у роботах [9,11] – визначення молекулярно-масового розподілу пептидів в екстрактах серця поросят.

При виконанні окремих розділів було отримано методичну та консультативну допомогу від ст. наук. співр., канд. біол. наук О.Ю. Семенченка та ст. наук. співр., канд. біол. наук Т.С. Дюбко (Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України).

Апробація результатів дисертації. Матеріали роботи доповідались та обговорювались на VII міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2011); науково-практичній конференції «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Новий Світ, АР Крим, 2011); конференції молодих вчених «Холод в биологии и медицине – 2011: Актуальные проблемы кробиологии, трансплантологии и биотехнологии» (Харків, 2011); міжнародній конференції з регенеративної медицини WRM 2011 (Лейпциг, Німеччина, 2011); VI міжнародній конференції молодих науковців «Біологія від молекули до біосфери» (Харків, 2011); II конгресі Європейського кардіологічного товариства «Межі в кардіоваскулярній біології» (Лондон, 2012); X міжнародній науковій конференції студентів та молодих науковців «Шевченківська весна 2012: біологічні науки» (Київ, 2012); 36й щорічній конференції молодих вчених ІПКіК НАН України «Холод в биологии и медицине – 2012. Актуальные проблемы кробиологии, трансплантологии и биотехнологии» (Харків, 2012); науковій конференції з міжнародною участю, присвяченій 40-річчю ІПКіК НАН України «Актуальные вопросы кробиологии и криомедицины» (Харків, 2012); міждисциплінарній науковій конференції «Адаптаційні стратегії живих систем» (Новий Світ, АР Крим, 2012); VI конгресі патофізіологів України (Місхор, АР Крим, 2012); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми регенеративної медицини» (Київ, 2012); 37й щорічній конференції молодих вчених «Холод в биологии и медицине – 2013. Актуальные проблемы кробиологии, трансплантологии и биотехнологии» (Харків, 2013); 25 Конференції Міжнародного Товариства Медичних Інновацій і Технологій, iSMIT 2013 (Баден-Баден, Німеччина, 2013); міжнародній конференції Товариства Низькотемпературної Біології «Innovation of Low Temperature Preservation and Biobanking – SLTB 2013» (Ганновер, Німеччина, 2013); VII Всеросійському съезі трансплатологов (Москва, 2014); 50й щорічній науковій конференції SLTB-2014 (Лондон, Велика Британія, 2014).

Публікації. Основні положення дисертації викладені в 26 роботах: 7 статтях, опублікованих в фахових наукових виданнях, одному патенті та 18 тезах доповідей.

Структура дисертації. Робота викладена на 112 сторінках. Вона має вступ, основну частину, яка складається з трьох розділів (огляд літератури, матеріали і методи дослідження, отримані результати та їх обговорення), заключення, висновки. Список використаної літератури складає 282 джерела і викладений на 34 сторінках. Дисертація містить 15 рисунків та 29 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження виконані в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за регламентом, затвердженим

Комітетом з біоетики ІПКіК НАН України, який було розроблено відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених ІІ Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2007) і узгоджених з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986).

Новонароджених поросят доставляли з агрокомбінату «Слобожанський» Чугуєвського району Харківської області. Серця отримували в операційній віварію ІПКіК НАН України і подрібнювали ножицями на фрагменти масою 2-5 мг. Одержані фрагменти тричі відмивали фізіологічним розчином (рН 7,4) в співвідношенні 1:10. До фрагментів по краплях додавали 20% розчин кріопротектора ПЕО-1500 в фізіологічному розчині в співвідношенні 1:1, ретельно і обережно перемішуючи завись. Завись фрагментів розфасовували в поліетиленові ампули об'ємом 20 мл. Заморожували за допомогою програмного заморожувача УОП-6 виробництва СКТБ з ДВ ІПКіК НАН України зі швидкістю охолодження 1°C/хв до температури -70°C з наступним перенесенням в рідкий азот. Матеріал відігрівали на водяній бані з температурою 37-40°C. Від ПЕО-1500 деконсервовані фрагменти відмивали фізіологічним розчином. Для одержання екстрактів відігріті фрагменти серця інкубували в фізіологічному розчині 60 хв. Для видалення термолабільних протеїнів супернатант прогрівали на киплячій водяній бані 15 хв і очищували, пропускаючи через фільтрувальний папір (Гальченко С.Е., 2012).

Концентрацію пептидів визначали спектрофотометричним методом при довжинах хвиль 280 нм і 260 нм на спектрофотометрі Perkin Elmer Lambda (Perkin Elmer, США) (Уильямс Д., Уилсон К., 1978). Для визначення молекулярно-масового розподілу низькомолекулярних фракцій пептидної природи використовували метод високоефективної гелпроникної хроматографії (Столяров Б.В. и др., 1998).

В роботі використовувались білі безпородні щури-самці віком 6-9 місяців масою 180-220 г, які утримувалися в стандартних умовах віварію. При відпрацюванні та виборі моделі кріонекрозу міокарда тварини були розділені на 3 дослідних групи по 28 щурів у кожній: контроль – щури після торакотомії; щури після кріодеструкції серця протягом 15 сек; щури після кріодеструкції серця протягом 30 сек. Групу норми склали 10 тварин.

При вивченні впливу ЕСцП на перебіг НМ тварини були розділені на п'ять груп. До 1 групи увійшло 10 інтактних тварин (норма); в 2 – 7 тварин після торакотомії без будь-якого втручання на серце (торакотомія); 3 групу склали 28 контрольних тварин із НМ і введенням фізіологічного розчину; 4 – 28 щурів із НМ і введенням Неотону (НМ+«Неотон»); 5 – 28 щурів з НМ і введенням в черевну порожнину ЕСцП (НМ+ЕСцП). Кріодеструкцію серця проводили протягом 15 сек.

Контрольним тваринам із НМ в черевну порожнину вводили фізіологічний розчин по 1 мл 1 раз на добу протягом усього експерименту. «Неотон» вводили щурам у дозі 20 мг на 100 г маси. Введення ЕСцП проводили впродовж всього експерименту в черевну порожнину в дозі 50 мкг пептидів на 100 г маси тварини. Перше введення фізіологічного розчину, Неотону або ЕСцП проводили одразу після операції.

Оперативні втручання у щурів проводили під наркозом на спонтанному диханні. Доступ у грудну порожнину здійснювали в 4-5 міжреберному проміжку по

середньо-ключичній лінії за допомогою Т-подібного розрізу з перетином 5 ребра. Кріовплив на стінку лівого шлуночка проводили аплікатором діаметром 3,0 мм, який охолоджувався рідким азотом. (Чиж Н.А. и др., 2011).

Для гістологічних досліджень серця тварин фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну з подальшою заливкою в парафін. З парафінових блоків одержували зрізи тканини завтовшки 6-8 мкм. Мікропрепарати забарвлювали гематоксиліном і еозином (Волкова О.В., Елецкий Ю.К. 1982). Дослідження та фотографування препаратів проводили на мікроскопі MEIJI (Techno, Японія). Для морфометрії використовували програму AxioVision Rel.4.8 (Carl Zeiss, Німеччина).

Лейкоцитарну формулу визначали по мазках крові, забарвлених азур II – еозином за Романовським – Гімза, підраховуючи по 500 клітин у світловому мікроскопі (ЛОМО, Росія). Кров для досліджень брали з хвостової вени тварин. Визначали ЛПМ та індекс зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК) (Островский В.К. и др., 2006).

Для реєстрації електрокардіограм (ЕКГ) та визначення варіабельності серцевого ритму тварин використовували апаратно-програмний комплекс «Полі-Спектр» (Нейрософт, Росія). Для оцінки вираженості запального і резорбційно-некротичного синдрому при НМ визначали активність АЛАТ, АсАТ і ЛДГ в сироватці крові за допомогою наборів «Фелісит діагностика» (Дніпропетровськ, Україна). Рівень перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) визначали за початковим рівнем ТБКАП у сироватці крові спектрофотометричним методом по стандартній методиці при довжині хвилі 532 нм (Арутюнян А.В. и др., 2000). Оцінку процесів вільнорадикального окислення ліпідів і стійкості до перекисного окислення проводили хемілюмінесцентним (ХЛ) методом (Арутюнян А.В. и др., 2000).

У дослідженнях використовували флуоресцентний зонд К-35 (нейтральний 4-діалкіламінозаміщений похідний нафталевої кислоти) (SETA Biomedicals LLC, США). Для проведення досліджень зонд К-35 готували у вигляді спиртового розчину. Флуоресценцію речовин пептидної природи збуджували світлом з довжинами хвиль 280 нм (загальна флуоресценція) та 296 нм (триптофанова флуоресценція), а зонда К-35 – світлом із довжиною хвилі 425 нм (Гальченко С.Е. и др., 2006). Вимірювання проводили на спектрофлуориметрі Varian Cary Eclipse (Австралія).

Статистичну обробку результатів проводили непараметричним методом MANOVA. Розрахунок показників проводився за допомогою програми SPSS Statistics 17.0. Дані представлені як середнє значення \pm похибка середнього.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Визначення впливу часу кріодеструкції на розвиток некрозу міокарда та ремодуляцію серця. При аналізі гістологічного матеріалу сердець шурів виявлено, що в нормі сарколема чітко визначалася, ядра кардіоміоцитів були добре видні, мали подовжено-овальну форму, цитоплазма деяких кардіоміоцитів насичено забарвлена.

Після впливу на серце низькою температурою відразу формувалася зона реактивного запалення. Зміни морфологічної структури серця після кріовпливу

чітко корелювали з результатами електрокардіологічного дослідження. На 1 добу після кріовпливу на серце протягом 15 с відзначали зону некрозу, яка на поверхні епікарду повторювала розміри кріоаплікатора, і за глибиною поширювалася до 0,5 товщини стінки міокарда, що підтверджувало формування у щурів субепікардіального НМ.

Через 7 діб у тварин цієї групи спостерігали зону запалення, що супроводжувалася розвитком лейкоцитарної інфільтрації з формуванням чіткої демаркаційної лінії. Вогнища деструкції та запальної реакції характеризувалися руйнуванням пучків кардіоміоцитів, дилатацією судин і скупченням нейтрофілів. Після кріопошкодження серця протягом 30 с спостерігали формування трансмурального НМ. Таким чином, за даними гістологічних досліджень при некрозі міокарда, викликаного низькою температурою, формувалася зона реактивного запалення.

У наших дослідженнях на 14 добу у зоні кріовпливу 15 с запальна реакція змінювалася процесами фібротизації з формуванням пухкої сполучної тканини. На місці загиблих кардіоміоцитів починав формуватися сполучнотканинний каркас із великою кількістю фіброblastів. Зберігалось повнокров'я мікросудин. При 30 с кріовпливу спостерігалася елімінація некротичних мас і початок сполучнотканинної перебудови зони некрозу.

Аналіз ЕКГ у щурів із групи норми і щурів перед операцією показало, що в них був правильний синусовий ритм, були відсутні порушення провідності і зміни в комплексі QRS-T. Частота серцевих скорочень (ЧСС) становила 420 ± 25 за хв. На 1 добу після операції у тварин 1 групи (контроль) спостерігали синусовий ритм, незначне збільшення амплітуди зубця Т в II відведенні щодо норми.

У тварин після кріовпливу на серце тривалістю 15 с відзначали зниження амплітуди зубців R, появу $q \leq 1/4R$ і негативних зубців Т в I і avL відведеннях, що свідчило про розвиток передньобокового субепікардіального НМ. При збільшенні часу кріовпливу на серце до 30 с збільшувалась глибина пошкодження серця. На ЕКГ реєстрували зубець Q і елевацію сегмента ST в I та avL відведеннях, при цьому ЧСС знижувалась до 325 за хв. Таким чином, за даними ЕКГ-досліджень у щурів формувався НМ, при цьому модель кріонекрозу дає можливість отримувати як трансмуральний, так і субепікардіальний НМ.

Дослідження стандартного відхилення величин нормальних RR інтервалів (SDNN), яке є інтегральним показником ВСР в цілому, показали, що SDNN після торакотомії практично не змінювалося протягом усього терміну спостережень відносно норми. Зміни ВСР у тварин в експериментальних підгрупах мали достовірні відмінності по відношенню до щурів з торакотомією і нормою. Аналіз спектра ВСР у експериментальних тварин показав, що на 30 добу потужність спектра в групі з торакотомією зростала в 3,3 рази відносно норми. Зростання потужності спектра спостерігалось і в експериментальній підгрупі після формування субепікардіального НМ, викликаного кріовпливом на серце.

Однак це не відносилось до тварин підгрупи, яким моделювали трансмуральний НМ. По закінченню всього терміну спостереження загальний спектр у цій підгрупі не збільшився, а навіть зменшився на 17% щодо раннього післяопераційного періоду.

Отже, отримані результати свідчать про зниження після кріодеструкції міокарда ВСР, тонусу симпатичного відділу автономної нервової системи, а також збільшенні парасимпатичних впливів на серце у щурів. Таким чином, можна зробити висновок, що варіація часу кріодеструкції серцевого м'яза дає можливість отримувати в експерименті як субепікардіальний, так і трансмуральний НМ. Жодних післяопераційних ускладнень, як в ранні, так і в пізні терміни при формуванні моделі відзначено не було, при цьому тварини не гинули. Дослідження гістологічних препаратів серця щурів показало, що ремоделювання міокарда проходило по класичному шляху від асептичного запалення до формування сполучно-тканинного рубця. Для подальших досліджень нами була вибрана модель субепікардіального НМ.

Вплив введення екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на морфометричні показники зони некрозу міокарда та варіабельність серцевого ритму. Після моделювання кріонекрозу міокарда відразу формувалася зона реактивного запалення з лейкоцитарною інфільтрацією вогнища ушкодження, формувалася чітка зона некрозу, відокремлена демаркаційної лінією.

Через 1 добу після моделювання некрозу його діаметр в усіх групах був однаковий. Але площа перерізу по центру некрозу при введенні Неотону в 3,5 рази менше, ніж в контролі. А при введенні ЕСцП ця площа менша 2,4 рази. Площа ішемії при введенні Неотону менше в 4,7, а при введенні ЕСцП – в 3,6 рази. Відмінностей між групами в діаметрі артерійол не спостерігалось.

На ЕКГ всіх тварин після кріовпливу на міокард спостерігалось зниження амплітуди зубців R, поява зубця $q \leq R$ і негативних зубців T в I та aVL відведеннях, що свідчило про розвиток у тварин субепікардіального НМ.

У тварин дослідних груп на 1 добу після операції було виявлено зниження в 2 рази загальної потужності спектра нейрогуморальної модуляції. Таке зниження ВСР після моделювання НМ є реакцією нервової системи на гостру фазу НМ.

На 7 добу після моделювання НМ відмічали наявність запального процесу, інфільтрацію зони пошкодження тканинними макрофагами, лейкоцитами та утворення грануляційної тканини у вигляді бар'єра навколо ділянки пошкодження. У зоні ішемії спостерігали цитоліз кардіоміоцитів і коагуляційний некроз. При цьому загиблі клітини набрякали, проте зберігали свої контури. Спостерігалася активізація процесів формування рубцевої тканини та відкладання колагену без утворення колагенових волокон. У тварин, яким вводили «Неотон» або ЕСцП, процес запалення був виражений менше.

Також спостерігалось деяке зменшення діаметру зони кріонекрозу в усіх групах. Відмічалось зменшення площі перерізу по центру зони кріонекрозу в контролі (в 1,4 рази). При введенні Неотону цей показник, порівняно з 1 добою, не змінювався, а при введенні ЕСцП зменшувався в 2,5 рази. Площа зони ішемії в цей термін була меншою ніж в контролі в 1,4 рази при введенні Неотону, та в 1,6 рази при введенні ЕСцП. У процесі ремоделювання міокарда під впливом ЕСцП або Неотону, починаючи з 7 доби, спостерігалось збільшення потужності спектра нейрогуморальної регуляції.

На 14 добу в зоні кріовпливу запальна реакція змінювалася процесом фіброзу із формуванням пухкої сполучної тканини. На місці загиблих кардіоміоцитів

формувався сполучнотканинний каркас із великою кількістю фібробластів. У центральних ділянках некрозу відмічалась присутність сформованих колагенових волокон.

На 14 добу також зменшувався діаметр зони некрозу і був статистично достовірно менше у тварин, яким вводили «Неотон» або ЕСцП порівняно з контролем (табл. 1). Площа перерізу по центру зони кріонекрозу в цих групах також була статистично достовірно менше. Площа перерізу ішемії по центру значно зменшувалась в усіх групах, але відмінностей між групами не спостерігалось, як і в діаметрі артеріол.

Таблиця 1

Морфометричні показники зони кріонекрозу серця щурів на 14 добу експерименту

Групи щурів	Діаметр зони кріонекрозу, мм	Площа перерізу по центру зони кріонекрозу, мм ²	Площа перерізу зони ішемії, мм ²	Діаметр артеріол, мкм
НМ	6,13±0,58	3,55±0,20	0,11±0,02	83±25
НМ+Неотон	4,34±0,39 ¹	2,08±0,10 ¹	0,13±0,01	70±18
НМ+ЕСцП	4,63±0,35 ¹	1,06±0,06 ¹	0,10±0,02	77±12

Примітка. 1 – відмінності статистично достовірні порівняно з НМ, $p < 0,05$

Електрокардіографічні зміни в групі з нелікованим НМ, відмічені через добу після операцій, зберігалися весь термін спостереження. Процес ремоделювання серця у щурів, яким вводили «Неотон» або ЕСцП після моделювання НМ, супроводжувався відповідними змінами на кардіограмі, які свідчили про захисну дію досліджуваних препаратів: на 14 добу в цих групах відзначали зниження амплітуди зубця q до $q \leq 1/4R$, а також зниження висоти зубця T у відповідних відведеннях.

На 14 добу у тварин із НМ стандартне відхилення ВСР залишалося в 2 рази нижче норми, а в групі тварин, яким вводили «Неотон» або ЕСцП до цього строку спостереження SDNN відновлювалося до рівня норми.

На 30 добу експерименту у зоні пошкодження спостерігали активне формування і структуризацію сполучної тканини. У сполучній тканині відмічали значну кількість судин синусоїдного типу.

У тварин, яким вводили «Неотон» або ЕСцП на 30 добу експерименту діаметр зони некрозу був менше в 1,4 і 1,6 рази, а площа перерізу по центру зони кріонекрозу в 2,8 і 3,1 рази менше, ніж в контролі. При цьому площа перерізу зони ішемії в цих групах була в 4 рази менше порівняно з контролем. І всі показники достовірно відрізняються від контрольних значень.

Визначення впливу введення екстракту кріоконсервованих фрагментів серця порожняк на активність маркерних ферментів та лейкоцитарну формулу крові у щурів з некрозом міокарда. У наших дослідженнях запальна реакція в м'язі серця після моделювання НМ супроводжувалася синдромом цитолізу, який відображався у відповідній динаміці активності досліджуваних біохімічних маркерів. Підвищення активності АЛАТ в наших дослідженнях не спостерігалось, а активність АсАТ в сироватці крові експериментальних тварин через 1 добу після

кріодеструкції міокарда збільшувалася в 1,5 рази. У щурів із торакотомією активність АсАТ залишалася на рівні норми.

Через 7 діб після початку експерименту активність АсАТ в сироватці крові найбільш виражено знижувалася у тварин, яким вводили «Неотон» або ЕСцП. Якщо у тварин з НМ в цей строк активність АсАТ в 1,4 рази перевищувала норму, то у щурів, яким вводили «Неотон» або ЕСцП цей показник статистично достовірно не відрізнявся від норми. Відзначалося зниження активності АлАТ у тварин обох дослідних груп. Для пояснення цього факту та механізму такої дії Неотону та ЕСцП можливо будуть потрібні додаткові дослідження.

На 14 добу активність АлАТ у тварин із НМ, яким вводили ЕСцП залишалася нижче норми (табл. 2). Активність АсАТ поверталася до значень норми у всіх випадках.

Таблиця 2
Активність АлАТ і АсАТ (мкмоль / год / мл) у сироватці крові щурів на 14 добу експерименту

Показники	Група тварин				
	Торакотомія	НМ	НМ+Неотон	НМ+ЕСцП	Норма
АлАТ	1,7±0,3	1,7±0,1	1,3±0,1	1,2±0,1 ¹	1,6±0,1
АсАТ	2,6±0,1 ²	3,2±0,1	2,5±0,1 ²	2,5±0,2 ²	2,9±0,2

Примітки: 1 – відмінності статистично достовірні порівняно з нормою, $p < 0,05$;
2 – відмінності статистично достовірні порівняно з НМ, $p < 0,05$.

На 30 добу активність амінотрансфераз у всіх групах тварин статистично достовірно не відрізнялася від норми, за винятком тварин, яким вводили ЕСцП.

На 1 добу після моделювання НМ у тварин, які не отримували лікування, спостерігалася збільшення активності ЛДГ в 3 рази, у щурів, яким вводили «Неотон» – в 2,4 рази, а у тварин, яким вводили ЕСцП – в 2 рази. До 7 доби в останній групі активність ферменту поверталася до показників групи норми (табл. 3).

Таблиця 3
Динаміка активності ЛДГ (мккат / л) у сироватці крові щурів з експериментальним НМ

Доба	Група тварин				
	Торакотомія	НМ	НМ+Неотон	НМ+ЕСцП	Норма
1	5,3±0,7	11,4±1,1 ¹	10,7±2,6 ¹	8,2±0,5 ¹	4,6±0,5
7	5,7±0,5	8,1±3,7 ¹	7,8±1,6	6,4±1,2	
14	4,3±0,5	7,0±1,0	8,9±2,0	4,3±0,4 ²	
30	4,7±0,3	6,2±0,4	7,8±1,6	4,8±0,5 ²	

Примітки: 1 – відмінності статистично достовірні порівняно з нормою, $p < 0,05$;
2 – відмінності статистично достовірні порівняно з НМ, $p < 0,05$.

У тварин з НМ протягом усього періоду експерименту спостерігався зсув лейкоцитарної формули вліво за рахунок збільшення кількості еозинофілів і нейтрофілів. При цьому ІЗЛК на 30 добу становив 0,83. Масовий вихід гранулоцитів у периферичну кров пов'язаний із розвитком асептичного запалення в серці. У групі тварин, яким вводили ЕСцП, зсув вліво був виражений значно менше і цей індекс до 14 діб повертався до рівня норми.

Найбільш виражене збільшення ЛШМ спостерігалось у тварин із НМ. Введення Неотону або ЕСцП сприяло його зниження. На 30 добу в контрольній групі з НМ він залишався на високому рівні, а в групі тварин, яким вводили ЕСцП він відновлювався до 14 доби. Введення Неотону справляло дещо менш виражений ефект.

Вплив уведення екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на інтенсивність перекисного окислення ліпідів, кількість молекул середньої маси та навантаженість альбуміну лігандами в сироватці крові. Результати дослідження інтенсивності ПОЛ показали, що у тварин з НМ уже через добу спостерігається збільшення рівня ТБКАП в сироватці крові та інтенсивність її індукованої хемілюмінесценції ХЛ.

На 7 добу експерименту вміст ТБКАП порівняно з 1 добою збільшується, і статистично достовірно ($p < 0,05$) перевищує норму у всіх випадках, за виключення торакотомії без впливу на серце. Але інтенсивність ХЛ і в цьому випадку вище норми. Ці дані свідчать про розвиток процесу запалення в зонах операційного втручання. При цьому у тварин, яким вводили ЕСцП, рівень ТБКАП статистично достовірно менше, ніж у тварин із НМ.

На 14 добу концентрація ТБКАП у сироватці крові повертається до норми у тварин, яким вводили Неотон або ЕСцП, і перевищує норму при НМ (табл. 4). Але інтенсивність ХЛ, індукованої як Fe^{2+} , так і H_2O_2 вище норми у всіх тварин, у яких моделювали НМ. У тварин, яким вводили «Неотон» або ЕСцП інтенсивність ХЛ, індукованої Fe^{2+} або H_2O_2 при введенні ЕСцП менше, ніж у тварин із НМ.

На 30 добу у всіх тварин показники ПОЛ повертаються до норми, за виключенням інтенсивності ХЛ сироватки крові щурів з НМ, індукованої перекисом водню.

Таблиця 4

Показники ПОЛ у сироватці крові щурів на 14 добу експерименту

Група тварин	Показник		
	Концентрація ТБКАП	Інтенсивність ХЛ, індукованої Fe^{2+}	Інтенсивність ХЛ, індукованої H_2O_2
Норма	4,2±0,2	132±8	579±43
Торакотомія	4,4±0,4	158±11	631±42
НМ	7,6±0,5 ¹	349±30 ¹	4995±362 ¹
НМ+Неотон	4,9±0,3 ²	246±19 ^{1,2}	2735±211 ^{1,2}
НМ+ЕСцП	4,6±0,3 ²	214±15 ^{1,2}	1331±107 ^{1,2}

Примітки: 1 – відмінності статистично достовірні порівняно з нормою, $p < 0,05$; 2 – відмінності статистично достовірні порівняно з НМ, $p < 0,05$.

Відносний вміст МСМ в сироватці крові у тварин з торакотомією на 7 добу експерименту майже не збільшується і на 14 добу знаходиться в межах норми. У тварин із НМ та при введенні Неотону на 7 добу виявляються молекули з м.м. < 500, а вміст МСМ збільшується в 2,0, 1,6 і 1,4 рази при нелікованому НМ, введенні Неотону та ЕСцП відповідно.

На 14 добу вміст МСМ в сироватці крові перевищує норму в 1,6 рази при НМ, а у тварин двох інших експериментальних груп повертається до норми (табл. 5).

Таблиця 5

Вміст пептидів у сироватці крові щурів у різних діапазонах молекулярних мас на 14 добу експерименту

Група тварин	Діапазони молекулярних мас		
	< 500	500 – 5000	> 5000
Норма	–	12,6±1,0	87,4±6,8
Торакотомія	–	12,9±1,1	87,1±7,9
НМ	–	20,7±2,1 ^{1,2}	79,3±7,3
НМ+Неотон	–	14,3±1,3	85,7±8,2
НМ+ЕСцП	–	11,1±0,9	88,9±8,6

Примітки: 1 – відмінності статистично достовірні порівняно з нормою, $p < 0,05$; 2 – відмінності статистично достовірні порівняно з НМ, $p < 0,05$.

На 1 добу інтенсивність флуоресценції К-35 в сироватці крові в дослідних групах становить 0,7 – 0,8 від значень норми (табл. 6). На 7 добу інтенсивність флуоресценції зонда у всіх тварин, яким моделювали НМ статистично достовірно менше, ніж у нормі. У щурів, яким вводили «Неотон» або ЕСцП цей показник більше, ніж у тварин із НМ. Ще через 7 діб спостерігається збільшення інтенсивності флуоресценції зонда в сироватці крові у всіх групах тварин, особливо у тварин, які отримували лікування. А у щурів, яким вводили ЕСцП цей показник не відрізняється від норми і вище, ніж у тварин із НМ.

Таблиця 6

Інтенсивність флуоресценції зонда К-35 в сироватці крові щурів

Група тварин	Доба			
	1	7	14	30
Норма	371±15			
Торакотомія	295±13 ¹	315±14 ²	352±13 ²	362±12
НМ	264±11 ¹	167±7 ¹	202±5 ¹	310±11
НМ+Неотон	245±19 ¹	229±10 ^{1,2}	299±7 ^{1,2}	383±13
НМ+ ЕСцП	255±17 ¹	253±9 ^{1,2}	330±8 ²	353±17

Примітки: 1 – відмінності статистично достовірні порівняно з нормою, $p < 0,05$; 2 – відмінності статистично значимі порівняно з НМ, $p < 0,05$.

На 7 добу інтенсивність флуоресценції зонда в сироватці крові у всіх тварин, яким моделювали НМ, статистично достовірно менше, ніж у нормі. У щурів, яким

вводили «Неотон» або ЕСцП цей показник більше, ніж у тварин із НМ. Ще через 7 діб спостерігається збільшення інтенсивності флуоресценції зонда в сироватці крові у всіх групах тварин, особливо у тварин, які отримували лікування. А у щурів, яким вводили ЕСцП цей показник не відрізняється від норми і вище, ніж у тварин із НМ.

Одержані нами топограми синхронних спектрів флуоресценції сироватки крові щурів свідчать про розбіжності в спектрах флуоресценції, які можуть бути пов'язані з тим, що при НМ та в процесі ремодуляції серця змінюється пептидний склад сироватки та, можливо, конформація альбуміну в зв'язку з різною кількістю зв'язаних цим білком лігандів. Такий підхід може знайти використання для оцінки вираженості і перебігу патологічного процесу та ефективності терапії.

ВИСНОВКИ

В роботі представлено теоретичне узагальнення та нове експериментальне вирішення наукової задачі регенеративної медицини в кардіології з використанням екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Отримані дані свідчать, що при використанні цього екстракту у щурів з експериментальним некрозом міокарда зменшується зона некрозу серцевого м'яза, вираженість цитолізу та інтенсивність перекисного окислення ліпідів, зменшується навантаженість альбуміну сироватки крові лігандами, нормалізуються електрофізіологічні показники серця в більш ранні строки, ніж у тварин із нелікованим некрозом міокарда.

1. Дослідження гістологічних препаратів серця щурів показало, що через 1 добу після кріовпливу на серце протягом 15 с спостерігається зона некрозу, яка на поверхні епікарду повторює розміри кріоаплікатора (діаметр 3 мм) і за глибиною поширюється до 0,5 товщини стінки міокарда. Після кріопошкодження серця з експозицією 30 с спостерігається формування трансмурального некрозу міокарда. Ремодельовання міокарда проходить по класичному шляху від асептичного запалення до формування сполучно-тканинного рубця.
2. У тварин після кріовпливу на серце тривалістю 15 с відзначали зниження амплітуди зубців R, появу негативних зубців T в I, і avL відведеннях, а величина зубця q $\leq 1/4R$, що підтверджувало розвиток передньобокового субепікардіального некрозу міокарда. При збільшенні часу кріовпливу на серце до 30 с на ЕКГ реєструвався зубець Q і спостерігалася елевація сегмента ST в I і avL відведеннях. Також спостерігається зниження потужності загального спектра варіабельності серцевого ритму. Спектральні параметри варіабельності серцевого ритму залежать від тривалості кріовпливу на міокард.
3. Через 1 добу після моделювання кріонекрозу (час кріовпливу 15 с) діаметр некрозу в усіх групах був однаковий. Але площа перерізу по центру некрозу при введенні Неотону в 3,5 рази менше, ніж в контролі. При введенні екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят ця площа менша в 2,4 рази. А площа ішемії при введенні Неотону зменшується в 4,7, а при введенні екстракту – в 3,6 рази. На 14 добу експерименту площа перерізу по центру кріонекрозу в контролі становила $3,55 \pm 0,20 \text{ мм}^2$, у тварин, яким вводили «Неотон» – $2,08 \pm 0,10 \text{ мм}^2$, а при введенні екстракту серця – $1,06 \pm 0,06 \text{ мм}^2$.

4. У тварин з некрозом міокарда, яким вводили екстракт серця поросят, в процесі ремоделювання серця відбувається збільшення показника потужності спектра нейрогуморальної регуляції і відновлення балансу вкладів симпатичного і парасимпатичних відділів вегетативної нервової системи більш швидкими темпами, ніж при нелікованому некрозі міокарда або при введенні Неотону.
5. Введення тваринам з некрозом міокарда екстракту серця поросят або Неотону зменшує вираженість цитолізу, що проявляється в нормалізації активності аспартатамінотрансферази і лактатдегідрогенази в сироватці крові на 7 добу, а при некрозі міокарда – на 14. При цьому у дослідних тварин у більш ранні строки спостерігається нормалізація лейкоцитарної формули крові та знижується ендогенна інтоксикація організму порівняно з некрозом міокарда.
6. У дослідних тварин, яким вводили екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят, інтенсивність вільнорадикального окислення ліпідів і концентрація ТБКАП у сироватці крові зменшуються більш швидкими темпами порівняно з тваринами з некрозом міокарда та некрозом міокарда і введенням Неотону. Так, концентрація ТБКАП в сироватці крові щурів із некрозом міокарда на 14 добу становила $7,6 \pm 0,5$ мкмоль/л, $4,9 \pm 0,3$ мкмоль/л при введенні Неотону та $4,6 \pm 0,3$ мкмоль/л при введенні екстракту серця.
7. У тварин з некрозом міокарда збільшується кількість молекул середньої маси в сироватці крові та навантаженість альбуміну лігандами. Введення таким тваринам екстракту серця поросят сприяє нормалізації цих показників на 14 добу експерименту, тоді як у тварин із некрозом міокарда вони залишаються статистично достовірно вище норми.
8. Відмінності в вигляді топограм синхронних спектрів флуоресценції сироватки крові відображають вираженість некротичного процесу, і такий підхід може знайти використання як експрес-метод оцінки перебігу патологічного процесу та ефективності терапії, також як і використання флуоресцентного зонда K-35 для визначення навантаженості альбуміну лігандами.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Чиж Н.А. Вариабельность сердечного ритма при моделировании некроза миокарда криохирургическим способом / Н.А. Чиж, А.Г. Бабаева, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2011. – Т. 51, № 2, С. 44–48.
2. Особенности развития некроза миокарда и ремоделирования сердца после перевязки коронарной артерии и локальной криодеструкции левого желудочка / Н.А. Чиж, А.Г. Бабаева, И.В. Слета, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Проблемы криобиологии. – 2011. – Т. 21, № 3 – С. 321–329.
3. Бабаева А.Г. Влияние экстракта сердца поросят на некроз миокарда / А.Г. Бабаева Н.А. Чиж, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2013. – Т. 59, № 2, С. 28–33.
4. Биотехнологические принципы формирования экспериментального некроза миокарда / А.Г. Бабаева, Т.В. Шканд, Н.А. Чиж, А.В. Трофимова, И.В. Слета, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Вестник неотложной і восстановительной медицины. – 2012. – Т. 13, № 1. – С. 11–15.

5. Вплив екстрактів серця на міокард / Г.Г. Бабаєва, Л.А. Рогоза, М.О. Чиж, С.Є. Гальченко, Б.П. Сандомирський // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2012. – Т. 13, № 1. – С. 16–18.
6. Моделирование некроза миокарда в эксперименте и создание сосудистых ксенопротезов для регенеративной медицины / Н.А. Чиж, Д.В. Бызов, Т.В. Шканд, А.Г. Бабаева, А.В. Трофимова, И.П. Михайлова, И.В. Слета, Б.П. Сандомирский // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2013. – Т. 23, № 4. – С. 368–372.
7. Влияние экстракта криоконсервированных фрагментов сердца поросят на протекание экспериментального некроза миокарда / А.Г. Бабаева, Н.А. Чиж, Л.А. Рогоза, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация. – 2014. – Т.182, № 11, вып. 26. – С. 117–123.
8. Україна, пат. на к/м № 65535, МПК (2006.01) G09B 23/28, Заявл. 10.05.2011, публ. 12.12.2011, Бюл. № 23. «Спосіб моделювання інфаркту міокарда». Бабаєва Г.Г., Чиж М.О., Гальченко С.Є., Сандомирський Б.П. З-к: ІПКіК НАН України.
9. Органна специфічність пептидного складу екстрактів криоконсервованих фрагментів серця, селезінки та шкіри свиней / Л.А. Рогоза, Г.Г. Бабаєва, О.О. Богатирьова, М.О. Чиж // Збірник тез VII міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології», 5 – 8 квітня, 2011, м. Львів, Україна. – Львів, 2011. – С. 306–307.
10. Чиж М.О. Моделювання некрозу міокарда кріохірургічним методом / М.О. Чиж, Г.Г. Бабаєва // Збірник тез VII міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології», 5 – 8 квітня, 2011, м. Львів, Україна. – Львів, 2011. – С. 360–361.
11. Пептидный состав экстрактов сердца животных / Л.А. Рогоза, А.Г. Бабаева, Н.А. Чиж, Т.С. Дюбко, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Тезисы докладов Научно-практической конференции «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения», 23 – 28 мая, 2011, Новый Свет, АР Крым, Украина. – Киев: Издатель В. С. Мартынюк, 2011. – С. 309–310.
12. Бабаева А.Г. Сравнительная характеристика ишемического и крионекроза миокарда / А.Г. Бабаева, Н.А. Чиж // Тезисы конференции молодых ученых «Холод в биологии и медицине – 2011. Актуальные проблемы криобиологии, трансплантологии и биотехнологии», 18 – 19 мая, 2011, г. Харьков, Украина. – Проблемы криобиологии. – 2011. – Т. 21, № 2. – С. 228.
13. Formation features of ischemic necrosis and myocardium cryonecrosis / G. Babaeva, N. Chizh, S. Galchenko, B. Sandomirsky // Abstracts of the World Conference on Regenerative Medicine, 2 – 4 November, 2011, Leipzig, Germany. – Regenerative medicine. – 2011. – Vol. 6, № 6 (Suppl. 2). – P. 342.
14. Бабаева А.Г. Биотехнологические принципы формирования некроза миокарда в эксперименте / А.Г. Бабаева, Н.А. Чиж / Матеріали VI Міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери», 22 – 25

- листопада, 2011, м. Харків, Україна. – Харків: ФОП Шаповалова Т. М., 2011. – С. 325–327.
15. Cardiac microhemocirculation in experimental myocardium necrosis / A.G. Babaieva, N.A. Chizh, I.V. Sleta, S.Ye. Galchenko, B.P. Sandomirsky // *Frontiers in CardioVascular Biology. Second Congress of the ESC Council on Basic Cardiovascular Science, London, 30th March – 1st April 2012.-Cardiovascular Research.* – 2012. – Vol. 93, , № 1. – P. 52.
 16. Бабаєва Г.Г. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на перебіг експериментального некрозу міокарда / Г.Г. Бабаєва, М.О. Чиж // *Матеріали X міжнародної наукової конференції студентів та молодих науковців «Шевченківська весна 2012: біологічні науки», 19 – 23 березня, 2012, м. Київ, Україна.* – Київ, 2012. – С. 43–44.
 17. Бабаєва А.Г. Влияние экстрактов селезенки и сердца на миокард / А.Г. Бабаєва, Н.А. Чиж // *Тезиси 36-й ежегодной конференции молодых ученых «Холод в биологии и медицине – 2012. Актуальные проблемы криобиологии, трансплантологии и биотехнологии», 22 – 24 мая, 2012, г. Харьков, Украина.* – Проблемы криобиологии. – 2012. – Т. 22, № 2. – С. 213.
 18. Тканиннспецифічний вплив пептидних комплексів серця / М.О. Чиж, Л. А. Рогоза, Г.Г. Бабаєва, С.Є. Гальченко, Б.П. Сандомирський // *Тезиси докладов научной конференции «Актуальные вопросы криобиологии и криомедицины», 18 – 19 октября, 2012, г. Харьков, Украина.* – Проблемы криобиологии. – 2012. – Т. 22, № 3. – С. 263.
 19. Адаптаційні зміни в серці при експериментальному некрозі міокарда / А.Г. Бабаєва, М.О. Чиж, І.В. Слета, С.Є. Гальченко, Б.П. Сандомирський // *Тезиси докладов Междисциплинарной научной конференции «Адаптационные стратегии живых систем», 11 – 16 июня, 2012, Новый Свет, АР Крым, Украина.* – Киев: Издатель В. С. Мартынюк, 2012. – С. 133–134.
 20. Деструктивно-восстановительные процессы в сердце при различных способах моделирования некроза миокарда / Н.А. Чиж, Т.В. Шканд, И.В. Слета, А.Г. Бабаєва, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // *Матеріали VI конгрессу патофізіологів України, 3-5 жовтня 2012, Місхор, Крим.- Таврический медико-биологический вестник* – 2012. – Т. 15, № 3, Ч. 2 (59). – С. 394.
 21. Тканиннспецифічний вплив пептидних комплексів на стан серця щурів в нормі та при некрозі міокарда / Л. А. Рогоза, Г. Г. Бабаєва, М. О. Чиж, С. Є. Гальченко, Б. П. Сандомирський // *Тези Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми регенеративної медицини», 4 – 5 жовтня, м. Київ.* – Журнал Національної академії медичних наук України. – 2012. – Т. 18, додаток. – С. 138–139.
 22. Бабаєва А.Г. Влияние экстракта криоконсервированных фрагментов сердца поросят на уровень цитолиза и выраженность воспалительного процесса при экспериментальном некрозе миокарда / Бабаєва А.Г. // *Тезиси 37 ежегодной конференции молодых ученых «Холод в биологии и медицине. Актуальные проблемы криобиологии, трансплантологии и биотехнологии», 20 – 21 мая, 2013, г. Харьков, Украина.* – Проблемы криобиологии. – 2013. – Т. 23, № 2. – С. 183.

23. Biological effect of extract of cryopreserved piglets' heart fragments upon ischemia and experimental myocardial necrosis / G.G. Babaieva, O.O. Bogatyrova, L.A. Rohoza, M.O. Chizh, S.Ye. Galchenko, B.P. Sandomirsky // Abstracts from the 25th Conference of The International Society for Medical Innovation and Technology, iSMIT 2013, 5 – 7 September, 2013, Baden-Baden, Germany. – Minimally invasive therapy and allied technologies. – 2013. – Vol. 22, № 4 (Suppl. 1). – P. 45–46.
24. Effect of extract of cryopreserved piglets heart fragments upon ischemia and experimental myocardial necrosis / G.G. Babaeva, L.A. Rogoza, M.O. Chizh, S.E. Galchenko, B.P. Sandomirsky // Book of abstract of the international conference of the Society for low temperature biology (SLTB) «Innovation of Low Temperature Preservation and Biobanking», 6 – 9 October, 2013, Hannover, Germany. – Hannover, 2013. – P. 47.
25. Ефективність екстракта криоконсервованих фрагментів серця поросят при ішемії і експериментальному некрозу міокарда / Л.А. Рогоза, А.Г. Бабаєва, Н.А. Чиж, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирський // Матеріали «VII Всероссийського съезда трансплантологов», 28 – 30 мая, 2014, г. Москва, Российская Федерация. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16, № 2 (приложение). – С. 317.
26. Biological activity of extracts of pigs and piglets organs cryopreserved fragments / I.G. Bepalova, L.A. Rohoza, A.G. Babaieva, I.V. Belochkina, S.Ye. Galchenko, B.P. Sandomirsky // Freezing biological time: 50th Anniversary Celebration, Annual Scientific Conference & AGM, 8th-10th October, 2014, London. – London, 2014. – P. 88.

АНОТАЦІЯ

Бабаєва Г.Г. Перебіг експериментального некрозу міокарда при використанні екстракту криоконсервованих фрагментів серця поросят. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина. – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків – 2016.

Варіація часу кріодеструкції серцевого м'яза дає можливість отримувати в експерименті як субепікардіальний, так і трансмуральний некроз міокарда. У тварин з субепікардіальним некрозом міокарда, яким вводили Неотон або екстракт серця поросят на 30 добу експерименту діаметр некрозу був менше в 1,4 і 1,6 рази, а площа перерізу по центру кріонекрозу в 2,8 і 3,1 рази менше, ніж в контролі. У тварин у групі з некрозом міокарда протягом усього періоду експерименту спостерігався зсув лейкоцитарної формули вліво. У групі тварин, яким вводили екстракт серця, зрушення вліво було виражено значно менше і цей індекс до 14 діб повертався до рівня норми.

Введення тваринам екстракту серця поросят або Неотону зменшує вираженість цитолізу і в більш ранні строки спостерігається нормалізація лейкоцитарної формули крові та знижується ендогенна інтоксикація організму в порівнянні з некрозом міокарда.

У тварин з експериментальним некрозом міокарда, яким вводили екстракт серця, інтенсивність перекисного окислення ліпідів зменшуються більш швидкими темпами, в порівнянні з тваринами з некрозом міокарда та некрозом і введенням Неотону.

У тварин з некрозом міокарда збільшується кількість молекул середньої маси в сироватці крові та навантаженість альбуміну лігандами. Введення таким тваринам екстракту серця поросят сприяє нормалізації цих показників на 14 добу експерименту, тоді як у тварин з некрозом міокарда вони статистично вірогідно вище норми.

АННОТАЦІЯ

Бабаева А.Г. Протекание экспериментального некроза миокарда при использовании криоконсервированных фрагментов сердца поросят. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.35 – криомедицина. – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков – 2016.

Вариация времени криодеструкции сердечной мышцы дает возможность получать в эксперименте как субэпикардальный, так и трансмуральный некроз миокарда. Никаких послеоперационных осложнений, как в ранние, так и в поздние сроки при формировании модели отмечено не было. При этом выживало 100% экспериментальных животных. Исследование гистологических препаратов сердца крыс показало, что ремоделирования миокарда проходило по классическому пути от асептического воспаления к формированию соединительнотканного рубца.

У животных, которым вводили «Неотон» или экстракт криоконсервированных фрагментов сердца поросят на 30 сутки эксперимента диаметр некроза был меньше в 1,4 и 1,6 раза, а площадь сечения по центру крионекроза в 2,8 и 3,1 раза меньше, чем в контроле. При этом площадь сечения ишемии в этих группах была в 4 раза меньше по сравнению с контролем. И все показатели статистически достоверно отличались от контрольных значений.

У животных в группе с некрозом миокарда в течение всего периода эксперимента наблюдался сдвиг лейкоцитарной формулы влево за счет увеличенного количества эозинофилов и нейтрофилов. При этом индекс сдвига лейкоцитов крови на 30 сутки составил 0,83. В группе животных, которым вводили экстракт сердца, сдвиг влево было выражено значительно меньше и этот индекс к 14 суткам возвращался к уровню нормы.

У животных с некроза миокарда, которым вводили экстракт сердца поросят, в процессе ремоделирования сердца происходит увеличение показателя мощности спектра нейрогуморальной регуляции до уровня нормы и восстановления баланса вкладов симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы более быстрыми темпами, чем при нелеченном некрозе миокарда или при введении Неотон.

Введение животным экстракта сердца поросят или Неотона уменьшает выраженность цитолиза клеток сердца, в более ранние сроки снижается эндогенная интоксикация организма, а интенсивность перекисного окисления липидов

уменьшаются более быстрыми темпами, по сравнению с животными с некрозом миокарда.

У животных с некрозом миокарда увеличивается количество молекул средней массы в сыворотке крови и нагруженность альбумина лигандами. Введение таким животным экстракта сердца поросят способствует нормализации этих показателей на 14 сутки эксперимента, тогда как у животных с некрозом миокарда они статистически достоверно выше нормы.

SUMMARY

Babaieva G.G. Experimental myocardial necrosis course while application extract of cryopreserved fragments of piglets' heart. – Manuscript.

Dissertation for the candidate of medical sciences degree (PhD equivalent) in speciality 14.01.35 – cryomedicine. – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv – 2016.

The variability of cryodestruction time of heart muscle provides an opportunity to obtain both subepicardial and transmural myocardial necrosis in the experiment. In the animals with subepicardial myocardial necrosis which were injected with either Neoton or extract of piglets' heart to day 30 of the experiment the diameter of necrosis was in 1.4 and 1.6 times less, and area of the section through the cryonecrosis center in 2.8 and 3.1 times less than in the control. In the animals with necrosis of myocardium during entire experiment a left shift of blood leucogram was observed. In the animals which were injected with the extract of heart the left shift was considerably less expressed and this index within 14 days was back to the norm.

Injection to animals with either the extract of piglets' heart or Neoton decreased expression of cytolysis and in earlier terms the normalization of blood leucocytic formula and reduction of endogenous intoxication of organism were observed if compared with myocardial necrosis.

In the animals with experimental necrosis of myocardium which were injected with the extract of heart the intensity of lipids peroxidation decreased more rapidly if compared with the animals with myocardial necrosis or with the one and Neoton injections.

In animals with myocardial necrosis there was an increase in the quantity of middle mass molecules in the blood serum and loading of albumin by ligands.

Injections to these animals with extract of piglets' heart promoted the normalization of these indices to day 14 of the experiment when in the animals with myocardial necrosis they were statistically and significantly higher than the norm.

**Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 0.9. Тир. 100 прим. Зам. 336-16.
Підписано до друку 18.10.16. Папір офсетний.**