

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЧЕРНЯВСЬКА ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 612.592+[611.018.5:618.48]:616.39-056-02-092.9:57.086.13

ДИСЕРТАЦІЯ

ДЛЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ КРІОВПЛИВІВ І КОРДОВОЇ КРОВІ НА
СТАН РЕГУЛЯТОРНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ПРИ
АЛІМЕНТАРНОМУ ОЖИРІННІ

за спеціальністю 03.00.19 «Кріобіологія».

091 – Біологічні науки

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

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

_____ (О.О. Чернявська)

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник (консультант)

д.м.н., ст.н.с. В. Г. Бабійчук

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

Харків

2019

АНОТАЦІЯ

Чернявська О.О. Дія ритмічних екстремальних кріовпливів і кордової крові на стан регуляторних систем організму щурів при аліментарному ожирінні. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.19 «Кріобіологія». – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, 2019.

За оцінкою комітету експертів ВООЗ ожиріння вважається неінфекційною «епідемією XXI століття» і одним з основних факторів ризику смертності населення планети. Ожиріння називають «хворобою хвороб», оскільки воно супроводжується захворюваннями серцево-судинної системи (артеріальна гіпертензія, атеросклероз, ішемічна хвороба серця, інсульт), опорно-рухового апарату, інсулінозалежного цукрового діабету.

В даний час в медицині існують різні погляди щодо методів лікування та реабілітації пацієнтів з надмірною масою тіла та ожирінням. Відомо, що використання в терапії ожиріння тільки одного лікувального фактору найчастіше виявляється недостатнім, в зв'язку з тим, що дане захворювання викликає розвиток безлічі супутніх патологій: порушення обміну речовин, зниження загальної резистентності організму, гормональний дисбаланс, психосоматичні розлади. Тому актуальним є пошук нових концептуальних підходів до патогенетичної немедикаментозної терапії ожиріння. Одним з таких підходів може бути кріотерапія, заснована на загальному холодовому впливі, що індукує позитивні зрушення на рівні організму. Основні механізми профілактичної і терапевтичної дії екстремальної кріотерапії пов'язані зі стимуляцією фізіологічних резервів організму, оптимізацією нейрогуморальної регуляції та обміну речовин, підвищенням неспецифічної резистентності. Крім того, для поліпшення саморегуляції можуть застосовуватися біологічні засоби (клітини, тканини, екстракти рослинного і тваринного походження). Клітинна терапія з використанням стовбурових клітин (СК) є одним з найбільш перспективних

напрямків розвитку медицини, що дозволяє отримати якісно нові клінічні результати в різних сферах медицини. Наукові відкриття останніх десятиліть доводять високу медико-біологічну цінність кордової крові (КК) як важливого джерела біологічно активних речовин, ростових факторів і СК, які успішно використовуються при лікуванні різного роду патологічних станів, в тому числі і захворювань серцево-судинної системи, що часто супроводжують ожиріння. На сьогоднішній день фундаментальні дослідження, що розкривають особливості фізіологічних реакцій організму на ритмічне екстремальне охолодження і введення ядровмісних клітин кордової крові (ЯВК КК) при ожирінні відсутні.

У зв'язку з вищевикладеним виникають передумови для вивчення механізмів дії ритмічних екстремальних холодових впливів (РЕХВ) (-120°C), кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (кЯВК КК) і їх поєднання на структурно-функціональний стан регуляторних систем організму щурів з моделлю аліментарного ожиріння (АО).

У дисертаційній роботі вперше на моделі АО показана ефективність самостійного і поєданого використання РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК з метою корекції структурно-функціональних порушень, які виникають в регуляторних системах організму експериментальних тварин, особливо у віковому аспекті.

Для оцінки стану регуляторних систем організму молодих і старих щурів з моделлю АО до і після самостійного і поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК проведено спектральний аналіз варіабельності серцевого ритму (ВСР), визначена динаміка змін ліпідного профілю і рівня гормонів (тиреоїдних і статевих) сироватки крові. За допомогою гістологічних, гістохімічних та ультрамікроскопічних методів досліджено будову міокарда, як одного з головних маркерів розвитку АО. Всі дослідження, крім спектрального аналізу ВСР, здійснювали на наступну добу, через тиждень і місяць після впливів.

За даними спектрального аналізу встановлено, що у молодих і старих щурів з моделлю АО спостерігалось статистично значуще зниження всіх досліджуваних параметрів ВСР по відношенню до контролю (в 2 і 2,8 рази відповідно). Значення загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції (ТР) знижувалися

в результаті зменшення тонусу симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи (ВНС) (LF і HF- компонент), а також гуморальної ланки регуляції (VLF- компонент).

Вперше встановлено, що застосування РЕХВ, кЯВК КК і їх поєднання, істотно підвищувало адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО незалежно від їх віку, за рахунок збільшення активності, як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. При цьому поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК надавало найбільш виражений позитивний вплив на стан регуляторних систем експериментальних тварин. Через місяць у молодих щурів ТР зростала щодо контролю і контролю з АО в 6 і 10,7 разів, у старих – в 4,9 і 13,8 разів відповідно.

Показано, що у молодих і старих щурів розвиток АО призводив до статистично значущого збільшення маси тіла (в 1,7 рази (на 69%) і в 1,5 рази (на 47,8%) від початкової маси), виникнення гіперліпідемії і зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності. Зростав рівень загального холестерину (ЗХ) по відношенню до контрольних значень в 1,9 рази у молодих і в 1,4 рази у старих щурів, холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЩ) в 2,2 і 1,5 рази відповідно і коефіцієнт атерогенності (КА) в 1,2 і 1,6 рази. Описані зміни ліпідограми істотніше були виражені у старих тварин.

Вперше виявлено, що самостійне і в більшій мірі поєднане використання РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК сприяло незначному зменшенню маси тіла, нормалізації ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів з моделлю АО, наближаючи його до показників контрольних тварин без ожиріння. На тлі поєднаної дії двох методів щодо контролю з АО зменшувався атерогенний ризик за рахунок зниження рівня ЗХ (у молодих в 1,9 і в 2,6 рази у старих щурів), ХСЛПНЩ (в 2,4 і 6,9 рази відповідно), КА (в 1,3 і в 10,5 рази) і збільшення вмісту холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ) в 1,5 рази у старих щурів, який в організмі виконує важливу функцію, пов'язану з підтриманням ліпідного гомеостазу.

Виявлено, що у молодих і старих щурів з моделлю АО в результаті зменшення секреції тиреоїдних (загального трийодтироніну – T_3 в 1,4 і тироксину – T_4 в 1,3 рази) і статевих (тестостерону – T_c в 2,6 і 1,8 рази) гормонів знижувалася функціональна активність, як щитоподібної, так і статевих залоз. Дані порушення були більш виражені у старих тварин.

Вперше показано, що самостійне і більшою мірою поєднане застосування РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК відновлювало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної залози, підвищуючи її функціональну активність, нормалізувало рівень T_c , тим самим збільшуючи адаптаційно-компенсаторний потенціал організму експериментальних тварин з ожирінням незалежно від їх віку.

За результатами гістологічного дослідження встановлено, що морфологічна картина тканин і судин міокарда молодих і старих щурів з моделлю АО характеризувалася наявністю ознак, що свідчать про порушення кровообігу. Мали місце повнокров'я і тромбоз судин, діapedезні крововиливи, гіпертрофія міокарда, інтерстиціальні і периваскулярні набряки, розростання волокнистих структур строми (осередковий кардіосклероз). Ступінь ожиріння, виявлений за допомогою специфічного забарвлення на нейтральні жири масляним червоним, у старих тварин був набагато вище, ніж у молодих. У першому випадку спостерігалася крупнокрапельне ожиріння на тлі пілоподібного і дрібнокрапельного ожиріння, а в другому – тільки піловидне і дрібнокрапельне ожиріння.

Вперше виявлено, що застосування 9 сеансів РЕХВ позитивно впливало на морфологічну структуру серцевого м'яза молодих і старих тварин з моделлю АО. Поліпшувалася трофіка тканин міокарда за рахунок збільшення числа капілярів, зменшувалася кількість інтерстиціальних набряків і осередків кардіосклерозу. Структурні прояви ліпідозу знижувалися і набували риси оборотного процесу.

На фоні введення кЯВК КК в кардіоміоцитах спостерігалася гіпертрофія м'язових волокон, місцями була відсутня поперечна смугастість. Всі великі судини були повнокровні, характеризувалися нормальною формою просвіту, рівномірно потовщеними стінками. Навколо судин виявлялися помірний периваскулярний набряк і кардіосклероз, при цьому лімфо-гістіоцитарні

інфільтрати були відсутні. Істотно зменшувалася ступінь жирової дистрофії міокарда.

Поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК викликало істотні структурні перебудови міокарда компенсаторного характеру. Морфо-функціональні ознаки інтерстиціального набряку, кардіосклерозу, а також гіпертрофія міокарда були виражені слабо. В інтерстиціальній сполучній тканині спостерігалися дифузне поширення гістіоцитів, проліферація фібробластів, поява знову сформованих капілярів, що свідчило про поліпшення кровообігу і трофіки серцевого м'яза за рахунок компенсаторного розвитку процесів неоангіогенезу. При цьому ліпідоз знижувався настільки, що набував риси оборотного процесу.

В ході електронно-мікроскопічного дослідження тканин і судин міокарда, як молодих, так старих щурів з моделлю АО виявлялися дистрофічні і деструктивні зміни їх органел. Розвивалися катаболічні процеси, про що свідчила поява в цитоплазмі великої кількості включень ліпідів, ліпофусцину і вторинних лізосом. Знижувалася метаболічна активність серцевого м'яза в результаті мітохондріальної дисфункції, а також за рахунок зменшення в саркоплазмі кількості рибосом, полісом і гранул глікогену.

Вперше відзначено, що після самостійного застосування РЕХВ і кЯВК КК мали місце перебудови компенсаторного типу, такі як збільшення кількості мітохондрій і крист в них, зменшення кількості осередків деструкцій і дегенеративно змінених мітохондрій. Активувалися процеси проліферації мітохондрій, що структурно проявлялося появою органел, що мають «гантелеподібну» форму і перетяжки. Підвищувалася метаболічна активність кардіоміоцитів за рахунок появи в саркоплазмі рибосом, полісом і гранул глікогену. У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин зростало число мікропіноцитозних бульбашок, що є ознакою активації трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів через капілярну стінку.

На тлі поєданого використання РЕХВ і кЯВК КК спостерігалася тенденція до відновлення типової субмікроскопічної архітектоники органел кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих тварин з

моделлю АО. Знижувалася ступінь мітохондріальної дисфункції в результаті збільшення кількості крист і появи мітохондрій на стадії поділу. Активувалися біосинтетичні і репаративні процеси в субклітинних структурах, про що свідчила гіпертрофія пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі, а також підвищення в саркоплазмі числа рибосом, полісом і гранул глікогену. В кардіоміоцитах інактивувалися катаболічні процеси, відзначалася нормалізація ліпідного обміну за рахунок зменшення осередків розпушення внутрішньоклітинних мембран. В ендотеліоцитах зростала активність трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів.

Таким чином, результати досліджень, що стосуються вивчення впливу РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК на структурно-функціональний стан регуляторних систем організму молодих і старих щурів з моделлю АО обґрунтовують доцільність їх застосування в медичній практиці. Отримані експериментальні дані розширюють уявлення про механізми самостійної і поєднаної дії РЕХВ і кЯВК КК на адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО, доводять перспективність їх використання у молодих і літніх людей, які страждають ожирінням.

Ключові слова: ритмічні екстремальні холодові впливи, кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові, аліментарне ожиріння, міокард, щури.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

Статті у фахових виданнях України

1. **Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ.** Особенности сочетанного влияния ритмического экстремального охлаждения (-120°C) и кордовой крови на показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением. Вестник Луганского национального университета имени Тараса Шевченка. Часть 1: Биологические науки. 2014; 2(295): 30–8.

2. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C) и кордовой крови. Вісник проблем біології і медицини. 2015; 4(124): 228–33.

3. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения криоконсервированного препарата кордовой крови. Світ медицини та біології. 2016; 1(55): 167–72.

4. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Особенности ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата кордовой крови. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2016; 1(1): 27–31.

5. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C) и кордовой крови. Вісник проблем біології і медицини. 2016; 1(126): 318–23.

6. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности структурной организации миокарда старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Украинский журнал медицины, биологии и спорта. 2017; 4(6): 199–204.

7. **Чернявская ЕА**, Волина ВВ, Бабийчук ВГ. Структура миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодových воздействий и криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2018; (2): 108–19. (Scopus)

8. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ, Сиротенко ЛА. Показатели липидного профиля сыворотки крови молодых и старых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения экстремального охлаждения и ядросодержащих клеток кордовой крови. Украинский журнал медицины, биологии и спорта. 2019; 6(22): 356–61.

Статті в наукових періодичних виданнях інших країн

9. Руднева ЮВ, Бабийчук ВГ, **Чернявская ЕА**, Кулик ВВ, Бабийчук ЛВ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечным ритмом у животных различных возрастных групп в норме и при алиментарном ожирении. Биофизика живой клетки. 2014; (10): 171–73.

Наукові праці, які засвічують апробацію матеріалів дисертації

Статті в збірках матеріалів конференцій

10. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности состояния вегетативной регуляции сердечным ритмом у крыс с алиментарным ожирением на фоне ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: мат. V межд. науч.-практ. конф. г. Челябинск, РФ, 2–3.10.2014 г. Челябинск, 2014. с. 239–44.

11. **Чернявская ЕА**. Особенности состояния вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением на фоне введения кордовой крови. Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты: мат. Всероссийской заочн. науч.-практ. конф. г. Чебоксары, РФ, 1.11. 2014 г. Чебоксары, 2014. с. 169–74.

12. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности влияния ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) на состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным

ожирением. Специфические и неспецифические механизмы адаптации во время стресса и физической нагрузки: мат. II Республиканской науч.-практ. инт.-конф. с межд. уч. г. Гомель, Беларусь, 30.11.2016 г. Гомель, 2016. с. 63–6.

13. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: мат. VI межд. науч.-практ. конф. г. Челябинск, РФ, 8–9.10.2016 г. Челябинск, 2016. с. 349–54.

14. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: мат. II межд. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов. г. Екатеринбург, РФ, 12–14.04.2017 г. Екатеринбург, 2017. с. 846–50.

15. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурной архитектоники эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: мат. VII Всероссийского симп. с межд. уч. г. Астрахань, РФ, 27–28.04.2017 г. Астрахань, 2017. с. 167–70.

16. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Структурная организация миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Актуальні питання біології та медицини: мат. Всеукр. наук. конф. з дист. уч. м. Суми, Україна, 16–17.11.2017 м. Суми, 2017. с. 53–5.

17. **Чернявская ЕА**. Особенности влияния криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на состояние вегетативной нервной и

сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України: мат. міжнар. наук.-практ. конф. г. Люблін, Республіка Польща, 28–29.04.2017 г. Люблін, 2017. с. 176–9.

18. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности структурной организации миокарда молодых и старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Современные проблемы адаптации (Жученковские чтения IV). Часть II: мат. межд. науч.-практ. конф.г. Белгород, РФ, 24–26.09.2018 г. Белгород, 2018. с. 326–9.

19. **Чернявская ЕА**. Содержание тиреоидных и половых гормонов в сыворотке крови молодых и старых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения экстремального охлаждения и ядросодержащих клеток кордовой крови. Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 147–50.

20. Кулик ВВ, **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ, Бабийчук АВ. Влияние ритмического экстремального охлаждения на состояние липидного профиля сыворотки крови старых крыс в норме и при алиментарном ожирении. Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 136–40.

Тези наукових доповідей конференцій

21. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Біологічні дослідження – 2016: тези наук.-практ. конф. для молодих учених і студентів. м. Житомир, Україна, 10–11.03.2016 г. Житомир. 2016. с. 292–94.

22. **Чернявская ЕА**. Структура миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных

ядросодержащих клеток кордовой крови. Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології: мат. 4-ї міжнар. наук. конф. м. Дніпро, Україна, 5–6.10.2017 м. Дніпро, 2017. с. 245–47.

23. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології: мат. IV міжнар. наук. конф. м. Вінниця, Україна, 12–14.04.2016 м. Вінниця, 2016. с. 374–75.

24. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная архитектура эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Actualscience. 2015; 5(5): 12–3.

25. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата кордовой крови. Актуальні питання розвитку біології та екології: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Вінниця, Україна, 3–7.10.2016 м. Вінниця, 2016. с. 465–8.

26. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Влияние криоконсервированной кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; (2): 171. (Scopus)

27. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда старых крыс с алиментарным ожирением после ритмических экстремальных холодových воздействий. Проблемы старения и долголетия, приложение. 2016; (25): 43–4.

28. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Структура миокарда старых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови. Гены и клетки. Приложение. 2017; (3): 263. (Scopus)

29. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на структурно-функциональное состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології. Сімнадцяті Данилевські читання: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. уч. м. Харків, Україна, 1–2.03.2018 м. Харків, 2018. с. 140–2.

30. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Структурная организация миокарда молодых и старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток пуповинной крови. Гены и клетки. Приложение. 2018; (1): 115. (Scopus)

31. Martynova YV, **Chernyavskaya EA**, Babiychuk VG. Cryotherapy combined with cord blood injection improves myocardium structure in obese rats. CRYO 2018: the 55th annual meeting of the society for cryobiology. с. Madrid, Spain, 10–13.07.2018 с. Madrid. 2018. p. 112.

Патент України на корисну модель

32. Патент №108528, Україна, МПК А61К 35/14, А61F 7/00, А61Р 3/04. Заявл. 21.12.2015, з.н. u201512626. Спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з аліментарним ожирінням. Публ. 25.07.2016. Бюл. №14. Заявник О.О. Чернявська, В.В. Мамонтов, В.Г. Бабійчук, Ю.В. Мартинова, В.В. Кулик.

ANNOTATION

Cherniavska O.O. Effect of rhythmic extreme cryoexposures and cord blood on the state of regulatory systems of rat body in alimentary obesity. – The qualifying scientific paper as a manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences (Philosophy Doctor) in specialty 03.00.19 "Cryobiology". – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The WHO Expert Committee estimates the obesity to be a non-communicable "epidemic of the 21st century" and one of the major risk factors for mortality on the planet. Obesity is called "disease of diseases" because it is accompanied by the ones of the cardiovascular system (arterial hypertension, atherosclerosis, coronary heart disease, stroke), musculoskeletal system, insulin-dependent Diabetes mellitus.

Currently in medicine there are different views on the treatment and rehabilitation of overweight and obese patients. It is known that the use of just one treatment factor in the therapy of obesity is often insufficient, due to the fact that this disease causes the development of many concomitant pathologies: metabolic disorders, decreased overall resistance of the body, hormonal imbalance, psychosomatic disorders. Therefore, it is important to look for new conceptual approaches to the pathogenetic drug-free therapy of obesity. Cryotherapy based on the whole body cold exposure, inducing positive changes at the body level, may be one of these approaches. The main mechanisms of preventive and therapeutic action of extreme cryotherapy are related to stimulation of physiological reserves of the body, optimization of neurohumoral regulation and metabolism, increase of nonspecific resistance. In addition, biological agents (cells, tissues, plant and animal extracts) can be used to improve self-regulation. Cell therapy with using stem cells (SCs) is one of the most promising areas for the development of medicine, which allows to obtain qualitatively new clinical results in various fields of medicine. Scientific discoveries of the last decades prove a high medical and biological value of the cord blood (CB) as an important source of biologically active substances, growth factors and SCs, which are successfully applied in treatment of various

pathologies, including the diseases of the cardiovascular system, which often accompany obesity. To date, the fundamental investigations, revealing the peculiarities of physiological responses of the body to rhythmic extreme cooling and the introduction of the cord blood nucleated cells (CBNCs) in obesity are absent.

In connection with the above, the prerequisites for studying the mechanisms of action of rhythmic extreme cold exposures (RECE) (-120°C), cryopreserved cord blood nucleated cells of (cCBNCs) and their combination on structural and functional state of the regulatory systems of rats with a simulated alimentary obesity (AO) appear.

For the first time in the thesis the AO model shows the efficiency of independent and combined use of RECE (-120°C) and cCBNCs to correct the structural and functional disorders that occur in regulatory systems of experimental animals, especially in the age aspect.

To evaluate the state of regulatory systems of young and aged rats with simulated AO before and after the independent and combined use of RECE and cCBNCs a spectral analysis of heart rate variability (HRV) was performed, the dynamics of changes in lipid profile and hormone levels (thyroid) were determined. Using histological, histochemical and ultramicroscopic methods, the myocardium structure as one of the major markers of AO development was investigated. All the studies except spectral analysis of HRV were performed the following day, one week and one month after the effects.

Spectral analysis has demonstrated that in young and aged rats with simulated AO a statistically significant decrease for all the investigated HRV parameters relative to the control (2 and 2.8 times, respectively) was found. The values of spectral total power (TP) of neurohumoral regulation decreased as a result of the reduced tone of the sympathetic and parasympathetic components of autonomic nervous system (ANS) (LF and HF component), as well as the humoral level of regulation (VLF component).

For the first time, it has been found that the use of RECE, cCBNCs and their combination, significantly increased the adaptation and compensatory capacity of the animals with AO, regardless of their age, by increasing the activity of both the vegetative centers and humoral level of regulation. In this case, the combined use of

RECE and cCBNCS had the most pronounced positive impact on the state of regulatory systems of experimental animals. A month later, in young rats, the TP increased 6 and 10.7 times relative to the control and control with AO, and 4.9 and 13.8 times, respectively, in aged rats.

It has been shown that in young and aged rats the AO development resulted in a statistically significant increase in body weight in 1.7 times (by 69%) and in 1.5 times (by 47.8%) versus the initial weight), hyperlipidemia appearance the shift of lipid profile towards atherogenicity. The level of total cholesterol (TC) increased relative to the control values in 1.9 times in young and in 1.4 times in aged rats, low density lipoprotein cholesterol (LDLC) enhanced in 2.2 and 1.5 times, respectively, and the coefficient of atherogenicity (CA) in 1.2 and 1.6 times. The described changes of lipidogram were more pronounced in aged animals.

For the first time, it has been found that the independent and to a greater extent the combined use of RECE (-120°C) and cCBNCs contributed to a slight decrease in body weight, normalization of the serum lipid profile of young and aged rats with the modeled AO, bringing their closer to the indices of control animals with no obesity. On the background of the combined action of the two methods for controlling the AO, an atherogenic risk was reduced as a result of decrease in the level of TC (in young by 1.9 and 2.6 times in aged rats), LDCL (by 2.4 and 6.9 times, respectively), CA (1.3 and 10.5 times) and due to a rise in high-density lipoprotein cholesterol (HDLC) by 1.5 times in aged rats, which performs in the body an important function associated with maintaining lipid homeostasis.

It was found that in young and aged rats with simulated AO as a result of decreased secretion of thyroid (T_3 total triiodothyronine in 1.4 and T_4 thyroxine in 1.3 times) and sexual (testosterone – T_s 2.6 and 1.8 times) hormones decreased a functional activity of both thyroid and reproductive glands. These disorders were more pronounced in aged animals.

For the first time, it has been demonstrated that independent and to a greater extent combined use of RECE (-120°C) and cCBNCs restored the thyroid hormone synthesizing ability, increasing its functional activity, normalizing the level of T_s ,

thereby enhancing an adaptation and compensatory capacity of experimental animals with obesity independently on their age.

According to the results of histological examination, the morphological picture of the tissues and vessels of the myocardium of young and aged rats with the simulated AO was characterized by the presence of the signs indicating circulatory disorders. There were plethora and vascular thrombosis, diapedetic hemorrhage, myocardial hypertrophy, interstitial and perivascular edema, growth of fibrous stroma structures (focal cardiosclerosis). The degree of obesity, detected by a specific staining on neutral fats with oil red, was much higher in aged versus young animals. In the first case there was a macrovesicular steatosis on the background of dustlike and microvesicular one, and in the second just dustlike and microvesicular steatosis.

It has been for the first time discovered that the use of 9 RECE sessions had a positive effect on morphological structure of the cardiac muscle of young and aged animals with the modeled AO. Myocardial tissue trophy by increasing the number of capillaries, reducing the number of interstitial edema and cardiosclerosis foci has been improved. Structural manifestations of lipidosis were decreased and they acquired features of the reverse process.

On the background of the introduced CCBNCs in cardiomyocytes hypertrophy of muscle fibers was observed, sometimes there was no transverse striation. All large vessels were full-blooded, characterized with a normal shape of the lumen, uniformly thickened walls. Moderate perivascular edema and cardiosclerosis were found around the vessels, with no lympho-histiocytic infiltrates. The degree of myocardial fat dystrophy decreased significantly.

The combined use of RECE and CCBNCs caused significant structural re-arrangements of the myocardial compensatory character. Morphofunctional signs of interstitial edema, cardiosclerosis, and myocardial hypertrophy were poorly expressed. In the interstitial connective tissue, diffuse distribution of histiocytes, proliferation of fibroblasts, an appearance of the newly formed capillaries were observed, that testified to the improvement of blood circulation and cardiac muscle trophic due to a

compensatory development of neoangiogenesis processes. In this case, lipidosis was reduced so much that it acquired the features of the reverse process.

Electron microscopic examination of tissues and vessels of the myocardium, both of young and aged rats with the simulated AO revealed dystrophic and destructive changes of their organelles. Catabolic processes developed, as evidenced by the appearance of a large number of inclusions of lipids, lipofuscin and secondary lysosomes in cytoplasm. Metabolic activity of the heart muscle decreased as a result of mitochondrial dysfunction, as well as because of reduced number of ribosomes, polysomes and glycogen granules in sarcoplasm.

For the first time, it has been noted that after independent administration of just RECE and just cCBNCs, there were the rearrangements of a compensatory type, such as an increase in the number of mitochondria and cristae in them, a decrease in the number of destruction foci and degeneratively altered mitochondria. The processes of proliferation of mitochondria were activated, that was structurally manifested by the appearance of organelles having a "dumbbell" shape and constrictions. Metabolic activity of cardiomyocytes was increased due to the appearance of ribosomes, polys and glycogen granules in sarcoplasm. In cytoplasm of endothelial cell processes, the number of micropinocytotic vesicles increased, which is a sign of activation of transcellular transport of substances and electrolytes through the capillary wall.

On the background of the combined use of RECE and cCBNCs, there was a tendency to restore the typical submicroscopic architecture of cardiomyocyte organelles and endothelial cells of the myocardial blood capillaries of young and aged animals with simulated AO. The degree of mitochondrial dysfunction decreased with a rise in the number of cristae and appearance of mitochondria at the stage of division. Biosynthetic and reparative processes in subcellular structures were activated, as evidenced by the hypertrophy of the Golgi lamellar cytoplasmic complex, as well as an increase in the number of ribosomes, polysomes and glycogen granules in sarcoplasm. Catabolic processes were inactivated in cardiomyocytes, lipid metabolism was normalized by reducing the loosening of intracellular membranes. In endothelial cells an activity of transcellular transport of substances and electrolytes was increased.

Thus, the results of studying the effect of RECE (-120°C) and cCBNCs on structural and functional state of the regulatory systems of young and aged rats with simulated AO substantiate the feasibility of their use in medical practice. The obtained experimental data expand the understanding of the mechanisms of independent and combined effect of RECE and cCBNCs on adaptation-compensatory capacity of the animals with AO, prove the prospects of their application in young and elderly people suffering from obesity.

Keywords: rhythmic extreme cold effects, cryopreserved cord blood nucleated cells, alimentary obesity, myocardium, rats.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	24
ВСТУП	25
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	34
1.1. Ожиріння – важлива медико-соціальна проблема. Причини і механізми розвитку ожиріння. Основні підходи до терапії ожиріння	34
1.2. Загальна кріотерапія – потужна фізіотерапевтична процедура. Механізми лікувального та профілактичного впливу наднизьких температур на організм людини	47
1.3. Кордова кров, як альтернативне і перспективне джерело гемопоетичних стовбурових клітин для клінічного застосування	55
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	63
2.1. Схема експерименту і кількість експериментальних тварин	63
2.2. Методика моделювання аліментарного ожиріння	66
2.3. Методика охолодження і введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові	68
2.4. Електрофізіологічні методи дослідження	70
2.5. Біохімічні методи дослідження	72
2.5.1. Методика вивчення ліпідного профілю в сироватці крові	72
2.5.2. Методика визначення концентрації тиреоїдних і статевих гормонів в сироватці крові	74
2.6. Гістологічні та гістохімічні методи дослідження	77
2.7. Електронно-мікроскопічні методи дослідження	78
2.8. Статистична обробка отриманих результатів	79
РОЗДІЛ 3. ДІЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХОЛОДОВИХ ВПЛИВІВ (–120°C), КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ І ЇХ ПОЄДНАННЯ НА СТАН НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З АЛІМЕНТАРНИМ ОЖИРІННЯМ	80

3.1. Особливості стану вегетативної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння на тлі застосування ритмічних екстремальних холодкових впливів 83

3.2. Особливості стану вегетативної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові 86

3.3. Особливості поєднаної дії ритмічних екстремальних холодкових впливів і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові на показники спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння 88

РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА ЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ СИРОВАТКИ КРОВІ І ВАГОВИХ ПОКАЗНИКІВ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ ПІСЛЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХОЛОДОВИХ ВПЛИВІВ (–120°C), ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ 93

4.1. Оцінка ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння до і після ритмічних екстремальних холодкових впливів, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєднаного застосування 95

4.2. Динаміка змін вагових показників щурів різних вікових груп з моделлю аліментарного ожиріння до і після ритмічного екстремального охолодження, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєднання 100

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ (–120°C), КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ ТИРЕОЇДНИХ І СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ 106

РОЗДІЛ 6. ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОЛОГІЧНОГО СТАНУ МІОКАРДА МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ

НА ТЛІ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ (-120°C),
ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ
КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ 119

6.1. Структура міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного
ожиріння 119

6.2. Морфологічний стан міокарда молодих і старих щурів з моделлю
аліментарного ожиріння на тлі ритмічних екстремальних холодових
впливів 124

6.3. Структурна організація міокарда молодих і старих щурів з моделлю
аліментарного ожиріння після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин
кордової крові 130

6.4. Гістологічні зміни структури міокарда молодих і старих щурів з моделлю
аліментарного ожиріння на тлі поєданого застосування ритмічного
екстремального охолодження і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової
крові 137

**РОЗДІЛ 7. УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ПЕРЕБУДОВИ ТКАНИН І СУДИН
МІОКАРДА МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО
ОЖИРІННЯ ПІСЛЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХОЛОДОВИХ ВПЛИВІВ
(-120°C), ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН
КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ 144**

7.1. Субмікроскопічна організація тканин і судин міокарда молодих і старих
щурів 144

7.2. Ультроструктурні зміни кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних
капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного
ожиріння 146

7.3. Ультроструктурна організація кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних
капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння
після ритмічних екстремальних холодових впливів 150

7.4. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння на тлі введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові	156
7.5. Субмікроскопічні перебудови органел кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння після поєднаного використання екстремального охолодження і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові	162
УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	169
ВИСНОВКИ	179
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	181
ДОДАТОК А. Список публікацій здобувача за темою дисертації	222
ДОДАТОК Б. Відомості про апробацію результатів дисертації	229
ДОДАТОК В. Патент	232

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АО	–	аліментарне ожиріння
ВНС	–	вегетативна нервова система
ВСР	–	варіабельність серцевого ритму
ГЕБ	–	гематоенцефалічний бар'єр
ГСК	–	гемопоетичні стовбурові клітини
ДГЕА(С)	–	дегідроепіандростерон-(сульфат)
Ес	–	естрадіол
КА	–	коефіцієнт атерогенності
КК	–	кордова кров
кЯВК КК	–	кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові
ЗКТ	–	загальна кріотерапія
ЗХ	–	загальний холестерин
РЕХВ	–	ритмічні екстремальні холодові впливи
СК	–	стовбурові клітини
ТГ	–	тригліцериди
Т ₃	–	трийодтиронін
Т ₄	–	тироксин
Тс	–	тестостерон
ХСЛПВЩ	–	холестерин ліпопротеїнів високої щільності
ХСЛПНЩ	–	холестерин ліпопротеїнів низької щільності
ХСЛПДНЩ	–	холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності
ЦНС	–	центральна нервова система
HF	–	потужність високочастотного компонента спектра ВСР
LF	–	потужність низькочастотного компонента спектра ВСР
TR	–	загальна потужність спектра ВСР
VLF	–	потужність дуже низькочастотного компонента спектра ВСР

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) надмірна вага і ожиріння визнано неінфекційною епідемією XXI століття і п'ятим за значимістю фактором ризику смертності населення планети [1, 2, 3, 4]. Дослідження епідеміології даної патології ведуться дуже широко і їх результати практично повсюдно вельми невтішні. Зростання захворюваності на ожиріння призвело до значного збільшення наукових інтересів пов'язаних із з'ясуванням причин і патогенетичних механізмів розвитку цього захворювання [5, 6, 7].

Ожиріння – хронічне поліетіологічне рецидивуюче захворювання, що характеризується надмірним відкладенням жиру в організмі, що приводить до зниження якості і зменшення тривалості життя за рахунок частого виникнення важких супутніх патологічних станів, таких як ішемічна хвороба серця (ІХС), артеріальна гіпертензія (АГ), інсулінонезалежний цукровий діабет та т.п. [8]. При цьому первинне ожиріння аліментарно-конституціональної природи є найбільш поширеним і зустрічається в 70–85% випадків [9, 10].

Розвиток аліментарного ожиріння (АО) може бути обумовлений впливом як ендогенних (генетичних, фізіологічних, поведінкових), так і екзогенних факторів (спосіб життя, неадекватне харчування, соціальний статус, економічний добробут). При АО відбувається перебудова характеру і швидкості обмінних процесів в організмі, спрямована на підтримку постійної маси тіла, а баланс процесів «енергоспоживання – енерговитрати» зміщений в сторону абсолютного або відносного превалювання енергоспоживання над енерговитратами [11, 12].

В даний час в медицині існує велика кількість різних поглядів на організацію лікування та реабілітацію пацієнтів з надмірною масою тіла та ожирінням. Сучасна концепція терапії ожиріння передбачає застосування немедикаментозних (дієтотерапія, фізичні навантаження, мотиваційне навчання), медикаментозних і хірургічних методів лікування, з метою оптимізації обміну речовин, зменшення маси тіла, зниження ризику розвитку асоційованих

захворювань і ускладнень. Однак використання в терапії ожиріння тільки якогось одного лікувального фактору найчастіше виявляється недостатнім [13, 14].

Тому надзвичайно актуальним для медико-біологічного профілю є пошук нових методів впливу, здатних надавати стимулюючий вплив на компенсаторно-регуляторні можливості організму при АО [15]. Серед таких засобів особливе місце належить факторам фізичної природи «загальної» дії, що індукують позитивні зрушення на рівні організму.

Фундаментальними механізмами саморегуляції організму, що формують здоров'я людини, є адаптація і гомеостаз [16]. У вітчизняній медичній науці і практиці охорони здоров'я стало вже традиційним пов'язувати стан здоров'я, хвороби і перехідні між ними стани з рівнем адаптації [17]. При цьому одним з методів оцінки рівня здоров'я людини з точки зору адаптаційної медицини є дослідження функціонального стану організму за певними адаптаційними реакціями різного ступеня реактивності [15, 18].

Холодові впливи – це один з методів, в основі якого лежить здатність холоду стимулювати адаптаційні механізми і усувати з їх допомогою придбану або вроджену (генетично обумовлену) недостатність адаптації до стресорів [19].

Незважаючи на те, що пошуки оптимальних способів охолодження, які б активували функціональні можливості організму людини, тривають, відомо [15], що низькі і наднизькі температури (-120°C), які використовуються в медицині, надають специфічний стимулюючий вплив на гомеостатичні регуляторні системи [20]. Активне застосування загальної кріотерапії (ЗКТ) (-120°C) в клінічній практиці для лікування широкого спектру соматичних захворювань і психосоматичних розладів дозволяє віднести її до перспективних методів сучасної відновної медицини [17, 18, 19].

Підвищення загальної неспецифічної резистентності організму, що лежить в основі здоров'я зберігаючих технологій, можливо при модуляції температурного гомеостазу внаслідок короткочасного повторного впливу на нього холодового фактору. Відомо, що ритмічно повторювані холодкові впливи (-120°C), як потужний сенсорний і систематично діючий подразник, призводять до зрушень в

терморегуляторних системах головного мозку, підвищуючи при цьому проникність гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) для різних біологічно активних речовин [15].

Для поліпшення саморегуляції, крім фізичних методів впливу можуть застосовуватися біологічні [21]. Кінець ХХ століття ознаменувався великими досягненнями молекулярної і клітинної біології, які створили передумови для застосування принципово нових ефективних технологій для лікування різних захворювань. Клітинна терапія з використанням СК є одним з найбільш перспективних та інноваційних напрямків розвитку медицини [22, 23, 24] і вже сьогодні дозволяє отримати якісно нові клінічні результати в різних областях застосування [25]. СК – це клітини, здатні до широкої спеціалізації і зберігають цю здатність (спеціалізуватися) протягом тривалого часу (протягом життя) [26]. Найдоступнішим джерелом СК є кордова/пуповинна кров [21, 22, 25]. Наукові відкриття останніх десятиліть в області біології, фундаментальної та клінічної медицини [27, 28, 29] доводять високу медико-біологічну цінність КК, як важливого джерела біологічно активних речовин і СК [30], які успішно використовуються при лікуванні різного роду патологічних станів [31], в тому числі і захворювань серцево-судинної системи (ССС), що часто супроводжують АО [22, 28].

Наукові дослідження, проведені в ІПКіК НАН України, дали можливість розробити технологію виділення [32] і кріоконсервування ЯВК КК [33], що дозволяє зберігати до 85% ядровмісних (CD45⁺) і до 98% гемопоетичних стовбурових (CD34⁺) клітин в життєздатному стані.

З огляду на особливості фізіологічних реакцій організму на ритмічне екстремальне охолодження і введення кЯВК КК, виникають передумови не тільки для їх самостійного, але і поєднаного використання з метою можливого взаємного потенціювання їх дії.

У зв'язку з вищевикладеним, актуальним є вивчення впливу РЕХВ (–120°C), кЯВК КК і їх поєднання на стан регуляторних систем організму тварин різних вікових груп з моделлю АО.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Робота виконана в рамках відомчих НДР відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України № 63: «Особливості фізіологічних і патофізіологічних механізмів регуляції гомеостазу організму гомойо- і гетеротермних тварин при різних видах охолодження» (шифр – 2.2.6.63, № державної реєстрації 0111U001195); № 103: «Формування адаптаційних реакцій організму експериментальних тварин в умовах дії штучного охолодження та кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові при старінні і патологічних станах» (шифр – 2.2.6.103, № державної реєстрації 0116U003493).

Мета і завдання дослідження.

Мета роботи – визначити дію ритмічних екстремальних холодових впливів (-120°C), кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові людини і їх поєднання на структурно-функціональний стан регуляторних систем організму тварин різних вікових груп з моделлю аліментарного ожиріння.

Для досягнення поставленої мети передбачалося вирішити такі завдання:

1. Дослідити особливості самостійного і поєданого впливу РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК на стан вегетативної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з АО;
2. Оцінити динаміку змін ваги і показники ліпідного профілю сироватки крові тварин різних вікових груп з АО до і після РЕХВ (-120°C), введення кЯВК КК і їх поєднання;
3. Визначити рівень дегідроепіандростерон-сульфату, тиреоїдних і статевих гормонів сироватки крові молодих і старих щурів з АО на тлі РЕХВ (-120°C), введення кЯВК КК і їх поєднання;
4. Провести гістологічну і гістохімічну оцінку стану колагенових і еластичних волокон в тканинах і судинах міокарда тварин різних вікових груп з АО до і після самостійного і поєданого застосування РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК;
5. Вивчити динаміку ультраструктурних перебудов тканин і судин міокарда молодих і старих щурів з АО до і після РЕХВ (-120°C), введення кЯВК КК і їх поєднання.

Об'єкт і предмет дослідження.

Об'єкт дослідження – структурно-функціональний стан регуляторних систем організму тварин різних вікових груп в нормі, при АО, після РЕХВ (-120°C), введення кЯВК КК і при їх поєднаному використанні.

Предмет дослідження – електрофізіологічні, біохімічні, гістологічні, гістохімічні та електронно-мікроскопічні показники функціонального стану регуляторних систем організму щурів з АО і динаміка їх змін на тлі самостійного і поєданого застосування РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК.

Методи дослідження.

У роботі використані наступні методи досліджень: кріобіологічні (ритмічне екстремальне охолодження тварин в умовах кріокамери при температурі -120°C), електрофізіологічні (реєстрація електрокардіограми (ЕКГ) з подальшим спектральним аналізом варіабельності серцевого ритму (ВСР)), біохімічні і імуноферментні методи дослідження сироватки крові, електронно-мікроскопічні, гістологічні та гістохімічні методи дослідження тканин і судин міокарда, методика моделювання АО. За допомогою статистичних методів проведено аналіз отриманих експериментальних даних.

Наукова новизна отриманих результатів.

У дисертаційній роботі *вперше* на моделі АО показана ефективність самостійного і поєданого використання кЯВК КК і РЕХВ (-120°C) з метою корекції структурно-функціональних порушень, які виникають в регуляторних системах організму експериментальних тварин, особливо у віковому аспекті. За даними спектрального аналізу встановлено, що у молодих і старих щурів з АО спостерігалось значуще зниження всіх досліджуваних параметрів ВСР. *Вперше* показано, що застосування РЕХВ, кЯВК КК і їх поєднання, істотно підвищувало адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО незалежно від їх віку, за рахунок збільшення активності, як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. При цьому поєдане застосування РЕХВ і кЯВК КК супроводжувалося найбільш вираженим позитивним впливом на стан регуляторних систем експериментальних тварин. *Вперше* виявлено, що

самостійне і в більшій мірі поєднане використання РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК сприяло зменшенню маси тіла, нормалізації ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів з АО, наближаючи його до показників контрольних тварин без АО. *Вперше* встановлено, що самостійне і більшою мірою поєднане застосування РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК відновлювало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної залози, підвищуючи її функціональну активність, нормалізувало рівень тестостерону, тим самим збільшуючи адаптаційно-компенсаторний потенціал організму експериментальних тварин з АО незалежно від їх віку. Під час гістологічного дослідження тканин і судин міокарда щурів різних вікових груп з АО, *вперше* виявлено, що на тлі проведення процедур РЕХВ і введення кЯВК КК зникали дистрофічні і деструктивні зміни як в результаті неоангіогенезу, так і за рахунок активації репараційних процесів. *Вперше* встановлено, що використання РЕХВ і кЯВК КК сприяло активації компенсаторно-регенеративних процесів в кардіоміоцитах і ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда молодих і старих тварин з АО завдяки нормалізації внутрішньоклітинної біоенергетики (зменшення ступеня прояву дистрофічних і дегенеративних змін, відсутність осередків лізису ядерної мембрани, збільшення кількості мітохондрій і крист в них). *Вперше* показано, що поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК надавало найбільш виражений позитивний вплив на субмікроскопічну архітектоніку даних клітин.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати досліджень, що стосуються вивчення впливу РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК на структурно-функціональний стан регуляторних систем організму молодих і старих щурів з АО обґрунтовують доцільність їх застосування в медичній практиці. Отримані експериментальні дані розширюють уявлення про механізми самостійної і поєднаної дії РЕХВ і кЯВК КК на адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО, доводять перспективність їх використання у молодих і літніх людей, які страждають ожирінням. Встановлені особливості самостійного і поєднаного впливу РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК можуть бути використані в освітніх програмах на профільних кафедрах. Результати

досліджень дозволили розробити спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з АО, що підтверджено Патентом України на корисну модель (№ 108528).

Особистий внесок здобувача.

Дисертаційна робота є самостійним і оригінальним науковим дослідженням. Основні результати роботи отримані здобувачем особисто. Автором проаналізована сучасна зарубіжна та вітчизняна наукова література з досліджуваної проблеми, обґрунтовано вибір теми, сформульовані мета і завдання дослідження, визначено методи їх вирішення, проведена статистична обробка отриманих даних. Спільно з науковим керівником здійснено аналіз експериментальних досліджень і їх інтерпретація, сформульовані висновки. Морфологічні, гістохімічні, електронно-мікроскопічні та біохімічні дослідження виконані за безпосередньої участі автора. Опубліковані в співавторстві наукові статті повністю відображають концепцію роботи, підтверджують ідеї і рішення поставлених дисертантом завдань. Допомога співавторів полягала у виконанні окремих методичних завдань.

В опублікованих спільно зі співавторами роботах особистий внесок здобувача полягає:

– у роботах [312–319; 320; 377–396] – у плануванні експериментів, моделюванні АО, обговоренні і узагальненні отриманих результатів, формулюванні висновків, підготовці матеріалів до друку; в отриманні патенту на спосіб корекції вегетативних порушень при АО;

– у роботах [312 – 314; 316; 319; 378; 380; 381; 384; 385; 388 – 391; 393; 394; 396] – у проведенні РЕХВ (-120°C);

– у роботах [312; 313; 315; 317 – 319; 377 – 379; 382 – 388] – в розрахунку, підготовці і введенні кЯВК КК;

– у роботах [312–319; 320] – в записі ЕКГ, проведенні спектрального аналізу ВСР у інтактних щурів і щурів з АО, на тлі РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного використання, проведенні статистичної обробки даних; в отриманні патенту на спосіб корекції вегетативних порушень при АО;

– у роботах [385–369] – в заборі тканин, аналізі електронно-мікроскопічних фотографій кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда щурів з АО на тлі РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднання;

– у роботах [377 – 384] – в заборі тканин, аналізі мікроскопічних фотографій міокарда щурів з АО на тлі РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднання;

– у роботах [325, 326, 375] – у визначенні показників ліпідного обміну, рівня тиреоїдних гормонів у сироватці крові молодих і старих щурів з АО до та після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднання.

Апробація результатів дисертації.

Матеріали дисертаційної роботи доповідалися і обговорювалися на наукових форумах: науково-практичній конференції з міжнародною участю «Криоконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы» (РФ, Пушино, 2014); 40-й щорічній конференції молодих вчених ІПКіК НАН України «Холод в биологии и медицине» (Харків, 2016); республіканській науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Специфические и неспецифические механизмы адаптации во время стресса и физической нагрузки» (Білорусь, Гомель, 2016); VI міжнародній науково-практичній конференції «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (РФ, Челябінськ, 2016); IV міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології» (Вінниця, 2016); VI національному конгресі геронтологів і геріатрів України (Київ, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України» (Польща, Люблін, 2017); 3-му національному конгресі з регенеративної медицини (РФ, Москва, 2017); VII Всеросійському симпозиумі з міжнародною участю «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» (РФ, Астрахань, 2017); II міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (РФ, Єкатеринбург, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення та перспективи

експериментальної і клінічної ендокринології, (Сімнадцяті Данилевські читання)» (Харків, 2018).

Публікація матеріалів.

Основні положення дисертації викладені в 28 наукових роботах: 7 – у фахових наукових виданнях України (1 – входить до наукометричної бази даних Scopus), 1 – входить до переліку зарубіжних профільних видань, 9 – у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, опубліковано 11 тез доповідей. Отримано патент на корисну модель.

Об'єм і структура дисертації.

Дисертаційна робота викладена на 231 сторінці (з яких 159 сторінок основної частини) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень і їх обговорення, узагальнення, висновків, списку літератури та 3 додатків. Список літератури містить 399 джерел, у тому числі 171 зарубіжне, розміщених на 41 сторінці тексту. Робота ілюстрована 14 таблицями і 105 рисунками, з яких 96 – мікрофотографії.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ожиріння – важлива медико-соціальна проблема. Причини і механізми розвитку ожиріння. Основні підходи до терапії ожиріння

На сьогоднішній день ожиріння є глобальною проблемою, яка призводить до соціальних і медичних наслідків [34]. Відповідно до сучасних уявлень ожиріння – це широко поширений патологічний стан, що характеризується хронічним прогресуючим порушенням обміну речовин і, в слідстві, надлишковим накопиченням жирової тканини, що призводить до збільшення маси тіла на 20% і більше від середніх стандартних величин [35]. Поряд з порушенням енергетичного балансу воно пов'язане з впливом ряду генетичних і неврологічних чинників, зміною функцій ендокринної системи, стилем життя і харчовою поведінкою [1, 2].

Епідеміологічні дослідження показали [36], що темпи поширення ожиріння як в економічно розвинених країнах, так і в державах, що розвиваються можна порівняти з масштабами епідемії. Головними причинами неухильного збільшення числа людей, які страждають надмірною масою тіла та ожирінням, на думку багатьох дослідників [37, 38, 39, 40], є, в основному, такі зміни умов життя:

- зниження частки фізичного навантаження в житті людини в результаті науково-технічного прогресу (використання транспорту, механізація праці і т.п.) – все це знижує витрати енергії;
- збільшення добробуту людей, що сприяє впровадженню в харчовий раціон підвищеної кількості жирів, а також рафінованих, висококалорійних і легко засвоюваних продуктів – тобто прихід енергії в організм людини значно зростає;
- велика кількість людей, які страждають ожирінням, спостерігається навіть в несприятливих економічних умовах. Причиною ожиріння в цих випадках є харчування дешевими продуктами, що містять легкозасвоювані рафіновані

вуглеводи, надлишок жирів тваринного походження, недостатня кількість білка, його неповноцінність, недолік складних вуглеводів, що містяться в овочах, фруктах, іноді надлишок алкоголю.

Як свідчать дані ВООЗ [4], з 1980 року число осіб у всьому світі, які страждають на ожиріння, подвоїлося. Так, в 2005 році понад 1,6 млрд. населення землі мали надлишкову вагу, в тому числі понад 400 млн. – ожиріння. За даними на 2014 р понад 1,9 млрд. (39%) дорослих людей у віці від 18 років і старше мали надлишкову вагу, з них понад 600 млн. (13%) страждали ожирінням (на частку чоловіків припадало 11%, на частку жінок – 13%). За останні чотири роки кількість людей з ожирінням виросла з 11,5% (565 мільйонів чоловік) до 13% (670 мільйонів), і продовжує стрімко зростати. Якщо в подальшому тенденція не зміниться, то до 2025 року від ожиріння будуть страждати вже близько 17% всього населення планети. Крім цього, число людей з надмірною вагою, що ще не досягли ожиріння також стрімко зростає, і може досягти 2,7 мільярдів до 2025-го року проти двох мільярдів в 2010-му [38, 39].

Відсутність широкомасштабних епідеміологічних досліджень в Україні не дозволяє об'єктивно оцінити поширеність ожиріння, однак за останніми попередніми даними серед українців воно становить 16% у чоловіків і 26% у жінок, а надлишкова маса тіла відповідно 50,5% у чоловіків і 56% серед українських жінок [41].

Значимість проблеми ожиріння визначається загрозою інвалідизації пацієнтів молодого віку і зменшенням загальної тривалості життя в зв'язку з частим розвитком тяжких супутніх захворювань [35]: цукрового діабету 2 типу, АГ, атеросклерозу, ІХС, онкологічних захворювань, порушення репродуктивних функцій та ін. Від захворювань, пов'язаних з ожирінням, в світі щорічно помирає 2,5 млн. чоловік, в тому числі в Європі – 320 тисяч, в США – 280 тисяч чоловік. Надлишкова маса тіла також робить негативний вплив на економічний і соціальний розвиток, збільшуючи витрати на охорону здоров'я і знижуючи продуктивність людей і їхні доходи. На лікування ускладнень, пов'язаних з

ожирінням серед дорослих, доводиться до 6% всіх витрат на охорону здоров'я в рамках Європейського регіону, в США – 5,7% [42, 43].

Висока поширеність ожиріння в популяції диктує необхідність вивчення причин і механізмів його розвитку для поліпшення розуміння основних напрямків в лікуванні і профілактиці цієї патології [44, 45].

Єдиної загальноприйнятої класифікації ожиріння на сьогоднішній день немає. За етіопатогенетичним принципом надлишкову масу тіла і ожиріння поділяють на первинне (аліментарно-конституційне ожиріння) і вторинне (симптоматичне) [8]. За типом розподілу жирової тканини розрізняють:

- андроїдний тип – відкладення жирової тканини переважно у верхній частині тіла. Різновидом андроїдного типу є абдомінальне ожиріння, яке більш характерно для чоловіків;

- гіноїдний тип – жирова тканина накопичується в основному в нижній частині тіла, характерний для жінок. Андроїдне і гіноїдне ожиріння диференціюють на основі вимірювання співвідношення окружності талії і стегон (норма – 0,7–0,8);

- змішаний тип – жирова тканина розподілена відносно рівномірно.

Згідно анатомічної класифікації виділяють:

- гіпертрофічне ожиріння – збільшення розмірів жирових клітин без істотного зростання їх загальної кількості;

- гіперпластичне – відбувається збільшення числа жирових клітин (адіпоцитів).

- змішане – поєднання гіпертрофії і гіперплазії адіпоцитів [46, 47, 48].

Жирова тканина є найважливішим метаболічним органом, який класифікується на 2 типи: біла і бура. Обидві ці жирові тканини задіяні в підтримці енергетичного балансу, але мають різні анатомічні локалізації, морфологічну структуру і функцію [49, 50].

Біла жирова тканина виконує функцію запасу енергії у вигляді тригліцеридів (ТГ) і розподіляється по всьому тілу, підрозділяючись на 2 види – вісцеральну і підшкірну. Вісцеральна тканина локалізується навколо органів і

виконує захисну функцію. Підшкірна розташовується переважно в стегновій і сідничній областях і виконує функцію термогенного захисту [51, 52].

Бура жирова тканина розсіює енергію у вигляді тепла, розташовуючись в області ший, надключичній, паравертебральній, паховій, медіастинальній, перикардіальній, периренальній областях. Крім того, в останнє десятиліття відкрито новий тип жирової тканини – «бежева». Відомо, що у відповідь на стимуляцію (холод і т.п.) «бежеві» адіпоцити реагують збільшенням рівня термогенних маркерів [53, 54].

Для діагностики ожиріння, визначення ризику розвитку супутніх захворювань і тактики лікування хворих найбільш часто застосовується класифікація ВООЗ (1977), що враховує індекс маси тіла (ІМТ) – індекс Кетле, який вираховується як відношення маси тіла в кілограмах до квадрату зросту в метрах і об'єктивізує ступінь накопичення жирової тканини (табл. 1.1) [55, 56]. Необхідно відзначити, що він не може бути застосований для літніх людей та осіб, що мають різні етнічні особливості пропорції тіла.

Стан при ІМТ 30,0–39,6 кг/м² визначається як клінічне ожиріння, > 40,0 кг/м² – морбідне ожиріння. Залежність рівня захворюваності та смертності від показника ІМТ за даними ВООЗ (1998) має форму j-подібної кривої з незначним підйомом в групі з дефіцитом маси тіла (особливо в поєднанні з курінням і супутніми захворюваннями) і крутим підйомом при ІМТ більше 25 кг/м². У цьому випадку ризик розвитку супутніх захворювань, в першу чергу серцево-судинних і цукрового діабету, дуже високий і залежить від типу ожиріння [1, 2, 3, 4].

Таблиця 1.1

Тип порушення відкладення жиру	ІМТ, кг/(м ²)	Ризик супутніх захворювань
Дефіцит маси тіла	≤18,5	є ризик
Нормальна маса тіла	18,5–24,9	звичайний
Надлишкова маса тіла	25,0–29,9	підвищений ризик
Ожиріння I ступеня	30,0–34,9	високий ризик
Ожиріння II ступеня	35,0–39,9	дуже високий ризик
Ожиріння III ступеня	40,0	надзвичайно високий ризик

Патогенез ожиріння вкрай складний, в механізмах його розвитку задіяні безліч факторів, тісно пов'язаних між собою. Фізіологічні дослідження ролі центральної нервової і ендокринної систем, рецепторів травного тракту і факторів внутрішнього середовища, що беруть участь в регуляції прийому їжі, лягли в основу уявлень про патогенез ожиріння [57, 58].

До основних факторів, що викликають надмірну масу тіла та ожиріння відноситься:

1) *енергетичний дисбаланс* – переважання енергії споживання над енергією витрати. На думку ряду авторів, переїдання призводить до поступової адаптації центру насичення, до більш високих рівнів глюкози, інсуліну і лептину в крові [59]. В результаті знижується його чутливість до стимулюючих впливів і, як наслідок, до недостатнього гальмування центру голоду, що сприяє подальшому переїданню і наростанню маси тіла. Зменшення чутливості центру насичення може бути наслідком вікових, ендокринних, судинних, органічних змін, неврозу типу неврастенії і таких психоемоційних розладів, як почуття самотності, туги і т.д. Важливе значення в переїданні мають також кора головного мозку, нюховий, зоровий, смаковий аналізатори. Підраховано, що у схильних до ожиріння людей щоденний надлишок їжі всього на 100 ккал може привести до набирання ваги на 5 кг в рік [60].

Часто ожиріння є наслідком зниження витрати енергії в організмі. Відомо [61], що енергетичні витрати організму складають: 75% – основний обмін, 10–15% – фізична активність; 10–15% – термогенез. Зменшення витрат енергії в осіб з ожирінням може спостерігатися у всіх ланках, і навіть мінімальні відмінності в термогенезі, які тривалий час підсумовуються, можуть мати певне значення [5, 6, 7].

Важливим пусковим моментом у розвитку ожиріння має структура харчування. Збільшення в раціоні кількості жиру і легкозасвоюваних вуглеводів призводить до зменшення витрати енергії на обробку їжі (специфічна динамічна дія їжі) і зниження термогенезу. Зокрема, експериментальні дані вказують на те, що на метаболізм білкової їжі організмом витрачається енергії більше, ніж вона

несе, в той час як багата жиром їжа практично не вимагає енергетичних витрат для її утилізації [9, 10].

2) *переїдання в дитячому віці*, яке формує функціонально-морфологічну основу для експресії генетичного феномена і розвитку ожиріння як патофізіологічного процесу [13].

3) *зменшення фізичної активності*, що сприяє накопиченню надлишкової маси тіла та ожирінню. Внаслідок гіподинамії знижується окислення жиру в м'язах. Корекція надлишкової маси тіла та ожиріння за допомогою засобів рухової активності, при відсутності ендокринних і супутніх захворювань, за даними досліджень достовірно знижує і призводить до стабілізації маси тіла [12, 13, 14, 15]. Однак необхідно враховувати, що тільки систематичні і адекватні фізичні навантаження сприяють нормалізації маси тіла [1, 2, 3].

4) *спадкова схильність* («сімейне ожиріння»). Від 40% до 80% огрядних дітей мають батьків з ожирінням. Успадковується не саме ожиріння, а схильність до повноти – здатність організму накопичувати жир при нормальному режимі харчування [50, 52, 56]. До теперішнього часу виявлено близько 20 генів, відповідальних за ожиріння, кожен з яких самостійно не призводить до його розвитку, а тільки формує фенотипічну експресію, впливаючи на енергетичний обмін організму, перебіг метаболічних процесів, характер розподілу жирової тканини і розвиток супутніх захворювань. На сьогоднішній день, ожиріння слід розглядати як полігенне захворювання, оскільки не відкритий ні головний ген, відповідальний за розвиток ожиріння, ні його мутації, що ідентифікують ожиріння як моногенетичний синдром [25, 31, 44, 55].

5) *вікове ожиріння* пов'язане зі зниженням функціональної активності щитоподібної залози, що виробляє гормони, які беруть участь в обміні речовин [2]. Швидкість обмінних процесів зменшується, тому поширеність ожиріння серед обох статей з віком закономірно підвищується [10].

б) *статева схильність*: ожиріння частіше зустрічається у жінок, ніж у чоловіків, так як швидкість метаболізму у жінок нижче [11]. Іншою причиною є гормональні зміни: збільшення швидкості метаболізму асоційоване з лютеїною

фазою менструального циклу, тому при віковій перебудові, зі зниженням вироблення лютеїну, відбувається закономірне наростання маси тіла [60]. У жінок частота і ступінь вираженості надлишкової маси тіла тісно пов'язана з кількістю дітей [34, 35, 36, 37].

Механізми, що регулюють апетит і насичення, діляться на короточасні і довготривалі. Короточасні регулюють прийом їжі і представлені сигналами насичення, що йдуть з шлунково-кишкового тракту через аферентні волокна блукаючого нерву в стовбур головного мозку. Довготривалий механізм забезпечує регуляцію харчової поведінки і контроль маси тіла на тривалий період, і включає в себе гіпоталамус (Гт) за участю різних нейротрансмітерів і нейропептидів [13, 22, 24, 27].

Як відомо [24], центр апетиту розташований в Гт. У дугоподібних ядрах міститься два протилежних за функцією пулу нейронів. Один з них синтезує пептиди, що стимулюють апетит (нейропептид Y, агуті-подібний білок), інший пул – пептиди, що пригнічують апетит (проопіомеланокортин-ПОМК). Нейропептид Y є найбільш потужним орексигенним фактором, який здійснює свій ефект через рецептори в Гт. Крім цього, під впливом нейропептида Y зростає продукція інсуліну і кортизолу, що призводить до посилення експресії об-гена ожиріння. Продукти ПОМК представлені α -, β -, γ -меланостимулюючим і адренкортикотропним гормонами-АКТГ [62]. Найважливішим гормоном насичення є α -меланостимулюючий гормон. Зв'язуючись зі своїми рецепторами, в центральній нервовій системі (ЦНС) він здійснює анорексигенний ефект, а шляхом впливу на щитоподібну залозу і симпатичний відділ ВНС збільшує енерговитрати. Блокує рецептори меланокортина в Гт агуті-подібний білок, викликаючи стимуляцію апетиту. Обидві групи нейронів прямо або опосередковано взаємодіють з безліччю інших гормонів і нейромедіаторів, що беруть участь в підтримці енергетичного балансу, як центрального (серотоніном, дофамином), так і периферичного походження (лептином, інсуліном, греліном, і т.д.) [63].

Доведено [64, 65, 66], що жирова тканина самостійно виконує ряд ендокринних, паракринних і аутокринних функцій. В даний час відомо більше 100 гормонів [67], медіаторів і факторів росту [66], що секретуються жировою тканиною, званих адіпокіни, які задіяні в процесах адіпогенеза і контролю маси тіла, регулюючи споживання їжі і підтримуючи енергетичний баланс [68].

Найважливішим гормоном, який регулює метаболізм жирової тканини, є інсулін [67]. Він впливає на секрецію адіпокінів. Серед факторів, що вивільняються адіпоцитами, вивчається вплив вільних жирних кислот (ВЖК), рівень яких зростає з накопиченням вісцерального жиру. Особливості вісцеральних адіпоцитів визначають їх високу ліполітичну активність і надходження великої кількості ВЖК по ворітній вені в печінку. При цьому ВЖК перешкоджають зв'язуванню інсуліну гепатоцитами, обумовлюючи розвиток інсулінорезистентності (ІР) на печінковому рівні, зниження поглинання інсуліну печінкою і розвиток системної гіперінсулінемії. У свою чергу гіперінсулінемія, порушуючи ауторегуляцію інсулінових рецепторів, посилює периферичну ІР. ВЖК також пригнічують гальмівну дію інсуліну на глюконеогенез, сприяючи збільшенню продукції глюкози печінкою. У м'язовій тканині ВЖК, конкуруючи з субстратом в циклі глюкоза – жирні кислоти, перешкоджають утилізації глюкози міоцитами, що веде до гіперглікемії і компенсаторній гіперінсулінемії [68, 69, 70].

Іншими важливими гормонами жирової тканини, які беруть участь в регуляції енергетичного гомеостазу, є лептин і адіпонектин [64, 65].

Лептин – пептидний гормон, який відповідає за насичення. Рецептори до лептину знайдені в вентромедіальному ядрі Гт, що регулює баланс енергії в організмі і апетит, а також у печінці, підшлунковій залозі, надниркових залозах, інших органах і тканинах. В ЦНС лептин грає більш важливу роль в регуляції енергетичного гомеостазу, ніж інсулін. Через Гт, стовбур мозку і лімбічну систему знижує потребу в їжі, пригнічує апетит і збільшує витрату енергії, активуючи симпатичний відділ ВНС за рахунок блокади вироблення орексігенних пептидів, а також стимуляції виділення нейронами в синаптичну щілину меланокортину, що пригнічує апетит. Прийом їжі підвищує секрецію лептину

(чим більше лептину, тим менше споживання їжі), а під час голодування і при активному фізичному навантаженні його рівень в крові знижується. У печінці лептин може гальмувати дію інсуліну на глюконеогенез, надавати гальмівний вплив на фосфорилування тирозину – субстрату інсулінового рецептора в м'язовій тканині. Він здатний підсилювати захоплення глюкози жировими і м'язовими клітинами. Крім того, лептин збільшує зворотне захоплення серотоніну і частково його ефекти, пов'язані зі зниженням маси тіла. Однак дефіциту лептину при ожирінні, як правило, не спостерігається. Можливою причиною може бути розвиток лептинорезистентності, за рахунок поганого проникнення його через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) і аномалій структури зв'язуючого білка або гіпоталамічних рецепторів [65, 68].

Адіпонектин – це білок, що синтезується адіпоцитами вісцерального жиру і виконує на відміну від інших адіпоцитокінів ряд протективних функцій: протизапальну, протидіабетичну, ангіо- і кардіопротективну. Рівень адіпонектину в плазмі крові обернено пропорційний масі жирової тканини. При ожирінні спостерігається зниження рівня адіпонектину в крові, що може бути обумовлено асоційованим з ожирінням запаленням. Протизапальні маркери, такі як фактор некрозу пухлини-альфа, інтерлейкін-6, знижують його експресію і секрецію в жировій тканині [66, 70].

В останні роки встановлено, що ВНС впливає на багато процесів метаболізму: ліполіз, глюконеогенез, секрецію інсуліну і глюкагону. Симпатичні нервові закінчення і катехоламіни надирників беруть участь в адаптації метаболічних процесів при обмеженні або надмірному надходженні енергії в організм. Збільшення споживання їжі у осіб без схильності до ожиріння призводить до підвищення активності симпатичного відділу ВНС, чого не спостерігається при схильності до ожиріння. Ожиріння часто супроводжується низькою швидкістю основного обміну, теплоутворення і зниженою активністю симпатичної нервової системи (СНС), що призводить до прогресування патології [71]. Витрата енергії в тканинах за участю СНС реалізується через β -

адренорецептори. Чутливість рецепторів СНС до катехоламінів при ожирінні знижена.

Таким чином, механізми регуляції апетиту і адіпогенезу вельми різноманітні і складні. Вони включають в себе взаємодію центральних нейротрансмітерів і нейромедіаторів з гастроінтестинальними пептидами, інсуліном, біологічно активними пептидами, які синтезуються власне жировою тканиною. В результаті дізадаптації розвиваються первинно-гормональні, вторинні метаболічні зміни, які можуть призвести до асоційованих з надмірною масою тіла та ожирінням тяжких супутніх захворювань.

Встановлено зв'язок надлишкової маси тіла та ожиріння з рядом захворювань [72]. У людей з надмірною вагою збільшується ризик розвитку серцево-судинної патології (ІХС, АГ, інсульт, атеросклероз судин, інфаркт міокарда), захворювань опорно-рухового апарату (остеохондроз хребта, обмінно-дистрофічний поліартрит), шлунково-кишкового тракту (дискінезія жовчного міхура, хронічний холецистит, жовчнокам'яна хвороба), злоякісних новоутворень (рак легені, рак ендометрія, яєчників, молочної залози, передміхурової залози, товстої і прямої кишки, жовчного міхура, підшлункової залози, печінки), інсуліннезалежного діабету. У 66% жінок спостерігаються порушення менструально-оваріальної функції і безпліддя [73, 74]. Ожиріння погіршує якість життя: викликає стан хронічного стресу, тривожно-депресивні реакції, почуття провини, ворожості, безпорадності або агресії.

Найбільш серйозними і загрозливими для життя пацієнта, є ІХС, порушення мозкового кровообігу, АГ. Поєднання АГ і ожиріння має виражену негативну дію на структуру і функцію лівого шлуночка (ЛШ) [75]. Епідеміологічні дослідження переконливо продемонстрували, що зміна структури і збільшення маси ЛШ міокарда при ожирінні спостерігаються незалежно від рівня артеріального тиску (АТ) і є маркером розвитку серцево-судинних ускладнень і летальності [11]. При цьому стійке досягнення цільового рівня АТ не призводить до регресу гіпертрофії ЛШ, не покращує його діастолічну функцію.

Наростання серцевого викиду при ожирінні фізіологічно пов'язано з задоволенням метаболічних потреб жирової тканини [76, 77]. При збереженні колишньої частоти серцевих скорочень підвищення серцевого викиду відбувається за рахунок збільшення ударного об'єму серця на фоні поступового зростання об'єму циркулюючої крові (ОЦК). При ожирінні у відповідь на розширення судинного русла, пов'язаного зі збільшенням маси тіла, збільшується ОЦК. Зі збільшенням ОЦК і серцевого викиду периферичний системний судинний опір знижується. При нормальній вазі величина ОЦК формується пропорційно обсягу судинної мережі периферичних тканин. Кровообіг жирової тканини досить інтенсивний, і ОЦК при накопичення жирової тканини може значно збільшуватися [78, 79]. Організм істотно збільшує споживання кисню і ОЦК достовірно корелює з масою тіла і ступенем ожиріння. У людей з вираженим і тривалим ожирінням, розвинені гемодинамічні зрушення викликають морфологічні та функціональні зміни ЛШ міокарда. Збільшення розмірів серця при ожирінні відбувається паралельно зі збільшенням ОЦК. Наростання жирової тканини на тлі збільшення ОЦК призводить до швидкого виснаження фізіологічного резерву і збільшення обсягу ЛШ [80, 81].

При ожирінні підвищення ОЦК супроводжується посиленням ригідності ЛШ міокарда, зростанням тиску і наростанням ударного обсягу. З прогресуванням ожиріння збільшується кінцево-діастолічний тиск у правому шлуночку, середній тиск в легеневій артерії, тиск заклинювання в легеневих капілярах і, в підсумку, кінцево-діастолічний тиск у ЛШ [82, 83]. Всі ці зміни призводять до розширення лівого передсердя, правого шлуночка і правого передсердя. Підвищення ОЦК і серцевого викиду призводить до дилатації ЛШ і до напруги його стінок. Внаслідок цього розвивається ексцентрична гіпертрофія міокарда [76, 79, 81, 82].

Збільшення товщини міокарда знижує надмірну напругу його волокон, що дозволяє знизити нормальну скоротливу здатність ЛШ, створює передумови для розвитку діастолічної дисфункції ЛШ. Тривала напруга стінки ЛШ веде до його дилатації і розвитку систолічної дисфункції з ознаками застійної серцевої недостатності [77].

У осіб з ожирінням тяжкого ступеня спостерігається кардіопатія з порушеннями функції ЛШ. Недостатність правих відділів серця виникає внаслідок підвищеної циркуляції крові і недостатності ЛШ [81].

При ожирінні товщина стінок ЛШ наростає як відповідь міокарда не тільки на гемодинамічні зрушення, але і на гормонально-метаболічні зміни, які виникають при ожирінні [76]. Маса міокарда збільшується в зв'язку з гіпертрофією міокардіоцитів, викликаній безпосереднім впливом гіперінсулінемії або підвищеним рівнем ангіотензину II. Збільшення маси серця у пацієнтів з ожирінням може бути пов'язано зі збільшенням вмісту в ньому фіброзної тканини. Підвищення рівня ангіотензину II викликає проліферацію фібробластів і наростання продукції колагену, що призводить до вираженого фіброзу міокарда [83]. Наростання процесів кардіального фіброзу відбувається і під впливом підвищених рівнів кортизолу та альдостерону, посилюється жорсткість ЛШ, зменшується його здатність до розслаблення, виникає діастолічна дисфункція. Розвиток міокардіального фіброзу призводить до зниження мікроциркуляції міокарда та коронарних артерій, сприяє поступовому зниженню скорочувальної здатності серця, його ремоделюванню і надалі недостатності кровообігу [79].

Ожиріння несприятливо впливає як на ліпідний профіль, так і на реологію крові. Збільшується вміст тригліцеридів (ТГ) і зменшується холестерин ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ). Відбувається зниження фібринолізу, підвищується агрегація еритроцитів і вироблення інгібітора активатора плазміногену-1, що сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції. Зростає концентрація С-реактивного білка, маркера системного запалення і незалежного предиктора розвитку ІХС [52, 83].

Таким чином, механізми виникнення, клінічні прояви та ускладнення АО вельми різноманітні і складні. Вони ґрунтуються на взаємодії центральних нейротрансмітерів з гастроінтестинальними пептидами, інсуліном, лептином і біологічно активними пептидами, які синтезуються власне жировою тканиною в умовах зміни активності СНС [76]. У зв'язку з цим дуже актуальними є вивчення

всіх потенційних причин і механізмів розвитку ожиріння з метою розробки та впровадження високоефективних і безпечних методів його терапії [80].

В даний час в медицині існує велика кількість різних поглядів на організацію лікування та реабілітацію пацієнтів з надмірною масою тіла та ожирінням [1, 5, 44, 51]. Сучасна концепція терапії ожиріння передбачає застосування немедикаментозних (дієтотерапія, фізичні навантаження, мотиваційне навчання), медикаментозних і хірургічних методів лікування, спрямованих на оптимізацію обміну речовин, зменшення маси тіла, зниження ризику розвитку асоційованих захворювань і ускладнень [9, 47].

Основу немедикаментозного лікування складають заходи, спрямовані на зменшення споживання енергії та збільшення її витрати, тобто зміна харчування в поєднанні зі збільшенням рухової активності [52].

Як показують дані багатьох фахівців [1, 5, 9, 44, 47, 52], використання в терапії ожиріння тільки якогось одного лікувального фактору найчастіше виявляється недостатнім. Лікування ожиріння має бути комплексним з використанням нефармакологічних методів і фармакотерапії [11, 13, 55, 57]. Однак терапія ожиріння складна, і її ефективність на сьогодні залишається досить низькою. Основною стратегічною метою лікування надлишкової маси тіла та ожиріння є не тільки зниження маси тіла, але і неодмінне досягнення повноцінного контролю метаболічних порушень, попередження розвитку важких захворювань, що часто з'являються у хворих з ожирінням [55].

Останнім часом триває пошук нових концептуальних підходів до патогенетичної немедикаментозної терапії даного захворювання [19]. Все частіше в медичну практику починає впроваджуватися метод загального холодового впливу [16, 18], висока ефективність застосування якого щодо корекції функціональних станів у осіб з явищами хронічної втоми, що зазнають труднощів фізіологічної та психологічної адаптації, акліматизації та ін. безсумнівно, доведена [19, 20].

Завдяки глибоким фундаментальним дослідженням [15, 16, 18, 19, 20] встановлено, що позитивна дія загального холодового впливу на організм

пов'язана з підвищенням його неспецифічної резистентності, оптимізацією нейрогуморальної регуляції, зниженням інтенсивності обмінних процесів в органах і тканинах, підвищенням їх стійкості до явищ гіпоксії і ішемії [19, 20]. З огляду на те, що для хворих з ожирінням це дуже актуально, використання у таких пацієнтів загального охолодження представляє безперечний теоретичний і практичний інтерес.

Крім того, наукові відкриття [21, 22, 23, 27, 28] останніх десятиліть в області біології, фундаментальної та клінічної медицини доводять високу медико-біологічну цінність КК, оскільки вона є важливим джерелом СК, які успішно використовуються при лікуванні різного роду патологічних станів [28], в тому числі і захворювань серцево-судинної системи, що часто супроводжують аліментарно-конституційне ожиріння.

1.2. Загальна кріотерапія – потужна фізіотерапевтична процедура. Механізми лікувального та профілактичного впливу наднизьких температур на організм людини

Охолодження і гіпотермія є одним з найдавніших наукових напрямків в біології та медицині [84]. Лікувальна дія холоду на організм хворої людини в терапевтичних цілях має багатовікову історію. Лікарі різних народів протягом багатьох століть використовували цілющі властивості холоду для загартовування, лікування різних недуг, знеболювання, зняття запальних реакцій, відновлення бадьорості духу [85, 86].

Період практичного лікування характеризується застосуванням водомістких кріоагентів. ХХ століття (30–80-ті роки) ознаменувалося створенням низки нових кріоносіїв, вивченням впливу холоду на різні системи організму і розкриттям механізмів адаптації людини до його дії [87]. В даний час зріс інтерес до загальної кріотерапії (ЗКТ), а вакуумний метод отримав визнання і поширення в різних областях медицини не тільки внаслідок високої клінічної ефективності методу, але і в зв'язку з появою нових технічних можливостей генерації холоду [15].

Створення установок для повітряної аерокріотерапії на початку 90-х років в Німеччині і Японії перетворило ЗКТ в цілу область науково-практичних досліджень. Сьогодні криогенна фізіотерапія являє собою комплекс новітніх досягнень в області фізики і фізіології і по праву належить до технологій XXI століття [19, 20].

На сьогоднішній день виділяють три основних види холодового впливу на організм людини, в залежності від площі охолоджувальної поверхні, температурного режиму, особливостей процедури охолодження [88]: кріопротекція, кріодеструкція і кріотерапія. Кріопротекція тісно пов'язана з трансплантологією і фармакологією, кріодеструкція асоційована з кріохірургією, а кріотерапія широко застосовується для профілактики і лікування різних соматичних захворювань [84]. ЗКТ – це фізіотерапевтичний метод, в основі якого лежить застосування наднизьких температур в межах від -80 до -160°C протягом від 30 секунд до 4 хвилин на всю поверхню тіла людини [87].

Вплив ЗКТ на організм обумовлено швидким зниженням температури (охолодження) поверхневих тканин під впливом холодового фактору в межах кріостійкості ($5-10^{\circ}\text{C}$) без виражених зрушень терморегуляції організму. При охолодженні тканин нижче рівня кріостійкості через кристалізацію тканинної рідини настає їх руйнування – кріодеструкція. Основною метою короткочасного охолодження тканин, органів і всього організму в цілому є активація специфічних і неспецифічних систем адаптації, що спрямована на підвищення стійкості гомеостазу [89].

ЗКТ як метод лікувального та профілактичного впливу наднизьких температур на організм людини вперше був представлений в 1979 році японським ученим, доктором Т. Ямаучи на Міжнародному ревматологічному конгресі у Вісбадені. Т. Ямаучи по праву вважається основоположником сучасної ЗКТ. Ним і його колегами було розроблено новий метод лікування ревматичних захворювань із застосуванням наднизьких температур (до -180°C) [16, 17, 18]. На підставі отриманих ним позитивних терапевтичних результатів у Німеччині був створений кріотерапевтичний модуль для клінічного застосування.

Впровадженням нового методу в практику зайнявся Р. Фріке. За короткий термін було обладнано кілька десятків азотних кріокабін [20].

Останнім часом метод ЗКТ широко використовується [15, 17, 20, 84] у багатьох розвинених країнах, в тому числі в Німеччині, Японії, Росії, Польщі та, в меншій мірі, в Україні. Для ЗКТ знаходять застосування два види кріоагенту: азотно-повітряна суміш і атмосферне повітря. Зазвичай для цього використовують комплекс обладнання, званий «кріокамера» [89].

Сучасний розвиток кріогенних технологій дозволяє створювати установки великого обсягу, здатних тривалий час підтримувати низькі (до -15 - -20°C) та наднизькі (до -180°C) температури всередині камери з поміщенням живим об'єктом.

Стационарна двухкамерна кріосауна «КріоСпейс» (Німеччина), призначена для здійснення ЗКТ за допомогою короткочасного екстремального охолодження всієї поверхні тіла ламінарним потоком сухого повітря з температурою -60°C - -120°C . Вона вважається найбільш ефективною в багатьох країнах Західної Європи, Японії та Росії. Застосування в якості охолоджуючого середовища звичайного атмосферного повітря робить процедуру екологічно чистою і безпечною. Короткочасність впливу виключає можливість появи обморожень та інших ускладнень і не вимагає ніякої попередньої підготовки.

За ступенем криовпливу, що досягається за допомогою холодоносіїв, які знаходяться в твердому, рідкому або газоподібному агрегатному стані, методи ЗКТ можуть бути розділені на дві групи:

- використання помірно низьких температур від -20 до -30°C ;
- застосування низьких і наднизьких температур від -30 до -180°C .

Залежно від площі тіла, яка піддається охолодженню, розрізняють локальну і загальну кріотерапію [18, 90].

Локальна кріотерапія – це метод фізіотерапії, що полягає у впливі твердими, рідкими або газоподібними хладоагентами для відведення тепла від окремих ділянок поверхні тіла людини в тій мірі, щоб температура поверхневих тканин

знижувалася в межах їх кріостійкості і не відбувалося значущих зрушень терморегуляції організму [15, 91].

ЗКТ – це фізіотерапевтичний метод, що полягає в застосуванні холодних агентів для відведення тепла від всієї поверхні тіла живого організму, при обов'язковій умові зниження температури поверхневих тканин в межах їх кріостійкості без значних зрушень терморегуляції [84, 87, 89].

Вплив будь-якої технології на організм, з позиції загальної теорії механізму лікувальної дії фізичних факторів, являє собою нервово-рефлекторну дію, що реалізовується через систему взаємопов'язаних ланок: а) рефлекторну, що включає аферентні сигнали, сприймаючий центр і еферентні сигнали; б) гуморально-гормональну – гуморальні агенти і нейрогормони, які продукуються ендокринними залозами і нейронами; в) біохімічні та біофізичні реакції і метаболічні процеси, що протікають на тканинному, клітинному і молекулярному рівнях [91]. Нервова система контролює всі функції ефекторів і тільки при довгостроковій адаптації в регуляції починають брати участь також і гормональні механізми [15, 17, 89].

Будь-яких кардинальних відмінностей в синдромо-патогенетичному профілі локальної і ЗКТ немає. Однак фізіологічні зрушення, що виникають в організмі (зниження температури шкіри, уповільнення обміну речовин, гальмування запалення, зменшення болю, зняття набряку, нормалізація лімфовідтоку, поліпшення рухових функцій, періодичне звуження і розширення судин, реактивна гіперемія шкіри, підвищення/зниження м'язового тону, імуномодулююча та іммунопротекторна дія та ін.) яскравіше проявляються після процедур ЗКТ.

Аналіз літературних даних показав [15, 20, 92, 93], що ЗКТ призводить до уповільнення кисневого метаболізму і процесів окисного фосфорилування глюкози в поверхневих тканинах, сприяє зниженню споживання клітинами кисню і поживних речовин. Всі зазначені зміни можуть бути оборотними, бо розвиваються в тканинах «оболонки» тіла [93]. Процеси, що відбуваються в

глибоко розташованих тканинах «ядра» тіла, жодним чином не пов'язані з прямим впливом холоду і мають вторинне нейрогуморальне походження.

Метод ЗКТ сприяє розвитку компенсаторно-адаптаційних реакцій, що направлені на активацію власних гомеостатичних регуляторних систем організму. Встановлено [18, 19, 94, 95], що організм реагує на дію холоду не тільки системою терморегуляції, а й усіма можливими адаптаційними механізмами, включаючи гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову, імунну і ендокринну системи. Згідно з літературними даними, показано [15, 16, 17, 20, 84, 90, 94], що екстремальне охолодження організму не викликає перенапруження центральних механізмів терморегуляції, а навпаки, здійснює тренуючу дію [95].

До числа найбільш відомих ефектів ЗКТ відноситься загально тренуючий, що виявляється в підвищенні рівня функціонування основних регуляторних, адаптаційно-приспосувальних систем організму у практично здорових людей. Він обумовлений виникненням перебудов діяльності серцево-судинної, нервової та нейроендокринної систем [84, 89]. Вплив холодом призводить до виражених фазових змін діяльності периферичних судин, які проявляються спочатку спазмом дрібних артерій і артеріол, прекапілярних сфінктерів, уповільненням швидкості кровотоку і підвищенням в'язкості крові. Дане звуження є першою захисною фазою судинної реакції на охолодження, спрямованої на запобігання проникнення холодого фактору через шкірні покриви і підшкірну клітковину до глибоко розташованих внутрішніх органів і систем організму [15]. Через 20 хвилин після ЗКТ, розвивається друга захисна фаза судинної реакції у вигляді вираженого розширення периферичних артеріальних судин, що супроводжується активною артеріальною гіперемією, яка триває протягом декількох годин [95]. Ця фаза є компенсаторною, оскільки сприяє посиленому теплоутворенню, яке перешкоджає розвитку ішемії і порушенням живлення тканин. Фазові зміни стану судин шкіри і підшкірної клітковини дають адекватне тренуюче навантаження на систему кровообігу. Розширення шкірних судин в другу фазу судинної реакції знижує загальний периферичний судинний опір, тим самим зменшуючи навантаження на серце [93, 94].

Поряд зі змінами артеріального і капілярного кровообігу ЗКТ помірно покращує венозний і лімфатичний відтік, сприятливо впливає на стан периферичної нервової і м'язової систем. Короткочасне збудження периферичних шкірних рецепторів змінюється тривалою фазою гальмування, чим пояснюється аналгетичний ефект [20, 85, 87]. Знижується тонус м'язів, ліквідуються м'язові спазми.

ЗКТ стимулює діяльність вищих вегетативних центрів і систем нейроендокринної регуляції. За даними багатьох авторів [19, 85, 86, 96, 97, 98, 99], екстремальне охолодження активує адренкортикотропну систему, що призводить до посилення вироблення адренкортикотропного гормону передньою долею гіпофіза і кортизолу корою наднирників. Стимуляція лімбічної системи головного мозку підвищує вироблення ендорфінів, які володіють потужною знеболювальною і седативною дією. Реакція судин внутрішніх органів і тканин на холододовий вплив менш виражена, ніж реакція шкірних судин, однак багато авторів показали [15, 17, 96, 97, 98], що ЗКТ призводить до посилення кровопостачання внутрішніх органів. Це викликано утворенням вазоактивних речовин в судинах шкіри, розвитком аксон-рефлексів, зниженням м'язового тону. Тому для здорового організму ЗКТ це перш за все метод підвищення його стійкості до різних стресових перевантажень [100].

В умовах патології ЗКТ надає: антидепресивну, противотревожну, протинабрякову, судинорозширювальну, знеболюючу, трофіко-регенераторну, протизапальну, релаксуючу, десенсибілізуючу, імуномодулюючу дію, нормалізує тонус венозних і лімфатичних судин [84, 97, 100].

ЗКТ широко застосовується в ревматології (ревматичні ураження м'яких тканин, ревматоїдний артрит, хвороба Бехтерева) [96], неврології (вертеброгенна патологія з больовими синдромами) [95], дерматології (системні захворювання шкіри) [94, 98], травматології (травми м'язово-зв'язкового апарату) [97], а також при психосоматичній патології, неврозах, депресивних і стресових станах [20], використовується для профілактики захворювань і медико-психологічної реабілітації осіб небезпечних професій. Лікуванню підлягають пацієнти з

ожирінням [101, 102], проявами недостатності імунної реактивності, порушеними вегетативними реакціями, хронічними інтоксикаціями і ін. [84, 87, 90].

Процедури ЗКТ, як правило, не супроводжуються побічними ефектами. У процесі і після сеансів екстремального охолодження не спостерігається помітних змін центральної гемодинаміки, вони практично не впливають на діяльність серця, не провокують розвиток ішемії міокарда, порушення серцевого ритму і провідності, не викликають істотного підвищення артеріального тиску [91]. Це дозволяє допускати до процедур пацієнтів з супутніми серцево-судинними захворюваннями в початкових стадіях, а також людей похилого і старечого віку [99, 100].

Таким чином, ЗКТ, як широко поширений фізіотерапевтичний метод, забезпечує стимуляцію всіх фізіологічних резервів організму, оптимізацію механізмів регуляції кровообігу, супроводжується гіпотензивним ефектом, підвищенням неспецифічної резистентності, перебудовою метаболізму за рахунок активації розпаду жирів. Все це висуває ЗКТ на передові позиції в більшості напрямків прикладної медицини.

Детальне вивчення механізмів кріотерапевтичного впливу екстремально низькими температурами на живий організм є актуальною практичною задачею. В останні роки в медицину успішно впроваджуються різні методи безконтактного лікування захворювань, асоційовані із застосуванням ритмічно повторюваних впливів факторів фізичної природи [103]. Підбираючи певний ритм впливів фізичними факторами на організм, координуючи його з частотою біоритмів, можна управляти його фізіологічними реакціями.

Протягом більш ніж 40 років в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України розробляються оригінальні методики впливу низьких і наднизьких температур на організм людини і тварин [104, 105, 106]. Ритмічні холодові впливи (РХВ), будучи сенсорним і систематично діючим подразником, викликають певні зрушення в терморегуляторних системах мозку. Дія РХВ направлена на синхронізацію активності ряду функціональних систем, взаємозв'язок яких веде до створення певного стану мозку, де основну роль

виконує ГЕБ [107], а також нейромедіаторний пул і відповідна організація нервових центрів, об'єднаних специфічними функціональними зв'язками [108].

Як відомо ГЕБ, перш за все, перешкоджає проникненню в мозок токсичних агентів екзо- і ендогенної природи. На ряду з цим, ГЕБ виконує і інші не менш важливі функції: забезпечує гомеостаз середовища мозку, селективний відбір і транспорт речовин, необхідних для діяльності нейронів і підтримки їх трофічного, пластичного і енергетичного потенціалу [109]. Порушення резистентності ГЕБ веде до домінування механізмів парацелюлярного транспорту та зміни в регуляції трансмембранного транспорту, що тягне за собою порушення гомеостазу середовища мозку [110].

На сьогоднішній день можливість керування функцією ГЕБ є важливою медико-біологічною проблемою. Від рівня його проникності залежать адаптивні реакції ССС і ЦНС на дію стресорів різної модальності і інтенсивності. Доведено [108, 109, 111], що РХВ істотно змінює взаємовідносини центральних і периферичних контурів регуляції серцевої діяльності, при цьому нормалізуються симпато-парасимпатичні впливи, що є важливим фактором, який дозволяє відновлювати фізіологічну ритміку функціонування ГЕБ і порушений гомеостаз. Зміна проникності ГЕБ це, безумовно, один з основних механізмів позитивного впливу охолодження на живий організм [107, 108, 109, 110, 111].

Екстремальні холодові впливи, особливо ритмічно організовані, здатні модифікувати структурно-функціональний стан складових ГЕБ і стимулювати його виборчу проникність для нейромедіаторів [15, 103].

Вченими обґрунтована [105, 108, 111] можливість застосування РЕХВ (-120°C) як потужного модулюючого фактору для нормалізації порушень функціонального стану організму власними ендогенними ритмами. Відомо [15, 103, 105, 108, 11, 112], що метод РЕХВ не призводить до зміни температури тіла більш ніж на $1-2^{\circ}\text{C}$, при цьому підвищує проникність ГЕБ з перших хвилин впливу [113].

В даний час триває пошук шляхів до розвитку нових напрямків з вивчення поверхневої дії холоду при різних патологічних станах, у тому числі і при АО.

1.3. Кордова кров, як альтернативне і перспективне джерело гемопоетичних стовбурових клітин для клінічного застосування

Значні досягнення молекулярної і клітинної біології в кінці ХХ століття створили передумови для застосування принципово нових ефективних технологій спрямованих на лікування різних захворювань. Успішна розробка методів отримання та тривалого культивування СК відкрили широкі перспективи для використання їх в практичній охороні здоров'я [114].

СК – це клітини, позбавлені тканино специфічних структур, що володіють здатністю до самореплікації і диференціації в один або кілька специфічних клітинних типів і, як наслідок, заселення організму хазяїна [24, 114, 115, 116]. Вони є попередниками всіх клітин, органів і тканин [25, 27].

Стовбурові кровотворні клітини вперше були описані в 1961 році Till і MacCalloch, які показали, що кровотворні клітини миші містять родоначальні елементи, здатні відновлювати кровотворення всіх ліній диференціювання при переливанні крові опроміненої миші, і зберігати ці властивості при повторних трансплантаціях новим реципієнтам. За їхніми уявленнями, кровотворення подібно дереву, стволом якого є родоначальні клітини, а гілками і листям – зрілі і функціонально активні нащадки різних видів [116].

За рахунок скоординованого і програмованого поділу вони є джерелами тканин організму, беруть участь в їх підтримці протягом усього життєвого періоду [117, 118, 119]. Така сталість залежить від існування тканино специфічних СК, які виробляють нові функціональні клітини в нормальних умовах, а також після специфічного стресу в міру зростаючих потреб активності або пошкодження (фізіологічна або репаративна регенерація). Вважається [26, 28, 29], що СК знаходяться в відповідних органах, де строго контролюються специфічним мікрооточенням. Після надходження відповідного сигналу вони мобілізуються і залучаються до ділянок, які вимагають клітинної регенерації [114, 119, 120, 121].

Механізм дії СК ґрунтується на можливості мігрувати до патологічного осередку, забезпечуючи при цьому клітинним субстратом пошкоджений орган з

метою репопуляції, а також стимулювати його регенерацію і функціональну активність [122, 123].

Родоначальницею всіх зрілих клітинних форм є поліпотентні СК, виявлені вперше в експерименті на мишах. Поліпотентні СК, являють собою клітинну популяцію, здатну до диференціювання в усіх напрямках.

На сьогоднішній день в більшості випадків використовуються два види класифікації СК [124, 125]. За походженням і джерелом виділення СК можна розділити на наступні групи:

- ембріональні стовбурові клітини (ЕСК), одержувані з внутрішньоклітинної маси бластоциста, які формуються до 4–7-го дня розвитку після запліднення;

- фетальні стовбурові клітини (ФСК) одержувані з абортівного матеріалу на 9–12 тижні вагітності. ФСК являють собою суміш мультипотентних і уніпотентних СК;

- СК виділені з пуповинної крові, кісткового мозку і тканин дорослого організму. Гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК) в основному дають початок різним паросткам кровотворення. Мезенхімальні (стромальні) СК кісткового мозку мають здатність до диференціювання в остеобласти, хондроцити, теноцити, адіпоцити, міобласти, фібробласти. Регіонарні СК присутні в інших тканинах (в шкірі, судинах, нервовій тканині та ін.) і диференціюються в клітини відповідних тканин.

За кількістю різних спеціалізованих клітинних типів, яким може дати початок та чи інша СК вони діляться на [126]:

- тотіпотентні СК, які утворюються відразу ж після поділу заплідненої яйцеклітини і здатні відтворювати всі органи ембріона. До них відносяться тільки запліднені ооцити і бластомери 2–8 клітинної стадії;

- уніпотентні СК, які мають проліферативні властивості і здатні до диференціації в одному певному напрямку під впливом гуморальних регуляторів (ерітропоетин, лейкопоетин, тромбопоетин) [127];

– плюрипотентні СК, які в процесі ембріонального розвитку можуть бути джерелом похідних будь-якого з 3 зародкових листків (ектодерми, ентодерми, мезодерми). До них відносяться ЕСК, первинні статеві клітини і клітини ембріональних карцином;

– мультипотентні СК, характеризуються нижчим проліферативним потенціалом в порівнянні з плюрипотентними СК. Вони здатні утворювати спеціалізовані клітини декількох типів (наприклад, клітини крові, печінки, головного мозку).

За способом отримання, розрізняють 2 види СК: алогенні (з донорського матеріалу) і аутологічні або власні СК.

Вивчаючи кожен вид СК, виділених з різних джерел, можна стверджувати про позитивний або ж негативний вплив цих клітинних популяцій на організм людини [114, 120, 123, 124].

Добре вивченим джерелом плюрипотентних СК є ЕСК [127]. Популяція цих клітин має високу теломеразну і проліферативну активність, за рахунок чого може давати початок будь-якій тканині живого організму. Крім того, ЕСК здатні до хоумінгу (при введенні клітин в організм, вони рухаються в бік зони пошкодження з метою регенерації і повернення втраченої функції). Однак їх використання в медичній практиці обмежене через імунологічну несумісність організму реципієнта з клітинним матеріалом донора, а також з етичних міркувань, оскільки при заборі ЕСК відбувається руйнування ембріона [127].

Перелік тканин, що містять СК, постійно розширюється і на даний момент включає наступні органи і тканини: кістковий мозок (КМ), периферичну і пуповинну (кордову) кров (КК), головний та спинний мозок, кровоносні судини, скелетні м'язи, епітелій шкіри і травного тракту, печінку, підшлункову залозу, дентальну пульпу, рогівку, сітківку [128, 129]. При цьому найбільш зручним і загальноприйнятим джерелом стовбурових кровотворних клітин є КМ і КК.

Згідно з літературних даних [130, 131, 132, 133, 134], в кровотворній тканині, крім диференційованих клітин таких, як нейтрофіли, макрофаги, лімфоцити і тучні клітини, є морфологічно нерозпізані стовбурові гемопоетичні

клітини, які є попередниками всіх паростків кровотворення. За класичним уявленням [23, 24, 30, 115], СК характеризуються високим проліферативним потенціалом, здатністю до самовідтворення і спеціалізованого одно направленого диференціювання в межах своєї тканини, мають властивість шляхом трансплантації прижиттєво відновлювати пошкоджений орган або тканину, з якої походять, відповідають за утворення в фізіологічних умовах диференційованих нащадків відповідної тканини за умови відсутності пошкодження [135].

Однак в кінці ХХ століття після трансплантації СК вчені виявили в тканинах реципієнта клітини, що мають донорський генотип, а фенотип – відповідної тканини реципієнта. В процесі диференціювання СК здатні долати лінійні і тканинні бар'єри, набувати профіль експресії і функціональний фенотип, які є унікальними для клітин іншої тканини. Ця властивість СК отримала назву пластичності. Інтерес до даної властивості пояснюється тим, що при пересадці СК поява маркерів донорських клітин в диференційованій тканині іншого типу (печінки, серця, шкіри та ін.) поєднувалося з поліпшенням або відновленням втраченої функції відповідного органу [136, 137].

Існує безліч гіпотез, що пояснюють цей феномен. Одні автори [22, 138] припускають існування в постнатальний період тотіпотентних СК, здатних при необхідності трансформуватися в будь-які тканини, інші [127, 133, 134, 139] – припускають, що ГСК здатні до трансдиференціювання і репрограмування. Згідно з третьою думкою [124, 125, 140] в пулі ГСК присутні СК інших тканин, які отримують «дозвіл» на розвиток тільки в відповідному мікрооточенні. Деякі вчені [30, 35, 141, 142] пишуть про альтернативний феномен пластичності злиття СК донора з клітинами різних тканин реципієнта [36].

Однак з урахуванням накопичених клінічних і експериментальних даних [27, 39, 114, 116, 121, 127, 130, 134] можна стверджувати, що клітини КМ не у всіх випадках є універсальним джерелом клітинної репарації будь-яких тканин. Значно частіше ці клітини спрямовані на захист і відновлення кістково-мозкової тканини реципієнта [143]. У свою чергу КК широко розглядається як багате, і що немало важливо етично прийняте, джерело СК. Популяція клітин, виділених з КК,

характеризується високим регенеративним і проліферативним потенціалом [139, 140, 144].

Кордова або пуповинна кров є альтернативним КМ джерелом СК. КК – це кров, яка залишається в плаценті і пуповинному канатику після народження дитини. Як правило, її отримують в пологових будинках в момент пологів у здорових жінок без патологій вагітності шляхом пункції материнського кінця в пересіченій пуповинній вені аспіраційною голкою в замкнуту систему. КК за всіма основними показниками відрізняється від крові дорослої людини. У ній міститься велика кількість гемопоетичних факторів росту (сироватковий еритропоетин), а також високий рівень формених елементів крові, зокрема еритроцитів, і гемоглобіну [145].

КК вкрай важлива для внутрішньоутробного розвитку плоду, вона забезпечує його спектром необхідних поживних речовин і киснем. У складі КК, крім високої концентрації СК, можна виділити понад 60 різних видів біологічно активних речовин і фетальних факторів росту. В кінці 80-х років минулого століття Broxmeyer H.E. і співавторами [146] було висунуто припущення про те, що КК містить достатню кількість СК, для використання в якості гемопоетичного трансплантаційного матеріалу. Подальші фундаментальні дослідження в цій області встановили, що КК містить більше гемопоетичних попередників ніж КМ дорослої людини, які характеризуються більш високим проліферативним потенціалом [147, 148].

Аналіз літературних даних показав [39, 138, 140, 144, 149], що КК, як основне джерело ГСК, має як позитивні, так і негативні моменти. До явних переваг використання КК для трансплантації відносять:

- високий проліферативний потенціал (здатність до тривалого розмноження і продукції великого числа клітин);
- високу здатність до диференціації [150] (процес спеціалізації клітин);
- здатність до асиметричного поділу, тобто з кожної СК при мітозі утворюються дві дочірні, одна з яких ідентична материнській і залишається стовбуровою, інша диференціюється в спеціалізовані клітини [151];

– забір клітинного матеріалу відносно простий, доступний, безпечний і не представляє загрози для здоров'я дитини і матері [31, 152];

– при заборі матеріалу спостерігається малий відсоток пошкоджених клітин;

– зразки КК, які тривалий час зберігаються в кріобанку, типовані по HLA-системі і можуть зразу бути використані в якості трансплантаційного матеріалу реципієнту [153, 154];

– отриманий при заборі клітинний матеріал не обтяжений вірусами і токсинами;

– в разі трансплантації клітин реципієнтам з рідкісними HLA-типами збільшується ймовірність підбору ГСК без ризику розвитку реакції «трансплантат проти господаря» [155, 156, 157].

До негативних характеристик можна віднести малий обсяг взятої дози КК (60–150 мл), а також відсутність можливості повторного взяття матеріалу, оскільки забір здійснюється в момент народження дитини.

Відносно простий спосіб отримання, позбавлений етичних, моральних і юридичних аспектів, а також унікальний склад створює передумови для широкого клінічного застосування КК з метою лікування різного роду захворювань [114, 135, 158].

Вперше трансплантація ГСК, отриманих з КК (ГСК КК), була проведена в 1988 році у Франції шестирічній дитині, яка страждала анемією Фанконі [159]. З тих пір, кількість трансплантацій ГСК КК значно зростає з кожним роком. До теперішнього часу по всьому світу здійснено понад 10000 трансплантацій ГСК КК як дітям, так і дорослим [160, 161, 162, 163, 164].

На сьогоднішній день найбільш поширеним маркером, що використовується для виявлення кількості ГСК-попередників, є CD34⁺ [165, 166, 167]. За наявності CD34⁺ -клітин в зразку крові визначають і розраховують дозування препарату, що вводиться. Але з огляду на той факт, що в міру дозрівання кровотворних клітин відбувається зміна поверхневих маркерів, це створює деякі труднощі обліку ГСК в зразку. Тому для підрахунку кількості ГСК використовують, як правило, кілька різних маркерів [168]. Прикладом служить пан лейкоцитарний маркер CD45⁺,

рівень експресії якого значно відрізняється для різних популяцій лейкоцитів (гранулоцитів, моноцитів, лімфоцитів). Використання його в якості якісного маркера для виявлення лейкоцитів серед ЯВК КК найдоцільніше, оскільки експресії даного маркера у ядерні еритроїдні клітини-попередники немає [169].

При трансплантації клітин визначальним моментом є достатня кількість CD34⁺-клітин в зразку, а значить і необхідного мінімуму ГСК в розрахунку на кілограм ваги реципієнта. Згідно з аналізом літературних даних [170, 171, 172, 173, 174] мінімальна доза CD34⁺-клітин в зразку КК повинна бути не менше $1,7 \times 10^5$ клітин в розрахунку на кілограм маси тіла дорослої людини. Для ЯВК КК цей показник перебуває в допустимій межі від $1,5$ до $2,0 \times 10^7$ для дорослої людини і $3,7 \times 10^7$ для дітей [175, 176].

В даний час СК широко застосовуються для лікування багатьох захворювань, до числа яких відносять цукровий діабет першого і другого типів, вроджені імунodefіцити, анемії, ревматоїдний поліартрит, інсульт, хвороба Альцгеймера, патології серцево-судинної системи, печінки, нирок, та ін. [177, 178, 179].

В літературі наводяться дані [180, 181, 182, 183] про те, що СК мають великий потенціал для лікування захворювань очей, що характеризуються незворотною втратою клітин, таких як глаукома і дегенерація фоторецепторів [161, 164].

Є позитивні результати використання СК в терапії інфаркту міокарда та хронічної серцевої недостатності, отримані в результаті експериментальних досліджень і клінічних випробувань. Для доказу позитивних результатів таких експериментів (трансдиференціювання СК в кардіоміоцити) застосовувалися флюоресцентні моноклональні антитіла, які, завдяки здатності зв'язуватися з рецепторним апаратом кардіоміоцитів, показували, що в зоні інфаркту з'являються нові клітини [139, 147].

Здатність ГСК КК людини диференціюватися в гепатоцити може бути використана при лікуванні різних захворювань печінки. Встановлено, що трансплантовані щурам в селезінку моноклеари КК людини, трансформовані

геном зеленого флуоресцентного білка, мігрують в печінку щурів після часткової гепатектомії і набувають фенотип гепатоцитів, синусоїдних клітин і холангіоцитів [184, 185].

В експериментах були спроби застосування СК для терапії наслідків інсультів, хвороби Альцгеймера, Паркінсона [140]. Також проводиться аутогенна трансплантація ГСК пацієнтам при важких прогресуючих формах розсіяного склерозу [186, 187].

Алогенні і аутологічні трансплантації ГСК КК використовуються при лікуванні багатьох доброякісних і злоякісних захворювань крові [24, 28, 121].

Таким чином, на підставі детального аналізу сучасної зарубіжної [188, 189, 190, 191, 192] і вітчизняної літератури [114, 115, 116, 119, 120] можна зробити висновок про те, що СК КК беруть активну участь у відновленні пошкоджених органів і тканин. Даний складний багатофакторний процес, безсумнівно, вимагає подальшого вивчення.

На базі ІПКіК НАН України ведуться фундаментальні і прикладні дослідження від вивчення властивостей СК, їх отримання і зберігання [32, 33] до застосування на експериментальних тварин в нормі і при різних патологічних станах. В результаті, співробітниками інституту накопичений унікальний досвід виділення, низькотемпературного зберігання та клінічного випробування СК [193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201].

До теперішнього часу дослідження, що стосуються вивчення механізмів дії кріоконсервованих ЯВК КК в тому числі і ГСК на адаптаційно-компенсаторні резерви організму експериментальних тварин при АО, відсутні. У зв'язку з цим, великий теоретичний і практичний інтерес представляє можливість корекції порушень гомеостазу організму тварин з АО за допомогою кЯВК КК.

На особливу увагу заслуговує визначення механізму саме поєданого впливу кЯВК КК і РЕХВ, які є стимулюючими засобами, що відрізняються за своєю природою дії і, ймовірно, можуть викликати взаємо потенціюючий ефект.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Схеми експерименту і кількість експериментальних тварин

Основний обсяг досліджень проведено на базі наукових підрозділів Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків), відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.01.2006 р) при дотриманні вимог Комітету інституту з біоетики, узгоджених з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Головною біологічною ланкою в системі експерименту є лабораторні тварини [202, 203]. Вид обраних для проведення медико-біологічних наукових досліджень лабораторних тварин, їх анатомо-фізіологічні особливості, якість (здоров'я, генетична однорідність, відсутність прихованих збудників інфекційних і паразитарних захворювань), а також умови догляду, утримання і годівлі багато в чому зумовлюють фактичні результати, а, отже, і висновки з експериментальної роботи [204].

Відомо, що фізіологічні особливості організму ссавців, зокрема гризунів, в значній мірі схожі з фізіологією людини, особливо на клітинному рівні [203, 205, 206]. Щури є зручним експериментальним об'єктом для моделювання патологічних станів і вивчення механізмів дії на їх організм різних речовин [202, 207]. Результати подібного роду досліджень дозволяють науково обґрунтувати рекомендації щодо їх застосування у людини [208, 209, 210, 211, 212, 213].

У зв'язку з вище викладеним, експерименти виконувалися на білих безпородних щурах-самцях двох вікових груп: статевозрілих 6-місячних і старих 24-місячних.

Тварини містилися в умовах віварію ІПКіК НАН України при світловому режимі 10 годин і 14 годин темряви, на стандартному харчовому раціоні і вільному доступі до води і їжі. З метою виключення добових коливань експерименти проводилися в першій половині дня.

Кожна вікова група була розділена на п'ять підгруп (рис. 2.1):

- 1) інтактні молоді та старі тварини;
- 2) контрольні молоді та старі тварини з моделлю АО;
- 3) молоді та старі щури з АО після процедур РЕХВ;
- 4) молоді та старі щури з АО після введення кЯВК КК;
- 5) молоді та старі щури з АО на тлі поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК.

КК.

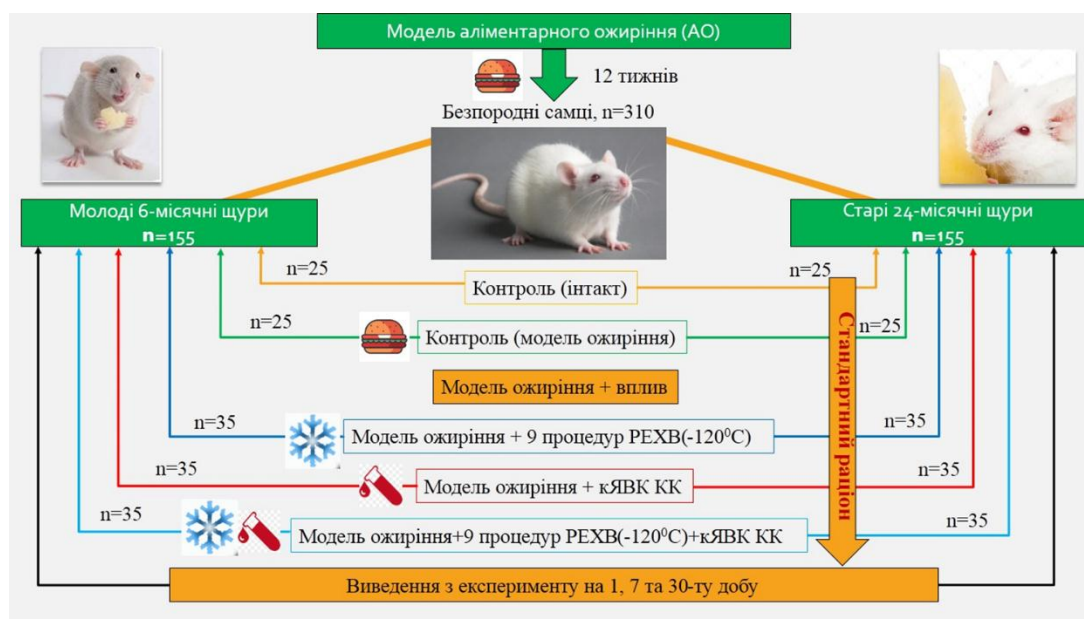


Рис. 2.1. Схема експерименту.

Вибір кількості щурів в кожній підгрупі був обумовлений необхідністю вимірювань поточних показників, визначених метою і завданнями досліджень (табл. 2.1). В ході проведення експериментів жодна тварина не загинула.

Всього під час виконання експериментальної частини дисертаційної роботи було використано 155 молодих і 155 старих щурів.

Схема розподілу молодих і старих тварин за серіями експерименту

№ п/п	Частина експерименту	Різновид впливу (група)	Вік тварин (місяці)	Кількість тварин		
1.	Особливості стану вегетативної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю АО	контроль	6	5		
			24	5		
		контроль+АО	6	5		
			24	5		
		АО+РЕХВ	6	7		
			24	7		
		АО+кЯВК КК	6	7		
			24	7		
		АО+РЕХВ+кЯВК КК	6	7		
			24	7		
		2.	Оцінка ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів з моделлю АО	контроль	6	5
					24	5
				контроль+АО	6	5
					24	5
АО+РЕХВ	6			7		
	24			7		
АО+кЯВК КК	6			7		
	24			7		
АО+РЕХВ+кЯВК КК	6			7		
	24			7		
3.	Визначення концентрації тиреоїдних і статевих гормонів сироватки крові молодих і старих щурів з моделлю АО			контроль	6	5
					24	5
				контроль+АО	6	5
					24	5
		АО+РЕХВ	6	7		
			24	7		
		АО+кЯВК КК	6	7		
			24	7		
		АО+РЕХВ+кЯВК КК	6	7		
			24	7		

4.	Вивчення особливостей гістологічного стану тканин і судин міокарда молодих і старих щурів з моделлю АО	контроль	6	5		
			24	5		
		контроль+АО	6	5		
			24	5		
		АО+PEXB	6	7		
			24	7		
		АО+кЯВК КК	6	7		
			24	7		
		АО+PEXB+кЯВК КК	6	7		
			24	7		
		5.	Вивчення особливостей ультраструктурних перебудов тканин і судин міокарда молодих і старих щурів з моделлю АО	контроль	6	5
					24	5
контроль+АО	6			5		
	24			5		
АО+PEXB	6			7		
	24			7		
АО+кЯВК КК	6			7		
	24			7		
АО+PEXB+кЯВК КК	6			7		
	24			7		

2.2. Методика моделювання аліментарного ожиріння

Існують різні стратегії моделювання ожиріння у лабораторних тварин, які можна розділити на 2 основні групи – генетичні і засновані на зміні раціону. До найбільш поширених генетичних моделей відноситься ожиріння у мишей ob/ob з дефектом гена лептину і тварин з недоліком або дефектом лептинових рецепторів – мишей db/db і щурів Цукера [214,215,216]. Ці моногенні моделі зручні для дослідження генетичних аспектів захворювань, пов'язаних з порушенням енергетичного гомеостазу – ожиріння, цукрового діабету та метаболічного синдрому, а також доклінічній оцінці ефективності лікарських препаратів для

корекції гіперінсулінемії, інсулінорезистентності та гіперфагії. У людини генетичні порушення, пов'язані з дефектом гена лептину або його рецепторів, зустрічаються вкрай рідко [216].

Моделі АО, засновані на збільшенні калорійності раціону експериментальних тварин, в цілому, відповідають основній причині розвитку ожиріння у людини – незбалансованому висококалорійному харчуванню [216, 217, 218]. Для моделювання ожиріння у експериментальних тварин використовують раціони з високим вмістом вуглеводів (фруктоза [219, 223, 224, 225], сахароза [220, 221, 222], глюкоза) і жирів окремо або в поєднанні, а також раціони, що імітують харчові переваги людини [214].

Другою стратегією моделювання ожиріння є використання раціону з високим вмістом жирів [226, 227, 228, 229, 230, 231, 232]. Звичайний раціон щурів і мишей включає 20–30% білка, 60–70% вуглеводів і всього 3–10% жиру [217]. При моделюванні ожиріння раціон експериментальних тварин збагачують жирами на 10–60% (по калорійності), але найбільш поширеним варіантом вважається високожировий раціон, що містить 30–50% жиру [214, 215]. У більшості ссавців дієта з високим вмістом жиру призводить до збільшення маси тіла і викликає розвиток ожиріння [226]. Морфологічні зміни внутрішніх органів при використанні раціону з високим вмістом жирів характеризуються гіпертрофією і фіброзом міокарда [217]. При збагаченні раціону жирами різного походження, розвиток ожиріння в більшій мірі спричиняють такі джерела насичених жирів, як сало, кокосове і пальмове масло [214, 215, 226, 233].

Найбільш адекватними та імітуючими особливості харчування людини є комбіновані раціони з високим вмістом і вуглеводів, і жирів [214, 215, 233]. Для створення висококалорійної комбінованої дієти використовують різні види вуглеводів/жирів і їх різне процентне співвідношення [221, 234, 235, 236, 237].

У даній роботі моделювали АО на білих безпородних щурах-самцях двох вікових груп (6 і 24 місяці), які до початку експерименту містилися в стандартних умовах віварію ПКіК НАН України. Вихідна вага молодих щурів становила $200,5 \pm 16,59$, старих – $341,5 \pm 10,91$ грам. Моделювання АО здійснювали за

загальноприйнятою методикою В.Г. Баранова [238], шляхом утримання тварин на гіперкалорійному збалансованому раціоні.

Протягом 3 місяців, на додаток до звичайного щоденного раціону, тварини отримували посилене калорійне харчування з 45–50% вмістом жирів тваринного походження, 35–40% вуглеводів, 10–15% білків.

Гіперкалорійний раціон на одного щура вдень, включав в себе: цукор (5г/кг); вершкове масло (5г/кг); свиняче сало (5г/кг); сухе молоко (5г/кг); яечний порошок (5г/кг). Додатково тварини щодня отримували хліб, хлібобулочні та кондитерські вироби.

Протягом усього дослідження аж до виведення тварин з експерименту, щурам контрольної і дослідних груп визначали масу і довжину тіла. Наявність ожиріння, фіксували по достовірному збільшенню ваго-ростового показника – індексу Лі, який є точним математичним показником ступеня ожиріння у щурів і розраховується за формулою:

$$\frac{3\sqrt{\text{вага тіла (в грамах)}}}{\text{довжина від носа до анального отвору, (в см)}} \times 1000 \text{ (відн. од)}$$

Величина індексу більше 300 відн.од. свідчить про наявність ожиріння. Підтвердивши наявність АО, тваринам проводили сеанси РЕХВ, вводили кЯВК КК, а також здійснювали поєднаний вплив двох методів, при цьому переводячи їх на стандартний раціон віварію ІПКіК НАН України.

2.3. Методика охолодження і введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

РЕХВ (–120°С) виконували в метрологічно атестованій кріокамері для охолодження експериментальних тварин [239]. Пристрій містить у собі такі вузли: термоізолюваний корпус із робочою камерою, у якій розташовані теплообмінник зі заливним клапаном і каналом відводу холодоагенту; робочий відсік із герметичною шторкою, усередині якого розміщено пристрій для фіксації тварини, датчики реєстрації температури й датчики контролю функціонального стану

тварини; шлюзовий відсік із герметичною кришкою, наявність якого дозволяє уникнути значного градієнта температур між робочою камерою й робочим відсіком (рис. 2.2).



Рис. 2.2. Камера для охолодження експериментальних тварин

Температура в кріокамері контролювалася за допомогою платинових метрологічно атестованих термометрів опору виробництва фірми «Гера».

Після виходу пристрою на робочий режим (-120°C) тварини з АО поміщувалися в кріокамеру через шлюзовий в основний відсік. У кріокамері за температури -120°C щури містилися протягом 2 хв, де за ними здійснювався постійний візуальний контроль через спеціальне вікно. Потім їх виймали і тримали 5 хв за кімнатної температури ($22-24^{\circ}\text{C}$) поза камерою. Далі процедуру охолодження повторювали, тварин зігрівали 5 хв за кімнатної температури, після чого за аналогічною схемою проводили охолодження. У такий спосіб, тварини отримували три сеанси РЕХВ на добу. Під час відігрівання стежили за поведінкою тварин. На 3 і 5 добу сеанси РЕХВ повторювали. Усього тварини охолоджувались 9 разів по 2 хв за температури -120°C протягом 5 днів [8, 10]. Безпосередньо після охолодження щурам за допомогою цифрового інфрачервоного термометра «microlife 1DE1» вимірювали температуру на поверхні шкіри, яка змінювалася в межах $3-5^{\circ}\text{C}$ від початкової ($36,5\pm 0,9$) $^{\circ}\text{C}$. Ректальна температура достовірно не змінювалась і була на рівні ($37,4\pm 0,7$) $^{\circ}\text{C}$.

Тваринам з моделлю АО вводили готовий препарат кЯВК КК людини [32, 33], отриманий в ІПКіК НАН України. Розморожений препарат кЯВК КК представляв собою суспензію кріоконсервованих ЯВК (в тому числі і стовбурових) в аутоплазмі КК з концентрацією стовбурових CD34⁺-клітин 2–4×10⁵ в 1 мл. Розморожені ЯВК КК вводили одноразово внутрішньочеревно в дозі 3×10⁵ CD34⁺-клітин в розрахунку на кілограм маси тіла тварини. Препарат доводили до об'єму 1 мл аутоплазмою КК.

Вибір дози клітинного препарату для введення проводився з урахуванням кількісних і якісних характеристик клітин (мінімальна кількість життєздатних CD34⁺-клітин повинна знаходитися в межах 1,0–2,3×10⁵/кг, а ядерних CD45⁺ – не менше 3×10⁷/кг маси тіла після розморожування зразка), а також з урахуванням літературних даних [167, 240, 241] і експериментальних результатів попередніх робіт [242,243], виконаних у відділі кріофізіології ІПКіК НАН України. Контрольним тваринам проводили аналогічні маніпуляції з використанням фізіологічного розчину об'ємом 1 мл.

З метою вивчення механізмів поєданого впливу РЕХВ і кЯВК КК препарат експериментальним тваринам вводили після процедур екстремального охолодження. На підставі раніше отриманих співробітниками відділу кріофізіології даних щодо підвищення проникності ГЕБ для біологічно активних речовин на тлі РЕХВ [15, 108, 109, 111, 113], 6-місячним щурам введення кЯВК КК здійснювали після 6, а 24-місячним – після 9 сеансу РЕХВ.

2.4 Електрофізіологічні методи дослідження

Реєстрацію ЕКГ у ненаркотизованих іммобілізованих тварин здійснювали після 3, 6, 9 сеансу РЕХВ, а також на наступну добу, через 3 доби, тиждень і місяць після останньої процедури охолодження і введення кЯВК КК на електрокардіографі серії «Полі-Спектр» («Нейро-софт», Росія) у 6 стандартних відведеннях. Тривалість запису становила 5 хвилин. Спектральний аналіз ВСР виконували за допомогою програми «Полі-Спектр-Ритм» («Нейро-софт», Росія) у

діапазонах частот, рекомендованих для щурів [171, 267]. Для тварин контрольної групи запис і спектральний аналіз виконувалися в аналогічні терміни.

Відомо [245, 246, 247], що зміни ритму серця – універсальна оперативна реакція цілісного організму у відповідь на будь-який вплив факторів зовнішнього і внутрішнього середовища. Аналіз ВСР – це не інвазивна технологія, що дозволяє в реальному масштабі часу оцінювати стан регуляторних систем людини і вирішувати багато прогностичних, діагностичних та лікувальних завдань [248,249, 250]. За допомогою аналізу в тимчасовій області вимірюються зміни частоти серцевих скорочень протягом часу або на основі інтервалів між суміжними нормальними циклами серцевої діяльності [251, 252]. В безперервному записі ЕКГ детектується кожен QRS комплекс, а потім визначаються нормальні інтервали RR (NN інтервали), тобто інтервали між суміжними комплексами QRS, обумовлені деполяризацією клітин синусового вузла, або миттєва частота серцевих скорочень [253, 254, 255, 256].

ВСР відображає вплив на серце нервової системи і визначається як вираженість коливань частоти серцевих скорочень по відношенню до її середнього рівня [257, 258, 259]. Аналіз ВСР може бути застосований для оцінки як тонуусу ВНС, так і функціонального стану організму в цілому [245, 246].

Спектральний аналіз ВСР дозволяє ідентифікувати хвильову структуру серцевого ритму, а також розкласти ритмограму (графічне зображення послідовного часового ряду міжсистолічних RR-інтервалів у вигляді відрізків прямої лінії, еквівалентних по довжині тривалості пауз між послідовними серцевими скороченнями) на складові її хвилі і кількісно оцінити внесок кожної з них в динаміку серцевого ритму. Математично метод виконується перетворенням Фур'є з побудовою спектрограми і підрахунком площі спектра в виділених частотних діапазонах [246, 260, 261, 262].

Одним з найбільш важливих і інформативних показників, який використовується при аналізі функціональної адаптації ССС у відповідь на зміну умов існування є загальна потужність спектра ВСР – TP (total power) [259, 263, 264].

Потужність високочастотних хвиль спектра ВСР – HF (high frequencies) характеризує тонус парасимпатичного (вагусного) кардіоінгібіторного центру довгастого мозку. Низькочастотні коливання – LF (low frequencies) обумовлені зміною активності вазомоторного центру довгастого мозку. Потужність дуже низькочастотних коливань – VLF (very low frequencies) є індикатором управління гуморального-метаболічними процесами. Хвилі в цій області частот тісно пов'язані з психоемоційним напруженням [246, 252, 264].

Керуючись рекомендаціями для проведення спектрального аналізу ВСР у щурів [90, 244] нами були виділені і проаналізовані наведені нижче показники: TP (мс^2) – загальна потужність спектра коливань кардіоритму (0–3 Гц); HF (мс^2) – потужність високочастотних коливань у діапазоні (1–3 Гц); LF (мс^2) – потужність низькочастотних коливань у діапазоні (0,04–1 Гц); VLF (мс^2) – потужність спектра кардіоритму в області дуже низьких частот (0–0,04 Гц).

2.5. Біохімічні методи дослідження

2.5.1. Методика вивчення ліпідного профілю в сироватці крові

Ліпіди – це велика група природних органічних сполук, що включає жири і жироподібні речовини, які в основному синтезуються в печінці або надходять в організм з їжею. У плазмі крові людини присутні 4 основні класи ліпідів: ХС і його ефіри, ТГ, фосфоліпіди і жирні кислоти.

ТГ – ефіри жирних кислот і гліцерину, це нейтральний жир, який є довготривалим резервом енергії для організму. Для утворення ТГ з ВЖК в жировій тканині необхідна глюкоза. ТГ надходять з їжею, всмоктуються з тонкого кишечника в лімфу у вигляді хіломікронів, які переносять ТГ з лімфи в кров, звідки вони швидко зникають при нетривалому голодуванні, засвоюючись тканинами [35, 265].

ХС за хімічною структурою відноситься до стероїдів і є джерелом утворення жовчних кислот, стероїдних і статевих гормонів. Основна частина ХС утворюється в печінці за участю ферменту ГМГ-КоА-редуктази (3-гідрокси-

метилгутаріл-КоА-редуктази), менша кількість синтезується в багатьох тканинах, крім того, ХС надходить в організм з їжею. ХС входить до складу клітинних і внутрішньоклітинних мембран [202, 207, 266].

Оскільки ліпіди нерозчинні у воді, кров'ю вони транспортуються у вигляді складних комплексів – ліпопротеїнів (ЛП). Основною функцією ЛП є транспорт ліпідів від місця їх утворення (або всмоктування) до місця утилізації з подальшим видаленням їх надлишку (або продуктів їх обміну) з тканин в печінку. ЛП створюють кругообіг ліпідів, транспортують жиророзчинні гормони і вітаміни [202, 267, 268].

Методом ультрацентрифугування ЛП, в залежності від їх щільності, діляться на наступні фракції: хіломікрони – найлегші частки, ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ), ліпопротеїни проміжної щільності (ЛППП), ліпопротеїни високої (ЛПВЩ) і дуже високої щільності (ЛПОВП) [35].

Важливе діагностичне значення має визначення коефіцієнта атерогенності (КА), який характеризує співвідношення ЛПНЩ і ЛПВЩ в плазмі крові [35, 202].

Тварин контрольних і дослідних груп виводили з експерименту шляхом декапітації на 1, 7 і 30 добу після проведених впливів, забирали кров, з якої отримували сироватку для біохімічних і імуноферментних досліджень. Рівень ЗХ, ТГ, холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ) визначали за допомогою стандартних комерційних наборів фірми «DAS-SpectoMed» (Молдова) відповідно до загальноприйнятої методики фірми виробника. Вимірювання оптичної щільності проводили на біохімічному аналізаторі «Stat Fax 1904 plus» (Awareness Technology inc., USA) [269, 270]. Розрахунок показників холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЩ), холестерину ліпопротеїнів дуже низької щільності (ХСЛПДНЩ) і КА здійснювали за допомогою формули Friedwald W. [269].

$$\text{ХСЛПДНЩ}_{\text{ммоль/л}} = 0,45 * \text{ТГ};$$

$$\text{ХСЛПНЩ}_{\text{ммоль/л}} = \text{ЗХ} - \text{ХСЛПВЩ} - (0,45 * \text{ТГ});$$

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

Методика визначення рівня ЗХ в сироватці крові базується на використанні ензимного реагенту, до складу якого входять холестеринестераза, холестериноксидаза та пероксидаза. В процесі інкубації даний реагент перетворює ефіри ХС і ВЖК зразка в холестен3-ОН і в присутності 4-амінофеназону і хромогену утворюється хінонімін. Внаслідок, цього аналізований розчин набуває рожево-червоного забарвлення, яке прямо пропорційно концентрації ХС в пробі.

Принцип методу визначення рівня ТГ у сироватці крові полягає в тому, що ТГ зразка при додаванні ензимного реагенту, до складу якого входять 4-амінофеназон, ліпаза, гліцерокіназа, гліцерофосфатоксидаза і пероксидаза, переходять в хінонімін в результаті чого зразки набувають червоно-коричневого забарвлення. Концентрацію хіноніміна визначають фотометрично при довжині хвилі 505 нм, при цьому інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації тригліцеридів в дослідному зразку. Визначення рівня ХСЛПВЩ в сироватці крові, базується на використанні ензимного реагенту, до складу якого входять холестеринестераза, холестериноксидаза і пероксидаза. Спочатку до зразка додають фосфорновольфрамову кислоту в присутності іонів магнію та центрифугують зразок. У супернатанті залишається тільки ХСЛПВЩ, а хіломікони, ХСЛПДНЩ та ХСЛПНЩ осідають. Далі проводять інкубацію супернатанта з ензимним реагентом. В процесі цього в присутності 4-амінофеназону і хромогену утворюється хінонімін і розчин набуває рожево-червоне забарвлення, яке прямо пропорційно концентрації ХСЛПВЩ в пробі.

2.5.2. Методика визначення концентрації тиреоїдних і статевих гормонів в сироватці крові

Щитоподібна залоза (ЩЗ)– непарний ендокринний орган, функція якого регулюється ЦНС і тиреотропним гормоном (ТТГ) передньої долі гіпофіза [266, 271]. ЩЗ підтримує метаболізм в тканинах на оптимальному для їх нормальної діяльності рівні. Вона складається з безлічі особливих порожнин – фолікулів,

заповнених в'язким секретом – колоїдом. До складу колоїду входить специфічний йодовмісний глікопротеїн з молекулярною масою близько 660.000 Да й коефіцієнтом седиментації 19S, та складається з двох субодиниць. Його назва тиреоглобулін. Він є ключовим білком ЩЗ і служить як матриця для синтезу тиреоїдних гормонів (тироксину – T_4 і трийодтироніну – T_3) [271, 272, 273].

У ЩЗ міститься фермент 5'-дейодиназа, який перетворює T_4 в T_3 в периферичних тканинах. Хоча тиреоїдні гормони екскретуються тіроцитами ЩЗ в кров у вільному стані, але T_4 і T_3 вступають у взаємодію з різними білками плазми крові і зв'язавшись з ними транспортуються до тканин. У нормі вміст в плазмі крові T_4 складає близько 8 мкг/л (103 нмоль/л), а T_3 близько 0,15 мкг/л (2,3 нмоль/л). З цієї загальної кількості тільки близько 0,04% T_4 і 0,4% T_3 знаходяться в крові у вільному, незв'язаному з білками стані. При цьому T_3 в 4–10 разів фізіологічно активніший T_4 , концентрація якого в сироватці крові є показником функціонального стану ЩЗ [266, 271, 274].

Статеві гормони синтезуються в основному в статевих залозах жінок (яєчники) і чоловіків (сім'яники). Деяка кількість статевих гормонів утворюється в плаценті і кірковій речовині наднирників [265, 266, 274]. Чоловічі статеві гормони – андрогени: тестостерон (T_c), дигідротестостерон, андростерон – синтезуються в клітинах Лейдіга сім'яників, передміхуровій залозі, корі надниркових залоз [267, 272]. Невелика кількість андрогенів утворюється у жінок в яєчниках. До жіночих статевих гормонів відносять естрогени (C18-стероїди) і прогестини (C21-стероїди). Естрогени утворюються шляхом ароматизації андрогенів [266, 275].

T_c – стероїд з молекулярною масою 288,4 Да. Біологічна роль андрогенів у чоловічому організмі в основному пов'язана з диференціюванням і функціонуванням репродуктивної системи [274].

E_c – це найбільш активний стероїдний гормон з молекулярною масою 272,4 Да. Він відноситься до естрогенів, які, забезпечують ріст і нормальний стан жіночих статевих органів, розвиток вторинних статевих ознак, прискорюють біосинтез білків і ліпідів [271].

Дегідроепіандростерон (ДГЕА) – андроген з молекулярної масою 288,4 Да, секретується в пучковій і сітчастій зонах наднирників. В організмі людини та інших ссавців він присутній в основному у вигляді сульфатного похідного – дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕАС). Зниження концентрації ДГЕАС в плазмі крові спостерігається не тільки з віком, але і при різних патологічних станах [275].

Тварин контрольних і дослідних груп виводили з експерименту шляхом декапітації на 1, 7 і 30 добу після проведених впливів, далі здійснювали забір крові для визначення рівня тиреоїдних і статевих гормонів.

Вміст T_4 , T_3 , T_c , E_c і ДГЕАС визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу [276, 277, 278] за допомогою стандартних комерційних наборів для конкурентного ІФА («ХЕМА Со. Ltd.», Росія): « T_4 -ІФА», « T_3 -ІФА», «ТЕСТОСТЕРОН-ІФА», «ЕСТАРДІОЛ-ІФА» й «ДЕАС-ІФА», відповідно, за методиками виробника. Вимірювання величини оптичної щільності вмісту лунок планшета здійснювали на фотометрі вертикального сканування – планшетному імуноферментному аналізаторі StatFax 3200 («Awareness Technology Inc.», США) за довжини хвилі 450 нм.

Протягом 5–10 хв вносили до відповідних лунок планшета (у двох повторях) по 25 мкл (для визначення T_3 – 50 мкл) калібрувальної проби й контрольної сироватки, а в інші лунки (у двох повторях) вносили досліджувані зразки сироватки крові в тому ж обсязі. Вносили по 100 мкл кон'югату (для визначення T_3 – 50 мкл), заклеювали планшет папером для заклеювання планшета й інкубували за температури 37°C. Час інкубації залежав від конкретного гормону й був таким: для визначення T_3 – 30 хв, T_4 і ДГЕАС – 60 хв, T_c і E_c – 120 хв. Після закінчення інкубації видаляли вміст лунок і відмивали лунки 5 разів. Під час кожного відмивання в усі лунки додавали по 250 мкл відмивочного розчину, струшували планшет круговими рухами по горизонтальній поверхні, забирали надосадову рідину пастерівської піпеткою. Частину надосадової рідини зливали (декантували), ретельно видаляючи залишки рідини з лунок постукуванням планшета в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу. Потім в усі

лунки протягом 2–3 хв вносили по 100 мкл розчину субстрату тетраметилбензидину, після чого інкубували планшет у темряві за кімнатної температури (18–25°C), час інкубації визначався ступенем розвитку синього забарвлення (10–20 хв).

Після закінчення інкубації в усі лунки з тією ж швидкістю й у тій же послідовності, як і розчин субстрату тетраметилбензидину, вносили по 100 мкл стоп-реагенту – вміст лунок забарвлювалося в яскраво-жовтий колір. У наступні 15 хв проводили вимір оптичної щільності вмісту лунок планшета (концентрація гормону в зразку обернено пропорційна щільності вмісту лунки).

2.6. Гістологічні та гістохімічні методи дослідження

Після декапітації контрольних і дослідних тварин на 7 і 30 добу після проведених впливів, їхнє серце розрізали в поперечному напрямку по вінцевій борозні, і виділену каудальную частину (а саме – лівий шлуночок) досліджували гістологічними та гістохімічними методами [279].

Матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (від 50° до 100°), просочували сумішшю спирту і ксилолу (1:1), ксилолом, сумішшю ксилолу та парафіну (1:1), парафіном і укладали в парафіновий блок. За допомогою санного мікротома («Reichert», Австрія) виготовляли гістологічні зрізи (завтовшки 5–7 мкм) у площині, перпендикулярній довгій осі серця. Після депарафінування в ксилолі зрізи забарвлювали гематоксиліном Ганзена й еозином, поміщали в полістирол під покривне скло.

Забарвлення сполучної тканини виконували за методом Ван Гісона із використанням барвника пікрофуксин (насичений розчин пікринової кислоти і 1 % розчин кислого фуксину в співвідношенні 1:10). Забарвлення клітинних ядер проводили залізним гематоксиліном Вейгерта, зрізи поміщали в полістирол під покривне скло.

Для виявлення ліпідів, крім стандартних гістологічних досліджень, проводили фарбування поперечних зрізів шлуночків серця гістохімічним методом з використанням барвника масляного червоного (судан червоний 5В). Методику фарбування ліпідів виконували відповідно до рекомендацій виробника набору «Масляний червоний О» («Bio-Optica Milano SpA», Італія). Для збереження фосфоліпідів виділені фрагменти серця експериментальних тварин фіксували в кальцій-формоловому розчині по Бейкеру (10 мл 40% формаліну, 90 мл дистильованої води, 1 г хлориду кальцію). Зрізи товщиною 5 мкм отримували на заморожуючому мікротомі з використанням кріоспрею («Bio-Optica Milano SpA», Італія) і поміщали в желатин під покривне скло. Нейтральні ТГ і ліпіди забарвлювалися в червоний колір.

Для оцінки препаратів і мікрофотографування застосовували світловий мікроскоп AxioStar Plus (Carl Zeiss, Німеччина) та Olympus BX63 (Olympus Corporation, Японія), цифрову фотокамеру Olympus DP73 і комп'ютерну програму CellSens Dimension (Olympus Soft Imaging Solution GmbH, Німеччина), а також цифрову фотокамеру Canon PowerShot SX210 IS. Розподільна здатність отриманих зображень 1600×1200 пікселів.

2.7. Електронно-мікроскопічні методи дослідження

Для оцінювання ультрамікроскопічних перебудов у кардіоміоцитах і ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю АО на тлі РЕХВ, введення кЯВК КК та за їх поєднаного застосування був використаний метод трансмісійної електронної мікроскопії [280, 281].

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на 7 і 30 добу після завданих впливів і здійснювали забір шматочків тканин і судин міокарда для електронно-мікроскопічного дослідження.

Забір здійснювали методом висічення й занурення тканини у фіксатор без попередньої загальної васкулярної реперфузії [282]. Серце тварини швидко переносили в первинний фіксатор для відмивання, розрізали в поперечному

напрямку по вінцевій борозні і виділену краніальну частину (передсердя) поділяли на шматочки розміром 2–3 мм³. Попередню фіксацію проводили в глютарово-формальдегідному фіксаторі Карновського [283]. Шматочки тканини опускали у фіксуючий попередньо охолоджений розчин і зберігали в холодильнику за температури 4°C протягом 5–6 годин [284].

Надалі зразки переносили в 1% забуферений розчин (рН 7,2–7,4) тетраоксиду осмію (OsO₄) на 3–4 години за температури 4°C для остаточної фіксації [281]. Після закінчення часу фіксації проводили зневоднення тканини в спиртах зростаючої концентрації й ацетоні, просочували й укладали в блоки епоксидних смол (епон-аралдіт) за стандартними методиками [281, 285, 286]. Полімеризацію блоків проводили в термостаті за 60°C протягом двох діб.

З отриманих блоків, на ультрамікросомі УМТП–3М («SELMІ», Україна), виготовляли ультратонкі зрізи, монтували їх на електролітичні сіточки і, після контрастування цитратом свинцю, вивчали під трансмісійним електронним мікроскопом ЕМВ–100 БР («SELMІ», Україна) за напруги 75 кВ. Ідентифікацію органоїдів і інтерпретацію результатів проводили згідно з посібником [282, 287].

2.8. Статистична обробка отриманих результатів

При статистичній обробці отриманих результатів перевіряли характер розподілу цифрового матеріалу в вибірках за допомогою W-критерію Шапіро-Уїлка (для вибірок з кількістю менше 30 дат). Порівняння середніх арифметичних значень проводили за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок [288, 289, 290]. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$ (для рівня гормонів в сироватці крові $p \leq 0,05$). Розрахунки здійснювали за допомогою комп'ютерних програм Excel, «НейроСтат», «Past3».

РОЗДІЛ 3

ДЛЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХОЛОДОВИХ ВПЛИВІВ (-120°C), КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ І ЇХ ПОЄДНАННЯ НА СТАН НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З АЛІМЕНТАРНИМ ОЖИРІННЯМ

Стан організму в цілому і його баланс з зовнішнім середовищем багато в чому визначається якістю функціонування ССС [245, 291], зміни структури і функцій якої у хворих на ожирінні асоційовані з великою кількістю гемодинамічних, метаболічних і запальних зрушень в слідстві надмірного накопичення жирової тканини [292]. Ритм серця є індикатором реакцій організму на різні подразники зовнішнього і внутрішнього середовища [246, 293, 294, 295]. У нормі модулюючи дію на серцевий ритм надає ВНС [266, 248]. Симпатичний відділ ВНС стимулює роботу серця, а парасимпатичний – пригнічує її. У свою чергу ЦНС контролює рівень активності симпатичного і парасимпатичного відділів за механізмом зворотного зв'язку. Тісний симбіоз симпатичного, парасимпатичного відділів ВНС і гуморальних впливів забезпечує досягнення оптимальних результатів у адаптації організму до мінливих умов внутрішнього і зовнішнього середовища [296, 297].

Середня ЧСС відображає кінцевий результат численних регуляторних впливів на апарат кровообігу і особливості вже сформованого вегетативного гомеостазу, що не дозволяє за цим параметром оцінити стан вегетативної регуляції, ступінь переважання симпатичних або парасимпатичних впливів на серце [296]. Тому, в даний час, для оцінки тону ВНС рекомендується дослідження ВСР [298], яке дозволяє кількісно охарактеризувати функціональну активність вегетативних центрів по їх впливу на функцію синусового вузла. В цілому, ВСР відображає не тільки біомеханіку серця, а й стан регуляторних процесів в організмі [251, 252, 262].

У зв'язку з тим, що ВНС виконує інтегративну роль щодо забезпечення процесів адаптації і поведінки людини [266], вивчення показників спектрального аналізу ВСР дає можливість оцінити стан вегетативного забезпечення, загальну активність регуляторних механізмів, активність сегментарних і надсегментарних структур, а значить і адаптаційні можливості організму [264, 295]. Відхилення, що виникають в системах регуляції ВСР, передують клінічним проявам і є ранніми ознаками порушення адаптаційних резервів організму [246, 247, 250]. Аналіз ВСР дозволяє виявити ці відхилення і має важливе прогностичне та діагностичне значення при обстеженні як практично здорових людей, так і хворих (для визначення ступеня переважання одного з відділів ВНС) [247].

Дослідження ВСР засноване на вимірі (тимчасових) інтервалів між R-зубцями (RR-інтервалів) ЕКГ і побудові на їх основі ритмограми з подальшим її аналізом різними математичними методами [252, 293, 299].

Одним з найбільш важливих показників спектрального аналізу ВСР є загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції – ТР [296, 299]. Вона характеризує сумарну активність всіх регуляторних ланок організму. Виділені методами частотної області спектральні компоненти ТР ВСР традиційно пов'язують з потужностями відповідних регуляторних ланок [264].

Еферентна вагусна активність вважається важливою складовою високочастотних коливань (HF). На потужність HF істотно впливає дихальний центр. Дихальні ядра і ядра блукаючих нервів знаходяться поруч в стовбурі мозку, що і є причиною модулюючого впливу перших на останні. Безпосередня підпорядкованість дихального центру кірковим функціям опосередковує прямі центральні впливи на серцевий спектр. Таким чином, значення спектральної потужності в цьому діапазоні свідчить про активність парасимпатичного відділу ВНС [252].

У свою чергу хвильові коливання серцевого ритму в низькочастотному діапазоні спектру (LF) одні автори розглядають як маркер симпатичної модуляції і барорефлекторного контролю, тоді як інші – вважають його показником, що залежить одночасно від симпатичних і вагусних впливів [260].

Формування хвиль в дуже низькочастотному діапазоні спектра (VLF) пов'язують з терморегуляцією, гуморальними системами і симпатичним тонусом. Потужність діапазону імовірно обумовлена впливом несегментарних відділів ВНС, ендокринних або гуморальних факторів на синусовий вузол. Є дані, що VLF і HF є чутливими індикаторами управління метаболічними процесами і добре відображають енергодефіцитні стани [252].

Зниження значень TP свідчить про зменшення адаптаційних можливостей і низьку стійкість організму до стресу [296, 299, 300].

На сьогоднішній день опубліковано безліч робіт [301, 302, 303, 304, 305, 306, 307], присвячених змінам показників ВСР при різних формах серцево-судинних патологій, часто асоційованих з АО [308]. При розвитку АО відбувається перебудова характеру і швидкості обмінних процесів в організмі, спрямована на підтримку постійної маси тіла [72, 309]. У регуляції такої перебудови основну роль грає нервова і ендокринна системи [5, 7, 60]. При ожирінні в організмі спостерігаються метаболічні, гормональні, гемодинамічні порушення, що викликають структурні і функціональні зміни серцевого м'яза [11, 75]. У тучних людей адаптація серцевої діяльності відбувається за рахунок формування ексцентричної гіпертрофії лівого шлуночка (ЛШ), яка є фактором для розвитку гострого інфаркту міокарда, застійної серцевої недостатності і раптової смерті [76, 78, 81, 82, 83].

Попередні роботи, що проводились працівниками відділу кріофізіології ІПКіК НАН України, показали ефективність застосування РЕХВ і інших типів екстремального охолодження при різних патологічних і фізіологічних станах [15, 103, 105, 111]. Встановлено, що РЕХВ, будучи сучасним фізіотерапевтичним неінвазивним методом, здатні якісно і кількісно змінювати структуру нейрогуморальних впливів на міокард, а також надавати загальну стимулюючу дію на організм [15].

Накопичений на даний момент досвід успішного експериментального і практичного застосування КК [21, 23, 26] та її компонентів [194, 196, 197, 199, 201] при лікуванні різного роду патологій дає можливість припустити

перспективність використання кЯВК КК як профілактичного засобу в комплексній терапії захворювань, що асоціюються з АО [310].

У зв'язку з вищевикладеним, було доцільним оцінити особливості стану вегетативної та гуморальної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю АО до і після самостійного і поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК.

3.1. Особливості стану вегетативної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння на тлі застосування ритмічних екстремальних холодкових впливів

Встановлено, що у молодих тварин з моделлю АО (рис. 3.1) мало місце значне зниження показників загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції – TP, в порівнянні з контрольною групою щурів без ожиріння (практично в 2 рази). Стан регуляторних систем цих тварин характеризувався низьким рівнем парасимпатичних і симпатичних впливів на динаміку серцевого ритму при відносному збереженні потужності в діапазоні дуже низькочастотних коливань (VLF-компонент домінував над високо і низькочастотними коливаннями LF і HF), що може бути обумовлено впливом ендокринних і гуморальних факторів на синусовий вузол.

Можна припустити, що в міру розвитку і прогресування патологічного процесу вегетативне забезпечення серцевої діяльності здійснюється за рахунок переходу регуляції на повільний гуморально-метаболічний рівень.

Вже після 3 і 6 сеансів РЕХВ (рис. 3.1) значення TP зростали по відношенню до групи щурів з АО (в 2,2 і 2,7 рази) переважно за рахунок активації ВНС (на спектрограмі відзначалося збільшення питомої ваги LF і HF-хвиль). У ці терміни спостережень рівень TP практично відповідав показникам групи контролю. Слід зазначити, що у молодих тварин, які отримали 6 процедур РЕХВ (рис. 3.1), на відміну від 3 сеансів охолодження, ще більш істотне зростання TP було результатом підвищення активності парасимпатичного відділу ВНС, на тлі незмінного тонуусу симпатичного відділу.

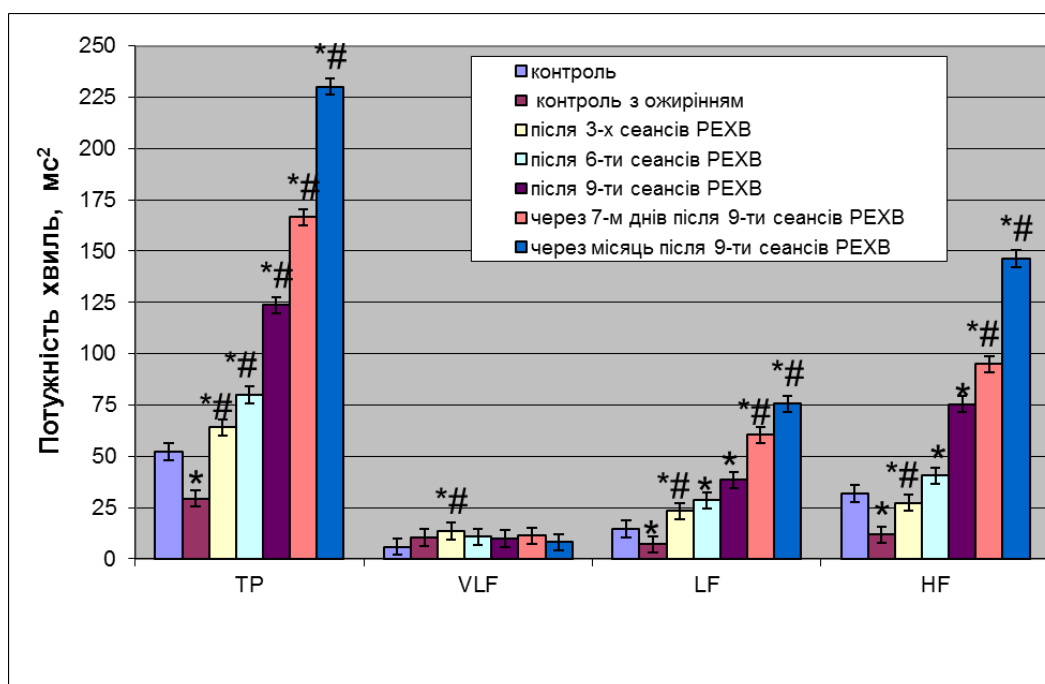


Рис. 3.1. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів з моделлю АО після 3, 6, 9 сеансів PEXB, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження.

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Аналіз експериментальних даних по впливу PEXB на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції у щурів з моделлю АО після 9 сеансів, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження продемонстрував підйом TP, як щодо показників контролю (в 3,19 і 4,41 рази відповідно), так і тварин з ожирінням (в 5,67 і 7,8 рази) (рис. 3.1). В дані терміни збільшення рівня TP відбувалося за рахунок стимуляції діяльності вегетативних центрів, про що свідчило підвищення тону симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС. На нашу думку, дані зміни, фізіологічно значущі, оскільки помірне переважання парасимпатичних впливів на динаміку серцевого ритму є одним з факторів індивідуальної стійкості організму до виникнення захворювань серцево-судинної системи, що часто супроводжують АО.

У старих щурів спостерігалася ідентична динаміка зміни основних показників спектрального аналізу ВСР, як і у молодих. Для контрольних тварин з

моделлю АО було характерно різке зниження TP, в порівнянні з контролем (в 2,81 рази) (рис. 3.2), в результаті зменшення активності всіх регуляторних ланок організму (на спектрограмі зменшувався питома вага LF, HF і VLF-хвиль).

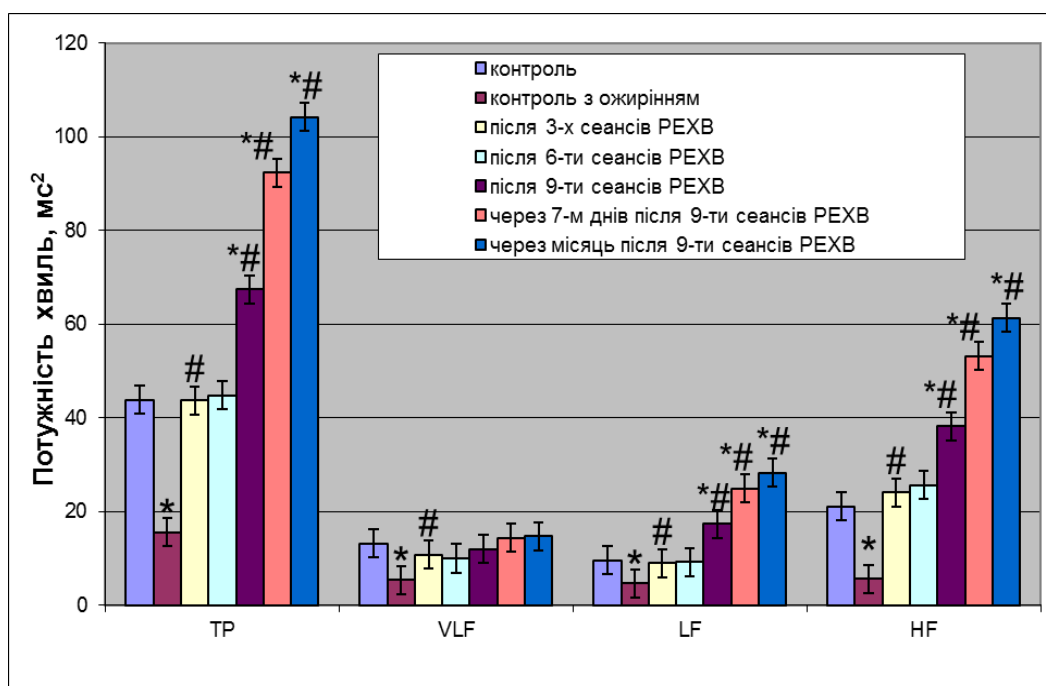


Рис. 3.2. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів з моделлю АО після 3, 6, 9 сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження.

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Після 3 і 6 сеансів РЕХВ (рис. 3.2) рівень TP зростав відносно групи щурів з АО (в 2,8 і 2,9 рази) переважно за рахунок підвищення тону парасимпатичного відділу ВНС, в той час як активність симпатичного відділу і гуморально-метаболическої ланки регуляції змінювалася незначно. У зазначені терміни експериментальних досліджень показники TP відповідали значенням контрольних тварин без ожиріння. Після 9 сеансу РЕХВ, а також у віддалені терміни спостережень (рис. 3.2) зростання TP (як щодо показників контролю – в 2,1 і 2,37 рази, так і тварин з ожирінням – в 5,93 і 6,69 рази) було результатом активації діяльності вегетативних центрів, причому в структурі спектра переважав тонус парасимпатичного відділу ВНС.

Таким чином, представлені результати динамічного дослідження ВСР у молодих і старих щурів з моделлю АО дозволяють припустити, що нетривала дія ритмічного екстремального охолодження (-120°C) завдяки специфічному впливу на регуляторні системи активує функціональні резерви організму тварин з ожирінням, тим самим підвищуючи його адаптаційні можливості.

3.2. Особливості стану вегетативної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння після введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

Встановлено, що на наступну добу після введення молодим щурам з моделлю АО кЯВК КК (рис. 3.3) рівень ТР значно зростав по відношенню до контрольних значень (практично в 1,5 рази в порівнянні з контролем і в 2,7 рази відносно контролю з ожирінням). На відміну від тварин, яким проводили процедури РЕХВ підйом ТР відбувався за рахунок активації як вегетативних центрів (підвищення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС), так і гуморальної ланки регуляції.

Проведений нами спектральний аналіз ВСР у молодих щурів з АО через тиждень і місяць після введення кЯВК КК продемонстрував ще більш істотне зростання показників ТР (в 2,62 і 2,5 рази по відношенню до контролю, і в 4,67 і 4,49 рази – до контролю з АО) (рис. 3.3). Позитивним моментом, на нашу думку, є той факт, що її зростання було результатом підвищення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, а також гуморальної ланки регуляції.

Згідно з літературними даними [120, 149, 183, 192, 310] КК містить в своєму складі велику кількість біологічно активних речовин (гормони, нейропептиди, цитокіни, амінокислоти), що імовірно пояснює можливий механізм підвищення активності гуморальної ланки регуляції у тварин на тлі застосування кЯВК КК.

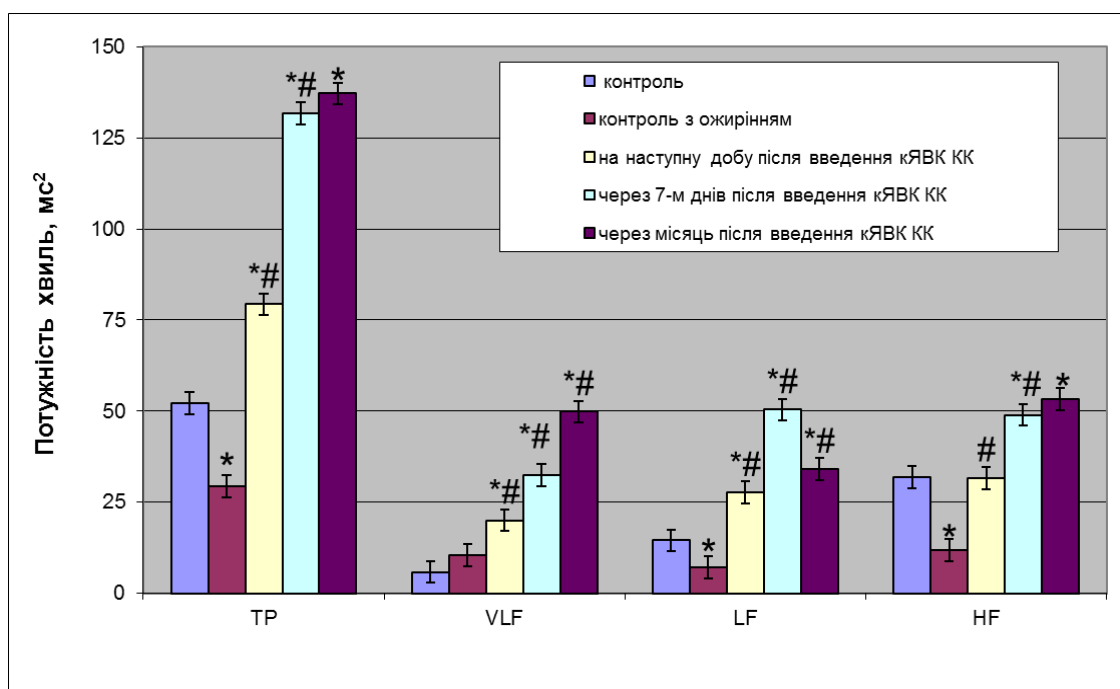


Рис. 3.3. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів з моделлю АО на наступну добу, через тиждень і місяць після введення кЯВК КК.

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

У старих щурів на наступну добу після застосування кЯВК КК (рис 3.4) рівень TP підвищувався як щодо показників контролю, так і контрольних тварин з моделлю АО (в 1,5 і 4,36 рази відповідно). Підйом TP супроводжувався збалансованою активацією ВНС і гуморально-метаболічної ланки регуляції (на спектрограмі відзначалося збільшення питомої ваги LF, HF і VLF-хвиль), тобто спостерігалася аналогічна динаміка змін показників спектрального аналізу ВСР, як і у молодих щурів.

У віддалені терміни досліджень (рис 3.4) (через тиждень і місяць після застосування кЯВК КК) нами відзначено ще більш значне зростання TP (в 2,5 і 2,2 рази відносно чистого контролю, в 7 і 6,2 рази в порівнянні з моделлю ожиріння) за рахунок підвищення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, а також гуморальної ланки регуляції, причому в структурі TP переважала активність парасимпатичного відділу ВНС.

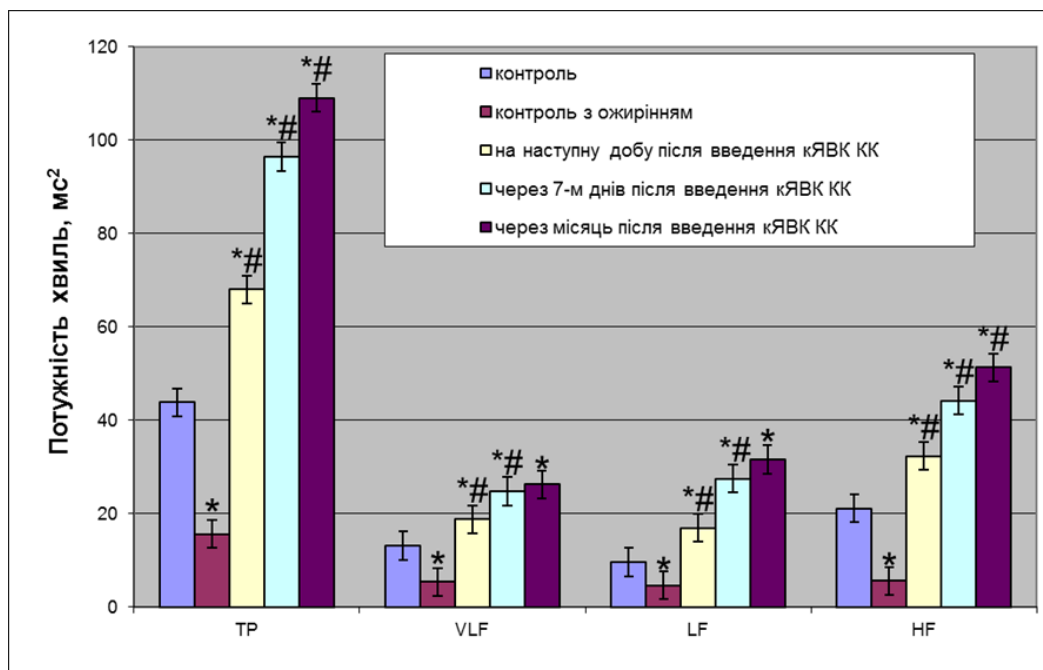


Рис. 3.4. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів з моделлю АО на наступну добу, через тиждень і місяць після введення кЯВК КК.

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Таким чином, отримані експериментальні дані, такі як високий рівень вагальних, симпатичних і гуморально-метаболических впливів на динаміку серцевого ритму, свідчать про наявність у молодих і старих щурів з АО на тлі введення кЯВК КК розвиненої збалансованої вегетативної регуляції.

3.3. Особливості поєднаної дії ритмічних екстремальних холодкових впливів і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові на показники спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння

Як зазначалося раніше, дослідження, проведені співробітниками в відділі кріофізіології ІПКіК НАН України, показали [15, 103, 105, 111], що основним механізмом позитивного впливу ритмічного екстремального охолодження на організм експериментальних тварин є підвищення проникності ГЕБ для

біологічно активних речовин (нейромедіаторів, катехоламінів, білків плазми, гормонів). Змінюючи проникність ГЕБ, РЕХВ стимулюють функціональну активність ВНС, і в першу чергу її основний інтегратор – гіпоталамус [107, 108, 109, 110, 113].

Оскільки один з механізмів дії КК пов'язаний з наявністю в її складі біологічно активних речовин [115, 118, 129, 134, 200, 201], надзвичайно актуальним представлялося вивчити ефекти і механізми поєднаного впливу РЕХВ і кЯВК КК людини на функціональний стан регуляторних систем організму тварин з моделлю АО. Встановлено [15], що пік проникності ГЕБ у молодих щурів спостерігається після 6 процедури охолодження, а у старих – після 9. У зв'язку з вищевикладеним введення кЯВК КК молодим щурам здійснювали після 6, а старим після 9 сеансу РЕХВ.

Проведений спектральний аналіз ВСР у молодих щурів на тлі поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК показав, що після 3 сеансу ритмічного екстремального охолодження (рис. 3.5) значення ТР значуще не змінювалися по відношенню до контрольних показників. Після 6 процедури РЕХВ і на наступну добу після введення кЯВК КК (рис. 3.5) рівень ТР статистично значуще збільшувався як щодо контролю, так і в порівнянні з тваринами з моделлю АО (в 2,2 і 3,9 рази відповідно) в результаті активації вегетативних центрів (на спектрограмі LF і HF-хвилі переважали над VLF-хвилями).

Після 9 сеансів РЕХВ і через 3 дні після введення кЯВК КК (рис. 3.5) мала місце тенденція до значного зростання ТР по відношенню до попередніх термінів експериментальних досліджень (до контролю в 3,4 рази, до моделі ожиріння в 6 разів, до 3 сеансів РЕХВ в 3,5 рази, до 6 сеансів РЕХВ в 1,5 рази) переважно за рахунок підвищення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, при практично не змінній активності гуморальних систем регуляції.

Простежувалася необхідність оцінити показники спектрального аналізу ВСР у молодих тварин з моделлю АО через тиждень і місяць після РЕХВ і введення кЯВК КК, за результатами якого можна опосередковано судити про стан регуляторних систем.

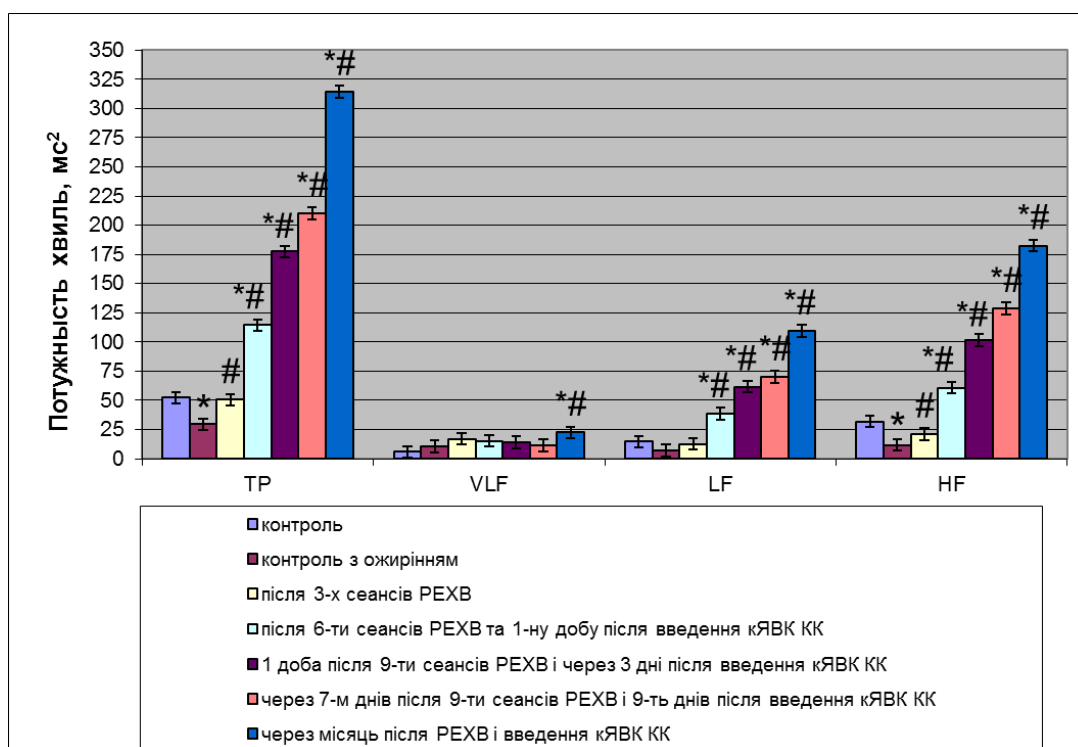


Рис. 3.5. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів з моделлю АО після 3, 6, 9 сеансу РЕХВ, а також на наступну добу, через 3 дні, тиждень і місяць після введення кЯВК КК.

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

У віддалені терміни спостереження – на 7 добу і через місяць (рис. 3.5) ще більш істотний підйом значень TP відбувався за рахунок активації ВНС, в той час як рівень гуморальної регуляції не змінювався (в 4 і 6 рази відносно контрольних щурів, в 7,15 і 10,7 рази відносно тварин з АО). У структурі TP більшою мірою переважав тонус парасимпатичного відділу ВНС. Дані зміни ВСР у молодих щурів з моделлю АО на тлі поєднаного використання РЕХВ і кЯВК КК, на нашу думку, є сприятливими оскільки гомеостатичні властивості цілісного організму є результатом одночасної дії багатьох складно організованих регуляторних механізмів, серед яких одне з важливих місць займає вегетативна регуляція, що забезпечує сталість рівнів обміну речовин і енергії в організмі.

Відомо, що в процесі старіння рефлекторні впливи на серцево-судинну систему слабшають, має місце дезінтеграція різних рівнів вегетативної регуляції

серцевої діяльності [28, 160, 311]. Нами встановлено, що вже після 3 сеансів РЕХВ у старих тварин з моделлю АО (рис. 3.6) рівень ТР зростає, в порівнянні з контрольною групою щурів з ожирінням (в 1,3 рази), в результаті підвищення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, а також гуморальної ланки регуляції.

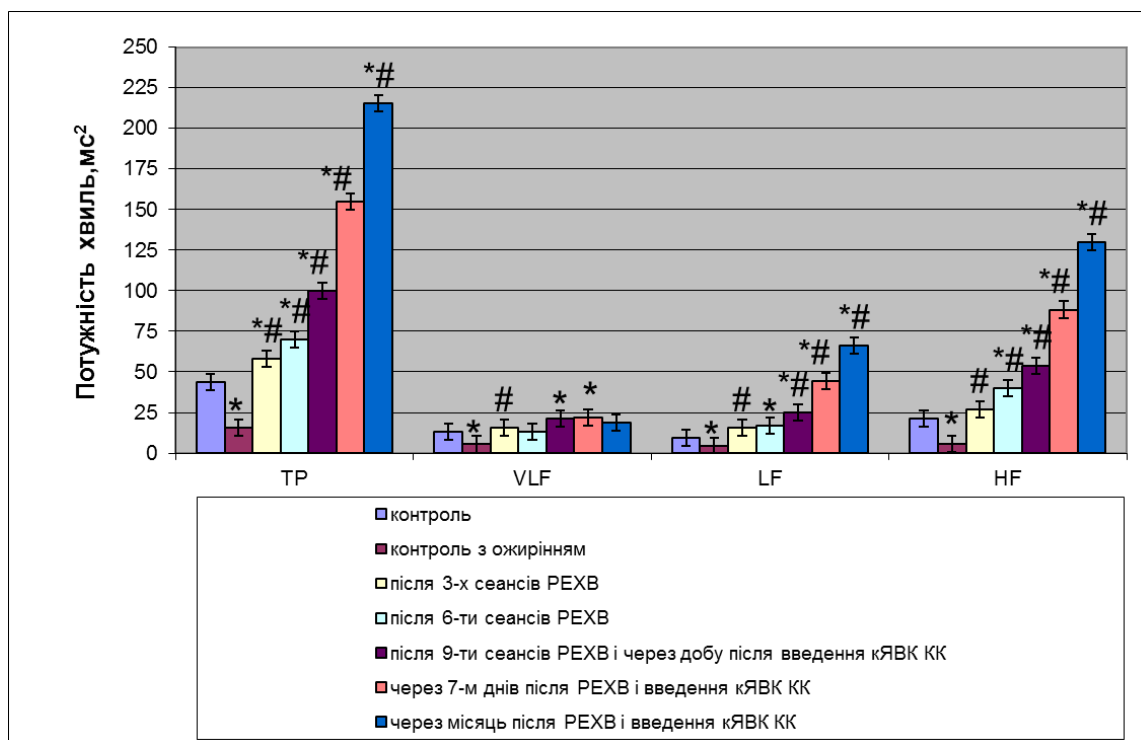


Рис. 3.6. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів з моделлю АО після 3, 6, 9 сеансу РЕХВ, а також на наступну добу, через тиждень і місяць після введення кЯВК КК.

Примітка: * – статистично значущі відмінності щодо контрольної групи ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності щодо попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Після 6 процедури РЕХВ спостерігалось збільшення ТР, як по відношенню до контролю (в 1,6 рази), так і щодо щурів з моделлю АО (в 4,5 рази) (рис. 3.6). В дані терміни досліджень загальний функціональний стан організму старих тварин з АО істотно змінювався завдяки активації вегетативних центрів. На спектрограмі це підтверджувалося збільшенням питомої ваги високо і низькочастотних хвиль (LF і HF-компонент). Активність гуморально-метаболическої ланки регуляції (VLF-компонент) значуще не змінювалася.

На наступну добу після поєднаного застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК (рис. 3.6) відзначалася тенденція до зростання ТР по відношенню до попередніх сеансів охолодження переважно за рахунок збільшення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, при практично не змінній активності гуморальних систем регуляції.

У віддалені терміни спостереження у старих тварин з АО (через тиждень і місяць після останньої процедури РЕХВ і введення кЯВК КК), мало місце ще більш істотне збільшення показників ТР (в 3,5 і 4,9 рази відносно контролю, в 9,9 і 13,8 рази відносно моделі АО) за рахунок активації ВНС, в той час як рівень гуморально-метаболическої ланки регуляції залишався незмінним (рис. 3.6). У структурі ТР переважав тонуус парасимпатичного відділу ВНС. З огляду на те, що порушення функціонального стану ВНС у старих тварин з моделлю АО супроводжуються зниженням адаптаційно-компенсаторних можливостей організму, позитивним є той факт, що на тлі поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК підйом спектральної потужності, був результатом активації діяльності вегетативних центрів.

Можна припустити, що поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК здатне значно підвищувати адаптаційні резерви організму молодих і старих щурів з моделлю АО, так як сприяє переходу процесу управління серцевим ритмом з повільного гуморально-метаболического рівня на швидкий вегетативний рівень.

Таким чином, поєднане використання ритмічного екстремального охолодження і кЯВК КК надає найбільш виражений позитивний вплив на стан систем нейрогуморальної регуляції молодих і старих щурів з ожирінням і здатне тривалий час зберігати «молоду» ритміку нейрогуморальних впливів на організм експериментальних тварин.

За матеріалами розділу 3 опубліковані роботи [312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319].

Отримано патент на корисну модель [320].

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА ЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ СИРОВАТКИ КРОВІ І ВАГОВИХ ПОКАЗНИКІВ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ ПІСЛЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХОЛОДОВИХ ВПЛИВІВ (-120°C), ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ

Особлива увага сучасних біологічних і медичних наук до ліпідного обміну мотивується наступними міркуваннями: по-перше, виявлено багато нових фактів, що характеризують структуру і функції ліпідів, їх роль в організмі людини в нормі і при патології; по-друге, дисліпопротеїнемії – порушення властивостей і обміну різних форм ліпідів лежать в основі таких захворювань, як атеросклероз, цукровий діабет 1 і 2 типу та, відповідно, їх ускладнень: гіпертонії, ІХС, інсультів, інфарктів, ожиріння тощо [35, 265, 267].

При АО відбувається порушення ліпідного обміну і надлишкова акумуляція жирів. В результаті порушення обмінних процесів в адіпоцитах активується ліполіз, в крові підвищується рівень ВЖК і спостерігається ектопічне накопичення ліпідів у печінці, м'язах, а також β -клітинах підшлункової залози [321]. Внутрішньоклітинне накопичення ТГ є однією з найважливіших причин виникнення резистентності до інсуліну в тканинах, що сприяє розвитку таких соціально значущих захворювань, як цукровий діабет, ІХС, АГ [322].

Ліпіди – це велика група речовин, яка об'єднується рядом ознак: не розчиняється у воді, тому в плазмі крові вони знаходяться в дуже невеликій кількості; розчинність в неполярних розчинниках (ефірі, хлороформі, бензолі); вмістом вищих алкільних радикалів; побудовою за типом складних ефірів (різні жирні кислоти і спирти). Ліпіди виконують свої функції, перебуваючи в якості простетичної групи в складі складних білків – ліпопротеїнів (ЛП). У плазмі крові людини виділяють 4 основні класи ліпідів: ТГ, фосфоліпіди (ФЛ), жирні кислоти (ЖК), ХС і його ефіри [267].

ТГ – найкомпактніша і багата енергією форма ліпідів. В даний час описані три основні шляхи реакцій утворення ТГ: екзогенний шлях (надходження з їжею), а також два ендогенних – синтез в печінці і в жировій тканині. ТГ транспортуються в плазму ЛП і використовуються в жировій тканині, м'язах і т.д. Головна функція ТГ – забезпечення енергією клітини. Підвищення рівня ТГ в сироватці може бути викликано ожирінням, захворюваннями печінки, цукровим діабетом, алкоголізмом та ін. [35, 266].

Норми вмісту ТГ в плазмі крові для людини: до 1,7 ммоль/л – нормальні значення, 1,70–2,25 ммоль/л – граничні значення, 2,26–5,64 ммоль/л – високі значення, >5,65 ммоль/л – дуже високі значення [265].

ФЛ – складні структури, які синтезуються в печінці, активно беручи участь в обміні ХС і ТГ. ФЛ є найважливішими компонентами побудови біслойних біологічних мембран.

ХС є обов'язковою частиною метаболізму клітин, оскільки він разом з ФЛ і мембранними білками входить до складу клітинних і внутрішньоклітинних мембран. Між печінкою, кров'ю і тканинами відбувається постійний обмін ХС. Збільшення або зменшення його рівня викликає порушення багатьох процесів в організмі: при надлишку ХС властивості мембран змінюються настільки, що порушується активність кальцієвих насосів, настає перевантаження клітин кальцієм, провокується розвиток атеросклерозу і АГ. Патогенним є і дефіцит ХС: підвищується ризик пухлинних і вірусних захворювань.

Норми вмісту ХС в крові для людини: до 5,2 ммоль/л – допустимі значення, 5,2–6,21 ммоль/л – граничні значення, >6,24 ммоль/л – високі значення [267].

ЛП – це складні надмолекулярні утворення, основною функцією яких є транспорт ліпідів від місця їх утворення (або всмоктування) до місця утилізації з подальшим видаленням надлишку ліпідів (або продуктів їх обміну) з тканин в печінку. Методом ультрацентрифугування серед ЛП виділяють наступні фракції, в залежності від щільності: ХМ – найлегші частки, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ЛППЩ, ЛПВЩ і ЛПДВЩ.

ХМ є основною транспортною формою екзогенних жирів. ТГ складають приблизно 90%, які входять до їх складу ліпідів [35].

ЛПНЩ – ліпопротеїни, найбільш багаті ефірами ХС і ХС, тому є найбільш атерогенними фракціями, створюючи високий рівень ХС в крові. ЛПНЩ – так званий «поганий холестерин» – транспортують ХС з печінки в периферичні тканини. ЛПНЩ є головними переносниками ХС в формі його ефірів.

ЛПВЩ – так званий «хороший холестерин» – пов'язаний зі зворотним транспортом ХС від периферичних тканин в печінку, звідки він може виводитися. ЛПВЩ синтезуються в печінці і, в меншій мірі, в кишківнику.

Важливе діагностичне значення має визначення КА, який показує співвідношення «поганого» і «хорошого» ХС в сироватці крові, іншими словами співвідношення ХСЛПНЩ (атерогенні ліпіди) до ХСЛПВЩ (антиатерогенні) [27, 202, 268, 323].

У зв'язку з вище викладеним доцільним було оцінити ліпідний профіль сироватки крові, а також динаміку змін вагових показників молодих і старих щурів з моделлю АО на тлі проведення 9 процедур РЕХВ, одноразового введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування.

4.1. Оцінка ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння до і після ритмічних екстремальних холодкових впливів, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєднаного застосування

Не викликає сумніву той факт, що ліпіди відіграють важливу роль в життєдіяльності як людини, так і тварин, оскільки дисліпідемія є фактором ризику, який визначає наявність і ступінь тяжкості ряду захворювань [321]. Згідно зі статистичними даними порушення ліпідного обміну у людей з серцево-судинною патологією зустрічаються в 40–85% випадків [265, 267].

Нами встановлено (табл. 4.1), що у молодих щурів з моделлю АО вміст ЗХ, ТГ і ХСЛПНЩ в сироватці крові статистично значуще збільшувався в порівнянні

з контрольними тваринами без ожиріння (в 1,9 раз, в 1,7 і 2,2 рази відповідно). Підвищення концентрації атерогенних фракцій ліпідів супроводжувалося збільшенням рівня ХСЛПВЩ («хорошого холестерину») (в 1,7 рази). КА також був значуще вище, ніж у контрольних тварин. Отримані експериментальні дані свідчили про те, що розвиток ожиріння сприяв виникненню гіперліпідемії, яка істотно підсилює атерогенний ризик.

На наступну добу і через тиждень після 9 сеансів РЕХВ (табл. 4.1) в сироватці крові молодих щурів з моделлю АО рівень ЗХ, ХСЛПНЩ і КА істотно знижувався як щодо показників контролю (в 1,75 рази, в 8,1 і 4,3 рази відповідно), так і тварин з ожирінням (в 3,4 рази, а також в 17,5 і 5,1 рази відповідно). При цьому вміст ТГ, ХСЛПВЩ і ХСЛПДНЩ значуще не змінювався. Через місяць після останньої процедури охолодження на тлі підвищення рівня ХСЛПВЩ по відношенню до контролю (в 1,47 рази) статистично значуще зменшувалася концентрація атерогенних фракцій ліпідів (ЗХ, ХСЛПНЩ) в порівнянні з групою тварин з АО (в 1,4 і 1,6 рази відповідно).

Введення молодим щурам з моделлю АО кЯВК КК також супроводжувалося змінами показників ліпідограми сироватки крові (табл. 4.1). Так на наступну добу, через тиждень і місяць після застосування кЯВК КК вміст ЗХ, ХСЛПНЩ і КА (через тиждень) статистично значуще знижувалися щодо тварин з ожирінням (в 1,95, 2,1 і 3,2 рази відповідно), наближаючись до показників контролю. У свою чергу рівень ХСЛПВЩ також значуще зменшувався по відношенню до показників тварин з ожирінням в усі терміни спостереження (в 1,9 рази на наступну добу, в 1,7 рази через тиждень і в 2,2 рази через місяць після одноразового введення кЯВК КК).

Аналогічна динаміка змін ліпідного профілю у молодих тварин мала місце після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК. У всі терміни досліджень (на наступну добу, через тиждень і місяць) концентрація ЗХ, ХСЛПНЩ і відповідно КА статистично значуще зменшувалася по відношенню до контролю і більшою мірою в порівнянні з тваринами з моделлю АО.

Можна припустити, що самостійне і поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК у молодих щурів з АО за рахунок активізації метаболічних процесів в печінці, призводить до розвитку нормоліпемії в результаті нормалізації співвідношення корисних фракцій ліпідів і атерогенних.

Таблиця 4.1

Ліпідний профіль молодих щурів з моделлю АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєданого застосування

Група тварин	ЗХ ммоль/л	ХСЛПВЦ ммоль/л	ТГ ммоль/л	ХСЛПНЦ ммоль/л	ХСЛПДНЦ ммоль/л	КА
Контроль	4,41±0,29	1,77±0,11	0,64±0,02	2,34±0,21	0,30±0,01	1,49±0,09
Контроль+ АО	8,58±1,1 ¹	2,99±0,8 ¹	1,09±0,0 ¹	5,09±0,6 ¹	0,50±0,03	1,72±0,4 ¹
АО+9 сеансів РЕХВ						
1 день	2,52±0,24 ^{1,2}	1,88±0,17	1,58±0,85	0,29±0,08 ^{1,2}	0,36±0,02	0,34±0,00 ^{1,2}
7 днів	3,36±0,24 ^{1,2}	2,39±0,40	0,94±0,22	0,55±0,06 ^{1,2}	0,43±0,10	0,43±0,14 ^{1,2}
1 місяць	6,13±1,07 ²	2,61±0,00 ²	0,77±0,06	3,17±1,04 ²	0,36±0,03	1,35±0,41
АО+кЯВК КК						
1 день	4,40±0,75 ²	1,51±0,26 ²	0,84±0,15	2,50±0,83 ²	0,38±0,07	1,92±0,53
7 днів	2,60±0,20 ^{1,2}	1,71±0,14 ²	0,91±0,09	0,48±0,06 ^{1,2}	0,42±0,04	0,53±0,07 ^{1,2}
1 місяць	3,01±0,17 ²	1,33±0,20 ²	0,79±0,07	1,32±0,38 ²	0,36±0,03	1,42±0,54
АО+РЕХВ+кЯВК КК						
1 день	2,99±0,05 ^{1,2}	2,31±0,14 ²	0,79±0,10	0,32±0,09 ^{1,2}	0,36±0,04	0,30±0,06 ^{1,2}
7 днів	5,08±0,34 ²	2,13±0,78 ²	0,99±0,22	2,49±0,57 ²	0,45±0,10	1,49±0,49
1 місяць	4,41±0,21 ²	1,89±0,02 ²	0,90±0,10	2,11±0,19 ²	0,42±0,05	1,33±0,14

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від групи контролю; ² – статистично значущі відмінності від групи щурів з моделлю АО (p<0,05).

Встановлено, що в сироватці крові старих контрольних тварин без ожиріння рівень ЗХ, ТГ, ХСЛПНЦ і відповідно КА був вище в порівнянні з молодими (в 1,53; 1,23; 2,17 і 2,75 рази), а ХСЛПВЦ – нижче в 1,3 рази (табл. 4.1, 4.2). Даний

факт можна пояснити тим, що вікові порушення адаптації та нейрогуморальної регуляції ряду функціональних систем викликають значні зміни метаболічної активності, що супроводжується необхідністю використання, для підтримки даних функцій ліпідів, як енергетичного і пластичного субстрату [321]. Це призводить до розвитку гіперхолестеринемії і дисліпідемії. Відзначається пряма залежність між порушеннями метаболізму і дисфункцією внутрішніх органів в динаміці старіння [311].

Таблиця 4.2

Ліпідний профіль старих щурів з моделлю АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група тварин	ЗХ ммоль/л	ХСЛПВЦ ммоль/л	ТГ ммоль/л	ХСЛПНЦ ммоль/л	ХСЛПДНЦ ммоль/л	КА у.о
Контроль	6,76±0,86	1,31±0,15	0,79±0,16	5,09±0,94	0,36±0,07	4,11±1,46
Контроль з АО	9,55±1,68 ¹	1,47±0,39	0,83±0,10	7,69±2,00 ¹	0,38±0,05	6,96±3,94 ¹
АО+9 процедур РЕХВ						
1 день	2,71±0,49 ^{1,2}	1,37±0,42	0,42±0,06 ^{1,2}	1,16±0,09 ^{1,2}	0,19±0,03 ^{1,2}	0,78±0,14 ^{1,2}
7 днів	3,70±0,00 ^{1,2}	0,95±0,00 ^{1,2}	0,44±0,18 ^{1,2}	2,51±0,08 ^{1,2}	0,25±0,08	2,39±0,18 ^{1,2}
1 місяць	4,19±0,65 ^{1,2}	0,84±0,11 ^{1,2}	0,72±0,10	3,02±0,54 ^{1,2}	0,33±0,05	3,14±0,28 ²
АО+кЯВК КК						
1 день	2,96±0,74 ^{1,2}	0,84±0,21 ²	0,60±0,06 ²	1,84±0,54 ^{1,2}	0,28±0,03	1,78±0,19 ^{1,2}
7 днів	2,96±0,30 ^{1,2}	0,79±0,09 ²	0,77±0,09 ²	1,82±0,30 ^{1,2}	0,35±0,04	1,97±0,53 ^{1,2}
1 місяць	3,52±0,55 ^{1,2}	1,10±0,09 ²	0,72±0,16 ²	2,08±0,57 ^{1,2}	0,33±0,08	1,65±0,63 ^{1,2}
АО+РЕХВ+кЯВК КК						
1 день	3,57±0,23 ^{1,2}	2,77±0,12 ^{1,2}	0,57±0,12	0,53±0,07 ^{1,2}	0,26±0,06	0,10±0,01 ^{1,2}
7 днів	3,58±2,05 ^{1,2}	4,21±0,50 ^{1,2}	0,72±0,00	4,04±1,56 ²	0,33±0,00	1,01±0,25 ^{1,2}
1 місяць	3,69±0,05 ^{1,2}	2,23±0,10 ^{1,2}	0,79±0,04	1,10±0,03 ^{1,2}	0,37±0,02	0,66±0,05 ^{1,2}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від групи контролю; ² – статистично значущі відмінності від групи щурів з моделлю АО (p<0,05).

У старих тварин з моделлю АО вміст ЗХ, ХСЛПНЦ в сироватці крові підвищувався (в 1,4 і 1,5 рази відповідно) щодо аналогічних показників контролю (табл. 4.2). При цьому рівень ТГ, ХСЛПВЦ і ХСЛПДНЦ значуще не змінювався.

Таке співвідношення ліпідних фракцій приводило до збільшення КА (в 1,6 рази) і зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності.

На наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ (табл. 4.2) концентрація ЗХ, ТГ, ХСЛПВЩ (через тиждень і місяць), ХСЛПНЩ і ХСЛПДНЩ (на наступну добу) в сироватці крові старих щурів статистично значуще знижувалася як в порівнянні з тваринами з моделлю АО, так і щодо контролю. В результаті зменшення вмісту атерогенних фракцій ліпідів знижувався і КА.

Схожа динаміка змін ліпідного профілю у старих щурів з моделлю АО відзначалася і після однократного введення кЯВК КК. На наступну добу, через тиждень і місяць після застосування кЯВК КК рівень ЗХ і ХСЛПНЩ в сироватці крові значуще знижувався (по відношенню до контролю і щурів з АО), що супроводжувалося зменшенням КА (табл. 4.2). На цьому тлі концентрація ТГ і ХСЛПВЩ статистично значуще знижувалася тільки в порівнянні з тваринами з моделлю АО в усі терміни спостереження.

Слід зазначити, що поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК в усі терміни експериментальних досліджень (на наступну добу, через тиждень і місяць) надавало найбільш яскраво виражений позитивний вплив на показники ліпідограми сироватки крові старих щурів з моделлю АО (табл. 4.2). Важливим є той факт, що на відміну від самостійного застосування даних методів впливу, поряд зі зниженням вмісту ЗХ і ХСЛПНЩ («поганого холестерину») статистично значуще збільшувалася концентрація ХСЛПВЩ («хорошого холестерину») по відношенню до контролю і тварин з моделлю АО, основною функцією якого є зворотний транспорт ХС від периферичних тканин до печінки, де він виводиться з організму. Крім того, ХСЛПВЩ окрім здатності видаляти надлишок вільного ХС з мембран клітин, завдяки своїм протекторним властивостям впливає на окислення ХСЛПНЩ в артеріальній стінці і володіє антиатерогенними захисними функціями. В результаті зменшення рівня атерогенних і підвищення антиатерогенних фракцій ліпідів спостерігалось зниження КА в усі терміни спостереження.

Таким чином, у молодих і старих щурів розвиток АО призводив до виникнення гіперліпідемії і зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності. Зростав рівень ЗХ, ХСЛПНЩ і КА. Описані зміни ліпідограми більшою мірою були виражені у старих тварин.

Самостійне і більшою мірою поєднане використання РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК сприяло нормалізації ліпідного профілю сироватки крові як молодих, так і старих щурів з моделлю АО, наближаючи його до показників контрольних тварин без ожиріння. Зменшувався атерогенний ризик за рахунок зниження рівня ЗХ, ХСЛПНЩ і КА і збільшення вмісту ХСЛПВЩ, який в організмі виконує важливу функцію, пов'язану з підтриманням ліпідного гомеостазу.

4.2. Динаміка змін вагових показників щурів різних вікових груп з моделлю аліментарного ожиріння до і після ритмічного екстремального охолодження, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєднання

В якості експериментальної моделі АО нами була використана висококалорійна дієта за загальноприйнятою методикою [238], яка передбачає високий вміст жирів, а також збалансоване співвідношення вуглеводів і білків в раціоні. При моделюванні АО ми використовували жири тваринного походження (свиняче сало, вершкове масло не менше 78–82,5% жирності, сухе незбиране молоко не менше 25% жирності); вуглеводи – цукор, кондитерські та хлібобулочні вироби; білки – сухий концентрований яєчний порошок з відсотковим вмістом білків: 46–48%; жирів: 37–40%; вуглеводів: 4–5%; вологи: 6–8%. Процент жирів у харчовому раціоні становив 45–50%, вуглеводів 35–40% і білків 10–15% в залежності від віку і початкової маси тварин.

В експерименті нами були використані молоді 6-місячні і старі 24-місячні щури самці з початковою вагою $200 \pm 16,59$ і $341 \pm 10,9$ г відповідно. Протягом 12 тижнів (3 місяців) тварини дослідних груп (крім контролю) містилися на гіперкалорійному раціоні на додаток до звичайного раціону віварію ІПКіК НАН

України, який становив 25г/кг на одного щура в день. Терміни відтворення моделі ожиріння у лабораторних тварин узгоджуються з літературними даними і лежать в оптимальних загальноприйнятих межах: від 4 до 15 тижнів [214, 220, 222]. Встановлено, що за цей період у щурів збільшувалася маса тіла і реалізовувалися метаболічні порушення на структурному рівні з характерними для ожиріння змінами внутрішніх органів і регуляторних систем [229, 230]. В ході експерименту у щурів двох вікових груп здійснювалися контрольні зважування кожні два тижні з подальшою оцінкою динаміки набору ваги і обчислення ваго-ростового показника – індексу Лі (табл. 4.3, табл. 4.4).

Таблиця 4.3

Динаміка зміни маси тіла і ваго-ростового показника (індексу Лі) у молодих контрольних щурів і щурів з моделлю АО, в різні терміни експериментальних досліджень

Термін експерименту	Групи спостереження			
	Маса тіла/г		Індекс Лі/відн. од	
	контроль (n=22)	контроль+АО (n=118)	контроль (n=22)	контроль+АО (n=118)
0 тижнів	200±16,59	200±16,59	255±0,94	255±1,91
2 тижні	214,8±3,24	256±20,74	258±1,03	275±0,24
4 тижні	225,3±4,56	293±16,31	261±0,87	279±2,11
6 тижнів	240,4±2,15	318±15,52	265±1,02	285±0,15
8 тижнів	250±3,07	319±9,43	270±0,96	291±3,13
10 тижнів	258,5±2,91	332±12,08	274±2,12	299±3,41
12 тижнів	261,9±2,42	338,5±11,19	276±2,43	315±3,04

Після того, як величина індексу Лі перевищувала 300 відн. од. – 315±3,04 у молодих і 325±3,06 відн. од. у старих щурів, що свідчило про наявність ожиріння, тварин розділяли по експериментальним групам. Тварини з моделлю ожиріння склали контрольну групу. На тлі гіперкалорійного раціону протягом 3 місяців маса молодих щурів збільшилася в 1,7 рази (на 69% від початкової маси тіла), а старих – в 1,5 рази (на 47,8% від початкової маси тіла).

Динаміка зміни маси тіла і ваго-ростового показника (індексу Лі) у старих контрольних щурів і щурів з моделлю АО, в різні терміни експериментальних досліджень

Термін експерименту	Групи спостереження			
	Маса тіла/г		Індекс Лі/відн. од	
	контроль (n=22)	контроль+АО (n=118)	контроль (n=22)	контроль+АО (n=118)
0 тижнів	341±10,91	341±10,91	260±1,02	260±2,56
2 тижні	353,3±3,29	428±12,96	265±0,25	277±1,30
4 тижні	360±1,26	455,5±37,25	269±0,78	281±1,49
6 тижнів	369,2±1,49	484±38,39	271±1,23	289±0,65
8 тижнів	375,7±3,69	494,5±31,58	275±2,03	295±0,98
10 тижнів	386,5±2,72	500,9±26,63	277±0,34	301±2,64
12 тижнів	394,3±3,03	504±23,96	279±0,83	325±3,06

Перед початком проведення впливів (процедури РЕХВ і введення кЯВК КК) щурів всіх експериментальних груп і групи контролю з моделлю АО переводили на стандартний харчовий раціон віварію ІПКіК НАН України аж до виведення з експерименту. Подальші спостереження протягом 4 тижнів показали (табл. 4.5, табл. 4.6), що маса тіла, як молодих, так і старих контрольних тварин без ожиріння протягом усього експерименту незначно збільшилася (на 15% у молодих і на 4% у старих), що перебувало в рамках фізіологічної норми для всіх термінів онтогенезу [202].

У групі молодих і старих контрольних тварин з моделлю АО, які отримували протягом 12 тижнів гіперкалорійне збалансоване харчування, після його усунення з раціону протягом 1 місяця мала місце тенденція до збільшення маси тіла (на 9% у молодих і на 7,4% у старих) (табл. 4.5, табл. 4.6). Таким чином, перевід молодих і старих щурів на стандартний харчовий раціон віварію ІПКіК НАН України не призводив до втрати маси тіла, що свідчить про наявність стійких порушень обміну речовин, викликаних розвитком патологічного процесу.

Таблиця 4.5

Динаміка зміни маси тіла (в гр.) у молодих щурів з моделлю АО на тлі проведення РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Термін експерименту	Контроль (n=22)	Контроль+ АО (n=22)	Тип впливу		
			АО+РЕХВ (n=32)	АО+кЯВК КК (n=32)	АО+РЕХВ+кЯВК КК (n=32)
13 тижнів	270,2±1,40	343,4±2,37	335,2±3,63	330±0,87	329,5±0,89
14 тижнів	277, 2±3,02	351,7±2,49	330±2,10	326,2±0,53	321±1,18
15 тижнів	288,3±2,36	362,2±2,74	328,3±1,09	321±1,22	315,3±0,66
16 тижнів	301±2,60	369,1±1,92	325±1,91	315,2±2,16	310±1,48

Таблиця 4.6

Динаміка зміни маси тіла (в гр.) у старих щурів з моделлю АО на тлі проведення РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Термін експерименту	Контроль (n=22)	Контроль+ АО (n=22)	Тип впливу		
			АО+РЕХВ (n=32)	АО+кЯВК КК (n=32)	АО+РЕХВ+кЯВК КК (n=32)
13 тижнів	398,8±4,49	509,4±4,86	490±3,60	493,5±2,23	485±1,90
14 тижнів	403,8±3,43	520,7±3,61	487,2±2,72	480,2±3,10	471±1,55
15 тижнів	406,2±4,53	529,1±3,56	481±1,20	471±1,64	459±2,82
16 тижнів	410,3±3,79	541,4±2,73	475±3,31	460±1,06	445±1,87

Отримані результати узгоджуються з літературними даними [1, 3, 10, 13, 37, 324], які свідчать про те, що на тлі ожиріння, як у молодому, так і літньому віці розвивається сукупність стійких метаболічних, гормональних і клінічних порушень, які є факторами ризику розвитку різного роду ускладнень, серед яких провідне місце займають серцево-судинні захворювання. Відомо [40, 324], що схильність до накопичення жиру в організмі літньої людини є одним із проявів вікової адаптації, що сприяє підтримці енергетичного обміну і постійної температури тіла. Так, більшість людей набирають максимальну масу тіла до 40–45 років, але тенденція до подальшого накопичення жирової тканини може зберігатися до 60–75 років у чоловіків і 65–79 років у жінок. При цьому літніх

людей з надмірною масою тіла в 2–2,5 рази більше, ніж у віці 20–25 років. Це обумовлено тим, що вікове зниження фізичної активності і тонусу СНС призводить до уповільнення метаболізму, сприяючи надмірному накопиченню жирової тканини. В основі патогенезу цього процесу лежить дисбаланс між наростаючою з віком гіподинамією і надлишковим надходженням енергії з їжею [324].

Контрольні зважування молодих щурів з моделлю АО щотижня протягом місяця після проведення 9 процедур РЕХВ (-120°C) показали, що дія екстремально низьких температур незначно знижує масу тіла експериментальних тварин (на 4%). Однак їх маса тіла не досягала показників контролю (щурів без ожиріння) на даній стадії онтогенезу (табл. 4.5).

На фоні введення кЯВК КК молодим тваринам з моделлю АО також спостерігалася тенденція до зменшення маси тіла (на 6,9%). При цьому результати зважувань встановили, що найбільш виражений позитивний вплив на динаміку зниження маси (на 8,4%), надавало поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК. Так у віддалені терміни експериментальних досліджень (через місяць після поєданого впливу) маса щурів максимально наближалася до початкової ваги контрольних тварин без ожиріння у відповідний термін онтогенезу (табл. 4.5).

У старих тварин з моделлю АО спостерігалася аналогічна картина зменшення маси тіла у всіх експериментальних групах. На тлі 9 процедур РЕХВ маса тіла старих щурів знижувалася на 5,75%, після введення кЯВК КК – на 8,7%, при поєданому застосуванні РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК маса тіла старих тварин зменшувалася на 11,7 % (табл. 4.6).

У молодих і старих щурів з моделлю АО позитивний ефект від самостійного і поєданого використання РЕХВ і кЯВК КК підтверджувався динамікою зниження індексу Лі протягом 1 місяця спостережень (табл. 4.7, 4.8)

Таким чином, проаналізувавши вагові показники молодих і старих тварин можна стверджувати, що збалансований гіперкалорійний раціон протягом 3 місяців сприяв розвитку АО у щурів зі стійкими метаболічними порушеннями на структурному рівні. Результати масометричних досліджень показали позитивний

вплив РЕХВ як ланки «м'якого» нетривалого стресу, а також кЯВК КК на динаміку зміни маси тіла експериментальних тварин. Протягом місяця спостережень встановлено, що 9 сеансів РЕХВ і однократне введення кЯВК КК приводили до зменшення маси тіла, як молодих, так і старих щурів з моделлю АО. При цьому поєднане застосування двох методів є потужним стимулюючим комплексом, який здатний значно підвищувати адаптаційні можливості організму і знижувати масу тіла тварин з ожирінням незалежно від їх віку.

Таблиця 4.7

Динаміка зміни ваго-ростового показника (індексу Лі (відн.од.)) у молодих щурів з моделлю АО на тлі проведення РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєданого застосування

Термін експерименту	Контроль (n=22)	Контроль+ АО (n=22)	Тип впливу		
			АО+РЕХВ (n=32)	АО+кЯВК КК (n=32)	АО+РЕХВ+кЯВК КК (n=32)
13 тижнів	280±1,42	319±1,36	312±1,42	305±1,05	299±0,74
14 тижнів	285±1,34	323±1,91	302±1,09	301±0,65	297±1,52
15 тижнів	289±1,37	328±1,87	300±0,95	297±1,24	294±1,08
16 тижнів	291±1,02	331±1,41	298±1,36	295±1,09	292±0,45

Таблиця 4.8

Динаміка зміни ваго-ростового показника (індексу Лі (відн.од.)) у старих щурів з моделлю АО на тлі проведення РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєданого застосування

Термін експерименту	Контроль (n=22)	Контроль+ АО (n=22)	Тип впливу		
			АО+РЕХВ (n=32)	АО+кЯВК КК (n=32)	АО+РЕХВ+кЯВК КК (n=32)
13 тижнів	282±1,53	332±1,70	305±1,22	308±1,45	301±2,03
14 тижнів	287±2,42	339±1,09	301±2,03	303±2,44	299±2,08
15 тижнів	290±2,72	342±3,06	300±2,14	301±2,01	295±1,44
16 тижнів	293±3,01	351±1,48	298±0,95	297±2,36	286±1,24

За матеріалами розділу 4 опубліковані роботи [325, 326].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ (-120°C), КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ ТИРЕОЇДНИХ І СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ

Вивченню механізмів впливу гормонів на стан адаптації та гомеостазу організму людини і тварин присвячено велику кількість наукових досліджень, як в області біології, так і медицини. Гормони неоднорідні за своєю структурою і за механізмом дії на різні види обміну речовин, в т.ч. і на процес утворення жирової тканини. Одні – стимулюють цей процес, інші – навпаки, пригнічують. Отже, дефіцит одних гормонів сприятиме ожирінню, і навпаки, ожиріння буде розвиватися при надмірній продукції певних біологічно активних речовин.

Відповідно до сучасних уявлень, при всіх формах ожиріння, зокрема при первинному ожирінні, спостерігаються порушення центральних механізмів регуляції, що змінює поведінкові реакції, особливо харчову поведінку і обумовлює нейрогормональні зрушення в організмі [327, 328, 329]. Важливою складовою механізмів патогенезу ожиріння і його ускладнень є сама жирова тканина [330, 331].

Протягом тривалого часу жирова тканина розглядалася як відносно пасивне депо енергії, запасеної у вигляді ТГ. Однак, жирова тканина це не тільки енергетичне депо, а й активний ендокринний і паракринний орган, і її роль виходить далеко за рамки енергетичного обміну [332]. В даний час відомо більше 100 гормонів, медіаторів і факторів росту, що секретуються жировою тканиною, званих адіпокіни, які регулюють широкий спектр метаболічних і імунних процесів [333].

Ендокринні та метаболічні властивості жирової тканини відрізняються в залежності від морфології адіпоцитів і їх локалізації. Адіпоцити вісцеральної

жирової тканини характеризуються більшою щільністю кортикостероїдних і андрогенних рецепторів і відносно меншою – рецепторів до інсуліну. Це визначає високу чутливість вісцеральної жирової тканини до ліполітичної дії катехоламінів і низьку – до антиліполітичної дії інсуліну [330, 334].

Вісцеральний жир набагато активніший в ендокринологічному плані, ніж підшкірний. Найважливішим гормоном, який регулює метаболізм жирової тканини, є інсулін. Він впливає на секрецію адіпокінів і перетворення глюкози в ТГ. Зворотною дією володіє глюкагон. Іншими важливими гормонами жирової тканини, які беруть участь в регуляції енергетичного гомеостазу, є лептин і адіпонектин [335].

Лептин – пептидний гормон, який відповідає за насичення. Лептин стимулює СНС, що веде до підвищення артеріального тиску, частоти серцевих скорочень і процесів термогенеза в жировій тканині [327, 328, 336]. Вроджена недостатність лептину або його рецепторів у людини призводить до розвитку важкої форми ожиріння [337]. При резистентності до лептину в адіпоцитах припиняється депонування жирних кислот і рівень ВЖК в крові зростає. В жировій тканині пригнічується ліполіз і знижується надходження жирних кислот в кров. В результаті ТГ акумулюються в адіпоцитах в зростаючих кількостях. Розростання жирової тканини призводить до адаптивної резистентності до інсуліну і втрати контролю над активністю гормон-чутливої ліпази. Процеси ліполізу активуються і створюються умови для безперервного вивільнення жирних кислот в кров [338].

Адипонектин – другий найважливіший гормон жирової тканини, що регулює енергетичний гомеостаз. У нормі він синтезується адіпоцитами вісцерального жиру [338]. Рівень адіпонектину в плазмі крові обернено пропорційний масі жирової тканини. Адіпонектин сприяє підтримці чутливості до інсуліну гепатоцитів, міоцитів і адіпоцитів [339].

Велику роль у розвитку ожиріння і його ускладнень грає ендокринна система [327, 328]. Одним з основних ендокринних органів, продукти синтезу, якого впливають на метаболізм в організмі, а, отже, не можуть не впливати на

енергетичний обмін і сталість маси тіла, є щитоподібна залоза (ЩЗ) [340, 341]. Функція ЩЗ у хворих з ожирінням, як правило, не змінена. Показано, що на початкових стадіях ожиріння секреція тиреотропіну, яка стимулюється тиреоліберином, залишається в межах норми. Характер харчування в значній мірі визначає вміст і співвідношення T_4 і T_3 в плазмі крові [342, 343]. При різкому зниженні вмісту вуглеводів в їжі або повному голодуванні концентрація T_3 знижується. Переїдання супроводжується підвищенням рівня T_3 в крові. Такі коливання рівнів тиреоїдних гормонів можуть бути обумовлені зміною периферичного дейодування T_4 і служити адаптивною компенсаторною реакцією, спрямованою на підтримку стабільності маси тіла. Передбачається, що високі концентрації гормонів ЩЗ є наслідком ожиріння, а не причиною. Деякі автори [329, 344] відзначають зміну чутливості периферичних тканин до тиреоїдних гормонів внаслідок зменшення рецепторних місць. Повідомляється також про порушення в деяких випадках зв'язування T_4 тироксинзв'язуючим глобуліном, посилення розпаду T_4 , що призводять до зниження вмісту T_4 і відповідно T_3 в тканинах, розвитку відносної тиреоїдної недостатності і появи клінічних ознак гіпотиреозу у хворих на ожиріння [344, 345, 346].

Гормони T_3 і T_4 збільшують поглинання кисню практично у всіх метаболічно активних тканинах. Вони підсилюють метаболізм і теплоутворення. Якщо рівень метаболізму у дорослих збільшується під дією цих гормонів, а споживання їжі не зростає, то відбувається катаболізм (розпад) ендогенних білків і жирових запасів, в результаті чого втрачається маса тіла [347]. Тиреоїдні гормони стимулюють дію катехоламінів, які в свою чергу, також стимулюють метаболізм, а, отже, призводять до підвищених енергетичних витрат і зниження маси тіла.

Тиреоїдні гормони впливають на обмін вуглеводів, підвищуючи їх всмоктування в кишці і сприяючи тим самим підвищенню рівня глюкози в плазмі крові. Однак цей ефект короткочасний. Крім того, ці гормони знижують рівень циркулюючого ХС в плазмі в результаті підвищеного утворення рецепторів

ХСЛПНЩ у печінці, що призводить до більш інтенсивного захоплення ХС печінкою з системи кровообігу [348, 349, 350, 351, 352].

Жирова тканина тісно пов'язана з метаболізмом стероїдних гормонів. Вона здатна їх накопичувати, метаболізувати і синтезувати [353, 354, 355]. При цьому самі стероїдні гормони активно впливають на процеси ліполізу і ліпогенезу в жирових клітинах, на кількість і розподіл жиру в організмі, а також здатні впливати на процеси проліферації преадіпоцитів [356, 357, 358]. Андрогеми збільшують ліполітичну активність адіпоцитів, а естрогеми підвищують активність ферментів ліпогенезу. У осіб з ожирінням статеві стероїди накопичуються в жировій тканині, де відбувається активна ароматизація андрогеми в естрогеми [359, 360]. Крім того, посилюється продукція залозами андростендіона, що є субстратом для утворення естрогеми. Від співвідношення андрогеми і естрогеми у хворих на ожиріння залежить переважання ознак гіперандростенії або гіперестрогенії. Гіперестрогенія у чоловіків супроводжується зниженням статевої функції, а у жінок – порушеннями менструального циклу. Велике значення в розвитку статевих розладів при ожирінні має периферичний метаболізм естрогеми і андрогеми і їх зв'язування з білками плазми. Відзначається зміна коефіцієнта андрогеми/естрогеми в сторону його зменшення. У чоловіків з надмірною масою тіла виявляється низький рівень Тс в плазмі, в результаті збільшення вільної фракції гормону [361, 362, 363].

Тс є стероїдним гормоном, секреція якого відбувається епізодично (максимальна секреція 02:00–06.00 год, мінімальна – близько 13:00 год). Тільки 2% Тс циркулює в крові у вільному стані, а 30% його зв'язано з глобуліном, 68% – з альбуміном та іншими білками. За допомогою ферменту 5 α -редуктази він перетворюється в більш активний дигідротестостерон [364, 365].

Продукція деяких гормонів з віком не змінюється [365], секреція ж дегідроепіандростерона (ДГЕА), при старінні катастрофічно падає. Патологічні стани, стресові ситуації прискорюють процес зниження його продукції наднирковими залозами [366]. Протягом 50 років з моменту відкриття ДГЕА його розглядали виключно як попередника в системі синтезу Тс і естрогеми. З даних

літератури відомо, що ДГЕА виробляють наднирники тільки представників класу приматів, тобто людини, вищих і нижчих мавп [367, 368, 369]. Адреналові залози всіх інших тварин його практично не виробляють. Разом з тим певні структури мозку людини, мавп та інших тварин синтезують *de novo* ДГЕА і його попередників. У гризунів він практично не синтезується наднирковими залозами, проте в тканинах мозку утворюється в значних кількостях [370, 371, 372]. Ці дані, з урахуванням виявленої пізніше важливої ролі ДГЕА і ДГЕАС (сульфатна форма) в нервовій тканині, дозволили віднести їх до нейростероїдів [373, 374]. Пік утворення ДГЕА доводиться на вік 25–30 років. У проміжку від 20 до 90 років рівень ДГЕА у людини падає на 90%. Зменшення продукції гормону асоційоване з розвитком вікової патології: серцево-судинних захворювань, раку, остеопорозу, атеросклерозу, хвороби Альцгеймера, зниженням активності імунної системи і ін. [366, 368] ДГЕА і ДГЕАС синтезуються сітчастою зоною кори надниркових залоз, і тільки невелика частина (близько 8–10%) утворюється гонадами. З усіх стероїдів ДГЕАС циркулює в периферичній крові в найбільшій концентрації [368]. Як і інші стероїди, він утворюється з ХС або *de novo* з ацетату. На відміну від сульфатної форми, вільний ДГЕА циркулює в крові в значно меншій концентрації. ДГЕА є попередником статевих стероїдів, зокрема Тс та Ес [370, 372, 374].

Незважаючи на численні дослідження, які виявили багато важливих чинників і механізмів адаптації організму, недостатньо вивчений механізм функціонального сполучення і взаєморегуляції основних систем, що підтримують імунометаболічний гомеостаз в умовах нераціонального харчування. Питання про формування адаптаційних реакцій організму на дію високо жирового навантаження, співвідношенні специфічних і неспецифічних проявів цих реакцій активно дискутується.

В даний час, з огляду на інтенсивний розвиток кріобіології як науки, великий інтерес у вчених викликає проведення досліджень по вивченню дії різних видів холодових впливів і препаратів отриманих з КК на зміни гормонального стану у тварин і людей, особливо при застосуванні їх як лікувального чиннику.

У зв'язку вищевикладеним нами було вивчено вплив РЕХВ (-120°C), кЯВК КК і їх поєднання на рівень ДГЕАС, тиреоїдних і статевих гормонів сироватки крові молодих і старих щурів з моделлю АО.

Слід зазначити, що дефіцит гормонів ЩЗ сприяє розвитку ожиріння. Нами встановлено (табл. 5.1), що у молодих тварин з моделлю АО рівень тиреоїдних гормонів (T_3 і T_4) статистично значуще знижувався в порівнянні з молодими щурами без ожиріння. Зменшення секреції T_3 і T_4 може свідчити про те, що на тлі ожиріння за рахунок порушення обміну вуглеводів і транспорту кисню до органів і тканин знижується функціональна активність ЩЗ і адаптивні можливості організму тварин.

На наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ (табл. 5.1) вміст загального T_3 в сироватці крові молодих щурів з моделлю АО статистично значуще збільшувався як щодо показників контролю без ожиріння, так і тварин з ожирінням. На цьому тлі концентрація загального T_4 вірогідно зменшувалася в порівнянні з контрольними щурами без ожиріння (на наступну добу, через тиждень і місяць після холодкових процедур) і у віддалені терміни спостережень відповідала показникам тварин з моделлю АО. Можна припустити, що ритмічне екстремальне охолодження за рахунок підвищення рівня T_3 в сироватці крові відновлює функціональну активність ЩЗ молодих тварин з ожирінням, що сприяє нормалізації метаболічних процесів в органах і тканинах. Зниження вмісту T_4 може бути обумовлено необхідністю активації ферменту монодейодинази, який здійснює трансформацію неактивного T_4 в активний T_3 .

Концентрація тиреоїдних гормонів в сироватці крові щурів з моделлю АО на тлі введення кЯВК КК на всіх етапах експериментальних досліджень (табл. 5.1) статистично значуще знижувалася щодо контролю, але при цьому відповідала показникам тварин з ожирінням.

Поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК (табл. 5.1), на відміну від самостійного використання ритмічного екстремального охолодження, сприяло статистично значущому збільшенню в сироватці крові молодих щурів з моделлю АО вмісту не тільки активної форми тиреоїдного гормону T_3 , а й T_4 . Причому

виявлені зміни рівня гормонів ЩЗ були характерні як на наступну добу, так і через тиждень і місяць після поєднаного застосування даних методів впливу. Можна зробити висновок, що поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК завдяки відновленню гормонсинтезуючої здатності ЩЗ підвищує її функціональну активність.

Таблиця 5.1

Рівень тиреоїдних гормонів у молодих щурів з моделлю АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група тварин	зТ ₃ , нмоль/л	зТ ₄ , нмоль/л
Контроль	2,88±0,09	67,40±3,82
Контроль+АО	1,93±0,64 ¹	51,27±7,36 ¹
АО+9 сеансів РЕХВ		
1 день	3,45±0,15 ^{1,2}	24,40±1,20 ^{1,2}
7 днів	4,15±0,55 ^{1,2}	50,20±7,30 ¹
1 місяць	3,50±0,30 ^{1,2}	49,45±10,85 ¹
АО+кЯВК КК		
1 день	1,73±0,33 ¹	51,53±2,76 ¹
7 днів	1,30±0,06 ¹	53,37±1,58 ¹
1 місяць	1,90±0,31 ¹	47,67±2,64 ¹
АО+РЕХВ+кЯВК КК		
1 день	3,50±0,21 ^{1,2}	79,77±8,37 ^{1,2}
7 днів	3,20±0,36 ^{1,2}	76,47±1,68 ^{1,2}
1 місяць	3,10±0,10 ^{1,2}	78,50±0,50 ^{1,2}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від групи контролю; ² – статистично значущі відмінності від групи щурів з моделлю АО ($p \leq 0,05$).

З огляду на те, що тиреоїдні гормони впливають на стан життєво важливих структур ЦНС, забезпечуючи нейрогуморальну регуляцію білкового, ліпідного і вуглеводного обмінів, а також стимулюють процеси росту і енергозабезпечення, збільшення їх концентрації в сироватці крові можна розглядати як один з можливих механізмів позитивної дії РЕХВ і кЯВК КК на організм експериментальних тварин з моделлю ожиріння.

Статеві гормони в організмі людини і тварин виконують важливу роль, оскільки впливають на стан репродуктивної системи, метаболічні процеси, нейрогуморальну регуляцію.

В ході досліджень встановлено (табл. 5.2), що концентрація Тс в сироватці крові молодих щурів з моделлю АО статистично значуще зменшувалася в порівнянні з тваринами без ожиріння (практично в 2,5 рази). Зниження рівня Тс свідчило про порушення процесів гормонопродукції і розвитку патологічного процесу, який може призводити до передчасного старіння організму.

На наступну добу після 9 сеансів РЕХВ (табл. 5.2) вміст Тс в сироватці крові молодих щурів з АО не змінювався. При цьому через тиждень після останньої процедури охолодження його концентрація зростала і відповідала показникам контролю, а через місяць статистично значуще перевищувала показники як тварин без ожиріння, так і щурів з моделлю АО (практично в 3,5 рази).

Аналогічна динаміка змін рівня Тс відзначалася після самостійного введення кЯВК КК і в поєднанні з РЕХВ (табл. 5.2). Статистично значуще збільшення його вмісту щодо контролю і тварин з моделлю АО мало місце у віддалені терміни спостережень (через місяць після самостійного застосування кЯВК КК і в поєднанні з РЕХВ). Слід зазначити, що концентрація естрадіолу (Ес) в сироватці крові молодих щурів з АО до і після використання РЕХВ і кЯВК КК значуще не змінювалася.

Можна припустити, що самостійне і поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК за рахунок збільшення рівня Тс, покращує анаболічні процеси в органах і тканинах, зокрема біосинтез білка, обмін ліпідів, тим самим підвищуючи адаптаційно-компенсаторний потенціал організму експериментальних тварин з ожирінням.

Як зазначалося, ДГЕА є стероїдним гормоном надниркових залоз, концентрація якого в крові знижується з віком. У людей похилого віку виявлена позитивна кореляція між високим рівнем даного гормону і проявами «здорового

старіння». Слід зазначити, що ДГЕА впливає на синтез глюкокортикоїдів і статевих гормонів.

Таблиця 5.2

Рівень статевих гормонів у молодих щурів з моделлю АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група тварин	Тс, нмоль/л	Ес, нмоль/л	ДГЕАС, нмоль/л
Контроль	13,90±1,21	0,20±0,00	2,68±0,05
Контроль+АО	5,23±0,37 ¹	0,20±0,00	2,70±0,40
АО+9 сеансів РЕХВ			
1 день	5,90±0,90 ¹	0,30±0,10	2,35±0,55
7 днів	13,00±0,50 ²	0,20±0,00	1,95±0,15 ^{1,2}
1 місяць	18,60±1,60 ^{1,2}	0,20±0,00	2,85±0,05
АО+кЯВК КК			
1 день	6,10±0,42 ¹	0,23±0,03	1,73±0,09 ^{1,2}
7 днів	14,77±1,84 ²	0,20±0,00	1,87±0,15 ^{1,2}
1 місяць	20,27±1,63 ^{1,2}	0,20±0,00	1,90±0,06 ^{1,2}
АО+РЕХВ+кЯВК КК			
1 день	13,10±1,10 ²	0,20±0,00	2,60±0,15
7 днів	14,43±5,35 ²	0,20±0,00	2,03±0,07
1 місяць	21,25±2,05 ^{1,2}	0,20±0,00	2,50±0,20

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від групи контролю; ² – статистично значущі відмінності від групи щурів з моделлю АО ($p \leq 0,05$).

У наших експериментах показано, що вміст ДГЕАС в сироватці крові молодих щурів з моделлю АО відповідав показникам контролю без ожиріння. Статистично значуще зменшення рівня даного гормону, в порівнянні з контролем і тваринами з ожирінням, спостерігалось через тиждень після 9 сеансів РЕХВ, а також на наступну добу, через тиждень і місяць після введення кЯВК КК. Поєднане застосування даних методів не приводило до змін концентрації ДГЕАС.

Отримані експериментальні дані пояснюються тим, що ДГЕАС у гризунів, на відміну від людини, практично не синтезується наднирковими залозами [367,

368, 369] і тому динаміка зміни вмісту даного гормону не може служити адекватним маркером розвитку патологічного процесу у щурів.

Нами показано (табл. 5.3), що в сироватці крові старих контрольних тварин, рівень загального T_4 статично значуще знижувався (практично в 2 рази), відносно молодих, а загального T_3 не змінювався. Ожиріння супроводжувалося ще більш значним зменшенням концентрації тиреоїдних гормонів. Зниження в сироватці крові старих щурів вмісту гормонів ЩЗ може бути пов'язано зі зменшенням її функціональної активності, як в результаті старіння організму, так і в наслідок розвитку АО.

На наступну добу, через тиждень і місяць після проведення 9 процедур РЕХВ (табл. 5.3) рівень загального T_3 в сироватці крові старих тварин з ожирінням статистично значуще підвищувався в порівнянні з щурами з моделлю АО, наближаючись до показників контролю. При цьому концентрація загального T_4 значуще не змінювалася. Аналізуючи отримані дані, слід зазначити, що у старих тварин ритмічне екстремальне охолодження не стільки впливало на функціональний стан ЩЗ, скільки на збільшення вмісту активної форми загального T_3 .

На відміну від РЕХВ, введення кЯВК КК (табл. 5.3) на всіх етапах експериментальних досліджень (на наступну добу, через тиждень і місяць) сприяло збільшенню в сироватці крові старих щурів з моделлю АО не тільки рівня загального T_3 , а й загального T_4 . Підвищення концентрації тиреоїдних гормонів свідчить про поліпшення життєздатності і систем адаптації організму старих тварин з ожирінням, що дає можливість розглядати кЯВК КК не тільки в якості перспективного геропротектора, але і як засобу здатного знижувати ризик розвитку серцево-судинних захворювань, що часто супроводжують АО.

Нами встановлено (табл. 5.3), що при поєднаному використанні РЕХВ і кЯВК КК вміст гормонів ЩЗ в сироватці крові старих щурів з моделлю АО статистично значуще зростав не тільки щодо тварин з ожирінням, але і в порівнянні з показниками контролю. Причому зазначені зміни рівня тиреоїдних гормонів мали місце як на наступну добу після поєднаного використання РЕХВ і

кЯВК КК, так і у віддалені терміни спостережень (через тиждень і місяць). Можна припустити, що збільшення концентрації загального Т₃ і Т₄ в сироватці крові старих щурів з АО на тлі поєднаного використання даних методів впливу сприяє підвищенню функціональної активності ЩЗ, що в умовах старіння організму і розвитку патологічного процесу фізіологічно «доцільно», оскільки направлено на активацію систем адаптації, енергозабезпечення клітин і тканин, нормалізацію метаболізму і стабілізацію порушеного гомеостазу.

Таблиця 5.3

Рівень тиреоїдних гормонів у старих щурів з моделлю АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група тварин	зТ ₃ , нмоль/л	зТ ₄ , нмоль/л
Контроль	2,85±0,05	36,55±1,85
Контроль+АО	1,95±0,62 ¹	26,43±2,07 ¹
АО+9 сеансів РЕХВ		
1 день	2,40±0,06 ²	27,63±2,21 ¹
7 днів	2,40±0,30 ²	27,70±1,60 ¹
1 місяць	2,43±0,03 ²	26,73±1,27 ¹
АО+кЯВК КК		
1 день	2,80±0,35 ²	34,83±4,10 ²
7 днів	2,88±0,35 ²	38,98±0,40 ²
1 місяць	2,98±0,13 ²	32,83±1,71 ²
АО+РЕХВ+кЯВК КК		
1 день	4,25±0,75 ^{1,2}	54,70±7,40 ^{1,2}
7 днів	3,70±0,20 ^{1,2}	53,40±5,90 ^{1,2}
1 місяць	3,20±0,10 ^{1,2}	48,45±3,45 ^{1,2}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від групи контролю; ² – статистично значущі відмінності від групи щурів з моделлю АО ($p \leq 0,05$).

В ході досліджень виявлено (табл. 5.4), що вміст Тс в сироватці крові старих щурів з моделлю АО статистично значуще знижувався (практично в 2 рази) щодо контрольних тварин без ожиріння.

Рівень статевих гормонів у старих щурів з моделлю АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група тварин	Тс, нмоль/л	Ес, нмоль/л	ДГЕАС, нмоль/л
Контроль	11,55±1,15	0,25±0,05	3,10±0,20
Контроль+АО	6,28±0,78 ¹	0,25±0,05	3,58±0,27
АО+9 сеансів РЕХВ			
1 день	6,60±0,96 ¹	0,27±0,03	3,13±0,19
7 днів	14,75±0,65 ^{1,2}	0,20±0,00	3,50±0,70
1 місяць	18,43±0,74 ^{1,2}	0,21±0,03	3,67±0,12
АО+кЯВК КК			
1 день	8,10±0,67 ^{1,2}	0,20±0,00	3,00±0,15
7 днів	8,65±0,85 ^{1,2}	0,25±0,06	3,63±0,15
1 місяць	8,85±1,13 ^{1,2}	0,20±0,04	3,43±0,09
АО+РЕХВ+кЯВК КК			
1 день	11,25±2,55 ²	0,20±0,00	3,65±0,15
7 днів	11,45±0,05 ²	0,20±0,00	3,15±0,05
1 місяць	17,65±1,25 ^{1,2}	0,25±0,05	2,98±0,10

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від групи контролю; ² – статистично значущі відмінності від групи щурів з моделлю АО ($p \leq 0,05$).

На наступну добу після проведення 9 сеансів РЕХВ (табл. 5.4) рівень даного гормону не змінювався, а у віддалені терміни спостережень (через тиждень і місяць після охолодження) статистично значуще підвищувався як у порівнянні з тваринами з АО, так і з показниками контролю.

У свою чергу введення кЯВК КК (табл. 5.4) старим щурам з ожирінням супроводжувалося статистично значущим збільшенням концентрації Тс в сироватці крові щодо тварин з АО, при цьому його вміст залишався нижче контрольних щурів без ожиріння.

На наступну добу і через тиждень після поєднаного використання РЕХВ і кЯВК КК в сироватці крові старих тварин з моделлю АО зазначалося статистично значуще підвищення рівня Тс в порівнянні з контрольними щурами з ожирінням,

а через місяць після поєданого застосування даних методів впливів його концентрація наближалася до показників контролю. Самостійне і поєдане використання ритмічного екстремального охолодження і кЯВК КК, на всіх етапах експериментальних досліджень, практично не впливало на рівень Ес і ДГЕАС в сироватці крові старих щурів з АО.

На нашу думку, збільшення вмісту Тс в сироватці крові старих тварин з моделлю АО на тлі самостійного і поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК свідчить про підвищення функціональної активності андрогенів і є сприятливим фактором, так як статеві гормони в організмі мають виражену анаболічну активність. Впливаючи на генетичний апарат клітини, вони підсилюють в ній біосинтез білків, впливають на обмін ліпідів, підвищують споживання кисню в присутності гормонів ЩЗ.

Таким чином, встановлено, що розвиток ожиріння у молодих і старих щурів за рахунок зменшення секреції тиреоїдних і статевих гормонів супроводжується зниженням функціональної активності, як щитоподібної, так і статевих залоз. Дані порушення були більш виражені у старих тварин. Самостійне і більшою мірою поєдане застосування РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК відновлювало гормонсинтезуючу здатність ЩЗ, підвищуючи її функціональну активність, нормалізувало рівень Тс, тим самим збільшуючи адаптаційно-компенсаторний потенціал організму експериментальних тварин з ожирінням незалежно від їх віку. Виявлені зміни є фізіологічно значимими, оскільки тиреоїдні гормони підвищують поглинання кисню органами і тканинами, регулюють метаболізм ліпідів і вуглеводів, тим самим беручи участь в енергетичному обміні і підтримці сталості маси тіла. У разі якщо рівень метаболізму збільшується, під впливом гормонів ЩЗ розпадаються білки і жири, в результаті чого знижується апетит і зменшується маса тіла.

За матеріалами розділу 5 опублікована робота [375].

РОЗДІЛ 6

ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОЛОГІЧНОГО СТАНУ МІОКАРДА МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ НА ТЛІ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХЛОДЖЕННЯ (-120°C), ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ

В даний час проведено безліч епідеміологічних досліджень по встановленню зв'язку між збільшенням поширеності ожиріння і зростанням числа інших патологій [1, 55]. Доведено [3, 44, 47], що прогресування ожиріння сприяє розвитку серцево-судинних і онкологічних захворювань, цукрового діабету 2 типу, жовчнокам'яної хвороби, бронхіальної астми, хвороб опорно-рухового апарату [52, 72]. Патогенез ураження ССС при ожирінні багатосторонній. Є дані [38, 349, 350] про збільшення частоти розвитку АГ, ІХС [5, 7], серцевої недостатності, гіперхолестеринемії, тромбоемболічних ускладнень у хворих з надлишковою масою тіла [42, 324]. За останні роки проведено ряд досліджень, які доводять можливість і механізми ліпотоксичного ураження серцевого м'яза при ожирінні, при якому порушується як морфологічна картина міокарда, так і його функціональний стан [77]. Розвиваються такі зміни як гіпертрофія лівого шлуночка, збільшення порожнини лівого передсердя, зниження діастолічної і систолічної функції лівого шлуночка, що призводять до формування хронічної серцевої недостатності [75, 76]. На тлі ожиріння відбуваються метаболічні, дисгормональні, гемодинамічні зміни в організмі, що безпосередньо впливають на серцевий м'яз, викликаючи його морфофункціональні зміни [3, 36, 40].

6.1. Структура міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння

Результати гістологічного дослідження тканин і судин серця контрольних 6-місячних тварин підтвердили адекватність застосовуваних методик. Структурна

організація міокарда відповідала нормі [202, 204, 287]. М'язові волокна мали порівняно рівномірну товщину, розгалужувалися і утворювали між собою анастомози, формуючи щільну мережу, характерну для серцевого м'яза даного терміну постнатального онтогенезу статевозрілих щурів [206].

Простори між кардіоміоцитами були заповнені інтерстиціальною сполучною тканиною, в якій відзначалися дифузно розташовані фібробласти з щільним базофільним ядром веретеноподібної форми, а також численні капіляри. Ендотелій судин був представлений сплюсненими ендотеліоцитами з витягнутими ядрами. В інтерстиціальній сполучній тканині міокарда виявлялися тонкі колагенові волокна рожевого кольору, розташовані уздовж м'язових волокон.

При гістологічному дослідженні міокарда 24-місячних контрольних щурів, у порівнянні з 6-місячними виявлялися більш виражені вікові перебудови. Капіляри були розширені і переповнені еритроцитами. Відзначалися осередки периваскулярного і інтерстиціального набряків, а також поодинокі лімфогістіоцитарні інфільтрати. Всі великі судини були повнокровні, мали змінену форму просвіту, нерівномірно потовщені стінки, звивисті контури внутрішньої еластичної мембрани. Навколо судин виявлявся периваскулярний набряк і кардіосклероз.

Гістологічне дослідження міокарда молодих щурів з моделлю АО показало, що межа між епікардом і міокардом була виражена нечітко завдяки тому, що жирова тканина проникала вглиб міокарда у вигляді тяжів жирових клітин по ходу венозних судин і капілярів. Визначалися діapedезні крововиливи (рис. 6.1, А). У тих місцях, де найбільш сильно було виражене ожиріння сполучнотканинних прошарків між м'язовими волокнами, останні були стоншені, ядра кардіоміоцитів гіпохромні (атрофія від тиску), поперечна смугастість не виявлялася (рис. 6.1, Б). У більш глибоких відділах міокарда, де не було жирової тканини, м'язові волокна були з ознаками гіпертрофії, в основі якої лежить збільшення маси саркоплазми кардіоміоцитів, розмірів їх ядер (гіпертрофія ядер). Ядра кардіоміоцитів були гіперхромними, кількість їх – збільшена (рис. 6.2, А). При цьому розміри кардіоміоцитів також збільшувалися. Одночасно з

гіпертрофією міокарда відбувалося розростання волокнистих структур строми (осередковий склероз) (рис. 6.2, Б).

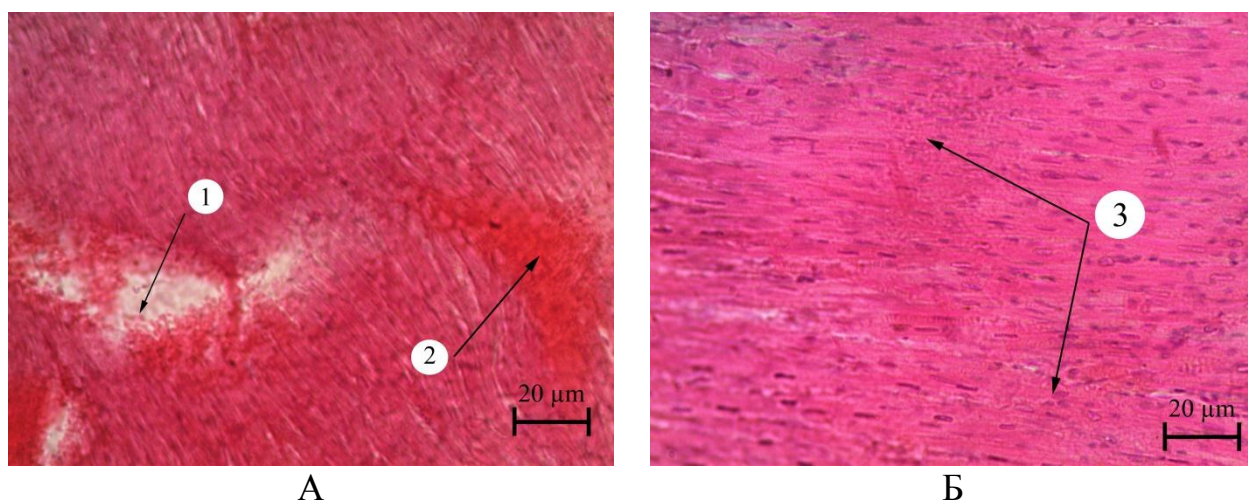


Рис. 6.1. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО: А – жирові клітини між міокардіоцитами (1), діapedезні крововиливи (2); Б – атрофія міокардіоцитів (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$.

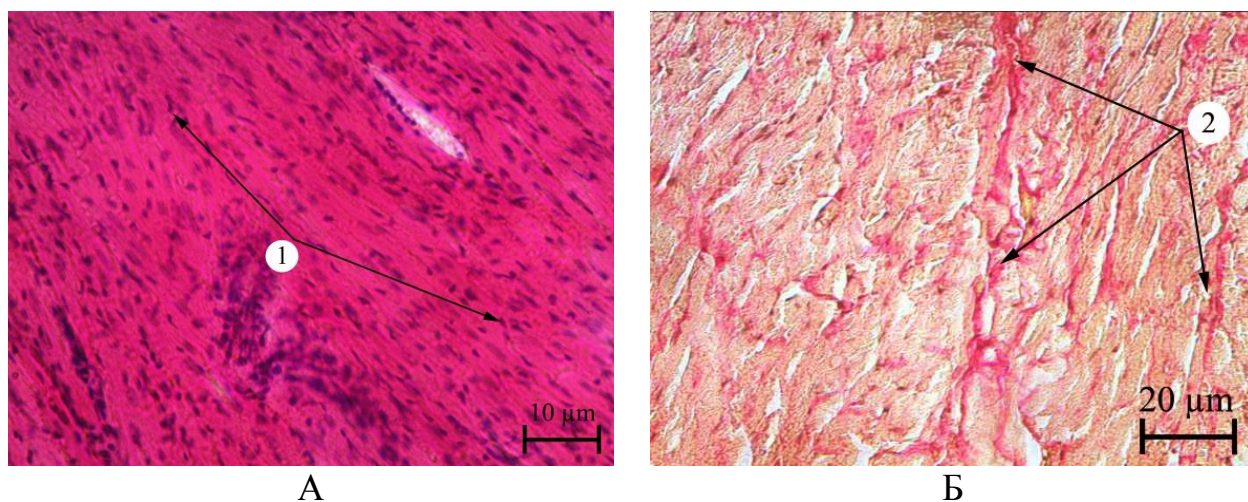


Рис. 6.2. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО: А – гіпертрофія кардіоміоцитів (1) в глибоких відділах міокарда. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$; Б – розростання волокнистих структур строми (2). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

При забарвленні масляним червоним (суданом червоним 5В), що застосовується для виявлення в клітинах нейтральних ТГ і ліпідів, в зрізах тканини міокарда контрольних молодих тварин з моделлю АО в цитоплазмі стоншених кардіоміоцитів були виявлені дуже дрібні (пилонидне ожиріння) (рис. 6.3, А) і на цьому тлі рідкісні дрібні (дрібно-крапельне ожиріння) жирові краплі червоного кольору (рис. 6.3, Б).

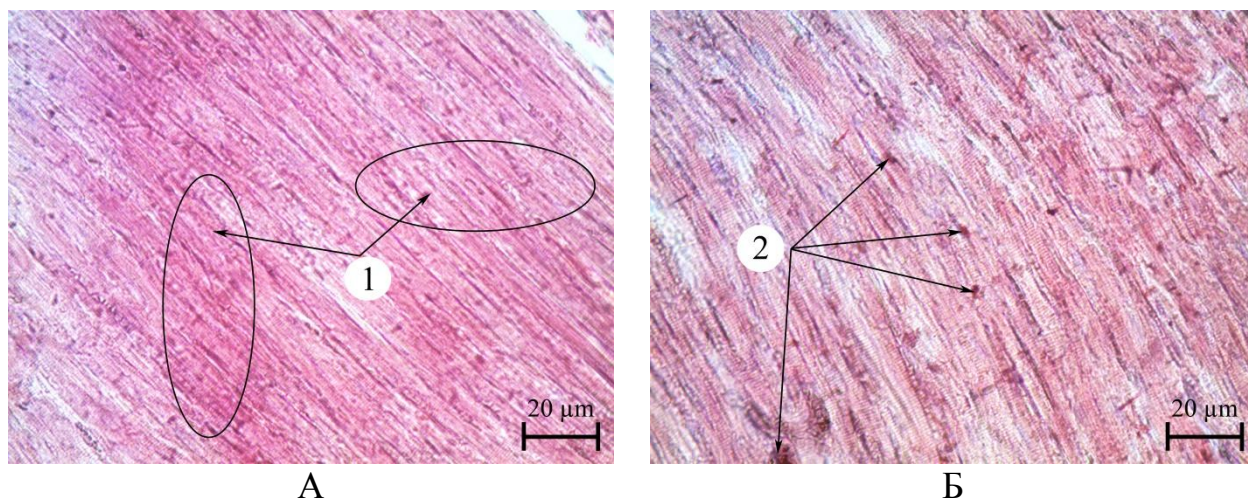


Рис. 6.3. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО: А – дуже дрібні жирові краплі червоного кольору в цитоплазмі кардіоміоцитів (пиловидне ожиріння) (1); Б – рідкісні дрібні жирові краплі червоного кольору (дрібно-крапельне ожиріння) (2) на тлі пілоподібних ліпідних включень. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Результати гістологічного дослідження тканин міокарда старих щурів з моделлю АО показали, що між групами м'язових клітин спостерігалось скупчення великої кількості жирових клітин, що мали вигляд прозорих пухирців. У місцях розростання жирової клітковини міокардіоцити були стоншені і атрофовані (рис. 6.4, А). Визначалися інтерстиціальні та периваскулярні набряки, а також діapedезні крововиливи і повсюдне розростання волокнистих структур строми (кардіосклероз), особливо навколо великих кровоносних судин (рис. 6.4, Б).

При забарвленні масляним червоним в зрізах тканини міокарда контрольної групи старих щурів з моделлю АО виявлявся дрібнодисперсний розподіл жирових крапель в набряклих кардіоміоцитах, цитоплазма яких на окремих ділянках була повністю заміщена ними. На цьому тлі зустрічалися рідкісні великі жирові краплі червоного кольору, що свідчили про крупно-крапельне ожиріння (рис. 6.5, А, Б).

Таким чином, морфологічна картина АО в міокарді як у молодих, так і у старих тварин виражалася в порушеннях кровообігу – повнокров'ї і тромбозі судин, діapedезних крововиливах, гіпертрофії міокарда, інтерстиціальних і периваскулярних набряках, розростанні волокнистих структур строми

(осередковому кардіосклерозі). Описані зміни відповідають даним літератури [35, 378, 379].

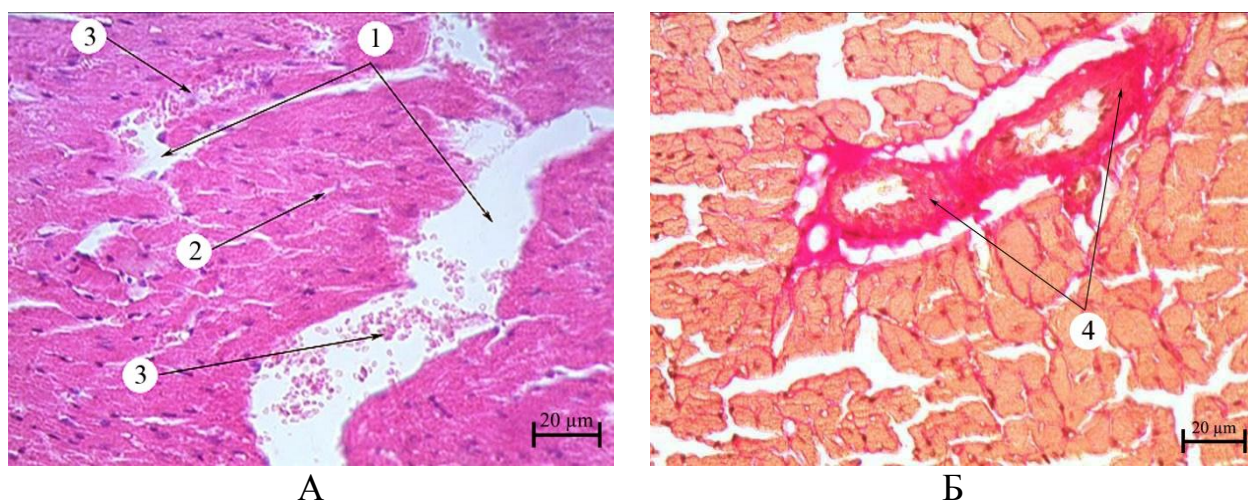


Рис. 6.4. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з моделлю АО: А – розростання жирової клітковини (1) між атрофованими міокардіоцитами (2), інтерстиціальні набряки, крововиливи (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$; Б – розростання волокнистих структур строми (4). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

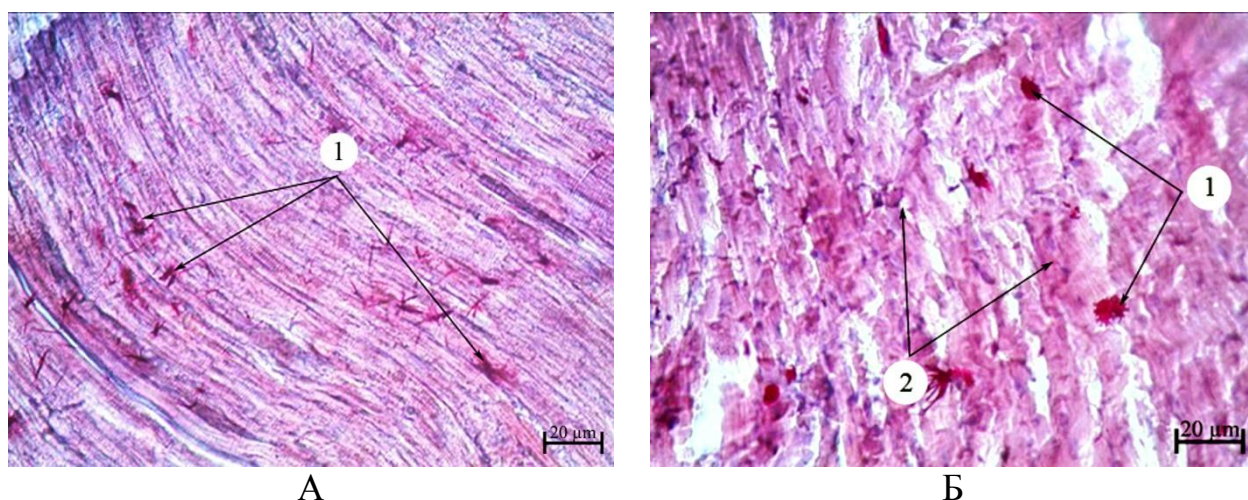


Рис. 6.5. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з моделлю АО: А, Б – великі жирові краплі червоного кольору (1) на тлі дрібнодисперсного розподілу жирових крапель в набряклих кардиомиоцитах (крупно-крапельне ожиріння) (2). Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Ступінь вираженості АО, що виявлялася за допомогою специфічного забарвлення на нейтральні жири масляним червоним, у старих тварин була набагато вище, ніж у молодих. У першому випадку це крупно-крапельне

ожиріння на тлі пилоподібного і дрібно-крапельного ожиріння, а в другому – тільки пиловидне і дрібно-крапельне ожиріння.

6.2. Морфологічний стан міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння на тлі ритмічних екстремальних холодних впливів

Кардіоміоцити молодих щурів з моделлю АО на 7 добу після РЕХВ представляли собою витягнуті декілька стоншені клітини, що не мали поперечної смугастості, характерної для міоцитів, з великими базофільними ядрами округлої форми. Між кардіоміоцитами розташовувалися фібробласти з великими ядрами веретеноподібної форми, а також знов сформовані капіляри, в просвіті яких було видно еритроцити. У периваскулярній зоні біля пошкоджених м'язових волокон виявлялися макрофаги (гістіоцити), розташовані дифузно або невеликими групами (рис. 6.6, А). Між пучками кардіоміоцитів відзначалися розриви (набряк), заповнені міжтканинною рідиною (рис. 6.7, А).

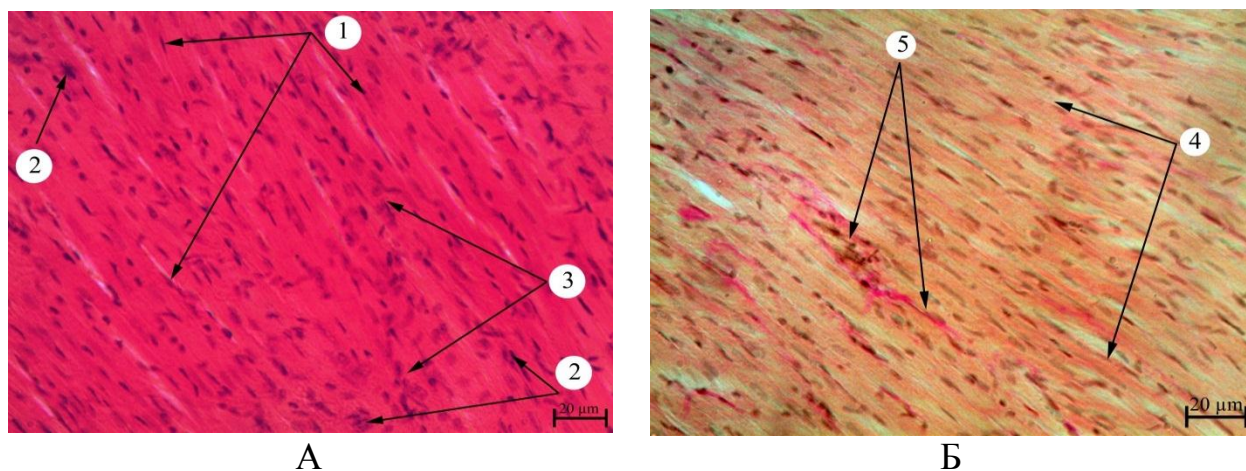


Рис. 6.6. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО на 7 добу після 9 сеансів РЕХВ: А – фібробласти (1), гістіоцити (2) і знов сформовані капіляри (3) між пучками кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 400$; Б – ніжні колагенові волокна в інтерстиції (4), ділянки зі слабо вираженим кардіосклерозом (5). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

При забарвленні по Ван Гізон між кардіоміоцитами виявлялися ніжні колагенові волокна, які свідчать про неоангіогенез (рис. 6.6, Б), а також ділянки зі слабо вираженим кардіосклерозом (рис. 6.7, Б).

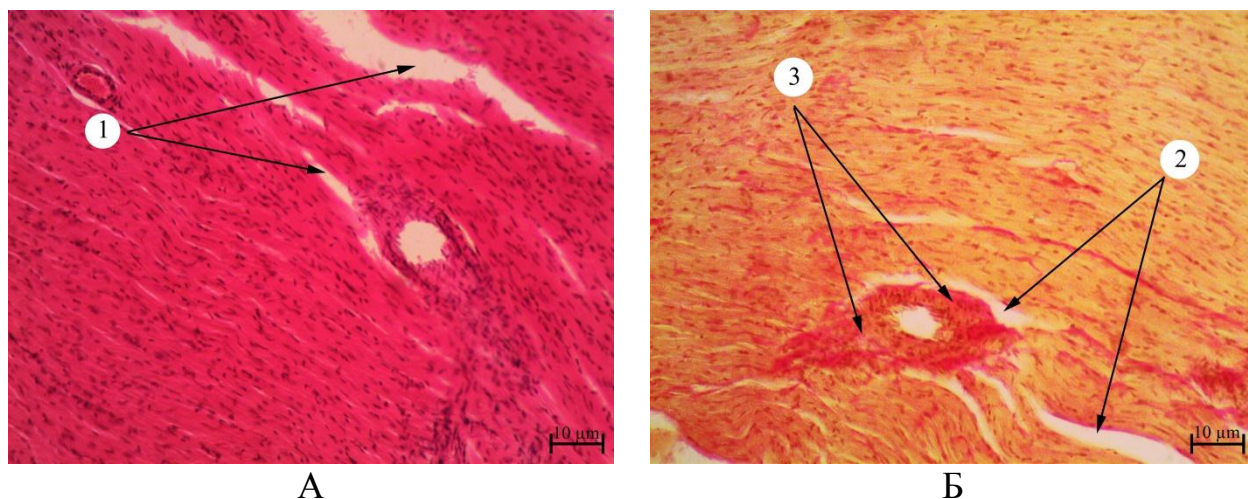


Рис. 6.7. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 7 добу після 9 сеансів РЕХВ: А – розриви між пучками кардіоміоцитів (інтерстиціальний набряк) (1). Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 200$; Б – інтерстиціальний набряк (2), слабо виражений кардіосклероз (3). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 200$.

При забарвленні масляним червоним виявлялася жирова дистрофія міокарда: найменше (пиловидне) і дрібне (дрібно-крапельне) осередкове накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів по ходу венозного коліна капілярів і дрібних вен (рис. 6.8).

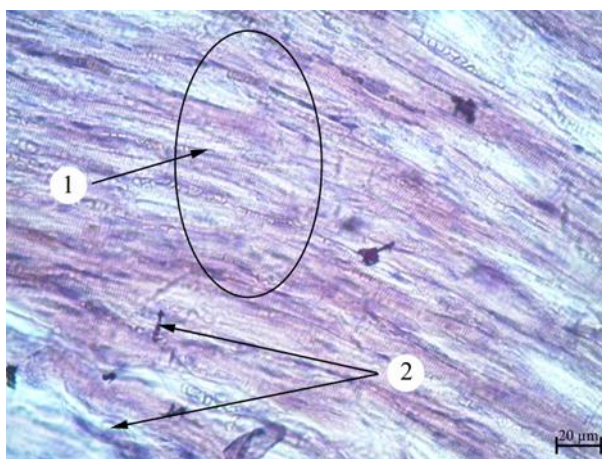


Рис. 6.8. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 7 добу після 9 сеансів РЕХВ: найменше (пиловидне) (1) і дрібне (дрібно-крапельне) (2) осередкове накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

При гістологічному дослідженні міокарда молодих щурів з моделлю АО через 30 діб після РЕХВ на великих ділянках виявлялися впорядковано

розташовані кардіоміоцити, що анастомозували між собою, з характерною поперечною смугастістю і наявністю 1-2 базофільних ядер, які мали овальну форму. Між кардіоміоцитами визначалися довгасті гіперхромні ядра ендотелію капілярів (рис. 6.9, А), які часто були заповнені форменими елементами крові. Поряд з цим спостерігалися помірно виражені перикапілярні і інтерстиціальні набряки. У сполучній тканині міокарда при забарвленні пікрофуксином по Ван Гізон на ділянках біля судин виявлялися грубі пучки колагенових волокон – свідцтво периваскулярного склерозу (рис. 6.9, Б).

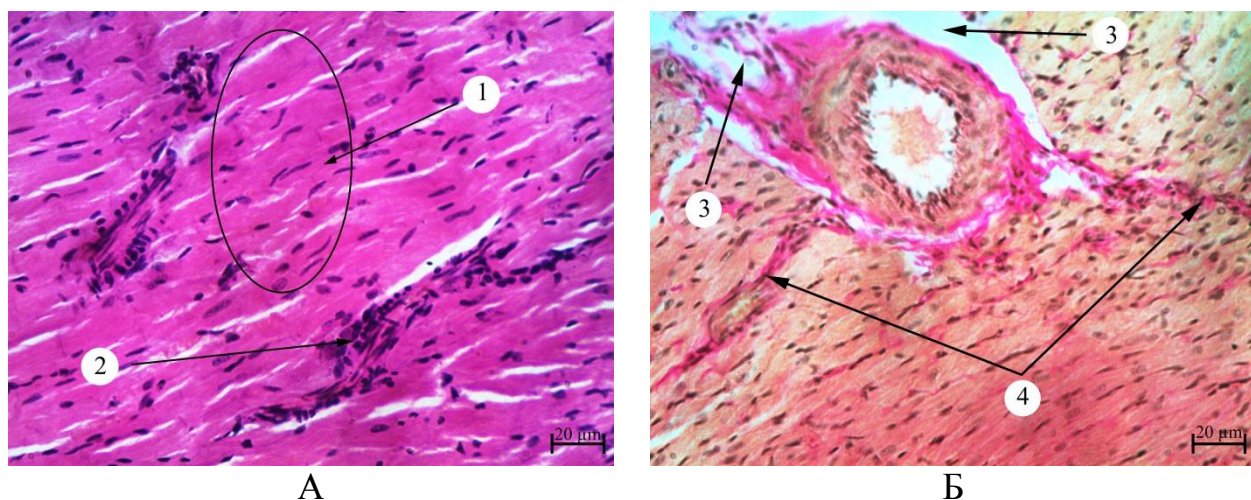


Рис. 6.9. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 30 добу після 9 сеансів РЕХВ: А – пучки кардіоміоцитів з овальними світлими ядрами (1), гіперхромні ядра (2) ендотелію капілярів. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 400$; Б – периваскулярні набряк (3) і склероз (4). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

При забарвленні масляним червоним в цитоплазмі кардіоміоцитів виявлялося найменше (пиловидне) осередкове накопичення ліпідів, про що свідчило рожеве забарвлення деяких ділянок міокарда (рис. 6.10).

У міокарді старих щурів з АО на 7 добу після 9 сеансів РЕХВ, відзначався набряк і ознаки порушеного кровообігу: капіляри були суцільно заповнені еритроцитами, а в більших кровоносних судинах виявлялися тромби. У стоншених кардіоміоцитах з дрібними гіпохромними ядрами була відсутня поперечна смугастість. Відзначалися осередки периваскулярного набряку і

поодинокі лімфо-гістіоцитарні інфільтрати (рис. 6.11, А), а також – дифузний кардіосклероз (рис. 6.11, Б).

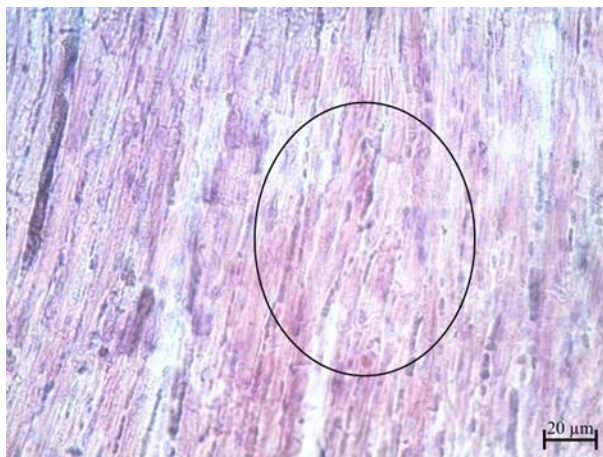


Рис. 6.10. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 30 добу після РЕХВ: найменше (пиловидне) осередкове накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів (рожеве забарвлення). Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

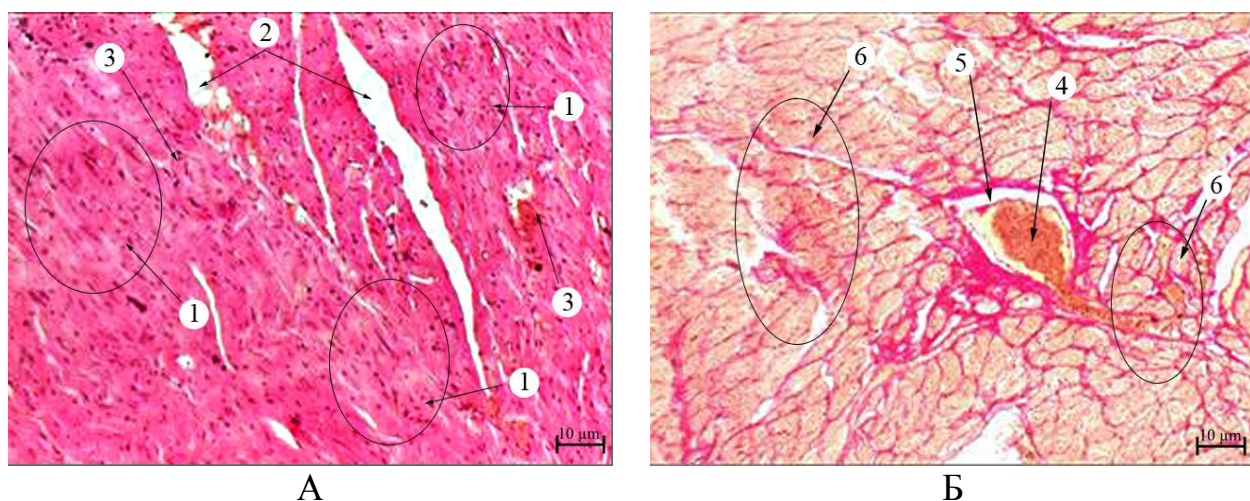


Рис. 6.11. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з АО на 7 добу після 9 сеансів РЕХВ: А – пучки кардіоміоцитів з дрібними гіпохромними ядрами (1) без поперечної смугастості, розриви і осередки периваскулярного набряку (2), поодинокі лімфо-гістіоцитарні інфільтрати (3). Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 200$; Б – тромб в венозній судині (4), периваскулярний набряк (5), дифузний кардіосклероз (6). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 200$.

При забарвленні масляним червоним в міокарді старих щурів так само виявлялася жирова дистрофія: пиловидне і дрібно-крапельне осередкове накопичення ліпідів в цитоплазмі стоншених атрофованих кардіоміоцитів по ходу капілярів і дрібних вен (рис. 6.12).

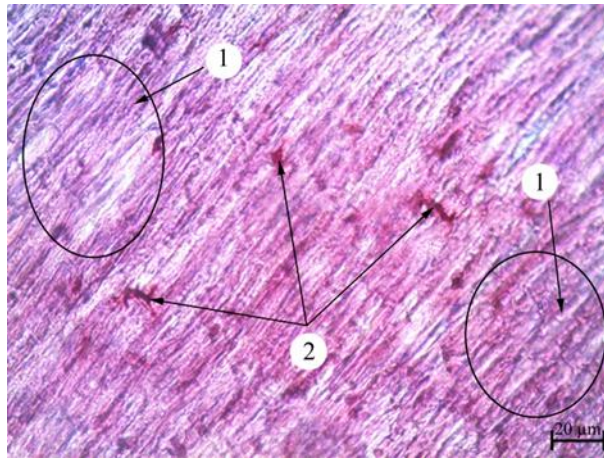


Рис. 12. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з моделлю АО на 7 добу після РЕХВ: пиловидне (1) і дрібно-крапельне осередкове накопичення ліпідів (2) в цитоплазмі стоншених кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Гістологічна картина міокарда старих щурів з моделлю АО через 30 днів після РЕХВ була представлена більш вираженою гіпертрофією кардіоміоцитів, розростанням інтерстиціальної і периваскулярної сполучної тканини (рис. 6.13, Б) і низькою щільністю клітин фібробластичного ряду, присутніх в ній. Виявлявся інтерстиціальний набряк, місцями зникала поперечна смугастість, при цьому саркоплазма кардіоміоцитів набувала зернистого вигляду, їх ядра були гіперхромними, зменшеними в розмірах. Це свідчило про первинну дегенерацію і часткову загибель кардіоміоцитів, що супроводжувалося колапсом строми і відповідною реакцією у вигляді інтерстиціального набряку і нерівномірної гіпертрофії м'язових волокон. У міокарді виявлялися застійні явища і крововиливи, які призводили до зниження в ньому кровопостачання і обміну речовин, внаслідок чого з'являлися дистрофічні зміни в м'язовій тканині серця (рис. 6.13, А). Виявлялися ділянки з тонкими м'язовими волокнами, які мали звивисту форму. Забарвлення пікрофуксином демонструвало розростання інтерстиціальної сполучної тканини і інтерстиціальний набряк (рис. 6.13, Б).

При забарвленні масляним червоним в цитоплазмі стоншених кардіоміоцитів виявлялося пиловидне, дрібно-крапельне і рідко – крупно-крапельне осередкове накопичення ліпідів, яке мало тенденцію до зниження в порівнянні з попереднім терміном спостереження (рис. 6.14).

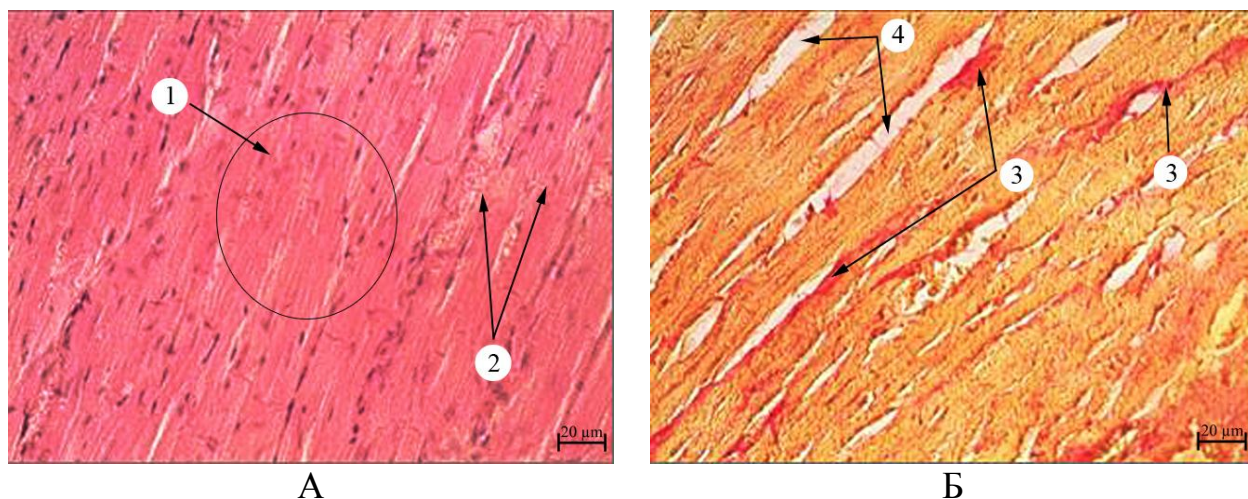


Рис. 6.13. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з АО на 30 добу після 9 сеансів РЕХВ: А – нерівномірна гіпертрофія м'язових волокон (1), застійні явища і крововиливи (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$; Б – розростання інтерстиціальної сполучної тканини (3), інтерстиціальний набряк (4). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

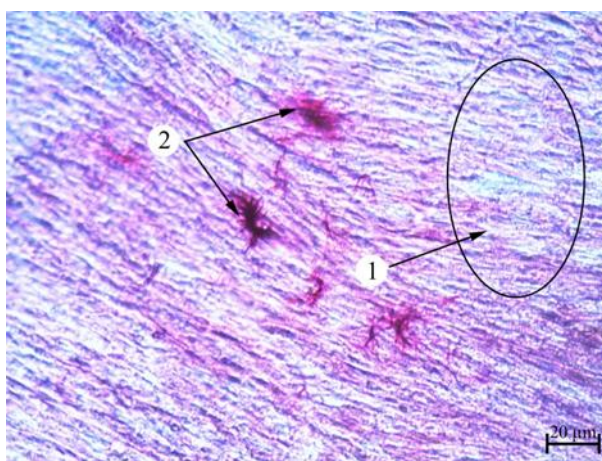


Рис. 6.14. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з АО на 30 добу після РЕХВ: пиловидне (1), дрібно- і крупно-крапельне осередкове накопичення ліпідів (2) в цитоплазмі стоншених кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Таким чином, застосування РЕХВ мало позитивну дію на морфологічну структуру міокарда молодих і старих щурів з АО. Це виражалось в підвищенні трофіки тканини міокарда за рахунок збільшення числа капілярів, зменшення інтерстиціальних набряків і осередків кардіосклерозу, особливо у віддалені терміни спостереження (на 30 добу). Підтвердженням цьому слугує виявлення ліпідозу за допомогою забарвлення масляним червоним, який як у молодих, так і у старих тварин знижувався і набував рис зворотного процесу.

6.3. Структурна організація міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння після введення кріоконсервованих ядромісних клітин кордової крові

При гістологічному дослідженні міокарда молодих щурів з моделлю АО через 7 днів після введення кЯВК КК було виявлено щільне розташування м'язових волокон і тонкі прошарки інтерстиціальної сполучної тканини, в якій розташовувалися численні капіляри і дрібні судини, заповнені кров'ю (рис. 6.15, А).

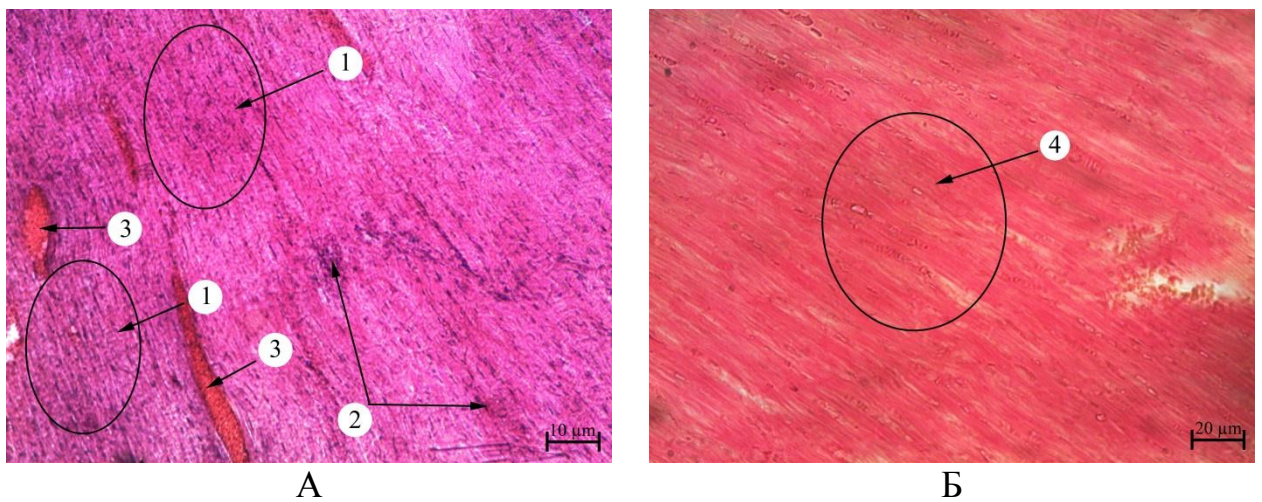


Рис. 6.15. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 7 добу після введення кЯВК КК: А – фібробласти (1) і знов сформовані капіляри (2) між пучками кардіоміоцитів, дрібні судини заповнені кров'ю (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$; Б – ніжні колагенові волокна рожевого кольору (4) в інтерстиціальній сполучній тканині уздовж м'язових волокон. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

Спостерігалось збільшення кількості та розмірів ядер кардіоміоцитів, їх поліморфізм (округлі, паличкоподібні, значно витягнуті). При забарвленні пікрофуксином по Ван Гізон в інтерстиціальній сполучній тканині міокарда ніжні колагенові волокна рожевого кольору розташовувалися уздовж м'язових волокон (рис. 6.15, Б).

Морфологічні ознаки інтерстиціального набряку і кардіосклерозу на цих ділянках були виражені слабо. Однак зустрічалися ділянки і з більш вираженим інтерстиціальним набряком (рис. 6.16, А).

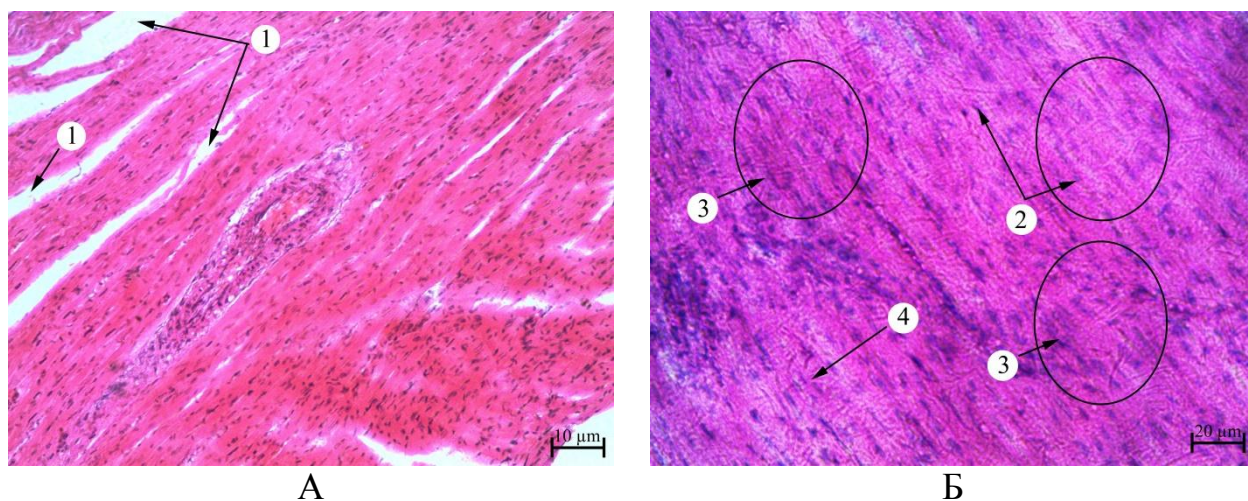


Рис. 6.16. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 7 добу після введення КЯВК КК: А – ділянки з більш вираженим інтерстиціальним набряком (1); Б – ділянки з фрагментованими м'язовими волокнами (2), окремі волокна з підвищеною еозинофілією (3), поліморфізм ядер кардіоміоцитів (4). Зabarвлення гематоксиліном і еозином, А – $\times 200$, Б – $\times 400$.

Спостерігалися ділянки з фрагментованими м'язовими волокнами, а також окремі волокна з підвищеною еозинофілією, проте вони зустрічалися рідше в порівнянні з групою РЕХВ на даний термін дослідження. Крім цього, на таких ділянках відзначалася підвищена щільність фібробластів, як в інтерстиціальній сполучній тканині, так і навколо кровоносних судин, що є морфологічною ознакою неоангіогенезу (рис. 6.16, Б).

Жирова дистрофія міокарда, що виявляється при забарвленні масляним червоним, знаходилася у вигляді пилоподібного і дрібно-крапельного осередкового накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів по ходу венонних капілярів і дрібних вен. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були рожево-червоного кольору (рис. 6.17).

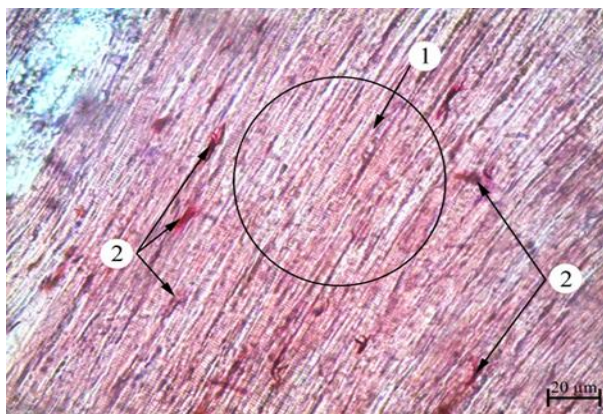
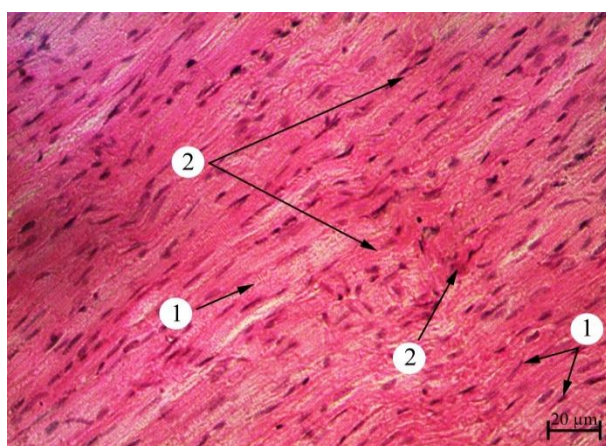
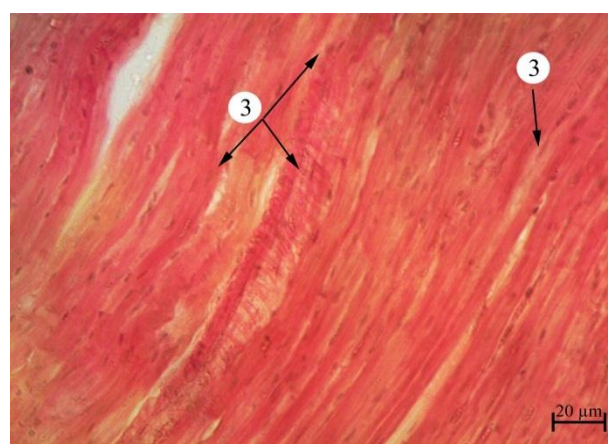


Рис. 6.17. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО на 7 добу після введення кЯВК КК: пиловидне (1) і дрібно-крапельне осередкове накопичення ліпідів (2) в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Гістологічне дослідження міокарда молодих щурів з моделлю АО через 30 днів після введення кЯВК КК виявило тенденцію до нормалізації його морфологічної картини. Проміжки між кардіоміоцитами були заповнені пухкою волокнистою сполучною тканиною (інтерстиціальна сполучна тканина), в якій було добре видно дифузно розташовані фібробласти з щільним базофільним ядром веретеноподібної форми, а також численні капіляри (рис. 6.18, А). Вкрай рідко виявлялися інтерстиціальні набряки.



А



Б

Рис. 6.18. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 30 добу після введення кЯВК КК: А– фібробласти (1) і знов сформовані капіляри (2) між пучками кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 400$; Б – ніжні колагенові волокна рожевого кольору (3) в інтерстиціальній сполучній тканині уздовж м'язових волокон. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

Кардіоміоцити мали овальні або видовжені базофільні ядра, еозинофільна цитоплазма кардіоміоцитів забарвлювалася рівномірно. На поздовжньо орієнтованих м'язових волокнах чітко розрізнялася поперечна смугастість кардіоміоцитів. Ендотелій судин був представлений ендотеліоцитами зі сплющеною формою та витягнутими ядрами. При забарвленні пікрофуксином по Ван Гізон в інтерстиціальній сполучній тканині міокарда виявлялися тонкі колагенові волокна рожевого кольору, розташовані уздовж м'язових волокон (рис. 6.18, Б). Навколо судин розташовувалися пучки колагенових волокон, що були орієнтовані концентрично.

При забарвленні зрізів міокарда масляним червоним в цитоплазмі кардіоміоцитів виявлялося пиловидне і дрібно-крапельне осередкове накопичення ліпідів по ходу венозних капілярів і дрібних вен, що свідчило про порушення обміну нейтральних жирів, тобто про жирову дистрофію міокарда. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були рожево-червоного кольору (рис. 6.19).

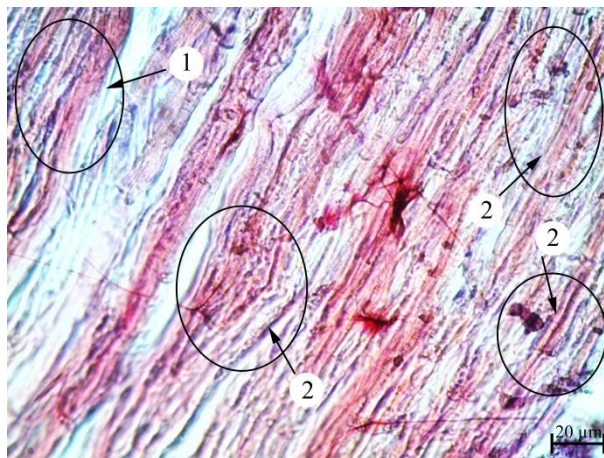


Рис. 6.19. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО на 30 добу після введення кЯВК КК: жирова дистрофія у вигляді пилоподібного (1) і дрібно-крапельного осередкового накопичення ліпідів (2) в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Гістологічне дослідження міокарда старих щурів з моделлю АО на 7 добу після введення кЯВК КК виявило перебудови, що відрізняються від гістологічної картини міокарда групи старих тварин після впливу РЕХВ. В кардіоміоцитах спостерігалася гіпертрофія м'язових волокон, місцями була відсутня поперечна

смугастість. Менш виражені зміни в міокарді тварин після введення кЯВК КК пов'язані зі станом капілярів, які були лише місцями дещо розширені і заповнені еритроцитами. Відзначалися осередки периваскулярного набряку, однак лімфогістіоцитарних інфільтратів в тканині міокарда на відміну від попередньої групи тварин не спостерігалось. У щурів досліджуваної групи на тлі введення кЯВК КК виявлена тенденція до зниження кількості ядер кардіоміоцитів (рис. 6.20, А). Всі великі судини були повнокровні, характеризувалися нормальною формою просвіту, рівномірно потовщеними стінками. Навколо судин виявлялися слабкий периваскулярний набряк і помірний кардіосклероз (рис. 6.20, Б).

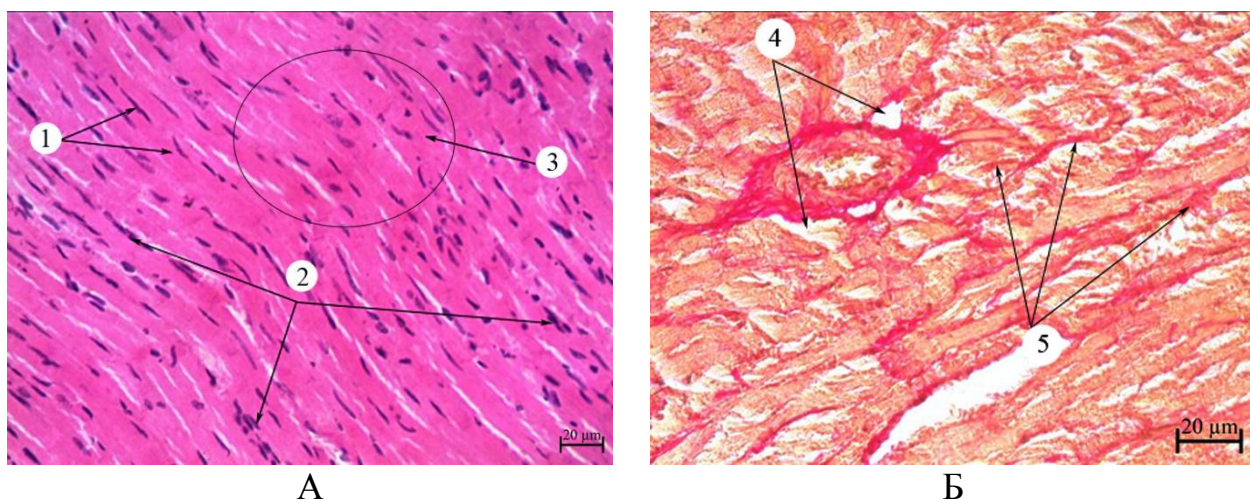


Рис. 6.20. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з АО на 7 добу після введення кЯВК КК: А – між пучками кардіоміоцитів фібробласти (1) і знов сформовані капіляри (2), гіпертрофія м'язових волокон (3), зниження кількості ядер кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$; Б – помірні периваскулярний набряк (4) і кардіосклероз (5). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

Виявлена при забарвленні масляним червоним жирова дистрофія міокарда (ліпідоз), яка свідчить про порушення обміну тригліцеридів (нейтральних жирів), виявлялася у вигляді пилоподібного і дрібно-крапельного осередкового накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів по ходу венозних капілярів і дрібних вен. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були рожево-червоного кольору (рис. 6.21).

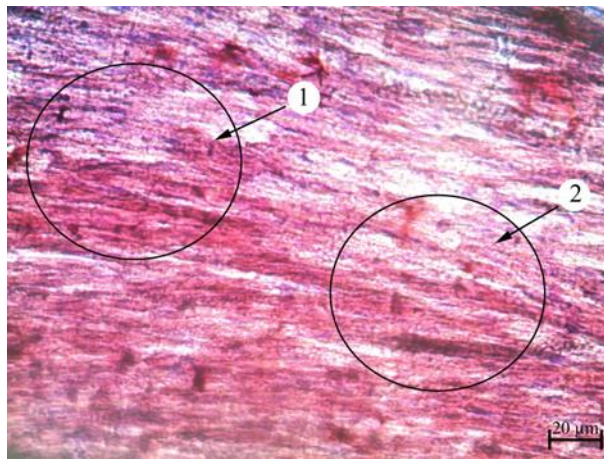


Рис. 6.21. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з моделлю АО на 7 добу після введення кЯВК КК: пиловидне (1) і дрібно-крапельне осередкове накопичення ліпідів (2) в їх цитоплазмі. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

У гістологічній картині міокарда старих щурів з моделлю АО через 30 дів після введення кЯВК КК щодо попереднього терміну спостереження виявлена тенденція до зниження кількості ядер кардіоміоцитів і менш виражені зміни, пов'язані зі станом капілярів, які були лише місцями дещо розширені і заповнені еритроцитами (рис. 6.22, А).

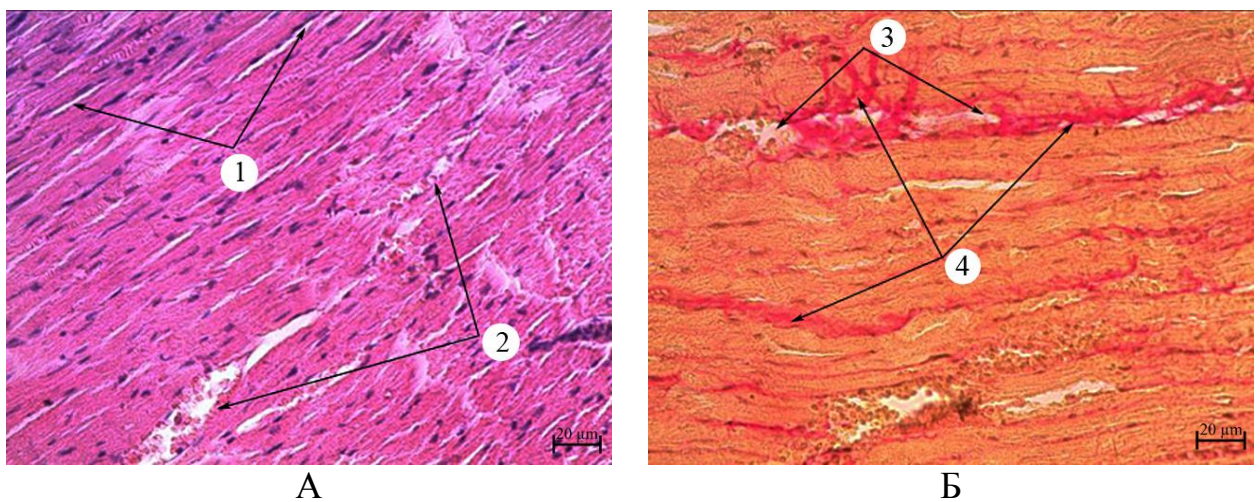


Рис. 6.22. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з АО на 30 добу після введення кЯВК КК: А – фібробласти (1) і знов сформовані капіляри (2), заповнені кров'ю, між пучками кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 400$; Б – помірний периваскулярний набряк (3) і кардіосклероз (4). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

Відзначалися осередки периваскулярного набряку, однак лімфо-гістіоцитарних інфільтратів в тканині міокарда виявлено не було. Всі великі

судини були повнокровні, характеризувалися нормальною формою просвіту, рівномірно потовщеними стінками. Навколо судин виявлялися помірний периваскулярний набряк і кардіосклероз (рис. 6.22, Б).

При забарвленні масляним червоним виявлялося накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів у вигляді пилоподібного, дрібно-, середньо- і крупно-крапельних осередкових включень ліпідів по ходу венозних капілярів і дрібних вен, що свідчило про наявність жирової дистрофії міокарда. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були рожево-червоного кольору (рис. 6.23).

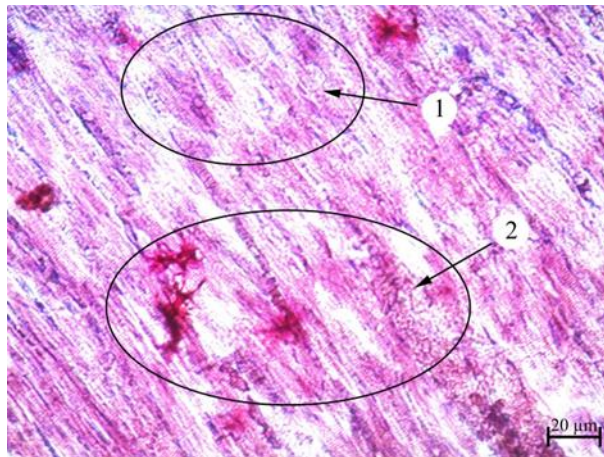


Рис. 6.23. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з моделлю АО на 30 добу після введення кЯВК КК: жирова дистрофія у вигляді пилоподібного (1) і краплинного осередкового накопичення ліпідів (2) в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Таким чином, після введення кЯВК КК в міокарді молодих і старих щурів з моделлю АО виявлено перебудови, що відрізнялися від гістологічної картини міокарда групи тварин після впливу РЕХВ. В кардіоміоцитах спостерігалася гіпертрофія м'язових волокон, місцями була відсутня поперечна смугастість. Менш виражені зміни в міокарді тварин після введення кЯВК КК пов'язані зі станом капілярів, які були лише місцями дещо розширені і заповнені еритроцитами. Лімфо-гістіоцитарних інфільтратів в тканині міокарда виявлено не було. Всі великі судини були повнокровні, характеризувалися нормальною формою просвіту та рівномірно потовщеними стінками. Навколо судин виявлялися помірний периваскулярний набряк і кардіосклероз. При забарвленні гістологічних препаратів масляним червоним виявлено зниження ступеня жирової

дистрофії міокарда, як у молодих, так і у старих тварин протягом місяця після введення кЯВК КК.

6.4. Гістологічні зміни структури міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння на тлі поєднаного застосування ритмічного екстремального охолодження і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

При гістологічному дослідженні міокарда молодих щурів з моделлю АО через 7 днів після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК було виявлено, що м'язові волокна мали відносно рівномірну товщину, гілкувалися і утворювали між собою анастомози, формуючи щільну мережу, характерну для серцевого м'яза в нормі, проте поперечна смугастість кардіоміоцитів місцями була відсутня. В тонких прошарках інтерстиціальної сполучної тканини спостерігалася проліферація фібробластів (рис. 6.24, А), яка свідчила про ангиогенез, а також виявлялося дифузне поширення гістіоцитів.

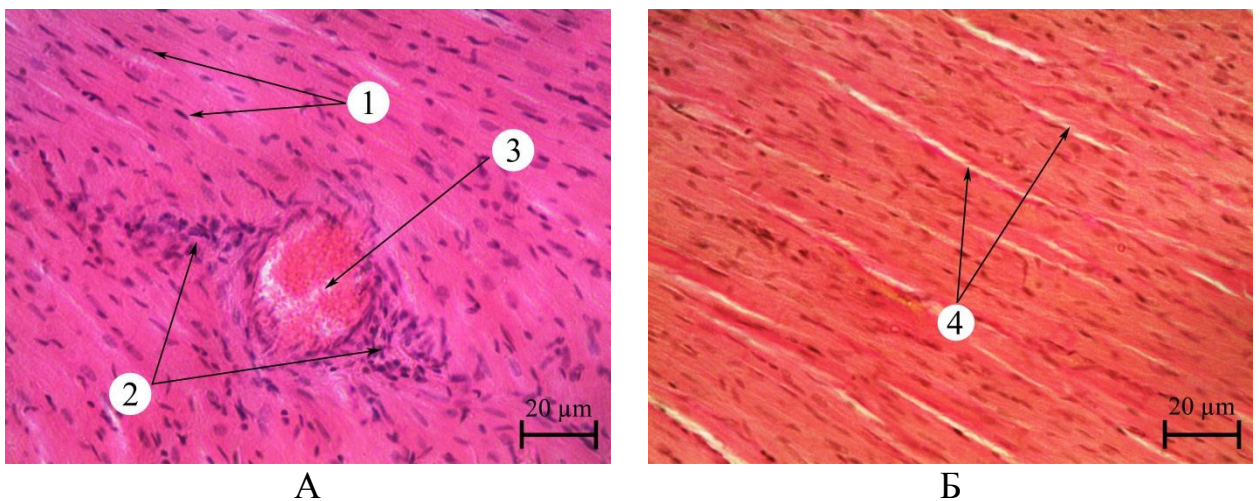


Рис. 6.24. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 7 добу після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК: А – між пучками кардіоміоцитів фібробласти (1) і знов сформовані капіляри (2), дрібні судини заповнені кров'ю (3). Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 400$; Б – ніжні колагенові волокна (4) інтерстиція (рожевого кольору) між м'язовими волокнами. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

Ознаки інтерстиціального набряку і кардіосклерозу були відсутні. У той же час спостерігалось повнокров'я судин. При забарвленні пікрофуксином по Ван Гізон було видно поширення в міокарді тонких колагенових волокон інтерстиціальної тканини, яке підтверджувало утворення нових капілярів (рис. 6.24, Б).

Жирова дистрофія міокарда, що виявлялася при забарвленні масляним червоним, була представлена у вигляді пилоподібного накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів, мала зворотний характер. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були блідо рожевого кольору (рис. 6.25).

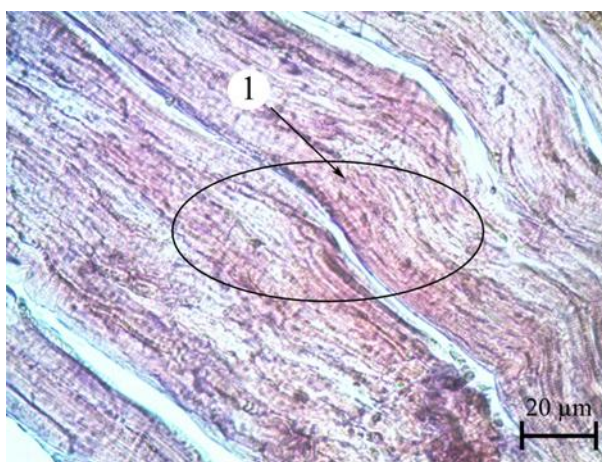


Рис. 6.25. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО на 7 добу після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК: пиловидне накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Гістологічне дослідження міокарда молодих щурів з моделлю АО через 30 днів після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК виявило стійку тенденцію до нормалізації його морфологічної структури. Проміжки між кардіоміоцитами з виразною поперечною смугастістю були заповнені пухкою волокнистою сполучною тканиною. У ній виявлялися дифузно розташовані фібробласти з щільним ядром веретеноподібної форми, а також численні капіляри, заповнені форменими елементами крові, що свідчило про порушення кровообігу. Рідко виявлялися інтерстиціальні набряки. Кардіоміоцити мали світлі овальні або дещо довгасті базофільні ядра, кількість яких була збільшена (рис. 6.26, А). Цитоплазма кардіоміоцитів була еозинофільною і забарвлювалася рівномірно. Ендотелій судин був представлений ендотеліоцитами сплющеної форми з витягнутими

ядрами. При забарвленні пікрофуксином по Ван Гізон в інтерстиції міокарда виявлялися зрілі колагенові волокна яскраво рожевого кольору, розташовані уздовж м'язових волокон (рис. 6.26, Б). Навколо судин розташовувалися пучки колагенових волокон, що були орієнтовані концентрично.

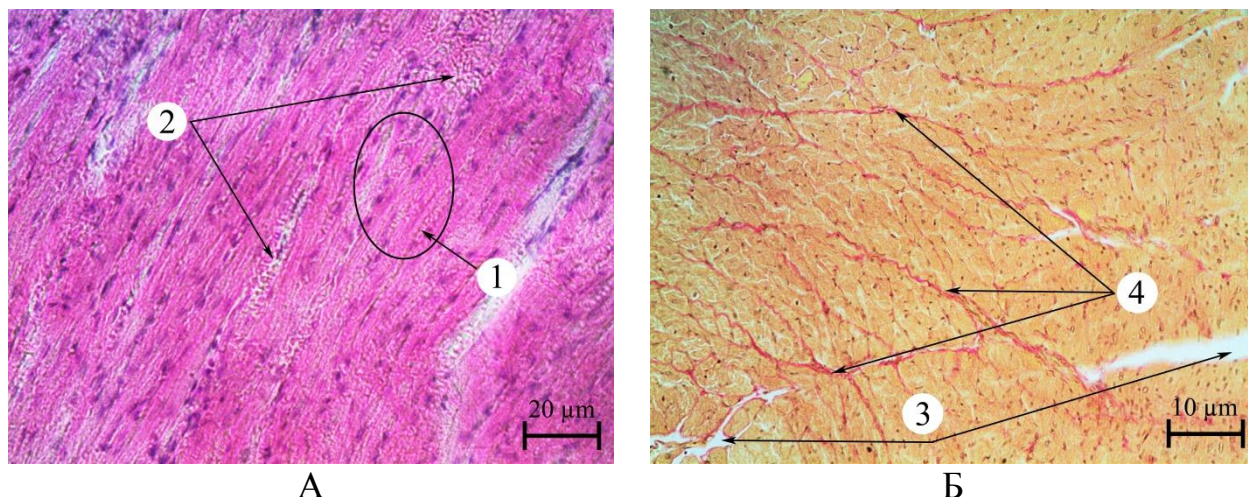


Рис. 6.26. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з АО на 30 добу після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК: А – кардіоміоцити з поперечною смугастістю і збільшеною кількістю світлих ядер (1), численні капіляри, заповнені форменими елементами крові (2). Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 400$; Б – помірні інтерстиціальний набряк (3) і кардіосклероз (4). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 200$.

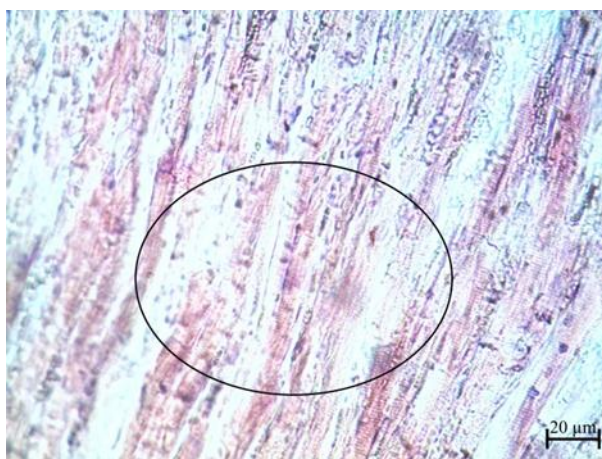


Рис. 6.27. Ділянки ЛШ міокарда молодих щурів з моделлю АО на 30 добу після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК: пилонидне накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

При забарвленні масляним червоним виявлялася жирова дистрофія міокарда, яка мала зворотний характер, тому що виявлялася у вигляді

найдрібнішого (пилоподібного) накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були блідо рожевого кольору (рис. 6.27).

При гістологічному дослідженні міокарда старих щурів з моделлю АО на 7 добу після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК виявлялися перебудови, які були схожі з гістологічною картиною міокарда групи старих тварин після самостійного введення кЯВК КК в даний термін спостереження. Відзначалася помірна гіпертрофія кардіоміоцитів з місцями відсутньої поперечної смугастості, капіляри були лише місцями дещо розширені і заповнені еритроцитами. Виявлено тенденцію до зниження кількості ядер кардіоміоцитів. Спостерігалися підвищена кількість фібробластів і дифузне поширення гістіоцитів (рис. 6.28, А). Великі судини були повнокровні, характеризувалися нормальною формою просвіту і рівномірно потовщеними стінками. Навколо судин виявлялися слабкий периваскулярний набряк і слабкий кардіосклероз (рис. 6.28, Б).

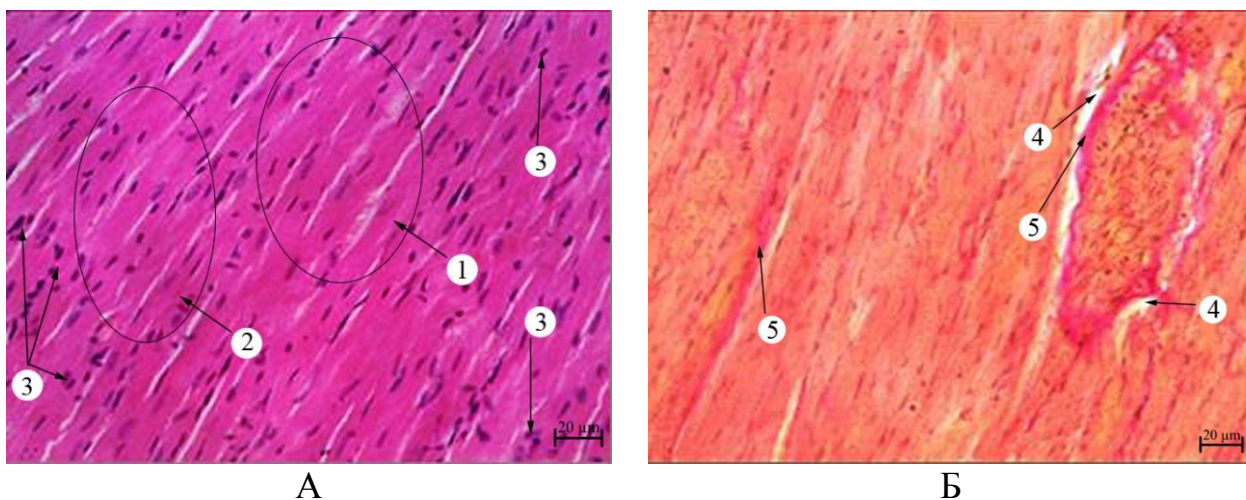


Рис. 6.28. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з АО на 7 добу після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК: А – помірна гіпертрофія кардіоміоцитів (1), підвищена кількість фібробластів (2) і дифузне поширення гістіоцитів (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$; Б – слабкий периваскулярний набряк (4) і слабкий кардіосклероз (5). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

Виявлений при забарвленні масляним червоним ліпідоз міокарда, був представлений у вигляді пилоподібного накопичення ліпідів в цитоплазмі

кардіоміоцитів по ходу венозних капілярів і дрібних вен. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були блідо рожевого кольору (рис. 6.29).

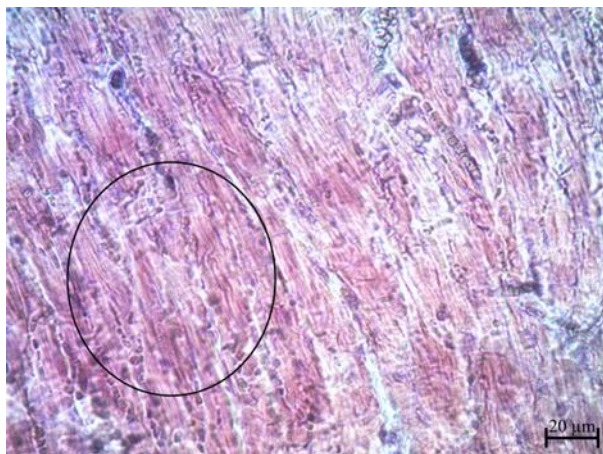


Рис. 6.29. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з моделлю АО на 7 добу після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК. Пиловидне накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

При гістологічному дослідженні міокарда старих щурів з моделлю АО через 30 діб після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК було виявлено, що в інтерстиції і периваскулярно відзначався помірний набряк і порушення кровообігу, численні капіляри були заповнені еритроцитами (рис. 6.30, А).

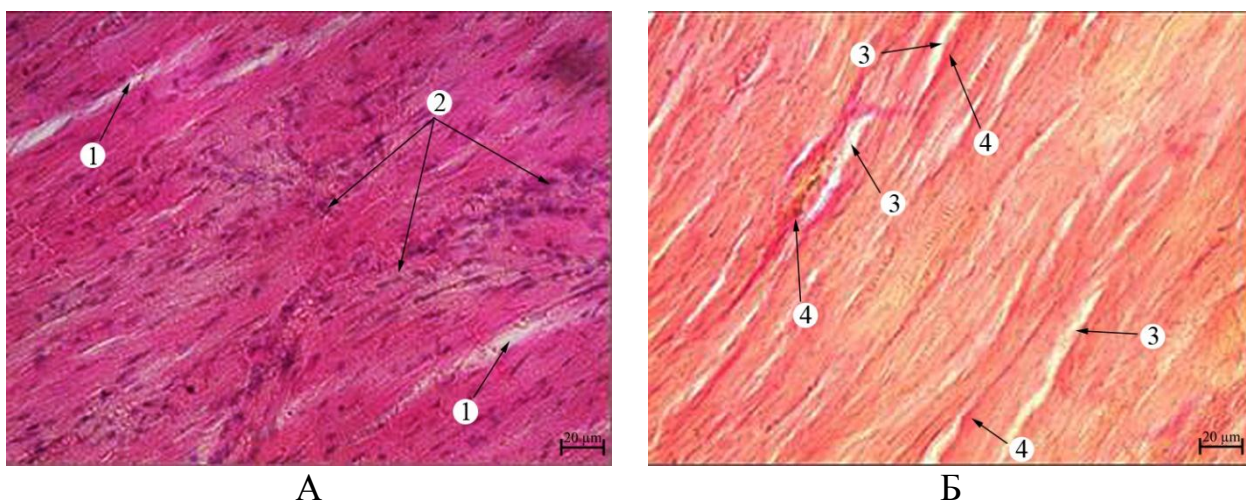


Рис. 6.30. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з АО на 30 добу після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК: А – помірний набряк (1) і порушення кровообігу, численні капіляри заповнені еритроцитами (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$; Б – помірні інтерстиціальний набряк (3) і кардіосклероз (4). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$.

В кардіоміоцитах місцями була відсутня поперечна смугастість, спостерігався каріопікноз. Відзначалися осередки помірного кардіосклерозу (рис. 6.30, Б). Кількість і площа ядер кардіоміоцитів знижувалися в порівнянні з попереднім терміном спостереження.

Жирова дистрофія міокарда, що виявлялася при забарвленні масляним червоним, цілком ймовірно мала зворотний характер, тому що була представлена у вигляді найдрібнішого накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. Включення ліпідів при забарвленні масляним червоним були блідо рожевого кольору (рис. 6.31).

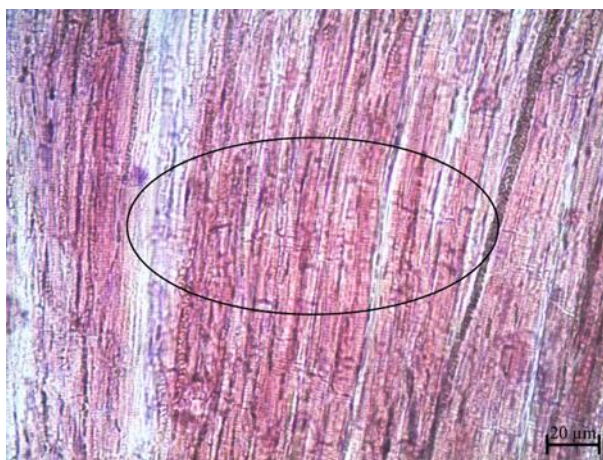


Рис. 6.31. Ділянки ЛШ міокарда старих щурів з моделлю АО через 30 діб після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК: пиловидне накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Таким чином, аналізуючи дані гістологічного дослідження міокарда молодих і старих тварин з моделлю АО різних експериментальних груп в динаміці, можна прийти до наступного висновку. Поєдане застосування кЯВК КК і РЕХВ більш ефективно, ніж окреме застосування РЕХВ або кЯВК КК у тварин як молодого віку, так і в процесі старіння, хоча із застосуванням кЯВК КК воно більш зіставне. Сумісне використання РЕХВ і кЯВК КК збільшує компенсаторні можливості міокарда тварин з АО, перешкоджаючи ішемії, некрозу і кардіосклерозу за рахунок поліпшення кровообігу, а значить трофіки міокарда і повноцінного обміну речовин. Це дозволяє зберігати не тільки у молодих, але особливо у старих тварин підвищену кількість кардіоміоцитів, а

також забезпечувати їх потреби при гіпертрофії міокарда, яка безпосередньо пов'язана з АО.

Виявлене при забарвленні гістологічних препаратів масляним червоним зниження ступеня жирової дистрофії міокарда служить доказом позитивного ефекту поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК при АО у щурів. При цьому ліпідоз як у молодих, так і у старих тварин протягом місяця після застосування поєданого впливу знижувався настільки, що набував риси зворотного процесу.

За матеріалами розділу 6 опубліковані роботи [316, 317, 319, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387].

РОЗДІЛ 7

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ПЕРЕБУДОВИ ТКАНИН І СУДИН МІОКАРДА МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЮ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ ПІСЛЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХОЛОДОВИХ ВПЛИВІВ (-120°C), ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ

7.1. Субмікроскопічна організація тканин і судин міокарда молодих і старих щурів

Ультраструктурна організація кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих контрольних щурів свідчила про високу метаболічну активність цих клітин. Ядра кардіоміоцитів мали витягнуту форму і типову локалізацію в саркоплазмі, осередки розпушення і лізису були відсутні. Ядерний хроматин перебував переважно в деконденсованій формі, його гранули рівномірно розподілялися по площі зрізу ядра. Спостерігався поліморфізм форм і розмірів мітохондрій. Одні містили нерівномірно контрастований матрикс, інші – електронно-щільний з численними кристами (рис. 7.1, А). Окремі кардіоміоцити мали мітохондрії, що знаходяться в стадії поділу, про що свідчила їх «гантелевидна» форма і перетяжки. Включення ліпідів і ліпофусцину, а також вторинні лізосоми в саркоплазмі кардіоміоцитів виявлялися рідко.

Субмікроскопічна архітектоніка ендотеліальних клітин мала типову організацію (рис. 7.1, Б). Ядерна мембрана ендотеліоцитів утворювала безліч глибоких і дрібних інвагінацій. Велика частина хроматину ядра знаходилася в конденсованому стані. В цитоплазмі, розташовувалися дрібні мітохондрії, сплющені цистерни шорсткого ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР), пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі, а також численні полісоми і рибосоми. Деструктивні порушення внутрішньоклітинних органел були відсутні.

У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлялася велика кількість мікропіноцитозних бульбашок.

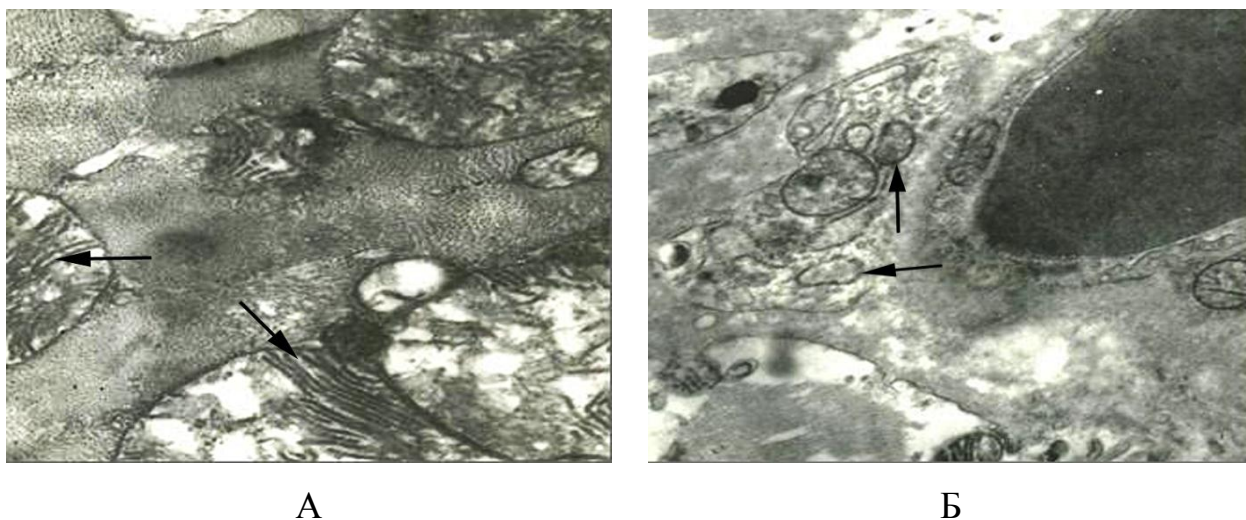


Рис. 7.1. Ультраструктура кардіоміоцитів (А) і ендотеліоцитів (Б) кровоносних капілярів міокарда молодих щурів: А – електронно-щільний матрикс мітохондрій з численними кристами. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 37\ 000$; Б – дрібні мітохондрії. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 52\ 000$.

Ядра кардіоміоцитів контрольних старих щурів мали округлу, злегка витягнуту форму. Ядерний хроматин знаходився в конденсованому стані, його грудочки рівномірно розподілялися по площі зрізу ядра. У саркоплазмі були присутні ліпідні включення і вторинні лізосоми (рис. 7.2, А). Зустрічалися мітохондрії з просвітленим, майже електронно-прозорим матриксом, що містить досить численні кристи. Однак значна їх кількість піддавалася локальним процесам дегенерації. У матриксі утворювалися електронно-прозорі порожнини, оточені елементарною мембраною. В скупченнях мітохондрій, крім органел з дегенеративними змінами, порівняно часто виявлялися мітохондрії з завихреними кристами (рис. 7.2, Б).

Ядра ендотеліальних клітин мали неправильну форму, а ядерна мембрана утворювала глибокі інвагінації. Мітохондрії сильно набрякали, спостерігалася локальне розривання зовнішніх мембран і крист мітохондрій. Цистерни шорсткого ЕПР значно розширювалися. Кількість рибосом в цитоплазмі зменшувалася в порівнянні з групою молодих контрольних тварин. У цитоплазмі окремих ендотеліоцитів виявлялися вторинні лізосоми і дрібні включення ліпідів.

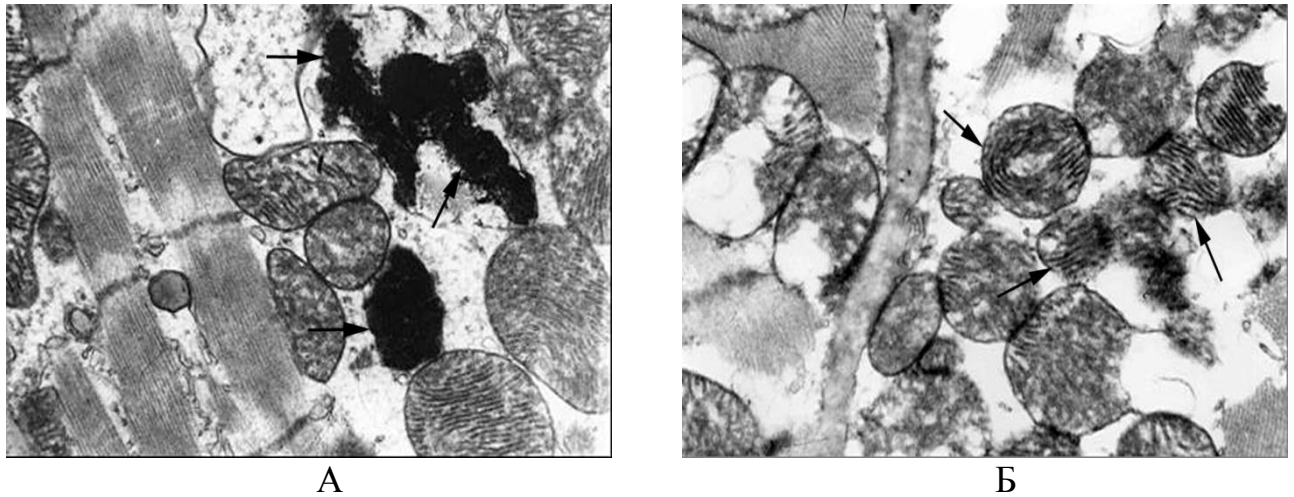


Рис 7.2. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих контрольних щурів: А – включення ліпідів і ліпофусцину в саркоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 45\ 000$; Б – мітохондрії з завихреними кристами. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 40\ 000$.

Таким чином, виявлені при електронно-мікроскопічному дослідженні деструктивно-дистрофічні перебудови мітохондрій старих контрольних щурів свідчили про зниження скорочувальної здатності кардіоміоцитів. Спостерігалася досить висока активність катаболічних процесів, що структурно проявлялося наявністю в саркоплазмі включень ліпідів і ліпофусцину. Для субмікроскопічної архітекtonіки органел ендотеліальних клітин була характерна наявність сильно набряклих мітохондрій з розрихленими зовнішніми мембранами і кристами, що свідчило про розвиток мітохондріальної недостатності.

7.2. Ультраструктурні зміни кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння

В ультраструктурній організації кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з моделлю АО були присутні дистрофічні і деструктивні зміни органел. Матрикс ядер кардіоміоцитів мав низьку електронну щільність. Щодо групи молодих контрольних тварин, зростала кількість грудочок конденсованого хроматину, які концентрувалися в області

саркоплазми, прилеглої до ядерної мембрани. Деконденсований хроматин розташовувався в центральній частині матриксу ядра. Ядерна мембрана утворювала дрібні і глибокі інвагінації. Зустрічалися ядра з тотально зруйнованими ядерними мембранами (рис. 7.3, А). Зміни мітохондрій носили поліморфний характер. Деякі мали електронно-прозорий матрикс, в якому розташовувалися поодинокі, розрихлені кристи, окремі містили укорочені і дезорганізовані кристи.

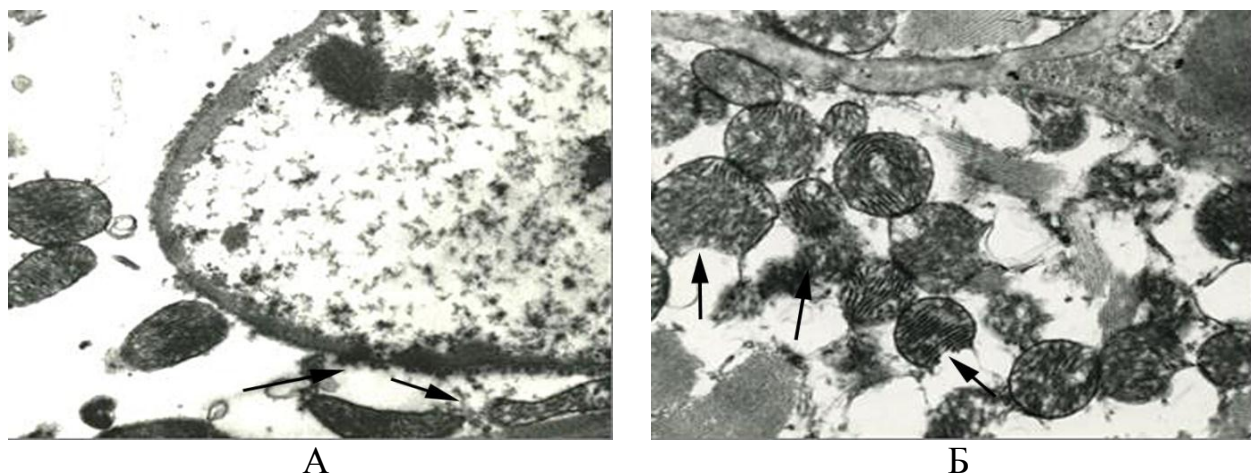


Рис. 7.3. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з моделлю АО: А – тотальне розпушення ядерної мембрани. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 40\ 000$; Б – вогнищевий лізис зовнішніх мембран мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 37\ 000$.

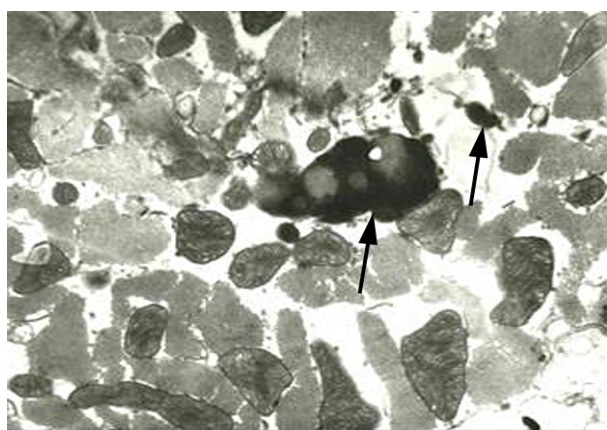
Досить часто виявлялися дегенеративно змінені мітохондрії, з гомогенізованим матриксом і тотально зруйнованими кристами. У саркоплазмі мітохондрій зустрічалися осередки лізису зовнішніх мембран і крист (рис. 7.3, Б). У саркоплазмі кардіоміоцитів були присутні малі й великі включення ліпідів, ліпофусцину і вторинні лізосоми (рис. 7.4, А). Пучки міофібрил зберігали паралельну орієнтацію і поперечну смугастість, проте були стоншені (рис. 7.4, Б).

Ядра ендотеліальних клітин мали неправильну, видовжену форму. Ядерна мембрана була сильно розрихлена і осередково зруйнована. У деяких ендотеліоцитах виявлялися великі осередки лізису ядерної мембрани (рис. 7.5).

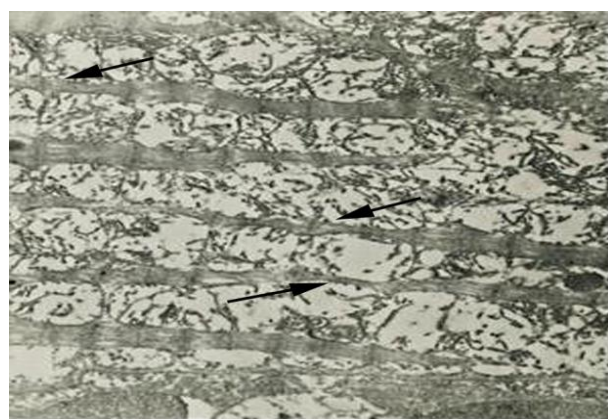
У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлялися поодинокі мікропіноцитозні бульбашки, а в просвіті капілярів групи еритроцитів,

дегенеративно змінені мембрани, органели і осміюфільні конгломерати, ймовірно ліпопротеїнової природи. Мітохондрії містили невелику кількість дезорганізованих крист.

Цистерни шорсткого ЕПР були сильно розширені і заповнені електронно-прозорою субстанцією. Кількість вільних рибосом і полісом в цитоплазмі істотно знижувалась, в порівнянні з групою молодих контрольних тварин. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі піддавався помірній редукції, його гладкі мембрани втрачали паралельну орієнтацію. В області локалізації стопок гладких мембран досить часто виявлялися вторинні лізосоми і включення ліпідів.



А



Б

Рис. 7.4. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з моделлю АО: А – включення ліпідів в саркоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 45\ 000$; Б – витончення міофібрил. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 33\ 000$.

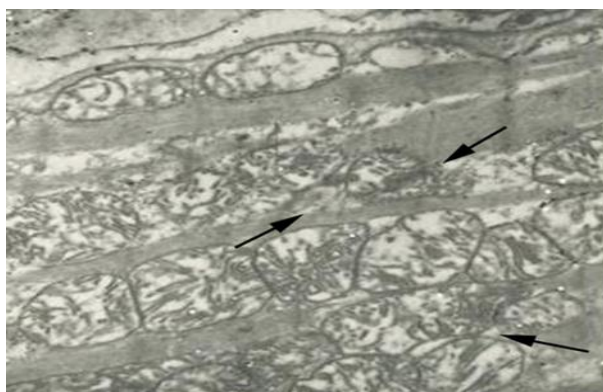


Рис. 7.5. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з моделлю АО. Дрібні осередки лізису саркоплазматичної і цитоплазматичної мембран. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 62\ 000$.

Для субмікроскопічної архітектоніки кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих щурів з моделлю АО, також був характерний розвиток дистрофічних і деструктивних змін органел, однак більш виражений в порівнянні з молодими. Ядра кардіоміоцитів містили в основному конденсований хроматин. Ядерна мембрана втрачала чітко контуровану структуру, мала численні осередки лізису, виглядала розрихленою і потовщеною. Одні мітохондрії мали електронно-щільний матрикс, що містив зруйновані кристи і зовнішню мембрану, інші гігантські – мали електронно-прозорий матрикс і дегенеративно змінені кристи (рис. 7.6, А). Значна кількість мітохондрій вступала в контакт з ліпідними включеннями, де їх зовнішня мембрана піддавалася осередкованому лізису (рис. 7.6, Б).

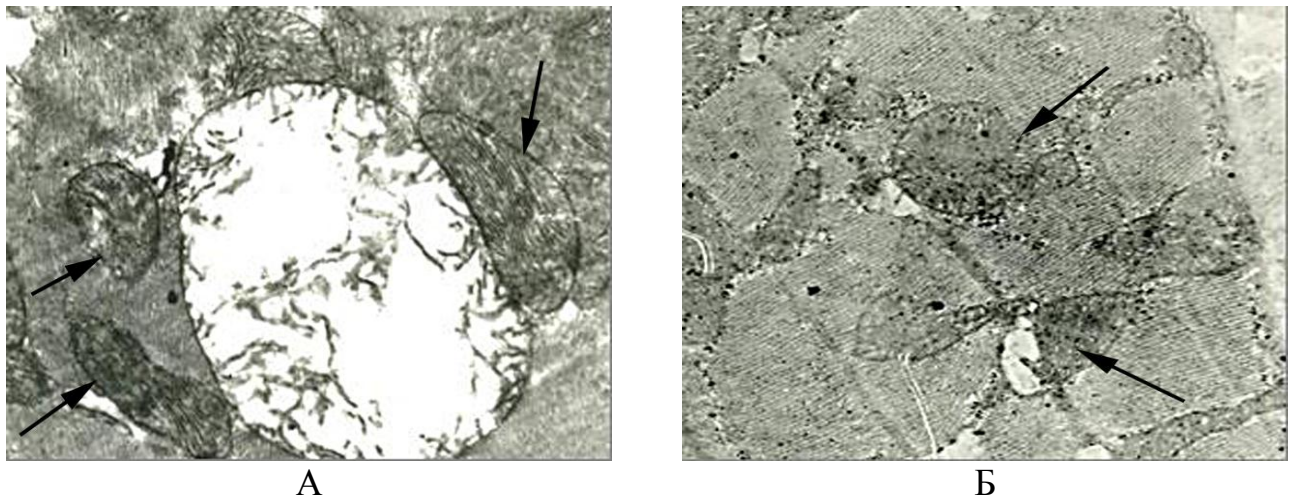
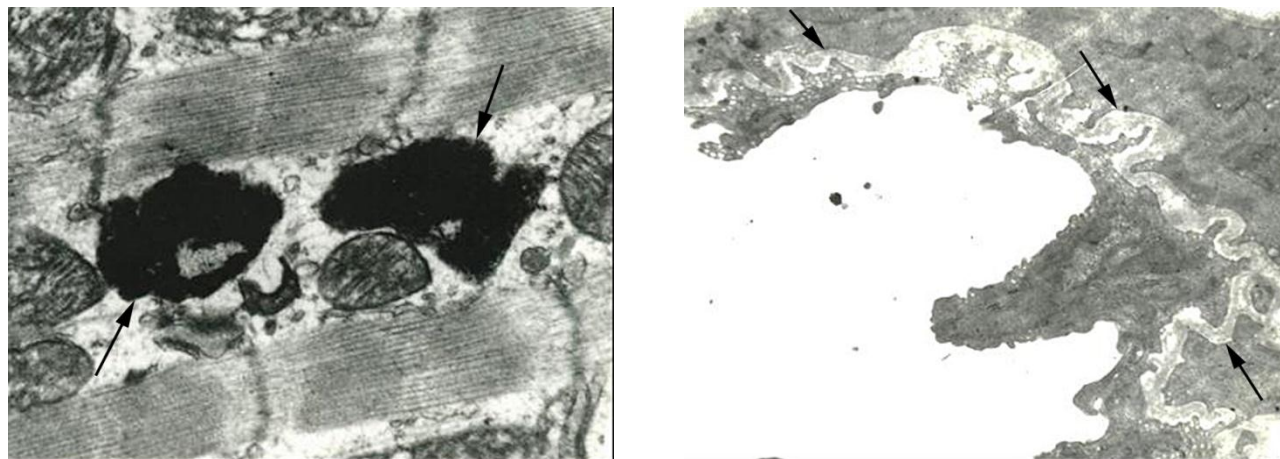


Рис. 7.6. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з моделлю АО: А – гігантські мітохондрії з дегенеративно зміненими кристами. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 38\ 000$; Б – осередковий лізис зовнішніх мембран і крист мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 35\ 000$.

У саркоплазмі переважної кількості кардіоміоцитів виявлялися включення ліпідів (рис. 7.7, А). Ядра ендотеліоцитів кровоносних капілярів мали витягнуту форму. Ядерна мембрана утворювала велику кількість неглибоких інвагінацій. Конденсований хроматин щільним кільцем концентрувався на ядерній мембрані (рис. 7.7, Б).

Мітохондрії були сильно набряклі, кристи в них практично повністю зруйновані, а зовнішні мембрани містили осередки лізису. Гранулярний ЕПР

піддавався фрагментації, на його мембранах були відсутні рибосоми. Гладкі мембрани пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі були дезорганізовані. У цитоплазмі ендотеліоцитів виявлялися включення ліпідів і вторинні лізосоми, а також практично були відсутні мікропіноцитозні бульбашки.



А

Б

Рис. 7.7. Ультраструктура кардіоміоцитів (А) і ендотеліоцитів (Б) кровоносних капілярів міокарда старих щурів з моделлю АО: А – включення ліпідів в саркоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 31\ 000$; Б – конденсація ядерного хроматину. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 38\ 000$.

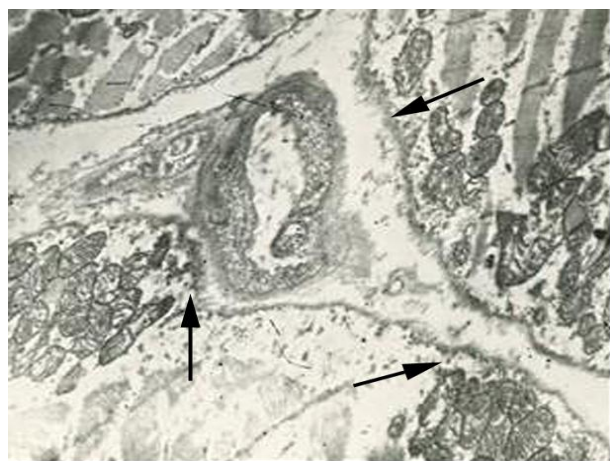
Таким чином, електронно-мікроскопічне дослідження кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з АО встановило наявність яскраво виражених дистрофічних і деструктивних змін їх органел. Розвивалися катаболічні процеси, про що свідчила поява в цитоплазмі великої кількості включень ліпідів, ліпофусцину і вторинних лізосом. Знижувалася метаболічна активність серцевого м'яза в результаті мітохондріальної дисфункції.

7.3. Ультраструктурна організація кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння після ритмічних екстремальних холодкових впливів

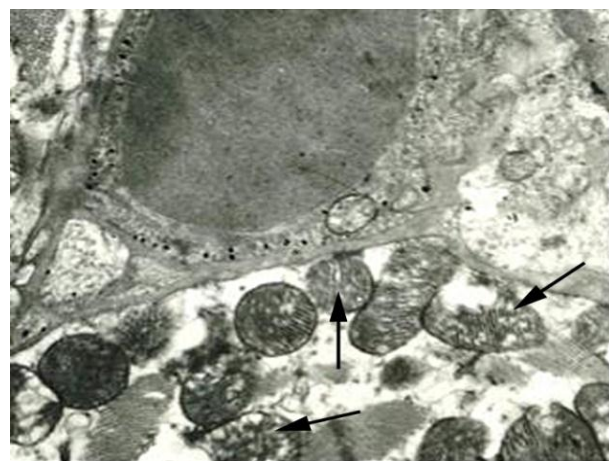
Через тиждень після 9 сеансів РЕХВ, в ультраструктурній організації кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з АО розвивалися слабо виражені

гіперпластичні процеси. Матрикс ядра мав низьку електронну щільність, в саркоплазмі істотно збільшувалося число органел. Зростала кількість мітохондрій і крист в них. Матрикс мітохондрій набував дрібно гранулярну будову і середню електронну щільність. Знижувалася ступінь набухання мітохондрій, зменшувалася кількість осередків лізису зовнішніх мембран і крист. При цьому значна частина мітохондрій зберігала осередкові руйнування зовнішніх мембран і крист. У саркоплазмі кардіоміоцитів зростала кількість вільних рибосом, полісом і гранул глікогену, однак були присутні дрібні включення ліпідів і ліпофусцину, а також вторинні лізосоми. Саркоплазматична мембрана була сильно розрихлена і містила осередки лізису (рис. 7.8, А).

В цитоплазмі ендотеліальних клітин істотно зменшувалася кількість осередків лізису мембранних структур. Ядра ендотеліоцитів містили просвітлений матрикс і переважно конденсований хроматин. Знижувалася ступінь розрихлення ядерної мембрани і кількість осередків її лізису. Мітохондрії мали електронно-прозорий матрикс і дезорганізовані короткі кристи (рис. 7.8, Б). Цистерни шорсткого ЕПР сильно розширювалися. На його мембранах була присутня невелика кількість рибосом і полісом.



А



Б

Рис. 7.8. Ультраструктура кардіоміоцитів (А) і ендотеліоцитів (Б) кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з моделлю АО через тиждень після 9 сеансів РЕХВ: А – осередки розрихлення і лізису мембрани. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 54\ 000$; Б – дезорганізація крист мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 52\ 000$.

Через місяць після 9 сеансів РЕХВ, в ультраструктурній організації органел кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з АО спостерігалися зміни характерні для помірної активації внутрішньоклітинних метаболічних процесів. В ядрах кардіоміоцитів значно зменшувалася ступінь конденсації хроматину, збільшувалася кількість гранул деконденсованого хроматину. Ядерна мембрана набувала чітко контуровану структуру, істотно зростала кількість її дрібних деформацій. Мітохондрії характеризувалися поліморфізмом. Невелика частина з них піддавалася лізису, як зовнішніх мембран, так і крист, в іншій частині мітохондрій збільшувалося число крист, а матрикс набував помірну електронну щільність і дрібнозернисту структуру (рис. 7. 9, А). У саркоплазмі окремих кардіоміоцитів виявлялися форми мітохондрій на стадії поділу, які мали «гантелевидну» форму і перетяжки. Саркоплазматична мембрана була осередково зруйнована і містила множинні дрібні інвагінації (рис. 7.9, Б). Зростала кількість гранул глікогену, рибосом і полісом.

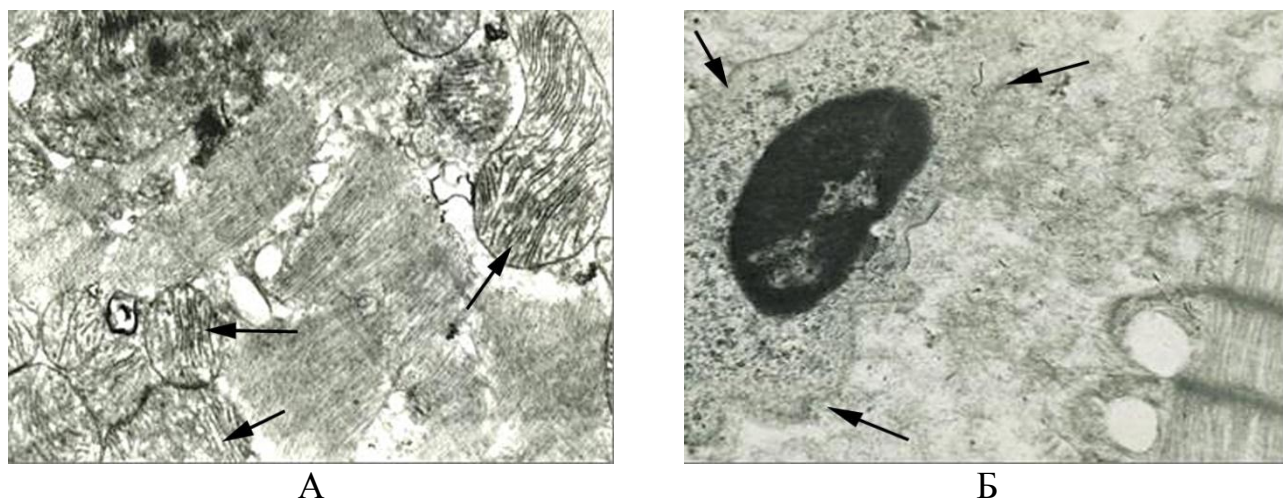


Рис. 7.9. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з моделлю АО через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – мітохондрії з численними кристами. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 40\ 000$; Б – множинні дрібні інвагінації мембрани. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 39\ 000$.

Ядра ендотеліальних клітин мали подовжену, неправильну форму. Ядерна мембрана утворювала глибокі і дрібні інвагінації, була помірно розрихлена і не містила осередків деструкції. У матриксі окремих мітохондрій спостерігалася

невелика кількість крист, що мали дрібнозернисту структуру. Деструкції зовнішніх мембран і крист зустрічалися вкрай рідко.

У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів збільшувалася кількість мікропіноцитозних бульбашок. Цитоплазматична мембрана не мала осередків лізису. У просвіті капілярів зрідка виявлялися електронно-щільні аморфні маси і конгломерати дегенеративно змінених мембран і органел (рис. 7.10).

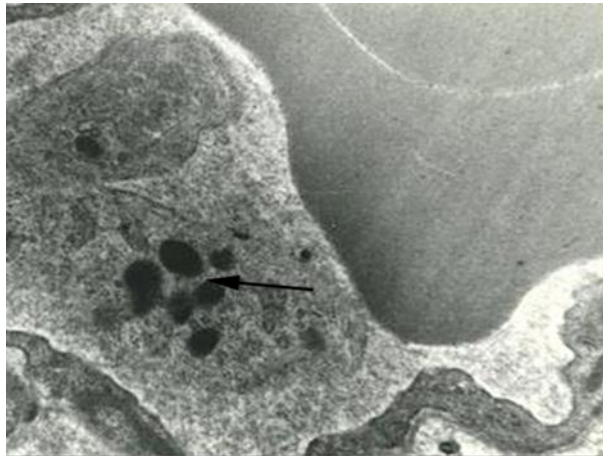


Рис. 7.10. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з моделлю АО через місяць після 9 сеансів РЕХВ. Конгломерати дегенеративно змінених мембран і органел в просвіті капіляра. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 60\ 000$.

Через тиждень після 9 сеансів РЕХВ у старих щурів з АО в субмікроскопічній архітектоніці органел кардіоміоцитів спостерігалася тенденція до розвитку репаративних процесів. Ядерна мембрана утворювала глибокі інвагінації, відзначалася конденсація ядерного хроматину. У перинуклеарній області саркоплазми з'являлися численні органели. Мітохондрії мали дрібно гранулярний матрикс з середньою електронною щільністю і досить велику кількістю крист. Мали місце мітохондрії «гантелевидної» форми з перетяжками. Однак частина з них зберігала риси деструктивних змін у вигляді просвітлення матриксу і локальних руйнувань зовнішніх мембран і крист (рис. 7. 11, А). У саркоплазмі були присутні вторинні лізосоми (рис. 7.11, Б). В ендотеліальних клітинах кровоносних капілярів міокарда спостерігалися дистрофічні зміни у вигляді деструкції крист мітохондрій і вакуолізації цистерн ЕПР (рис. 7.12). При

цьому в цитоплазмі ендотеліоцитів збільшувалася кількість мікропіноцитозних бульбашок, що свідчило про активацію трансцелюлярного обміну речовин.

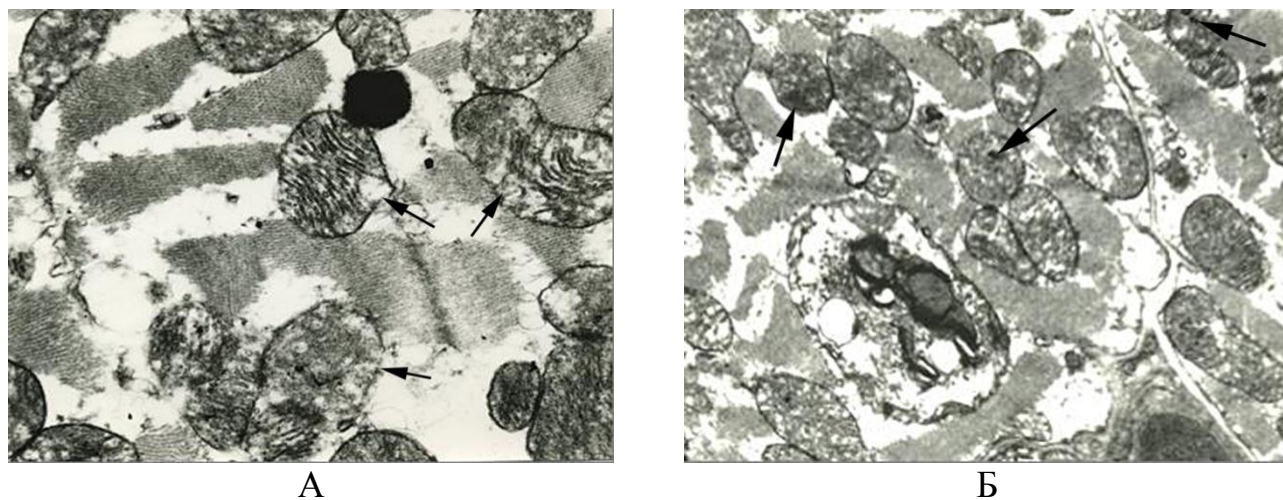


Рис. 7.11. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з моделлю АО через тиждень після 9 сеансів РЕХВ: А – локальне руйнування зовнішніх мембран мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 39\ 000$; Б – вторинні лізосоми в саркоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 40\ 000$.

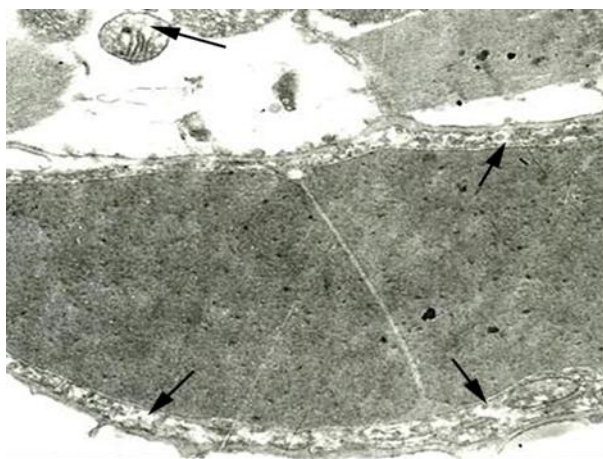
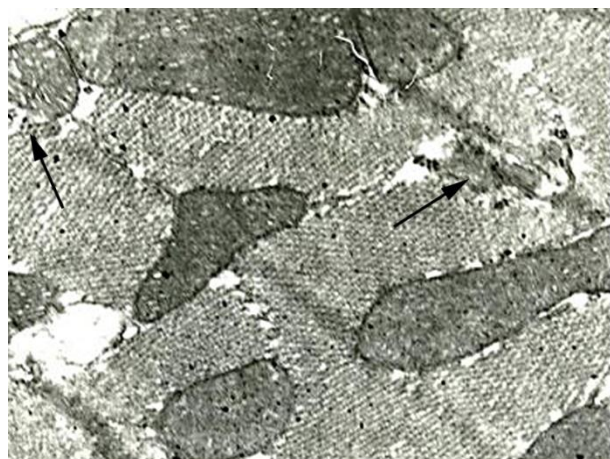


Рис. 7.12. Ультраструктура ендотеліальних клітин міокарда старих щурів з моделлю АО через тиждень після 9 сеансів РЕХВ. Просвітлення матриксу мітохондрій, вакуолізація цистерн ЕПР. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 58\ 000$.

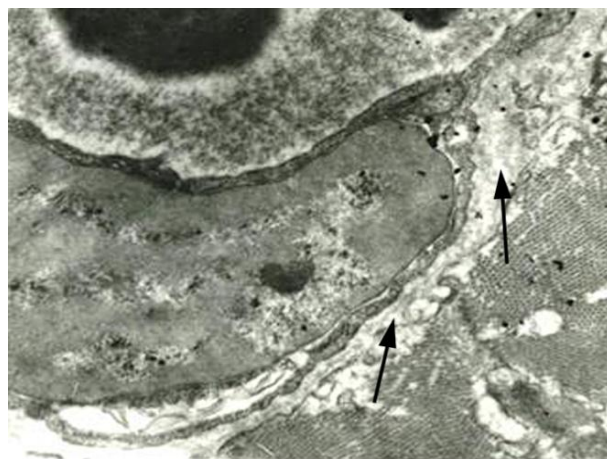
В ультраструктурній організації органел кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих щурів з АО через місяць після 9 сеансів РЕХВ розвивалися компенсаторно-адаптаційні і репаративні процеси. Мітохондрії розташовувалися рівномірними рядами уздовж міофібрил. Їх зовнішні мембрани були помірно розрихлені, містили поодинокі осередки

деструкції (рис. 7.13, А). У саркоплазмі виявлялися численні рибосоми, полісоми і гранули глікогену. Знижувалася кількість включень ліпідів і ліпофусцину.

Ядерна мембрана ендотеліальних клітин утворювала велику кількість дрібних і глибоких інвагінацій. Зустрічалися мітохондрії «гантелевидної» форми. Різко зростала кількість рибосом і полісом. Також збільшувалася концентрація мікропіноцитозних бульбашок (рис. 7.13, Б).



А



Б

Рис. 7.13. Ультраструктура кардіоміоцитів (А) і ендотеліоцитів (Б) кровоносних капілярів міокарда старих щурів з моделлю АО через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – осередки розриву мембран мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 37\ 000$; Б – мікропіноцитозні бульбашки в цитоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 64\ 000$.

Таким чином, в ультраструктурній архітектоніці кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з АО після 9 сеансів РЕХВ спостерігалися перебудови компенсаторного типу, такі як збільшення кількості мітохондрій і крист в них, зменшення кількості осередків деструкції і дегенеративно змінених мітохондрій. Активувалися процеси проліферації мітохондрій, що структурно проявлялося появою органел, що мають «гантелевидну» форму і перетяжки. Підвищувалася метаболічна активність кардіоміоцитів за рахунок появи в саркоплазмі рибосом, полісом і гранул глікогену. Однак у саркоплазмі кардіоміоцитів зберігалася досить велика кількість включень ліпідів і ліпофусцину, а мітохондрії мали деструкції зовнішніх мембран і крист.

7.4. Ультраструктура кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння на тлі введення кріоконсервованих ядромісних клітин кордової крові

При електронно-мікроскопічному дослідженні кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих тварин з АО через тиждень після введення кЯВК КК встановлено наявність дистрофічних і деструктивних порушень їх органел і мембран. Зберігалася низька електронна щільність матриксу ядер кардіоміоцитів, знижувалася кількість грудочок конденсованого хроматину (рис. 7.14, А). Ядерна мембрана з дрібними і глибокими інвагінаціями містила осередки руйнування. Спостерігалася велика кількість ядер з тотально зруйнованими ядерними мембранами. У саркоплазмі виявлялися мітохондрії, як з електронно-прозорим матриксом і поодинокими, розрихленими кристами, так і з осередками деструкції зовнішніх мембран і крист. Мали місце мітохондрії з великою кількістю крист і чітко контурованими зовнішніми мембранами (рис. 7.14, Б). У саркоплазмі кардіоміоцитів зберігалися дрібні та великі включення ліпідів, ліпофусцину, вторинні лізосоми.

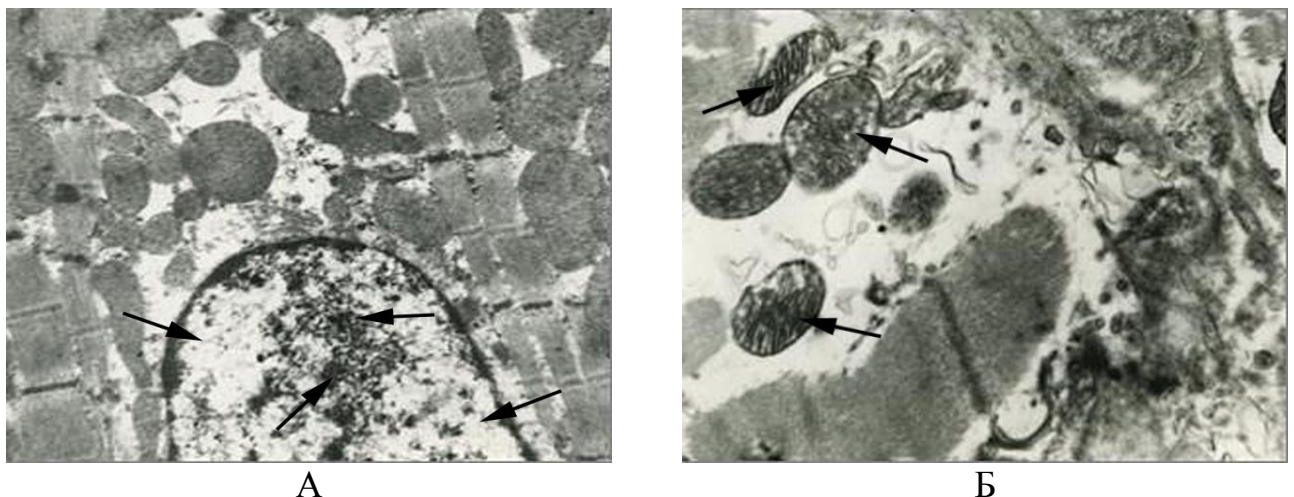
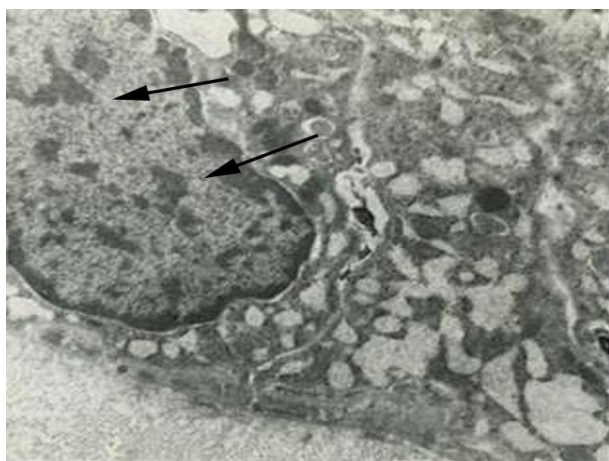


Рис. 7.14. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з моделлю АО через тиждень після введення кЯВК КК: А – просвітлення матриксу ядра, конденсація хроматину. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 49\ 000$; Б – щільно упаковані кристи мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 43\ 000$.

Ядра ендотеліальних клітин мали неправильну, видовжену форму, а ядерна мембрана залишалася сильно розрихленою з дрібними осередками лізису. Знижувалася кількість конденсованого хроматину (рис. 7.15, А). Цитоплазматична мембрана містила ділянки лізису, розрихлення і осміофілії (рис. 7.15, Б). У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлялося невелике число мікропіноцитозних бульбашок. Сильно розширені цистерни шорсткого ЕПР були заповнені електронно-прозорою субстанцією. Визначалася осередкова деструкція мембрани цитоплазми, зверненої в просвіт капіляра.



А



Б

Рис. 7.15. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з моделлю АО через тиждень після введення кЯВК КК: А – конденсація ядерного хроматину. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 44\ 000$; Б – потовщення мембрани цитоплазми. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 44\ 000$.

Субмікроскопічна архітектоніка кардіоміоцитів молодих щурів з АО через місяць після введення кЯВК КК свідчила про високу метаболічну активність їх внутрішньоклітинних мембран і органел. Грудочки конденсованого хроматину розташовувалися переважно в області, прилеглій до ядерної мембрани. Ядерна мембрана утворювала невелику кількість глибоких і дрібних інвагінацій. Деструкції ядерної мембрани практично були відсутні (рис. 7.16, А). Велика частина мітохондрій містила безліч паралельно орієнтованих крист. У препаратах часто зустрічалися мітохондрії «гантелевидної» форми з перетяжками і локальним просвітленням матриксу. Крім того, виявлялися мітохондрії, зовнішні мембрани яких мали дрібні осередки розрихлення і лізису (рис. 7.16, Б). У

саркоплазмі рідко виявлялися включення ліпідів, ліпофусцину і вторинні лізосоми. Ультраструктурна організація ендотеліальних клітин міокарда зберігала риси помірного дистрофічного процесу. В ядрах ендотеліоцитів різко знижувалась ступінь конденсації хроматину. У цитоплазмі були відсутні осередки деструкції зовнішніх мембран і крист мітохондрій, але при цьому зберігалось їх набухання. Цитоплазматична мембрана набувала типову будову і не містила осередків лізису. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлялися численні дрібні, електронно-прозорі мікропіноцитозні бульбашки (рис. 7.17).

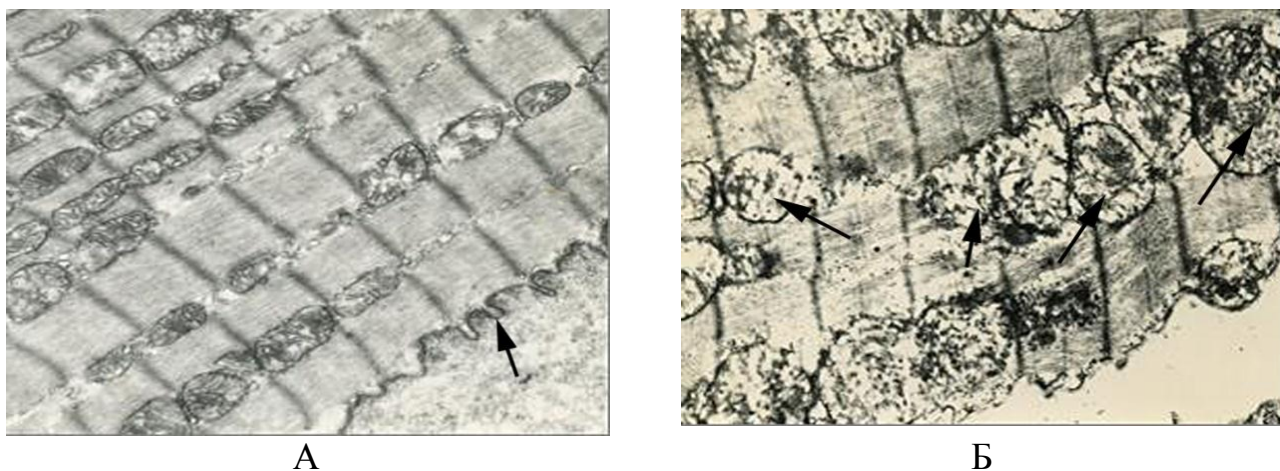


Рис. 7.16. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з моделлю АО через місяць після введення кЯВК КК: А – дрібні інвагінації ядерної мембрани. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 34\ 000$; Б – дрібні осередки розпушення і лізису крист мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 34\ 000$.

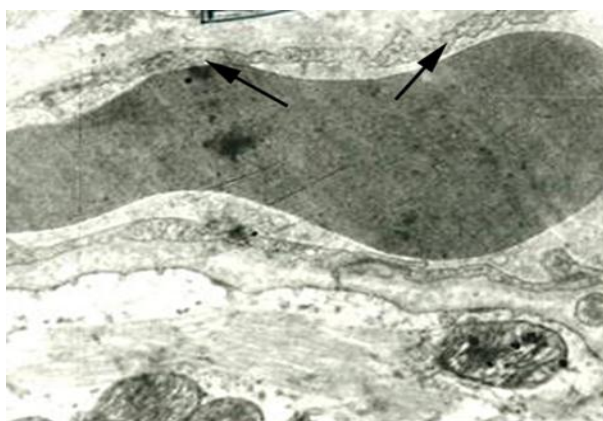


Рис. 7.17. Ультраструктура ендотеліальних клітин міокарда молодих щурів з моделлю АО через місяць після введення кЯВК КК. Численні мікропіноцитозні бульбашки в цитоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 44\ 000$.

У старих щурів з АО через тиждень після введення кЯВК КК ядра кардіоміоцитів мали округлу, злегка видовжену форму. Ядерний хроматин перебував здебільше в конденсованому стані, його грудочки більш-менш рівномірно розподілялися по площі зрізу ядра. Ядерна мембрана була гладка, без деформацій, однак з дрібними осередками деструкції і розпушення.

Зустрічалися мітохондрії з просвітленим, майже електронно-прозорим матриксом, що містив досить численні кристи. Саркоплазма володіла низькою електронною щільністю (рис. 7.18, А). У матриксі окремих мітохондрій виявлялися мієліноподібні структури, їх зовнішня мембрана була розпушена і мала дрібні осередки руйнування (рис. 7.18, Б). У саркоплазмі значної кількості кардіоміоцитів спостерігалися скупчення мітохондрій з зовнішньою мембраною без осередків лізису. Деякі мітохондрії піддавалися локальним процесам дегенерації. В їх матриксі утворювалися електронно-прозорі порожнини, оточені елементарною мембраною. Характерним для цієї групи експериментальних тварин була наявність великої кількості рибосом, полісом і гранул глікогену, які розташовувалися в саркоплазмі.

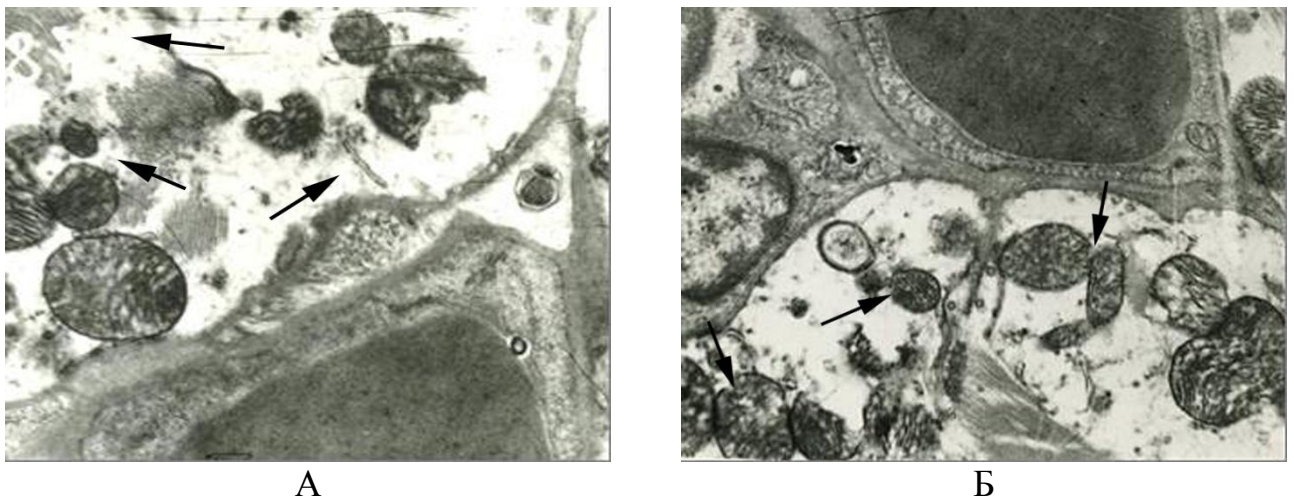


Рис. 7.18. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з моделлю АО через тиждень після введення кЯВК КК: А – просвітлення саркоплазми. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 52\ 000$; Б – дрібні осередки лізису зовнішніх мембран мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 52\ 000$.

Ендотеліальні клітини старих тварин з АО через тиждень після введення кЯВК КК мали електронно-прозору цитоплазму. Їх ядра містили конденсований

хроматин, що характеризувався високою електронною щільністю. Ядерна мембрана утворювала глибокі інвагінації і мала осередки лізису. Мітохондрії були дрібні, з просвітленим матриксом (рис. 7.19). У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлялася велика кількість мікропіноцитозних бульбашок.

Через місяць після введення старим щурам з АО кЯВК КК ядра кардіоміоцитів містили деконденсований хроматин. У матриксі ядер були присутні осміофільні ядерця (рис. 7.20, А). Мітохондрії, були набряклими з поліморфним матриксом, а їх зовнішні мембрани чітко контуровані. У саркоплазмі кардіоміоцитів збільшувалася кількість рибосом, полісом і гранул глікогену, а також були рідко присутні включення ліпідів і ліпофусцину (рис. 7.20, Б). Саркоплазматична мембрана залишалася розрихленою.

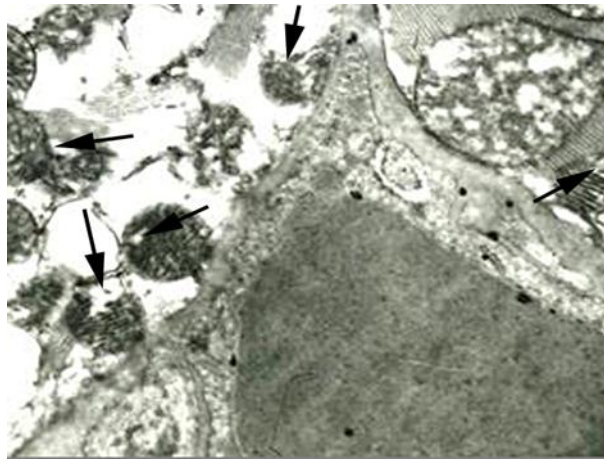


Рис. 7.19. Ультраструктура ендотеліальних клітин міокарда старих щурів з моделлю АО через тиждень після введення кЯВК КК. Просвітлення матриксу мітохондрій і осередковий лізис зовнішніх мембран. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 55\ 000$.

В ультраструктурі ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда зберігалися дистрофічні зміни, які за глибиною і ступеню вираженості знаходилися в межах фізіологічної компенсації. Ядра були заповнені конденсованим хроматином. Мітохондрії з дрібнозернистим матриксом середньої електронної щільності сильно набрякали (рис. 7.21, А). На розширених мембранах цистерн ЕПР були присутні рибосоми. У деяких ендотеліоцитах виявлялися включення ліпідів і лізис ядерної мембрани. В просвіті капіляра розташовувалися

еритроцити та детрит дегенеративно змінених органел (рис. 7.21, Б). У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин виявлялися мікропіноцитозні бульбашки.

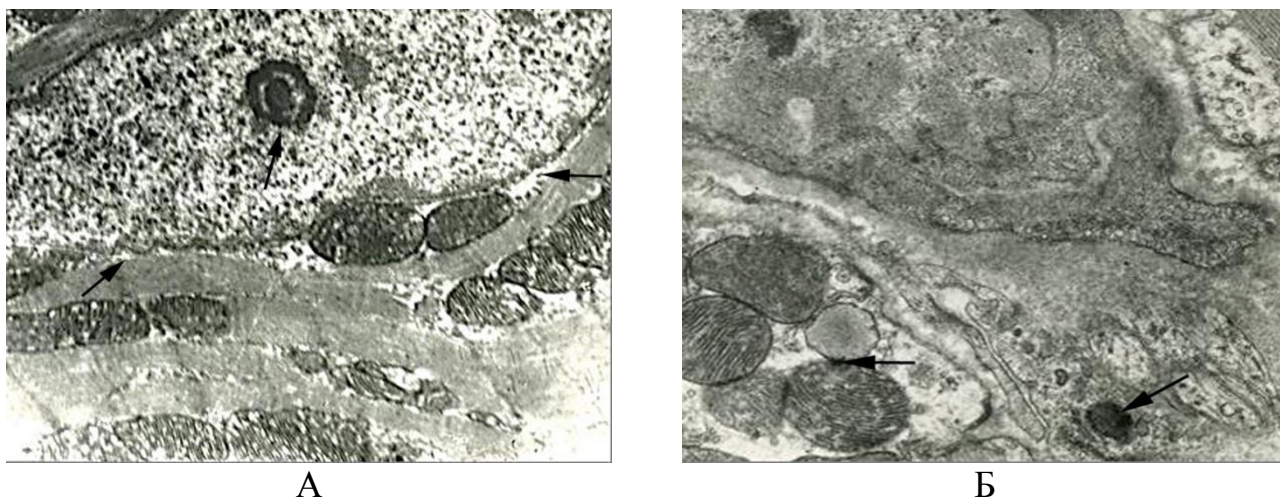


Рис. 7.20. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з моделлю АО через місяць після введення кЯВК КК: А – розпушення ядерної мембрани, осміофільне ядрце в каріоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 60\ 000$; Б – включення ліпідів в саркоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 65\ 000$.

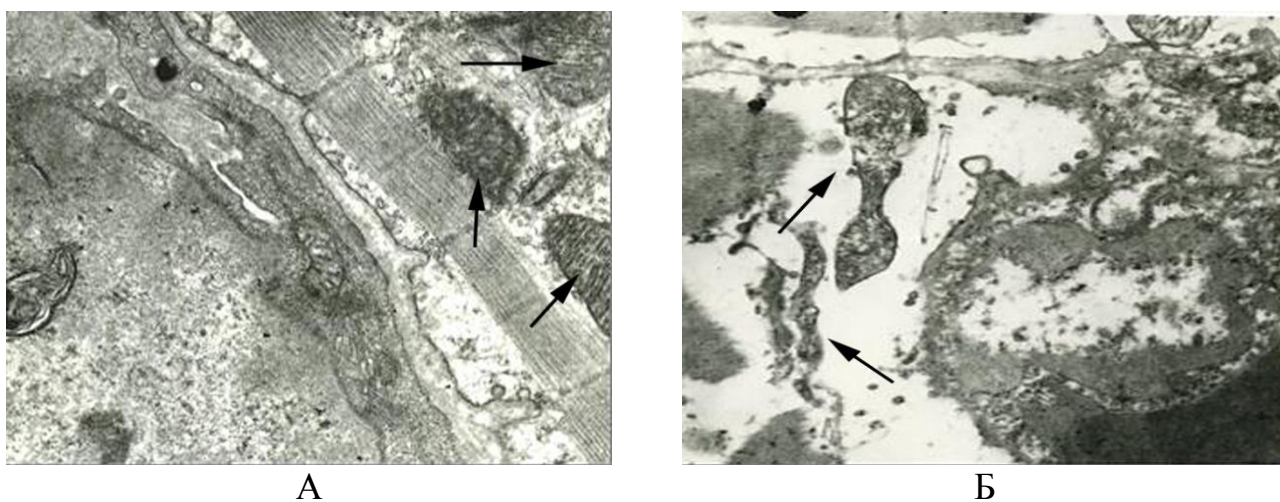


Рис. 7.21. Ультраструктура ендотеліальних клітин міокарда старих щурів з моделлю АО через місяць після введення кЯВК КК: А – набухання мітохондрій, матрикс мітохондрій середньої електронної щільності. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 61\ 000$; Б – детрит дегенеративно змінених органел в просвіті капіляра. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 65\ 000$.

Таким чином, субмікроскопічні перебудови органел кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю АО після введення кЯВК КК свідчили про підвищення їх скоротливої здатності, пов'язаної з адаптаційними перебудовами мітохондрій. Структурно це

підтверджувалося зменшенням ступеня набухання мітохондрій, збільшенням кількості крист в них. Зростала метаболічна і репаративна активність цих клітин за рахунок збільшення числа рибосом, полісом і гранул глікогену, а також зниження кількості включень ліпідів, ліпофусцину і вторинних лізосом. Крім того практично були відсутні тотальні руйнування внутрішньоклітинних мембран. У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин зростало число мікропіноцитозних бульбашок, що є ознакою активації трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів через капілярну стінку.

7.5. Субмікроскопічні перебудови органел кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю аліментарного ожиріння після поєданого використання екстремального охолодження і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

Субмікроскопічна архітектоніка кардіоміоцитів міокарда молодих тварин з АО через тиждень після поєданого застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК характеризувалася помірними дистрофічними змінами, з елементами деструкції внутрішньоклітинних мембран. Ядра кардіоміоцитів містили матрикс зі зниженою електронною щільністю. Ядерна мембрана іноді утворювала глибокі інвагінації. Одні мітохондрії мали чітко контуровану зовнішню мембрану, паралельно орієнтовані кристи і дрібно гранулярний матрикс, інші – осередки розпушення, як зовнішніх мембран, так і крист. Окремі ділянки матриксу мали низьку електронну щільність (рис. 7.22, А). У деяких кардіоміоцитах спостерігалися мітохондрії «гантелевидної» форми з електронно-щільним матриксом і численними щільно упакованими кристами (рис. 7.22, Б). У саркоплазмі виявлялася велика кількість рибосом, полісом і гранул глікогену.

Ядра ендотеліальних клітин мали неправильну форму. Ядерна мембрана утворювала глибокі інвагінації, містила гранули деконденсованого хроматину і дрібні множинні осередки розпушення. Цитоплазматична мембрана набувала

чітко контуровану структуру. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлялася велика кількість мікропіноцитозних бульбашок.

Через місяць після поєднаного застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК у молодих щурів з АО в кардіоміоцитах спостерігалось відновлення біоенергетичного статусу, за рахунок збільшення кількості мітохондрій і крист в них. Разом з тим зберігалось осередкове просвітлення їх матриксу. У саркоплазмі виявлялися мітохондрії з електронно-прозорим матриксом і великою кількістю паралельно орієнтованих крист (рис. 7.23, А). У деяких кардіоміоцитах пучки міофібрил були стоншені, а між ними розташовувалися щільно упаковані мітохондрії з безліччю укорочених крист (рис. 7.23, Б).

Ядра кардіоміоцитів містили в основному деконденсований хроматин, гранули якого дифузно розподілялися по матриксу ядра. Ядерна мембрана утворювала досить глибокі інвагінації. У саркоплазмі кардіоміоцитів виявлялися дрібні ліпідні включення різної електронної щільності, проте вторинні лізосоми і включення ліпофусцину були відсутні. Зростала кількість рибосом, полісом і гранул глікогену. Ультраструктурна організація ендотеліальних клітин характеризувалася відновленням типової субмікроскопічної архітекτονіки.

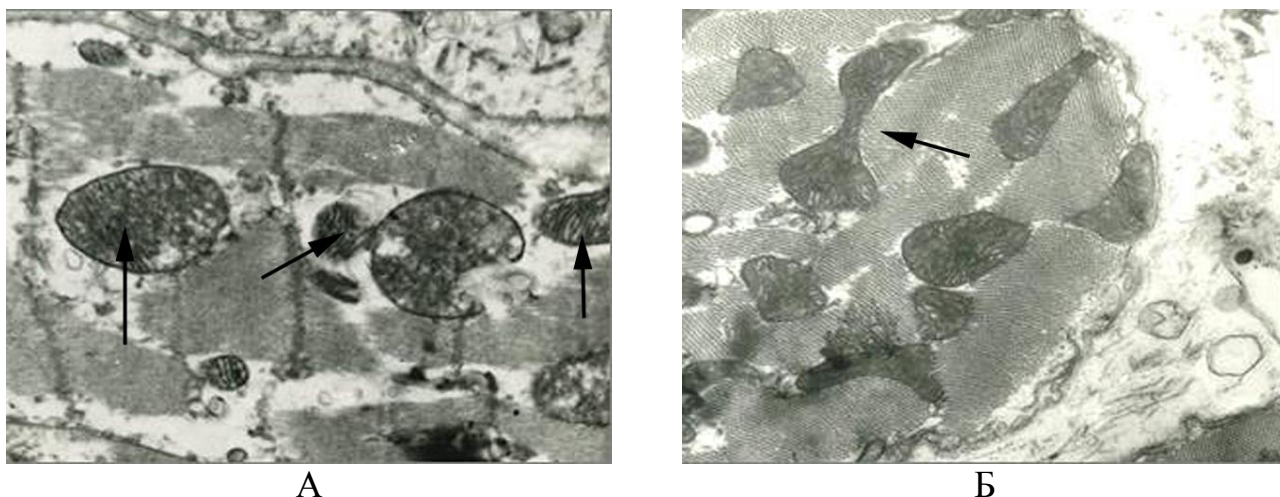


Рис. 7.22. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з моделлю АО через тиждень після поєднаного застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК: А – грубоволокнистий матрикс мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 33\ 000$; Б – мітохондрії «гантелевидної» форми. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 36\ 000$.

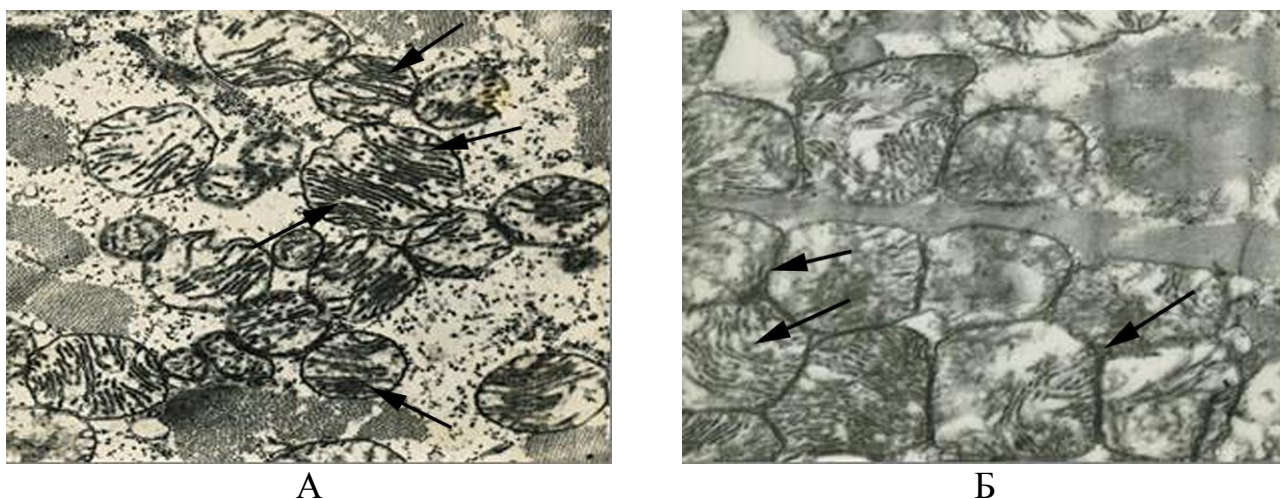


Рис. 7.23. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда молодих щурів з моделлю АО через місяць після поєданого застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК: А – численні паралельно орієнтовані кристи мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 37\ 000$; Б – щільно упаковані мітохондрії з укороченими кристами. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 34\ 000$.

Цистерни шорсткого ЕПР кілька розширювалися і набували середню електронну щільність. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів була присутня велика кількість мікропіноцитозних бульбашок. Електронна щільність ядер ендотеліоцитів істотно знижувалася, відзначалася конденсація хроматину уздовж ядерної мембрани. Цитоплазматична мембрана мала типову будову і утворювала безліч дрібних інвагінацій (рис. 7.24).

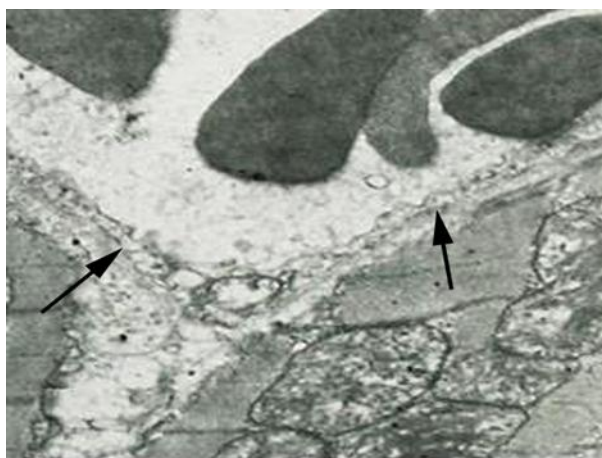
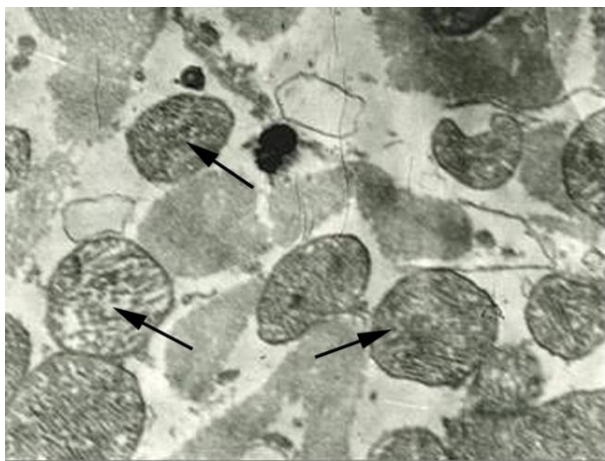
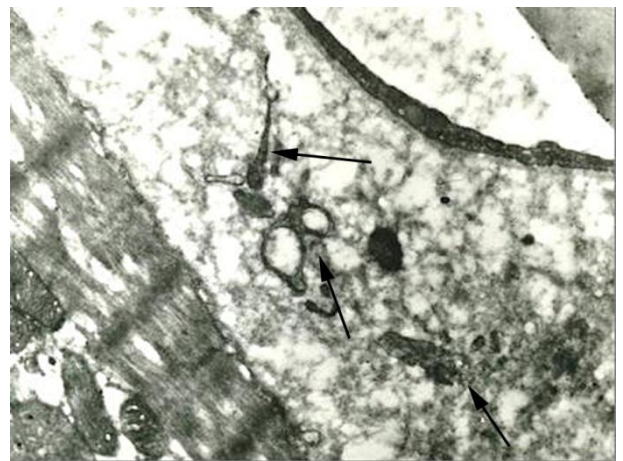


Рис. 7.24. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з моделлю АО через місяць після поєданого застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК. Численні інвагінації цитоплазматичної мембрани. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 55\ 000$.

В ультраструктурній організації кардіоміоцитів старих щурів з моделлю АО через тиждень після поєданого застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК зберігалися, як дистрофічні, так і деструктивно змінені органели. Ядерна мембрана залишалася розпушеною і містила дрібні осередки лізису. Ядерний хроматин перебував переважно в деконденсованому стані. Саркоплазма кардіоміоцитів мала середню електронну щільність, в ній зростала кількість рибосом, полісом і гранул глікогену. В мітохондріях мали місце осередки руйнування зовнішніх мембран і поодинокі зруйновані кристи (рис. 7.25, А). Ядра ендотеліальних клітин міокарда мали подовжену, неправильну форму. Ядерна мембрана утворювала велику кількість неглибоких інвагінацій. Мітохондрії різних розмірів з електронно-щільним матриксом були сильно набряклі, а кристи в них часто зруйновані. Зовнішні мембрани мітохондрій містили осередки лізису. Цистерни шорсткого ЕПР помірно розширювалися, на його мембранах визначалася велика кількість рибосом. В просвіті капіляра локалізувалась безструктурна аморфна субстанція середньої електронної щільності (рис. 7.25, Б). У цитоплазмі ендотеліальних клітин були присутні мікропіноцитозні бульбашки.



А



Б

Рис. 7.25. Ультраструктура кардіоміоцитів (А) і ендотеліоцитів (Б) кровоносних капілярів міокарда старих щурів з моделлю АО через тиждень після поєданого застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК: А – розпушення і лізис крист мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 39\ 000$; Б – детрит дегенеративно змінених органел в просвіті капіляра. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 59\ 000$.

Через місяць після поєднаного застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК в ультраструктурній організації кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда старих тварин з АО спостерігалися зміни, глибина і ступінь вираженості яких перебували в межах близьких до фізіологічної компенсації. Ядра кардіоміоцитів мали типову субмікроскопічну структуру і локалізацію в саркоплазмі. Ядерний хроматин перебував переважно в деконденсованій формі. Ядерна мембрана була чітко контурована, без осередків розпушення і лізису.

Мітохондрії містили численні, щільно упаковані і паралельно орієнтовані кристи (рис. 7.26, А). Порушень структури зовнішніх мембран і крист мітохондрій не виявлялося. У саркоплазмі визначалася велика кількість рибосом, полісом і гранул глікогену. Були присутні кардіоміоцити, в яких виявлялися гомогенізовані мітохондрії з електронно-щільним матриксом, а також з просвітленим матриксом і осередково зруйнованими зовнішніми мембранами і кристами (рис. 7.26, Б). Включення ліпідів, ліпофусцину і вторинні лізосоми були відсутні.

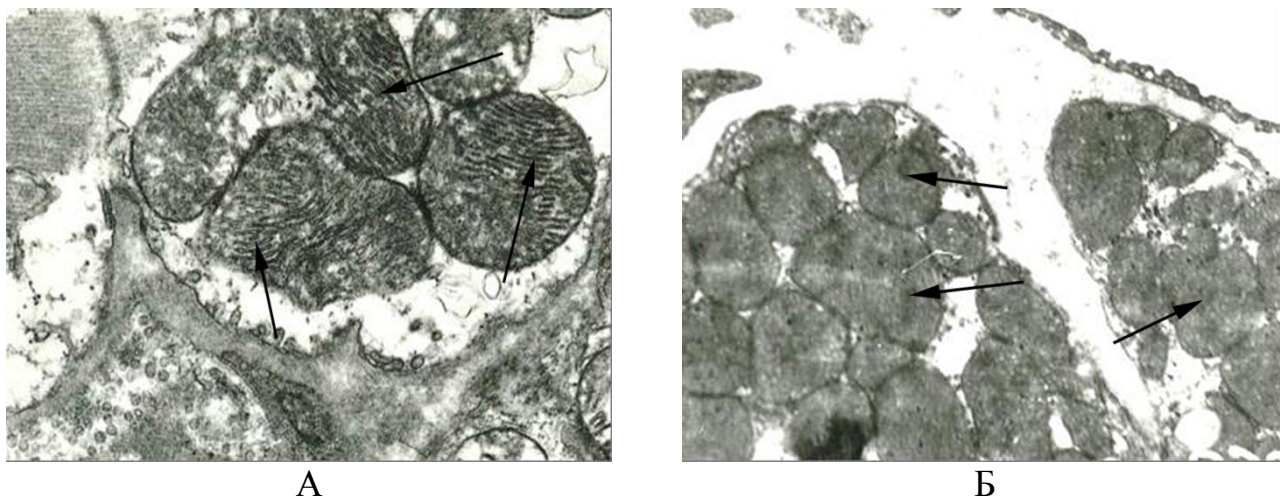


Рис. 7.26. Ультраструктура кардіоміоцитів міокарда старих щурів з моделлю АО через місяць після поєднаного застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК: А – паралельно орієнтовані кристи мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 61\ 000$; Б – гомогенізований матрикс мітохондрій. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 57\ 000$.

Ядра ендотеліоцитів містили як конденсований, так і деконденсований хроматин. Ядерна мембрана була гладка без осередків розпушення і лізису. У

цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин спостерігалися численні мікропіноцитозні бульбашки (рис. 7.27).



Рис. 7.27. Ультраструктура ендотеліальних клітин міокарда старих щурів з моделлю АО через місяць після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК. Численні мікропіноцитозні бульбашки. Контрастовано цитратом свинцю, $\times 60\ 000$.

Таким чином, в ході електронно-мікроскопічного дослідження ультраструктури кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з моделлю АО на тлі поєднаного використання 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК, встановлено тенденцію до відновлення типової субмікроскопічної архітектоніки органел цих клітин. Знижувалася ступінь мітохондріальної дисфункції в результаті збільшення кількості крист і появи форм мітохондрій на стадії поділу. Активувалися біосинтетичні і репаративні процеси в субклітинних структурах, про що свідчила гіпертрофія пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі, а також підвищення в саркоплазмі числа рибосом, полісом і гранул глікогену.

В кардіоміоцитах інактивувалися катаболічні процеси, що підтверджувалося зниженням в саркоплазмі кількості вторинних лізосом, включень ліпідів і ліпофусцину, відзначалася нормалізація ліпідного обміну за рахунок зменшення осередків розпушення внутрішньоклітинних мембран. В ендотеліоцитах зростала активність трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів, що на ультраструктурному рівні проявлялося збільшенням числа мікропіноцитозних бульбашок в цитоплазмі відростків цих клітин, змінами у

вигляді деконденсації хроматину ядер ендотеліоцитів, зменшенням осередків деструкції ядерних мембран, мембран мітохондрій і цитоплазматичної мембрани.

Проведені експериментальні дослідження дозволяють зробити висновок, що саме поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК надає найбільш яскраво виражений позитивний вплив на субмікроскопічну організацію тканин і судин міокарда молодих і старих тварин з моделлю АО в порівнянні з їх самостійним використанням. В кардіоміоцитах і ендотеліоцитах (на відміну від контрольних щурів з АО) практично були відсутні ознаки розвитку дистрофічного процесу, активувалися репаративні процеси і скорочувальна здатність міокарда в результаті нормалізації біоенергетичного статусу, безпосередньо пов'язаного з мітохондріями.

За матеріалами розділу 7 опубліковані роботи [388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399].

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Ожиріння – одне з найпоширеніших у світі хронічних захворювань [9, 11]. Відповідно до сучасних уявлень [43, 45] ожиріння – це патологічний стан, що характеризується хронічним прогресуючим порушенням обміну речовин і, як наслідок, надлишковим накопиченням жирової тканини, що призводить до збільшення маси тіла на 20% і більше від середніх стандартних величин [52]. З поширенням ожиріння на планеті множаться і поглиблюються пов'язані з ним важкі соматичні захворювання: цукровий діабет 2 типу, АГ, коронарна хвороба серця, онкологічні захворювання та інші, які призводять до погіршення якості життя, ранньої втрати працездатності та передчасної смертності [43, 52, 54, 56, 72]. Але в клінічній практиці нерідко недооцінюється негативний вплив ожиріння на виникнення, перебіг і ефективність лікування захворювань, що розвиваються на тлі надлишкової ваги [44, 47, 72].

Найбільш поширеною формою ожиріння є АО, основним механізмом розвитку якого є енергетичний дисбаланс [1, 8, 37]. Безсумнівна роль спадково-конституціональної схильності, вікових, статевих, професійних факторів, характеру харчової поведінки, дисфункцій нервової і ендокринної систем [1]. Зниження фізичної активності та тонуусу СНС з віком призводить до уповільнення метаболізму, що сприяє надмірному накопиченню жирової тканини у літніх людей. При АО відбуваються метаболічні, дисгормональні, гемодинамічні зміни в організмі, які впливають на серцевий м'яз, викликаючи його структурні і функціональні зміни [72, 75, 76, 79, 81].

Слід зазначити, що терапія ожиріння складна, а її ефективність на сьогодні залишається досить низькою. Це пов'язано з багатьма факторами і, в першу чергу, з тим, що багато років ожиріння вважалось швидше естетичною, ніж медичною проблемою [2]. Ожиріння – це хронічне захворювання з частими рецидивами, яке вимагає довготривалого лікування і послідовного спостереження [40]. Оскільки ожиріння є надзвичайно гетерогенним, багатфакторним захворюванням, на сьогоднішній день його не вдається вилікувати повністю, а терапія поки

залишається паліативною [38, 39]. Основною стратегічною метою лікування надлишкової маси тіла та ожиріння є не тільки зниження маси тіла, але і неодмінне досягнення повноцінного контролю метаболічних порушень, попередження розвитку важких супутніх захворювань, що часто з'являються у хворих на ожиріння [34, 37]. Отже, успішним може вважатися тільки таке лікування, яке призводить до поліпшення здоров'я пацієнта в цілому [43].

У зв'язку з вище викладеним, надзвичайно важливим для медико-біологічних цілей є пошук нових способів впливу на організм, здатних надавати генералізовану, стимулюючу дію на гомеостатичні регуляторні системи і перешкоджати зниженню власних адаптаційно-регуляторних можливостей організму на тлі ожиріння.

Доведено [85, 89, 99, 103, 104, 106], що PEXB позитивно впливають на організм, зокрема підвищують лабільність регуляторних процесів в ЦНС і ССС, стимулюють їх прямі і зворотні зв'язки, нормалізують впливи симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС, тим самим оптимізуючи механізми гомеостазу. У той же час, відомо [114, 116, 118, 145, 149, 164, 194, 195, 198], що до складу КК входить велика кількість ростових факторів і біологічно активних речовин, здатних підвищувати проліферативний і диференціувальний потенціал власних СК реципієнта. Фізіологічні особливості реакцій організму і його функціональних систем на PEXB (-120°C) і введення кЯВК КК передбачають не тільки їх індивідуальне застосування, але і поєднане, яке, полягає у взаємному потенціюванні їх дії. В роботі нами були вивчені особливості впливу PEXB (-120°C), кЯВК КК і їх поєднання на структурно-функціональний стан регуляторних систем організму щурів двох вікових груп з моделлю АО.

В ході дослідження було встановлено, що у молодих щурів з АО мало місце статистично значуще зниження показників TP, в порівнянні з контрольною групою щурів без ожиріння (практично в 2 рази). У старих щурів спостерігалася ідентична динаміка змін основних показників спектрального аналізу ВСР: на спектрограмі зменшувалась питома вага LF, HF і VLF - хвиль.

Аналіз отриманих експериментальних даних щодо впливу 9 процедур РЕХВ на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції у щурів двох вікових груп з АО через тиждень і місяць продемонстрував підйом ТР, як щодо показників контролю (в 3,19 і 4,41 рази у молодих, в 2,1 і 2,37 рази у старих), так і тварин з АО (в 5,67 і 7,8 рази у молодих, в 5,93 і 6,69 рази у старих). Збільшення рівня ТР відбувалося в основному за рахунок стимуляції діяльності вегетативних центрів, про що свідчило підвищення тону симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС. На нашу думку, зміни такого роду, фізіологічно значущі, так як помірне переважання парасимпатичних впливів на динаміку серцевого ритму є одним з факторів індивідуальної стійкості організму до виникнення захворювань ССС, що часто супроводжують АО.

Показано, що після одноразового введення молодим щурам з АО кЯВК КК рівень ТР статистично значуще зростав по відношенню до контрольних значень (практично в 1,5 рази в порівнянні з контролем і в 2,5 рази щодо контролю з ожирінням), за рахунок активації як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. У 24-х місячних щурів рівень ТР підвищувався як щодо показників контролю, так і контрольних тварин з АО (в 1,5 і 3,5 рази відповідно). Підйом ТР супроводжувався збалансованою активацією відділів ВНС і гуморально-метаболическої ланки регуляції. І в першій, і в другій віковій групі позитивна динаміка зберігалася у віддалені терміни досліджень, а саме через місяць після введення кЯВК КК. Можна стверджувати, що отримані експериментальні дані, такі як високий рівень вагальних, симпатичних і гуморально-метаболических впливів на динаміку серцевого ритму, свідчать про наявність у молодих і старих тварин з АО на фоні одноразового введення кЯВК КК розвиненої збалансованої вегетативної регуляції.

Встановлено, що поєднане застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК значно підвищувало адаптаційні резерви організму, як молодих, так і старих щурів з АО, оскільки супроводжувалося переходом процесу управління серцевим ритмом з повільного гуморально-метаболического рівня на швидкий вегетативний рівень. На спектрограмі це підтверджувалося збільшенням показників ТР за рахунок

активації ВНС, в той час як рівень гуморально-метаболическої ланки регуляції залишався незмінним. При цьому в структурі ТР переважав тонус парасимпатичного відділу ВНС. Через тиждень і місяць після поєднаного застосування двох методів у молодих тварин ТР зростала в 4 і 6 рази відносно контрольних щурів, в 7,15 і 10,7 рази відносно тварин з АО; у старих – в 3,5 і 4,9 рази, а також в 9,9 і 13,8 рази відповідно.

Таким чином, поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК, будучи потужним стимулюючим комплексом, надає найбільш виражений позитивний вплив на стан систем нейрогуморальної регуляції молодих і старих щурів з АО і здатне тривалий час зберігати «молоду» ритміку нейрогуморальних впливів на організм.

Ліпіди відіграють важливу роль в життєдіяльності, як людини, так і тварин [35, 265, 272]. Оскільки при АО відбувається порушення ліпідного обміну і надлишкова акумуляція жирів [323, 324], що є фактором ризику, який визначає наявність і ступінь тяжкості ряду захворювань, нами був вивчений ліпідний профіль сироватки крові, а також динаміка змін вагових показників молодих і старих щурів з АО на тлі проведення 9 процедур РЕХВ, одноразового введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування.

Виявлено, що у молодих і старих щурів розвиток АО призводив до виникнення гіперліпідемії і зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності. По відношенню до контрольних показників статистично значуще зростав рівень ЗХ (в 1,9 рази у молодих і в 1,4 рази у старих щурів), ХСЛПНЩ (в 2,2 і 1,5 рази відповідно) і КА (в 1,2 і 1,6 рази). Описані зміни ліпідограми істотніше були виражені у старих тварин.

Самостійне використання РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК сприяло нормалізації ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів з АО, наближаючи його до показників контрольних тварин без ожиріння. Зменшувався атерогенний ризик за рахунок статистично значущого зниження рівня ЗХ, ХСЛПНЩ і КА, як щодо показників контролю (в 1,75 рази, в 8,1 і 4,3 рази відповідно), так і тварин з ожирінням (в 3,4 рази, в 17,5 і 5,1 рази відповідно).

При цьому поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК на наступну добу, через тиждень і місяць надавало найбільш виражений позитивний вплив на показники ліпідограми сироватки крові молодих і старих щурів з АО. Важливим є той факт, що на відміну від самотійного використання даних методів впливу, поряд зі зниженням вмісту ЗХ (у молодих в 1,9 і в 2,6 рази у старих щурів) і ХСЛПНЩ («поганого холестерину») (в 2,4 і 6,9 рази відповідно) статистично значуще збільшувалася концентрація ХСЛПВЩ («хорошого холестерину») (в 1,5 рази), основною функцією якого є зворотний транспорт ХС від периферичних тканин до печінки, де він виводиться з організму. Крім того, ХСЛПВЩ окрім здатності видаляти надлишок вільного ХС з мембран клітин, завдяки своїм протекторним властивостям впливає на окислення ХСЛПНЩ в артеріальній стінці і володіє антиатерогенними захисними функціями. В результаті зменшення рівня атерогенних і підвищення антиатерогенних фракцій ліпідів спостерігалось зниження КА.

Аналіз динаміки зміни вагових показників молодих і старих тварин підтвердив, що збалансований гіперкалорійний раціон [238] протягом 3 місяців сприяв розвитку АО та статистично значущому збільшенню маси тіла щурів (в 1,7 рази (на 69%) і в 1,5 рази (на 47,8%) від початкової маси). При цьому результати масометричних досліджень показали позитивний вплив РЕХВ як ланки «м'якого» нетривалого стресу, а також кЯВК КК і їх поєднання на динаміку зміни маси тіла експериментальних тварин. Протягом місяця спостережень встановлено, що самотійне і поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК супроводжувалося зменшенням маси тіла, як молодих, так і старих щурів з АО. На тлі 9 процедур РЕХВ маса тіла знизилася на 4% у молодих і 5,75% у старих, після введення кЯВК КК – на 6,9% і 8,7% відповідно, при поєднаному застосуванні РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК – на 8,4% і на 11,7%.

Відповідно до сучасних уявлень [325, 326, 327], при всіх формах ожиріння, зокрема при АО, спостерігаються порушення центральних механізмів регуляції, що змінюють поведінкові реакції, особливо харчову поведінку, і обумовлюють нейрогормональні зрушення в організмі. У зв'язку з цим на наступному етапі

досліджень нами було вивчено вплив РЕХВ (-120°C), кЯВК КК і їх поєднання на рівень ДГЕАС, тиреоїдних і статевих гормонів сироватки крові молодих і старих тварин з моделлю АО.

Виявлено, що розвиток ожиріння у молодих і старих щурів за рахунок зменшення секреції тиреоїдних (T_3 в 1,4 і T_4 в 1,3 рази) і статевих гормонів (T_c в 2,6 і 1,8 рази) супроводжувався зниженням функціональної активності, як щитоподібної, так і статевих залоз. Дані порушення були більш виражені у старих тварин. Самостійне і більшою мірою поєднане застосування РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК відновлювало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної залози, підвищуючи її функціональну активність, нормалізувало рівень T_c , тим самим збільшуючи адаптаційно-компенсаторний потенціал організму експериментальних тварин з ожирінням незалежно від їх віку.

Відомо, що АО асоційоване з різними важкими захворюваннями, зокрема патологіями ССС, які займають лідируючі позиції серед причин смертності населення планети [55, 57]. При цьому стан ССС і, безпосередньо, серця можна розглядати як один з головних маркерів, що відображає ступінь розвитку ожиріння [72, 75, 76, 78, 79]. Тому на заключних етапах роботи доцільним було проаналізувати мікроскопічну і ультрамікроскопічну структуру тканин і судин міокарда молодих і старих щурів з моделлю АО до і після самостійного і поєданого використання РЕХВ і кЯВК КК.

В ході гістологічного дослідження міокарда молодих і старих тварин з АО виявлялися ознаки, що свідчили про розвиток порушення кровообігу (повнокров'я і тромбоз судин, діapedезні крововиливи, гіпертрофія міокарда, інтерстиціальний і периваскулярний набряки, осередковий кардіосклероз). При цьому ступінь вираженості АО, що виявляється за допомогою специфічного забарвлення на нейтральні жири масляним червоним, у старих тварин була набагато вище (крупнокрапельне ожиріння), ніж у молодих (дрібнокрапельне ожиріння).

Встановлено, що застосування 9 процедур РЕХВ позитивно впливало на морфологічну структуру серця молодих і старих тварин з АО. Поліпшувалася трофіка тканин міокарда, зменшувалася кількість інтерстиціальних набряків і

осередків кардіосклерозу, особливо у віддалені терміни спостереження (на 30 добу). Структурні прояви ліпідозу знижувалися і набували рис оборотного процесу.

Для структурної організації серцевого м'яза молодих і старих тварин з моделлю АО на 7 і 30 добу після введення кЯВК КК були характерні більш виражені перебудови компенсаторного характеру, в порівнянні з групою щурів яким проводили 9 процедур РЕХВ. В кардіоміоцитах спостерігалася гіпертрофія м'язових волокон, місцями була відсутня поперечна смугастість. Всі великі судини були повнокровні, характеризувалися нормальною формою просвіту, рівномірно потовщеними стінками. Навколо судин виявлялися помірний периваскулярний набряк і кардіосклероз, при цьому лімфо-гістіоцитарні інфільтрати були відсутні. Істотно зменшувалася ступінь жирової дистрофії міокарда.

На тлі поєднаного використання РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК відзначалася нормалізація морфологічної структури серця молодих і старих щурів з АО за рахунок поліпшення кровообігу і трофіки міокарда. Ознаки інтерстиціального набряку і кардіосклерозу були слабо виражені в порівнянні з такими у тварин контрольної групи. В інтерстиціальній сполучній тканини мали місце проліферація фібробластів, дифузне поширення гістіоцитів, що є морфологічною ознакою неоангіогенезу. Позитивний ефект поєднаного впливу РЕХВ і кЯВК КК підтверджувало виявлене при фарбуванні масляним червоним зниження ступеня жирової дистрофії серцевого м'яза. При цьому важливо, що через місяць після поєднаного впливу ліпідоз набував рис оборотного процесу.

Електронно-мікроскопічне дослідження кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда контрольних молодих тварин показало високу метаболічну активність цих клітин. Характерним для ультраструктурної організації міокарда щурів даної вікової групи була наявність великої кількості мітохондрій і крист в них. У групі контрольних старих щурів мітохондрії кардіоміоцитів мали різну ультраструктуру: частина була сильно набряклою з просвітленим матриксом. Істотно збільшувався об'єм мітохондрій. Зустрічалися

мітохондрії, що знаходяться на різних стадіях дегенерації, що супроводжувалося лізисом крист і зовнішніх мембран. Дегенеративно-деструктивні зміни мітохондрій свідчили про істотне порушення внутрішньоклітинної біоенергетики і, як наслідок, про зниження скорочувальної здатності кардіоміоцитів.

При електронно-мікроскопічному дослідженні кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих тварин з АО встановлено наявність яскраво виражених дистрофічних і деструктивних змін їх органел. Розвивалися катаболічні процеси, про що свідчила поява в цитоплазмі великої кількості включень ліпідів, ліпофусцину і вторинних лізосом. Знижувалася метаболічна активність серцевого м'яза в результаті мітохондріальної дисфункції, а також за рахунок зменшення в саркоплазмі кількості рибосом, полісом і гранул глікогену.

В ультраструктурній архітектоніці кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з АО після 9 сеансів РЕХВ спостерігалися перебудови компенсаторного типу, такі як збільшення кількості мітохондрій і крист в них, зменшення кількості осередків деструкцій і дегенеративно змінених мітохондрій. Активувалися процеси проліферації мітохондрій, що структурно проявлялося появою органел, що мають «гантелевидну» форму і перетяжки. Підвищувалася метаболічна активність кардіоміоцитів за рахунок появи в саркоплазмі рибосом, полісом і гранул глікогену. Однак при цьому в саркоплазмі кардіоміоцитів зберігалася досить велика кількість включень ліпідів і ліпофусцину, а мітохондрії мали деструкції зовнішніх мембран і крист. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів зменшувалася кількість мікропіноцитозних бульбашок.

Субмікроскопічні перебудови органел кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з АО після введення КЯВК КК свідчили про підвищення їх скоротливої здатності, пов'язаної з адаптаційними перебудовами мітохондрій. Структурно це підтверджувалося зменшенням ступеня набухання мітохондрій, збільшенням кількості крист в них. Зростала метаболічна і репаративна активність цих клітин за рахунок збільшення

числа рибосом, полісом і гранул глікогену, а також зниження кількості включень ліпідів, ліпофусцину і вторинних лізосом. Крім того практично були відсутні тотальні руйнування внутрішньоклітинних мембран. У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин зростало число мікропіноцитозних бульбашок, що є ознакою активації трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів через капілярну стінку. При цьому виявлені компенсаторні процеси в тканинах і судинах міокарда не приводили до повного відновлення його типової ультраструктурної організації.

Встановлено, що поєднане використання 9 процедур РЕХВ і кЯВК КК надавало найбільш яскраво виражений позитивний вплив на ультраструктурну організацію серцевого м'яза молодих і старих щурів з АО. Спостерігалася тенденція до відновлення типової субмікроскопічної архітектоники органел цих клітин. Знижувалася ступінь мітохондріальної дисфункції в результаті збільшення кількості крист і появи форм мітохондрій на стадії поділу. Активувалися біосинтетичні і репаративні процеси в субклітинних структурах, про що свідчила гіпертрофія пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі, а також підвищення в саркоплазмі числа рибосом, полісом і гранул глікогену.

В кардіоміоцитах інактивувалися катаболічні процеси, що підтверджувалося зниженням в саркоплазмі кількості вторинних лізосом, включень ліпідів і ліпофусцину, відзначалася нормалізація ліпідного обміну за рахунок зменшення осередків розпушення внутрішньоклітинних мембран. В ендотеліоцитах зростала активність трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів, що на ультраструктурному рівні проявлялося збільшенням числа мікропіноцитозних бульбашок в цитоплазмі відростків цих клітин, змінами у вигляді деконденсації хроматину ядер ендотеліоцитів, зменшенням осередків деструкції ядерних мембран, мембран мітохондрій і цитоплазматичної мембрани.

Таким чином, можна зробити висновок, що поєднане застосування 9 сеансів РЕХВ і кЯВК КК здатне значно підвищувати адаптаційні можливості організму молодих і старих тварин з моделлю АО за рахунок нормалізації нейрогуморальної регуляції, ліпідного профілю сироватки крові, гормональних впливів, а також

структури міокарда, як на мікроскопічному, так і на ультрамікроскопічному рівнях.

Отримані експериментальні дані розширюють уявлення про механізми самостійної і поєднаної дії РЕХВ і кЯВК КК на адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО, доводять перспективність їх використання у молодих і літніх людей, які страждають ожирінням з метою профілактики розвитку важких супутніх захворювань.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, що стосується розробки сучасних ефективних методів корекції структурно-функціональних порушень, що виникають в регуляторних системах організму тварин, на тлі розвитку АО, особливо у віковому аспекті.

Отримані експериментальні дані розширюють уявлення про механізми самостійної і поєднаної дії РЕХВ і кЯВК КК на адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО, доводять перспективність їх використання у молодих і літніх людей, які страждають ожирінням.

1. За даними спектрального аналізу ВСР показано, що у молодих і старих щурів з АО значення ТР знижувалися, в порівнянні з контрольною групою щурів без АО (практично в 2 і 2,81 рази відповідно), в результаті зменшення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, а також гуморально-метаболическої ланки регуляції.

2. Застосування РЕХВ, кЯВК КК і їх поєднання підвищувало адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО незалежно від їх віку, за рахунок збільшення активності, як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. При цьому поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК надавало найбільш виражений позитивний вплив на стан регуляторних систем експериментальних тварин. У молодих щурів по відношенню до контрольних показників і до контролю з АО значення ТР через місяць підвищувались у 6 і 10,7 рази, а у старих – у 4,9 та 13,8 рази.

3. Встановлено, що у молодих і старих щурів розвиток АО призводив до збільшення маси тіла (на 69% від початкової маси тіла у молодих і на 47,8% у старих), виникнення гіперліпідемії і зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності. Самостійне і більшою мірою поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК сприяло зменшенню маси тіла (на 8,4% у молодих і на 8,7% у старих), нормалізації ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів з АО,

наближаючи його до показників контрольних тварин без АО. Зменшувався атерогенний ризик за рахунок зниження рівня ЗХ, ХСЛПНЩ, КА і збільшення вмісту ХСЛПВЩ.

4. Виявлено, що у молодих і старих щурів з АО в результаті зменшення секреції тиреоїдних і статевих гормонів знижувалася функціональна активність, як щитоподібної, так і статевих залоз. Самостійне і поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК відновлювало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної залози, нормалізувало рівень Тс. Так після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК рівень загального Т₃ і Т₄ збільшувався в 1,2 рази у молодих та в 1,3 рази у старих тварин. Вміст Тс як у молодих, так і у старих щурів значуще підвищувався в порівнянні з контролем на тлі АО в 2,2 і 1,5 рази відповідно.

5. В ході гістологічного дослідження міокарда молодих і старих тварин з АО виявлялися ознаки, що свідчать про розвиток порушення кровообігу (діапедезні крововиливи, інтерстиціальний і периваскулярний набряки, осередковий кардіосклероз). Після поєданого застосування РЕХВ і кЯВК КК в інтерстиціальній сполучній тканині спостерігалися проліферація фібробластів, поява знов сформованих капілярів, що свідчило про поліпшення кровообігу і трофіки серцевого м'яза за рахунок компенсаторного розвитку процесів неоангіогенезу. При цьому ліпідоз знижувався настільки, що набував риси оборотного процесу.

6. При електронно-мікроскопічному дослідженні тканин і судин міокарда молодих і старих щурів з АО мали місце дистрофічні і деструктивні зміни їх органел. Використання РЕХВ і кЯВК КК сприяло активації компенсаторно-регенеративних процесів в кардіоміоцитах і ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда молодих і старих тварин з АО завдяки нормалізації внутрішньоклітинної біоенергетики (зменшення ступеня прояву дистрофічних і дегенеративних змін, відсутність осередків лізису ядерної мембрани, збільшення кількості мітохондрій і крист в них).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Соловьёва НА, Совершаева СЛ, Ишекова НИ. Физиологические аспекты избыточной массы тела и ожирения. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2011; (10): 69–70.
2. Березина МВ, Михалева ОГ, Бардымова ТП. Ожирение: механизмы развития. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 114(7): 15–8.
3. Бурков СГ, Ивлева АЯ. Избыточный вес и ожирение – проблема медицинская, а не косметическая. *Ожирение и метаболизм*. 2010; (3):15–7.
4. Обзорная сводка о состоянии здоровья в Украине 2005. Всемирная организация здравоохранения, европейское региональное бюро. [Электронный ресурс] URL: <http://www.euro.who.int/ru/countries/ukraine/publications3/highlights-on-health-in-ukraine> [дата обращения: 12.04.2017].
5. Дедов ИИ. Проблема ожирения: от синдрома к заболеванию. *Ожирение и метаболизм*. 2006; (1): 2–4.
6. Adult Obesity in the United States [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://stateofobesity.org/adult-obesity/>. Дата обращения: 15.04.2017].
7. Acosta A, Camilleri M. Gastrointestinal morbidity in obesity. *Ann N Y Acad Sci*. 2014; 1311(11): 42–44. doi:10.1111/nyas.12385.
8. Мельниченко ГА, Романцова ТИ. Ожирение: эпидемиология, классификация, патогенез, клиническая симптоматика и диагностика. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты: рук. для врачей. М: МИА; 2004. 255с.
9. Романцова ТИ. Эпидемия ожирения: очевидные и вероятные причины. *Ожирение и метаболизм*. 2011; (1): 5–17.
10. Михалева ОГ, Бардымова ТП, Березина МВ. Моногенные формы ожирения. *Сибирский медицинский журнал*. 2014; (6): 5–11.
11. Красноперова ОИ, Смирнова ЕН, Мерзлова НБ. Факторы, приводящие к развитию ожирения у детей и способствующие его трансформации в метаболический синдром. *Fundamental research*. 2012; (4): 306–10.

12. Hesketh K, Campbell K. Interventions to prevent obesity in 0–5 year olds: an updated systematic review of the literature. *Obesity (Silver Spring)*. 2010; 18(1): 27–35. doi: 10.1038/oby.2009.429.
13. Бубнова МГ. Ожирение: причины и механизмы нарастания массы тела, подходы к коррекции. *Consilium medicum*. 2005; (5): 7–12.
14. Витебская АВ. Влияние перинатальных факторов на развитие ожирения во взрослом возрасте. *Ожирение и метаболизм*. 2010; (1): 11–3.
15. Бабийчук ВГ. Механизмы действия экстремально низких температур на структурно-функциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем у животных различных возрастных групп: дис. ... доктора мед. наук: 14.01.35 «Криомедицина». Институт проблем кприобиологии и криомедицины. Харьков. 2010. 335с.
16. Rymaszewska J, Tulczynski A, Zagrobelny Z et al. Influence of whole body cryotherapy on depressive symptoms—preliminary report. *Acta Neuropsychiatrica*. 2003; (15): 122–8.
17. Szygula Z, Lubkowska A, Giemza C et al. Hematological Parameters, and Hematopoietic Growth Factors: Epo and IL-3 in Response to Whole-Body Cryostimulation (WBC) in Military Academy Students. *PLoS ONE*: [Electronic source]. 2014; 9(4). 7 p.: e93096. DOI: 10.1371/journal.pone.0093096.
18. Альтман ДШ, Давыдова ЕВ. Мукозальные эффекты общей аэрокриотерапии при ранних формах хронической ишемии мозга у ветеранов современных военных конфликтов. *Вестник уральской медицинской академической науки*. 2012; (2): 78–9.
19. Bleakley CM, Bieuzen F, Davison GW, Costello JT. Whole-body cryotherapy: empirical evidence and theoretical perspectives. *Open Access Journal of Sports Medicine*. 2014; (5): 25–36.
20. Агаджанян НА, Медалиева РХ. Теоретические основы и практическое применение общей воздушной криотерапии в восстановительной медицине. *Вестник восстановительной медицины*. 2008; (4): 4–7.

21. Гольцев АН, Калиниченко ТА. Пуповинная кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть I. Характеристика гемопоэтического потенциала. Проблемы криобиологии. 1998; (1): 3–23.
22. Поляченко ЮВ, Ніконенко ОС, Салютін РВ та ін. Клітинна трансплантація: нормативно-правові аспекти, перспективи та напрямки клінічного використання. Клітинна та органна трансплантологія. 2013; 1(1): 40–3.
23. Гольцев АН, Калиниченко ТА. Пуповинная кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть II. Характеристика гемопоэтического потенциала. Проблемы криобиологии. 1998; (1): 3–23.
24. Насадюк КМ. Состояние и перспективы криохранения и клинического применения пуповинной крови в Украине. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011; 6(1): 98–104.
25. Домбровський ДБ, Пшиборовська ЮР, Яковець КІ та ін. Характеристика та шляхи використання стовбурових клітин кордової крові (огляд літератури). Буковинський медичний вісник. 2014; 18(1): 151–5.
26. Калиниченко ТА, Гольцев АН. Пуповинная кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть III. Криоконсервирование. Проблемы криобиологии. 1999; (1): 45–56.
27. Abdulrazzak H, Moschidou D, Jones G, Guillot PV. Biological characteristics of stem cells from foetal, cord blood and extraembryonic tissues. J. R. Soc. Interface: [Electronic source]. 2010; 689–706. DOI: 10.1098/rsif.2010.0347.focus.
28. Hariharan N, Sussman MA. Cardiac aging – Getting to the stem of the problem. Journal of molecular and cellular cardiology. 2015; (83): 32–6. DOI: 10.1016/j.bbadis.2013.09.016.
29. Shahrokhi S, Mena F, Alimoghaddam K et al. Insights and hopes in umbilical cord blood stem cell transplantations. Journal of Biomedicine and Biotechnology: [Electronic source]. 2012; 2012. 11 p. DOI: 10.1155/2012/572821.

30. Mancinelli F, Tamburini A, Spagnoli A et al. Optimizing umbilical cord blood collection: impact of obstetric factors versus quality of cord blood units. *Transplantation Proceedings*. 2006; 38(4): 1174–6. DOI: 10.1016/j.transproceed.2006.03.052.
31. Lee MW, Jang IK, Yoo KH et al. Stem and progenitor cells in human umbilical cord blood. *Int J Hematol*. 2010; (92): 45–51.
32. Спосіб виділення ядровмісних клітин пуповинної крові: пат. 23499 Україна: МПК С12N5/00. № u200700585; заявл. 22.01.2007; опубл. 25.05.2007, Бюл. № 7. 4 с.
33. Спосіб криоконсервування ядровмісних клітин кордової крові, у тому числі стовбурових гемопоетичних клітин: пат. 92227 Україна, МПК А01N1/02. № а200814009; заявл. 05.12.2008; опубл. 11.10.2010, Бюл. № 19. 8 с.
34. Самородская ИВ. Новая парадигма ожирения. *Проблемы эндокринологии*. 2014; (5): 43–8. doi: 10.14341/probl201460543-48.
35. Лупинская ЗА, Зарифьян АГ, Гурович ТЦ, Шлейфер СГ. Эндотелий: функция и дисфункция. Б.: КРСУ; 2008. 373с.
36. Щербакова МЮ, Порядина ГИ, Ковалева ЕА. Проблема ожирения в детском возрасте. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2010; (7): 74–83.
37. Барановский АЮ, Ворохобина НВ. Ожирение (клинические очерки). СПб.: Диалект; 2007. 245с.
38. Вознесенская ТГ. Расстройства пищевого поведения при ожирении и их коррекция. *Международный эндокринологический журнал*. 2007; 3(9): 19–23.
39. Драпкина ОМ, Попова ИР. Роль ожирения в развитии артериальной гипертензии и неалкогольной жировой болезни печени. *Український медичний часопис*. 2013; (2): 125–8.
40. Бессесен ДГ, Куштер Р. Избыточные вес и ожирение. Профилактика, диагностика и лечение. М.: ООО Издательство БИНОБ; 2006. 240 с.
41. Мисюра ЕВ, Казаков АВ, Кравчун НА. Эпидемиологические аспекты ожирения в Украине. *Эндокринология*. 2014; 19(4): 325–6.

42. Ковалева ОН. Проблема ожирения с позиций кардиологии. *Здоровье Украины*. 2006; 22(1): 39–40.
43. Панова ЕИ, Мартышина ОВ, Данилов ВА. Ассоциированная с ожирением патология: частота, характер и некоторые механизмы формирования. *Современные технологии в медицине*. 2013; 5(2): 108–15.
44. Рапопорт СИ, Лобода АЮ. Проблема ожирения в клинике внутренних болезней. *Клиническая медицина*. 2008; (11): 15–23.
45. Петеркова ВА, Васюкова ОВ. Редкие формы ожирения. *Лечащий врач*. 2008; (3): 22–4.
46. Разина АО, Руненко СД, Ачкасов ЕЕ. Проблема ожирения: современные тенденции в России и в мире. *Вестник РАМН*. 2016; 71(2): 154–9.
47. Лузина ЕВ, Томина ЕА, Жилина АА. Ожирение и заболевания органов пищеварения. *Клиническая медицина*. 2013; (6): 63–7.
48. Мищенко ТВ, Звенигородская ЛА. Ожирение – новая неинфекционная «эпидемия». Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011; (11): 9–14.
49. Чубриева СЮ, Глухов НВ, Зайчик АМ. Жировая ткань как эндокринный регулятор (обзор литературы). *Вестник Санкт-Петербургского Университета*. 2008; 11(1): 32–43.
50. Аверьянов АП. Ожирение у детей и подростков: клинико-метаболические особенности, лечения, прогноз и профилактика осложнения: автореф. дис. ...д – р. мед. наук; 2009. 20 с.
51. Бондаренко ВМ, Марчук ВП, Пиманов СИ и др. Корреляция содержания висцеральной жировой ткани по данным компьютерной томографии с антропометрическими показателями и результатами ультразвукового исследования. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2013; (1): 31–8.
52. Ковалева ОН. Проблема ожирения с позиций кардиологии. *Здоровье Украины*. 2006; 22(1): 39–40.

53. Когай МА, Пинхасов ББ, Селятицкая ВГ. Особенности метаболического синдрома у мужчин и женщин с избыточной массой тела и ожирения. Бюллетень Восточно Сибирского научного центра СО РАМН. 2008; (2): 22–3.
54. Бардымова ТП, Михалева ОГ, Березина МВ. Современный взгляд на проблему ожирения. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2011; 5(81): 203–6.
55. Латышева ВЯ, Дробышевская ВА. Современные методы лечения больных избыточной массой тела и алиментарным ожирением (обзор литературы). Проблемы здоровья и экологии. 2010; 2(4): 58–65.
56. Василькова ТН, Баклаева ТБ, Матаев СИ, Рыбина ЮА. Роль ожирения в формировании сердечно-сосудистой патологии. Практическая медицина. 2013; 7(76): 117–22.
57. Шутова ВИ, Данилова ЛИ. Ожирение, или синдром избыточной массы тела. Мед. новости. 2004; (7): 41–7.
58. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; (89): 2595–600.
59. Ying-Xiu Z, Shu-Rong W. Secular trends in body mass index and the prevalence of overweight and obesity among children and adolescents in Shandong, China, from 1985 to 2010. *J Public Health (Oxf)*. 2012; 34(1): 131–7. doi: 10.1093/pubmed/fdr053.
60. Fock KM, Khoo J. Diet and exercise in management of obesity and overweight. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28(4):59–63. doi:10.1111/jgh.12407.
61. Contaldo F, Pisanisi F. Obesity epidemics: simple or simplistic answers? *Clin Nutr*. 2005; 24(1): 1–4. doi: 10.1016/j.clnu.2004.10.005.
62. Берштейн ЛМ, Коваленко ИГ. «Метаболически здоровые» лица с ожирением и метаболические признаки ожирения у лиц с нормальной массой тела: что за этим стоит? Проблемы эндокринологии. 2010; (3): 47–51.
63. Берштейн ЛМ. Гормоны жировой ткани (адипоцитокнины): онтогенетический и онкологический аспект проблемы. Успехи геронтологии. 2005; 16(1): 51–64.

64. Терешина ЕВ. Возрастная дисфункция жировой ткани. Геронтология и гериатрия. 2005; (5): 98–101.
65. Kim S, Moustaid-Moussa N. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. *J. Nutr.* 2000; (130): 3110–15.
66. Morrison RF, Farmer SR. Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation. *J. Nutr.* 2000; (130): 3116–21.
67. Ярмыш НВ, Кравченко НА, Войтенко ЕИ. Адипоцитокينات в развитии инсулинорезистентности при ожирении. Проблемы эндокринной патологии. 2010; (3): 110–21.
68. Панков ЮА. Жировая ткань как эндокринный орган, регулирующий рост, половое созревание и другие физиологические функции. Биохимия. 1999; 64(6): 725–34.
69. Wang ZW, Pan WT, Lee K, Kakuma T, Zhou YT, Unger RH. The role of leptin resistance in the lipid abnormalities of ageing. *FASEB J.* 2001; (15): 108–14.
70. Hajer G, Haeften TW, Visseren LJ. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *European Heart Journal.* 2008; (29): 2959–71.
71. Large V, Peroni O, Letexier D et al. Metabolism of lipids in human white Adipocyte [Text]. *Diabetes Metab.* 2004; (30): 294–309.
72. Гаврилюк ВА. Структурно-функциональное ремоделирование сердца и сосудов у больных с эссенциальной артериальной гипертензией с различной массой тела. *Международный медицинский журнал.* 2012; 18(1): 39–41.
73. Weisberg SP, McCann MD, Rosenbaum DM. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation.* 2003; 112(12): 1796–1808.
74. Greenberg A, Obin M. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2006; (83): 461–5.
75. Чичкова МА, Козлова ОС. Особенности ремоделирования левого желудочка у больных с эссенциальной артериальной гипертензией и ожирением. *Астраханский медицинский журнал.* 2012; 7(2): 99–104.

76. Арушанян ЭБ. Современные представления о происхождении циркадианных колебаний деятельности сердечно-сосудистой системы в норме и при патологии. Клиническая медицина. 2012; (4): 11–7.
77. Бова АА. Современный взгляд на патогенетическую гипотензивную терапию при метаболическом синдроме. Рецепт. 2006; 2(46): 65–74.
78. Белоконева КП, Бичан НА. Провоспалительные цитокины при различных осложнениях инфаркта миокарда. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012; (4): 87–8.
79. Фомина ИГ, Георгадзе ЗО, Покровская АЕ и др. Влияние ожирения на сердечно-сосудистую систему. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2008; 7(2): 91–7.
80. Шварц В. Жировая ткань как эндокринный орган. Проблемы эндокринологии. 2009; 55(1): 38–43.
81. Шилов АМ, Авшалумов АС, Галанова АС и др. Ожирение и артериальная гипертензия. Лечащий врач. 2008; (2): 8–13.
82. Borilin J, Zhang LS, Calinescu AA. Circadian regulation of pineal gland rhythmicity. Mol. Cell. Endocrinol. 2012; 349(1): 13–9.
83. Белоглазова ИП, Могутов ПА, Потешкина НГ. Патогенетические основы кардиоренального синдрома. Терапевтический архив. 2012; (9): 97–103.
84. Апрелева АВ, Баранов АЮ. Общая криотерапия как новый метод интенсификации тренировочного процесса. Ученые записки. 2007; 8(30): 8–14.
85. Баранов АЮ, Кидалов ВН. Лечение холодом. Криомедицина. СПб: Изд-во Атон. 1999. 272с.
86. Баранов АЮ. Криогенная физиотерапия. Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2005; (3): 25–31.
87. Волотовская АВ, Колтович ГК, Козловская ЛЕ, Мумин АН. Криотерапия: учеб.-метод. пособие. М: БелМАПО. 2010. 26с.
88. Медалиева РХ. Особенности реакций организма с различной криогенной болевой чувствительностью на курс ритмических общих холодových воздействий. Современные проблемы науки и образования: электронный ресурс.

2014; 4: 7с. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14179> (дата обращения: 30.05.2016).

89. Bykov AT, Rybkina VA, Kovalenko VV. Hemodynamics state at different modes of systemic air cryogenic exposure. *European Researcher*. 2012; 34(11): 1929–34.

90. Hauton D, May S, Sabharwal R et al. Cold-impaired cardiac performance in rats is only partially overcome by cold acclimation. *The Journal of Experimental Biology*. 2011; (214): 3021–31.

91. Szygula Z, Lubkowska A, Giemza C et al. Hematological Parameters, and Hematopoietic Growth Factors: Epo and IL-3 in Response to Whole-Body Cryostimulation (WBC) in Military Academy Students. *PLoS ONE: Electronic source*. 2014; 9(4): 7 p.: e93096. DOI: 10.1371/journal.pone.0093096.

92. Панченко ОА, Оніщенко ВО, Лях ЮЄ. Реакція поверхневої та внутрішньої температури тіла людини під впливом екстремального охолодження. *Фізіол. журн*. 2011; 57(6): 85–92.

93. Бочаров МИ. Терморегуляция организма при холодových воздействиях (обзор). Сообщение II. *Журнал медико-биологических исследований*. 2015; (1): 5–15.

94. Аралова МВ, Глухов АА. Общая и местная криотерапия в комплексном лечении ран. *Вестник новых медицинских технологий*. 2015; 22(2): 111–5.

95. Кузнецов ДС, Ивахненко ДВ, Кетова ЕС, Дорохов ЕВ. Влияние тотальной криотерапии на динамику сердечного ритма и артериального давления здорового человека. *Здоровье и образование*. 2017; 19(2): 59–60.

96. Горбунова НИ, Тибекина ЛМ. Криотерапия в лечении больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника. *Вестник СПбГУ. Медицина*. 2018; 13(1): 58–71. <https://doi.org/10.21638/11701/spbu11.2018.106>.

97. Вакуленко ОЮ, Рассулова МА, Разумов АН. Обоснованность применения криотерапии и радонотерапии у пациентов с остеоартритом. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2017; (5): 58–66. <https://doi.org/10.17116/kurort201794558-66>.

98. Олисова ОЮ, Каюмова ЛН, Смирнов КВ, Шуппо ОА, Арсентьев НС. Общая криотерапия с использованием криокапсулы icequeen при различных дерматозах. *Russian journal of skin and venereal diseases*. 2017; 20(1): 15–20. <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2017-20-1-15-20>.
99. Руденко ВН, Емельянова ЕГ. Криотерапия. Главный врач юга России. 2015; 2(43): 69–71.
100. Выхованец ЮГ, Тетюра СМ, Черняк АН, Алёшечкин ПА. Сравнительная характеристика изменений показателей гемодинамики в разных возрастных группах при воздействии экстремально низкой температуры. *Вестник Ивановской медицинской академии*. 2017; 22(1): 30–3.
101. Dulian K, Laskowski R, Grzywacz T, Kujach S, Flis DJ, Smaruj M, Ziemann E. The whole body cryostimulation modifies irisin concentration and reduces inflammation in middle aged, obese men. *Cryobiology*. 2015; 71(3): 398–404. doi: 10.1016/j.
102. Бугаян СЭ, Елисеев ДН. Оптимизация обмена веществ в результате общего циклического аэрокриотермического воздействия в комплексном лечении ожирения у лиц молодого возраста. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2010; 5(4): 104–9.
103. Бабийчук ГА, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на показатели вегетативной регуляции сердечного ритма и содержание цитокинов в сыворотке крови у людей пожилого возраста. *Буковинський медичний вісник*. 2009; 13(4): 17–20.
104. Ломакин ИИ. Обоснование методов лечебного охлаждения в терапии хронического алкоголизма. *Проблемы криобиологии*. 2008; 18(3): 383–5.
105. Шило АВ, Венцовская ЕА, Бабийчук ГА. Сон в структуре адаптивного ответа организма на холодовые воздействия. *Проблемы криобиологии*. 2012; 22(3): 296.
106. Грищенко ВИ. Достижения криобиологии и криомедицины во имя здоровья нации. *Проблемы криобиологии*. 2008; 18(3): 269–74.

107. Блинов ДВ. Современные представления о роли нарушения резистентности гематоэнцефалического барьера в патогенезе заболеваний ЦНС. Часть 1: Строение и формирование гематоэнцефалического барьера. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2013; 5(3): 65–75.

108. Марченко ВС, Бабийчук ВГ. Кардиорегуляторная функция гематоэнцефалического барьера при резонансной гипотермии. Проблемы криобиологии. 2001; (4): 17–29.

109. Марченко ВС, Марченко ЛН, Говоруха ТП и др. Фрактальная ультраструктура гематоэнцефалического барьера при непрерывной, ритмической и хаотической гипотермии. Таврический медико-биологический вестник. 2012; 15(3): 216–9.

110. Блинов ДВ. Современные представления о роли нарушения резистентности гематоэнцефалического барьера в патогенезе заболеваний ЦНС. Часть 2: функции и механизмы повреждения гематоэнцефалического барьера. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2014; 6(1): 70–84.

111. Бабийчук ВГ, Марченко ВС, Бабийчук ГА. Холодовой стресс как фактор коррекции функциональной архитектоники гематоэнцефалического барьера старых крыс. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2012; 22(2): 107–17.

112. Мартинова ЮВ, Бабійчук ВГ. Вплив екстремального охолодження (-120°C) на функціональний стан організму молодих та старих щурів. VIII МАК 2017: тези VIII Міжнар. Антарктичн. Конф., присвяч. 25-ій річниці приєднання України до Договору про Антарктику (17 вересня 1992 р.) (м. Київ, 16–18 травня 2017 р.). Київ. 2017: 71–73.

113. Мартинова ЮВ. Гематоенцефалічний бар'єр та його зміни в умовах ритмічних холодкових впливів. Біологічні дослідження – 2015: зб. наук. праць наук.-практ. конф. для молодих учених і студентів (м. Житомир, 11–12 березня 2015 р.). Житомир. 2015: 390–394.

114. Петренко АЮ, Грищенко ВИ. Трансплантация стволовых клеток – терапия XXI века. Характеристика и свойства стволовых клеток. Проблемы криобиологии. 2001; (2): 3–12.

115. Глюкман ЭД. Пуповинная кровь как альтернативный источник гемопоэтических стволовых клеток для трансплантации. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011; 6(1): 12–14.

116. Владимирская ЕБ, Майорова ОА, Румянцев СА. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками. М.: Медицина и здоровье, 2007. 392с.

117. Исаев АА, Мелихова ВС. Применение клеток пуповинной крови в клинической практике. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2008; 3(1): 34–43.

118. Румянцев АГ, Румянцев СА. Пуповинная кровь, как источник информации о состоянии плода. Педиатрия. 2012; 91(3): 43–52.

119. Петренко АЮ, Грищенко ВИ. Трансплантация стволовых клеток – перспективное направление терапии XXI века. Стволовые кроветворные клетки из разных источников. Международный медицинский журнал. 2003; (1): 123–9.

120. Сериков ВБ, Куйперс Ф. Плацента человека как источник гемопоэтических стволовых клеток. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2008; 3(2): 51–6.

121. Mayani H. Biological differences between neonatal and adult human hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cells Dev.* 2010; 3(19): 285–98.

122. Casiraghi F, Perico N, Cortinovis M et al. Mesenchymal stromal cells in renal transplantation: opportunities and challenges. *Nat. Rev. Nephrol.* 2016; 12(4): 241–53.

123. Shabir S, Girdlestone J, Briggs D et al. Transitional B lymphocytes are associated with protection from kidney allograft rejection: a prospective study. *Am. J. Transplant.* 2015; 15(5): 1384–91.

124. Вермель АЕ. Стволовые клетки: общая характеристика и перспективы применения в клинической практике. Клиническая медицина. 2004; (1): 5–11.

125. Онищенко НА. Современные стратегии выработки трансплантационной толерантности клетками крови и костного мозга. *Гены & Клетки.* 2017; 12(2): 52–60.

126. Зуева ЕЕ, Куртова АВ, Комарова ЛС. Стволовые клетки. Некоторые биологические особенности и терапевтические возможности. Гематология. 2005; (6): 705–24.

127. Белоусов ЮБ. Некоторые актуальные проблемы клинических исследований стволовых клеток. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. 2005; 7(1): 131–8.

128. Мещерин СС, Онищенко НА, Баранова ОВ и др. Влияние аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга на формирование противоишемической резистентности почек. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2015; 17(4): 46–53.

129. Granados JM, Benichou G, Kawai T. Hematopoietic stem cell infusion/transplantation for induction of allograft tolerance. Curr. Opin. Organ Transplant. 2015; 20(1): 49–56.

130. Chen W, Jin W, Hardegen N. Conversion of peripheral CD4+CD25-naive T cells to CD4+CD25+regulatory T cells by TGFbeta induction of transcription factor Foxp3. J. Exp. Med. 2003; 198(12): 1875.

131. Hall BM. CD4+CD25+T regulatory cells in transplantation tolerance; 25 years on. Transplantation 2016; 100(12): 2533–47.

132. Kumar S, Wang J, Thomson AW et al. Hepatic stellate cells increase the immunosuppressive function of natural Foxp3+regulatory T cells via IDO-induced AhR activation. J. Leukocyte Biology. 2017; 101(2): 429–38.

133. Bell GM, Anderson AE, Diboll J et al. Autologous tolerogenic dendritic cells for rheumatoid and inflammatory arthritis. Ann. Rheum. Dis. 2017; 76(1): 227–34.

134. Thomson AW, Zahorchak AF, Ezzelarab MB et al. Prospective clinical testing of regulatory dendritic cells in organ transplantation. Front. Immunol. 2016; (7): 15.

135. Bouscary D, Lacombe C, Dreyfus F, Fontenay-Roupie M. The CD34⁺Thy⁺ cell population: are they all stem cells? Exp. Hematol. 2000; (28): 1312–14.

136. Мезен НИ, Квачева ЗБ, Сычик ЛМ. Стволовые клетки: Учебно-методическое пособие. М: БГМУ, 2014.

137. Соловьева АО, Повещенко АФ, Повещенко ОВ, Зубарева КЭ, Миллер ТВ, Коненков ВИ. Сравнительное исследование миграции и распределения донорских клеток костного мозга и селезенки в лимфоидные и нелимфоидные органы в разные сроки после трансплантации *in vivo* у мышей СВА. Бюллетень СО РАМН. 2013; 33(4): 35–41.

138. Kramer J, Hegert C, Guan K et al. Embryonic stem cell-derived chondrogenic differentiation *in vitro*: activation by BMP-2 and BMP-4. *Mech. Dev.* 2000; (92): 193–205. doi: 10.1016/S0925-4773(99)00339-1.

139. Takahashi K et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell.* 2007; (5): 861–72. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019.

140. Нимер СН. Стволовые клетки (обзор литературы). Проблемы здоровья и экологии. 2009; (1): 46–51.

141. Chen TS, Lai RC, Lee MM et al. Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38(1): 215–24. doi:10.1093 / NAR / gkp857.

142. Schoemans H, Theunissen K, Maertens J et al. Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review. *Bone Marrow Transplant: Electronic source.* 2006; (38): 83–93. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705403.

143. Jaroscak J, Goltry K, Smith A et al. Augmentation of umbilical cord blood (UCB) transplantation with *ex vivo*-expanded UCB cells: results of a phase 1 trial using the AastromReplicell System. *Blood.* 2003; 101(12): 5061–67.

144. Ballen KK. New trends in umbilical cord blood transplantation. *Blood.* 2005; (105): 3786–92. DOI: 10.1182/blood-2004-10-4125.

145. Мадригал А. Иммунологические свойства пуповинной крови. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011; 6(1): 17–9.

146. Broxmeyer HE, Gluckman E, Auerbach A et al. Human umbilical cord blood: a clinically useful source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells [review]. *Int. J. Cell Cloning.* 1990; 8 (1): 76–91.

147. Broxmeyer H. Umbilical cord transplantation: epilogue. *Semin. Hematol.* 2010; (47): 97–103. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2009.10.002.

148. Абдулкадыров КМ, Романенко НА. Заготовка плацентарной крови. Особенности ее клеточного состава и гемопоэтического потенциала. *Трансфузиология*. 2003; 4(1): 15–33.
149. Bradley MB, Cairo MS. Cord blood immunology and stem cell transplantation. *Human Immunol*. 2005; (6): 431–46.
150. Watt S, Contreras M. Stem cell medicine: Umbilical cord blood and its stem cell potential. *Semin. Fetal Neonat. Med*. 2005; 209(10): 201–7.
151. Brunstein CG, Setubal DC, Wagner JE. Expanding the role of umbilical cord blood transplantation. *Br. J. Haematol*. 2007; (137): 20–35.
152. Tseng L-Sh, Chen Sh-H, Lin M-T, Lin Y-Ch. Umbilical cord blood-derived stem cells improve heat tolerance and hypothalamic damage in heat stressed mice. *BioMed Research International: Electronic source*. 2014; 2014: 8p. Article ID 685683. DOI: 10.1155/2014/685683.
153. Bautista G, Cabrera JR, Regidor C et al. Cord blood transplants supported by co-infusion of mobilized hematopoietic stem cells from a third-party donor. *Bone Marrow Transplantation*. 2009; 43(5): 365–73. DOI: 10.1038/bmt.2008.329.
154. Correale J, Villa A. Cellular elements of the blood-brain barrier. *Neurochem Res*. 2009; (34): 2067–77.
155. Мелихова ВС, Исаев АА. Клеточные популяции, выделяемые из пуповинно-плацентарного комплекса и перспективы их научно-практического использования. *Клеточная и тканевая инженерия*. 2007; 2(4): 31–8.
156. Беленков ЮН, Агеев ФТ, Мареев ВЮ и др. Стволовые клетки и их применение для регенерации миокарда. *Сердечная недостаточность*. 2003; 4(4): 168–73.
157. Ballen K, Broxmeyer HE, McCullough J et al. Current status of cord blood banking and transplantation in the United States and Europe. *Biol. Blood and Marrow Transplant*. 2001; (7): 635–45.
158. Eapen M, Rocha V, Scaradavou A et al. Effect of stem cell source on transplant outcomes in adults with acute leukaemia: a comparison of unrelated marrow (BM), peripheral blood (PB) and cord blood (CB). *Blood*. 2008; (112): 62–3.

159. Fernandez MN. Improving the outcome of cord blood transplantation: use of mobilized HSC and other cells from third party donors. *British Journal of Haematology*. 2009; 147(2): 161–76. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07766.x.

160. Goodell MA, Rando ThA. Stem cells and healthy aging. *Science*. 2015; 350(6): 1199–204. DOI: 10.1126/science.aab3388.

161. Попов СВ, Рябов ВВ, Сулова ТЕ и др. Фундаментальные и прикладные аспекты клеточных технологий в кардиологии и кардиохирургии. *Бюллетень СО РАМН*. 2008; 132(4): 5–15.

162. Кочегура ТН, Ефименко АЮ, Акоюн ЖА и др. Клеточная терапия сердечной недостаточности: клинический опыт, проблемы и перспективы. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2010; 5(2): 11–8.

163. Беленков ЮН, Привалова ЕВ, Чекнева ИС. Клеточная терапия в лечении хронической сердечной недостаточности: виды применяемых стволовых клеток, результаты последних клинических исследований. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2008; 15(5): 4–18.

164. Насадюк ХМ. Ствобурові клітини пуповинної крові в регенеративній терапії хвороб серцево-судинної системи. *Жіночий лікар*. 2009: 12–15.

165. Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells*. 2004; (22): 487–500.

166. Маслова ЕВ, Андреева ЕР, Андрианова ИВ, Бобылева ПИ, Романов ЮА и др. Обогащение мононуклеаров пуповинной крови гемопоэтическими клетками-предшественниками в совместной культуре с мезенхимальными стромальными клетками жировой ткани человека. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2013; (4): 238–43.

167. Куртова АВ, Зуева ЕЕ. Количественный учет CD34⁺ гемопоэтических стволовых клеток в цельной пуповинной крови. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006; 3(1): 66–71.

168. Harris DT. Experience in autologous and allogeneic cord blood banking. *J. Hematother*. 1996; 5(2): 123–8.

169. Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE et al. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2010; (37): 13–25.
170. Chotinantakul K, Prasajak P, Leraanansaksiri W. Wnt1 accelerates an ex vivo expansion of human cord blood CD34⁺CD38[–] cells. *Stem Cells International: Electronic source.* 2013; 2013: 12p. DOI: 10.1155/2013/909812.
171. Godfrey WR, Spoden DJ, Ge YG et al. Cord blood CD4⁽⁺⁾CD25⁽⁺⁾-derived T regulatory cell lines express FoxP3 protein and manifest potent suppressor function. *Blood.* 2005; 105(2): 750–8. DOI: 10.1182/blood-2004-06-2467.
172. Brunstein CG, Barker JN, Weisdorf DJ et al. Intra-BM injection to enhance engraftment after myeloablative umbilical cord blood transplantation with two partially HLA-matched units. *Bone Marrow Transplant.* 2009; (43): 935–940.
173. Hao QL, Shah AJ, Thiemann F.T. et al. A functional comparison of CD34⁺CD38 cells in cord blood and bone marrow. *Blood.* 1995; (86): 3745–53.
174. Ruggieri L, Heimfeld S, Broxmeyer HE. Cytokine-dependent ex vivo expansion of early subsets of CD34⁺ cord blood myeloid progenitors is enhanced by cord blood plasma, but expansion of the more mature subsets of progenitors is favored. *Blood Cells.* 1994; (120): 436–54.
175. Castellano JM, Mosher KI, Abbey RJ et al. Human umbilical cord plasma proteins revitalize hippocampal function in aged mice. *Nature.* 2017; 544(7651): 488–92. DOI: 10.1038/nature22067.
176. Shahrokhi S, Mena F, Alimoghaddam K et al. Insights and hopes in umbilical cord blood stem cell transplantations. *Journal of Biomedicine and Biotechnology: Electronic source.* 2012; 2012: 11p. DOI: 10.1155/2012/572821.
177. Khodabux CM, Brand A. The use of cord blood for transfusion purposes: current status. *Vox Sang.* 2009; 97(4): 281–93.
178. Lewis ID. Clinical and experimental uses of umbilical cord blood. *Internal Medicine Journal.* 2002; 32(12): 601–9.
179. Nagamura-Inoue T, He H. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Their advantages and potential clinical utility. *World J Stem Cells: Electronic source.* 2014; 6(2): 195–202. DOI: 10.4252/wjsc.v6.i2.195.

180. Семенов МГ, Степанова ЮВ, Трощиева ДО. Перспективы применения стволовых клеток в реконструктивно-восстановительной хирургии челюстно-лицевой области. Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. 2016; 4(4): 84–92.
181. Соловьева АО, Повещенко ОВ, Повещенко АФ, Коненков ВИ, Караськов АМ. Изучение миграции трансплантированных клеток костного мозга в ткань сердца. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2012; (3): 75–8.
182. Смолянинов АБ, Обрезан АГ, Адылов ШФ. Гемопозитические стволовые клетки и преимущества трансплантации пуповинной крови. Медицина. XXI век. 2008; (12): 20–2.
183. Румянцев СА, Осипова ЕЮ, Ипатов СЕ, Шаманская ТВ, Майорова ОА, Румянцев АГ. Биологические свойства гемопозитических стволовых клеток пуповинной крови. Онкогематология. 2011; (1): 64–75.
184. Harrison DE, Astle CM. Short- and long-term multilineage repopulating hematopoietic stem cells in late fetal and newborn mice: Models for human umbilical cord blood. Blood. 1997; (90): 174–81.
185. Kumano K, Chiba S, Kunisata A et al. Notch1 but not notch2 is essential for generating hematopoietic stem cells from endothelial cells. Immunity. 2003; (18): 699–711.
186. Шаманская ТВ, Осипова ЕЮ, Румянцев СА. Ex vivo экспансия гемопозитических стволовых клеток пуповинной крови (обзор литературы). Онкогематология. 2012; (1): 35–44.
187. Hess DA, Meyerrose TE, Wirthlin L et al. Functional characterization of highly purified human hematopoietic repopulating cells isolated according to aldehyde dehydrogenase activity. Blood. 2004; 104(6): 1648–55.
188. Bertolini F, Lazzari L, Lauri E et al. Cord blood plasmamediated ex vivo expansion of hematopoietic progenitor cells. Bone Marrow Transplant. 1994; (14): 347–53.

189. Chivu M, Diaconu CC, Bleotu C et al. The comparison of different protocols for expansion of umbilical-cord blood hematopoietic stem cells. *J Cell Mol Med.* 2004; 8(2): 223–31.

190. Walenda T, Bork S, Horn P et al. Co-culture with mesenchymal stromal cells increases proliferation and maintenance of haematopoietic progenitor cells. *J Cell Mol Med.* 2010; 14(1–2): 337–50.

191. Delaney C, Heimfeld C, Brashem-Stein C et al. Notch-mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nat Med.* 2010; (16): 232–6.

192. Delaney C, Ratajczak MZ, Laughlin MJ. Strategies to enhance umbilical cord blood stem cell engraftment in adult patients. *Expert Rev Hematol.* 2010; 3(3): 273–83.

193. Пурышева ВЮ, Волина ВВ, Кудокоцева ОВ, Бабийчук ЛА. Влияние клеточных препаратов кордовой крови на морфологию кожи крыс. *Світ медицини та біології.* 2009; (3): 131–6.

194. Бабийчук ЛА, Рязанцев ВВ, Зубов ПМ, Зубова ОЛ. Гемопоэтические стволовые клетки кордовой крови: новые методы выделения и криоконсервирования. *Трансплантологія.* 2007; 9(1): 13–5.

195. Цуцаєва АО, Грищенко ВІ, Кудокоцева ОВ. Заготівля та ін. Кріоконсервування та клінічне застосування гемопоетичних клітин кордової крові людини : методичні рекомендації. Київ, 2000. 16с.

196. Бабийчук ЛА, Кудокоцева ОВ, Рязанцев ВВ и др. Современные подходы к количественному и качественному учету криоконсервированных стволовых клеток кордовой крови в аутобанке Харькова. *Трансплантологія.* 2008; 10(1): 119–21.

197. Грищенко ВІ, Гольцев АН. Трансплантация продуктов эмбрио-фетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения. *Проблемы криобиологии.* 2002; (1): 54–8.

198. Грищенко ВІ, Прокопюк ОС. Перспективы и возможности использования плацентарной крови. *Медицинские вести.* 1997; (4): 26–7.

199. Бабийчук ЛА, Зубов ПМ, Михайлова ОА и др. Структурно-функциональное состояние и жизнеспособность ядродержащих клеток кордовой крови после криоконсервирования. Научные ведомости БелГУ. Медицина. Фармация. 2013; 18(161): 120–5.

200. Бабийчук ЛА, Грищенко ВИ, Кудокоцева ОВ и др. Создание криобанка пуповинной крови на основе новых технологий криоконсервирования. Трансплантология. 2007; 9(1): 16–8.

201. Бабийчук ЛА, Кудокоцева ОВ, Рязанцев ВВ и др. Кордовая кровь – альтернативный источник стволовых клеток для регенеративной медицины: новые подходы к проблеме криоконсервирования. Буковинский медичний вісник. 2009; (4): 23–6.

202. Абрашова ТВ, Гушин ЯА, Ковалева МА, Рыбакова АВ, Селезнева АИ, Соколова АП, Ходько СВ. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Под. ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. СПб.: Изд-во «ЛЕМА», 2013. 116с.

203. Каркищенко НН. Основы биомоделирования. М.: Из-во ВПК. 2005. 608с.

204. Ноздрачев АД, Поляков ЕЛ. Анатомия крысы (Лабораторные животные). Под ред. Академика А.Д. Ноздрачева. СПб. Из-во «Лань». 2001. 464с. (Учебники для ВУЗов. Специальная литература).

205. Соколова АП, Абрашова ТВ, Хуттунен ОЭ, Селезнева АИ, Макарова МН, Макаров ВГ. Сравнительная характеристика биохимических и гематологических показателей у лабораторных крыс разных линий и возрастов. Международный вестник ветеринарии. 2010; (2): 58–62.

206. Гелашвили ОА. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крыс. Саратовский научно-медицинский журнал. 2008; 4(22): 125–6.

207. Абрашова ТВ, Соколова АП, Селезнева АИ, Хуттунен ОЭ, Макарова МН, Макаров ВГ. Вариабельность биохимических и гематологических показателей

у лабораторных крыс в зависимости от линии и возраста. *Международный вестник ветеринарии*. 2010; (4): 55–60.

208. Friedman RB, Young DS. *Effects of disease on clinical laboratory tests*, 3th ed. AACCC Press, 1997.

209. Gordon CJ. Thermal biology of the laboratory rat. *Physiol. Behav.* 1990; 47(5): 963–91.

210. Porsolt RD. Animal model of depression. *Biomed.* 1979; 30(3): 139–140.

211. *Veterinary hematology*. Ed. D.J. Weiss, K.J. Wardrop. John Wiley & Sons, Ltd. 2010. 455с.

212. Warner HR, Ingram D, Miller RA et al. Program for testing biological interventions to promote health aging. *Mech. Aging Dev.* 2000; (55): 199–208.

213. Ward JM. Background data and variations in tumor rates of control rats and mice. *Progr. Exp. Tumor Res.* 1983; (26): 241–58.

214. Angelova P, Boyadjiev NA review on the models of obesity and metabolic syndrome in rats. *Trakia Journal of Sciences*. 2013; 11(1): 5–12.

215. Gadjia AM, Pellizz MA, Ricci MR, Ulman EA Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rodent Models animal. *LABNEWS*. 2007; (74): 775–93.

216. Nilsson C, Raun K, Yan F, Larsen MO, Tang-Christensen M. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin.* 2012. 33(2): 173–81. doi: 10.1038/aps.2011.203.

217. Лещенко ДВ, Костюк НВ, Белякова МБ, Егорова ЕН, Миняев МВ, Петрова МБ. Диетически индуцированные животные модели Метаболического синдрома. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2015; 14(2): 34–9.

218. Kennedy AJ, Ellacott KLJ, King VL, Hasty AH. Mouse models of the metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms*. 2010; (3): 156–66.

219. Sleder J, Chen YD, Cully M, Reaven G. Hyperinsulinemia in fructose-induced hypertriglyceridemia in rat. *Metabolism*. 1980; (4): 303–5.

220. Toida S, Takahashi M, Shimizu H, Sato N, Shimomura Y, Kobayashi I. Effect of high sucrose feeding on fat accumulation in the male Wistar rat. *Obes Res*. 1996; 4(6): 561–8.

221. Boqué N, Campi3n J, Paternain L, Garc3a-D3az DF, Galarraga M, Portillo MP, Milagro F, Ortiz de Sol3rzano C, Mart3nez JA. Influence of dietary macronutrient composition on adiposity and cellularity of different fat depots in Wistar rats. *J Physiol Biochem.* 2009; 65(4): 387–95. doi: 10.1007/BF03185934.
222. Malafaia AB, Nassif PA, Ribas CA, Ariede BL, Sue KN, Cruz MA. Obesity induction with high fat sucrose in rats. *Arq Bras Cir Dig.* 2013; 26(1): 17–21.
223. Sievenpipera JL, de Souza RJ, Cozma AI, Chiavaroli L, Ha V, Mirrahimi A. Fructose vs. glucose and metabolism: do the metabolic differences matter? *Curr Opin Lipidol.* 2014; 25(1): 8–19. doi:10.1097.
224. Rippe JM, Angelopoulos TJ. Sucrose, High-Fructose Corn Syrup, and Fructose, Their Metabolism and Potential Health Effects: What Do We Really Know? *Advances in Nutrition.* 2013; 4(2): 236–45. doi:10.3945/an.112.002824.
225. Windemuller F, Xu J, Rabinowitz SS, Hussain MM, Schwarz SM. Lipogenesis in Huh7 cells is promoted by increasing the fructose: Glucose molar ratio. *World Journal of Hepatology.* 2016; 8(20): 838–43. doi:10.4254/wjh.v8.i20.838.
226. Buettner R, Parhofer K, Woenckhaus M, Wrede C, Kunz-Schughart LA, Sch3lmerich J, Bollheimer LC. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol.* 2006; 36(3): 485–501. doi: 10.1677/jme.1.01909.
227. Chang S, Graham B, Yakubu F, Lin D, Peters JC, Hill JO. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol.* 1990; (259): 1103–10.
228. Dobrian AD, Davies MJ, Prewitt RL, Lauterio TJ. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension.* 2000; (35): 1009–15.
229. Lutz TA, Woods SC. Overview of Animal Models of Obesity. *Current protocols in pharmacology.* 2012; 5(61): 1–22. doi: 10.1002/0471141755.ph0561s58.
230. Teixeira LG, Leonel AJ, Aguilar EC, Batista NV, Alves AC, Coimbra C.C., Alvarez Leite J.I. The combination of high-fat diet-induced obesity and chronic ulcerative colitis reciprocally exacerbates adipose tissue and colon inflammation. *Lipids in Health and Disease.* 2011; 10(204). doi:10.1186/1476-511X-10-204.

231. De La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould H.E. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2010; 299(2): 440–8. doi:10.1152/ajpgi.00098.2010.
232. Yook JS, Kim KA, Kim M, Cha YS. Black Adzuki Bean (*Vigna angularis*) Attenuates High-Fat Diet-Induced Colon Inflammation in Mice. *J Med Food*. 2017; 20(4): 367–75. doi: 10.1089/jmf.2016.3821.
233. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Medicine*. 2016; 8(42). doi:10.1186/s13073.
234. Греков ЕА, Кирпатовский ВИ, Голованов СА, Дрожжева ВВ, Казаченко АВ. Оценка влияния метаболического синдрома, андрогенного дефицита и стресса на развитие хронической болезни почек и печени у самцов белых крыс. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2012; (4): 8–13.
235. Карповец ТП, Конопельнюк ВВ, Галенова ТИ, Савчук АН, Остапченко ЛИ. Высококалорийная диета как фактор развития преддиабета у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013; (11): 582–5.
236. Axelsen LN, Lademann JB, Petersen JS, Holstein-Rathlou NH, Ploug T, Prats C, Pedersen HD, Kjolbye AL. Cardiac and metabolic changes in long-term high fructose-fat fed rats with severe obesity and extensive intramyocardial lipid accumulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010; 298: 1560–70.
237. Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Makowski L. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity (Silver Spring)*. 2011; 19(6): 1109–17. doi: 10.1038/oby.2011.18.
238. Баранов ВГ, Баранов НФ, Беловинцева МФ. Чувствительность к инсулину, толерантность к глюкозе и инсулиновая активность крови у крыс с алиментарным ожирением. *Проблемы эндокринологии*. 1972; (6): 52–58.

239. Кріокамера для екстремального охолодження лабораторних тварин: пат. 40168 Україна, МПК А61В 18/00. № u200812930; заявл. 06.11.2008; опубл. 25.03.2009. Бюл. №6. 4с.

240. Румянцев АГ, Масчан АА. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. Руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство «МИА». 2003. 910с.

241. Meier C, Middelanis J, Wasielewski B et al. Spastic Paresis After Perinatal Brain Damage in Rats Is Reduced by Human Cord Blood Mononuclear Cells. *Pediatric research*. 2006; 59(2.): 244–9.

242. Бабийчук ЛВ, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ. Влияние гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс разного возраста. *Проблемы старения и долголетия*. 2012; 21(1): 14–23.

243. Бабийчук ЛВ, Коваль СН, Бабийчук ВГ. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов старых крыс с экспериментальной неврогенной артериальной гипертензией до и после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2012; 13(1): 23–6.

244. Kuwahara M, Yayou K, Ishii K et al. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. *J. Electrocardiol*. 1994; 27(4): 333–7.

245. Baevskii RM. Analysis of Heart Rate Variability in Spase Medicine. *Human Phisi-ology*. 2002; 28(2): 70–82.

246. Бабунц ИВ, Мириджанян ЭМ, Машаех ЮА. Азбука анализа вариабельности сердечного ритма. Ставрополь: Принтмастер. 2002. 111с.

247. Яблучанский НИ, Мартыненко АВ. Вариабельность сердечного ритма в помощь практическому врачу. Для настоящих врачей. Харьков. 2010. 131с.

248. Barutcu I, Esen AM, Kaya D et al. Cigarette smoking and heart rate variability: Dynamic influence of parasympathetic and sympathetic maneuvers. *Ann. Noninvasive Electrocardiol*. 2005; (10): 324–9.

249. Воробьев КП, Паламарчук ЕА. Результаты независимого тестирования трех программ вычисления показателей variability сердечного ритма. Укр. мед. часопис. 2007; 3(59): 45–51.
250. Михайлов ВМ. Variability ритма сердца: опыт практического применения метода. 2-е изд. Иваново: Иван. гос. мед. Академия. 2002. 290с.
251. Boveda S, Galinier M, Pathak A et al. Prognostic value of heart rate variability in time domain analysis in congestive heart failure. *Interv. Card. Electrophysiol.* 2001; (5): 181–187.
252. Karim N, Hasan JA, Ali SS. Heart rate variability – a review. *Journal of Basic and Applied Sciences.* 2014 7(1): 71–7.
253. Reed MJ, Robertson CE, Addison PS. Heart rate variability measurements and the prediction of ventricular arrhythmias. *Q J Med.* 2005; (98): 87–95.
254. Fantoni C, Raffa S, Regoli F et al. Cardiac synchronization therapy improves heart rate profile and heart rate variability of patients with moderate to severe heart failure. *Am. Coll. Cardiol.* 2005; (46): 1875–82.
255. Guzzetti S, La Rovere MT, Pinna GD et al. Different spectral components of 24 h heart rate variability are related to different modes of death in chronic heart failure. *Ibid.* 2005; (26): 357–62.
256. Huikuri HV, Makikallio TH, Peng CK et al. Fractal correlation properties of R-R interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000; (101): 47–53.
257. Бокерия ЛА, Бокерия ОЛ, Волковская ИВ. Variability сердечного ритма: методы измерения, интерпретация, клиническое использование (обзор литературы). *Анналы аритмологии*, 2009; (4): 21–32.
258. Баевский РМ, Иванов ГГ, Чирейкин ЛВ и др. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем. *Вестник аритмологии.* 2014; (24): 65–87.
259. Коркушко ОВ, Писарук АВ, Шатило ВБ и др. Анализ variability ритма сердца в клинической практике (возрастные аспекты). К.: 2002. 191с.

260. Albarwani S, Al-Siyabi S, Tanira MO. Lisinopril indifferently improves heart rate variability during day and night periods in spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res.* 2013; 62(3): 237–45.
261. Baumert M, Brechtel LM, Lock J et al. Scaling graphs of heart rate time series in athletes demonstrating the VLF, LF and HF regions. *Physiol. Meas.* 2006; 27(9): 35–9.
262. Bosquet L, Merkari S, Arvisais D et al. Is heart rate a convenient tool to monitor over-reaching? A systematic review of the literature. *Br J. Sports Med.* 2008; 42(9): 709–14.
263. Pokrovskii VM. Hierarchy of the heart rhythmogenesis levels is a factor in increasing the reliability of cardiac activity. *Med.Hypotheses.* 2006; 66(1): 158–64.
264. Thayer JF, Yamamoto SS, Brosschot JF. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *Int. J. Cardiol.* 2010; 141(2): 122–31.
265. Зайчик АШ, Чурилов ЛП. Основы патохимии. СПб.: ЭЛБИ-СПб. 2000. 677с.
266. Физиология человека: учебник. Под ред. В.М. Покровского, Г.Ф. Коротько. М.: Медицина. 2003. 656с.
267. Марри Р, Греннер Д, Мейес П, Родуэлл В. Биохимия человека. В 2-х томах. Т. 2. М.: Мир. 1993. 415с.
268. Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharmaceutics & Drug Disposition.* 1995; 16(5): 351–80.
269. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972; 18(6): 499–502.
270. Тица НУ. Энциклопедия клинических лабораторных тестов (пер. с англ. под редак. В.В. Меньшикова). Москва.: «Лабинформ». 1997. 128с.
271. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты. Под ред. проф. А.И. Кубарко и проф. S.Yamashita. Минск – Нагасаки. 1998. 368с.

272. Березов ТТ, Коровкин БФ. Биологическая химия: учебник. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина. 1998. 704с.
273. Николаев АЯ. Биологическая химия. М: Мед. информ. Агентство. 2004. 559 [427–430] с.
274. Верин ВК, Иванов ВВ. Гормоны и их эффекты: справочник. СПб.: Фолиант. 2012. 136с.
275. Лелевич ВВ. Биологическая химия [Электронный ресурс].: https://www.ereading.club/bookreader.php/1042632/Lelevich_Biologicheskaya_himiya.html#label0.
276. Cooper DS. Subclinical thyroid disease a clinicians perspective. *Ann Intern Med.* 1998; (129): 135–8.
277. Helfand M, Redfern CC. Screening for thyroid disease an update. *Ann Intern Med.* 1998; 129): 140–3.
278. Physiology of thyroid hormones. *Drug Evaluations Annual 1995.* Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association. Chicago. 1995; (47): 1039–40.
279. Микроскопическая техника: руководство. под ред. Саркисова Д. С., Перова Ю. Л. М.: Медицина. 1996. 544с.
280. Власов АИ, Есуков КА, Косолапов ИА. Электронная микроскопия: учеб. пособие. М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана. 2011. 168 с.
281. Морозова КН. Электронная микроскопия в цитологических исследованиях: методическое пособие. Новосибирск. 2013. 85 с.
282. Maunsbach AB, Afzelius BA. *Biomedical electron microscopy.* Academic press. 1999. 552 p.
283. Karnovsky MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 1965; (27): 137–8.
284. Кравченко СА. Фиксирующие растворы в электронно-микроскопическом исследовании тканей легких. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2011; 6(2): 139–43.
285. *Electron microscopy: methods and protocols: 2nd ed./ed. by John Kuo.* Totowa. New Jersey. 2007. 625 p.

286. Robinson DG, Ehlers U, Herken R et al. *Methods of Preparation for Electron Microscopy: An Introduction for the Biomedical Sciences*. Springer-Verlag. 1987. 203 p.
287. Струков АИ, Серов ВВ. *Патологическая анатомия*. М.: Медицина. 1993. 688с.
288. Атраментова ЛА, Утевская ОМ. *Статистические методы в биологии*. Горловка: «Видавництво ліхтар». 2008. 248 с.
289. Лакин ГФ. *Биометрия*. М.: Высш.школа. 1990. 350 с.
290. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. Москва: Практика. 1998. 459 с.
291. Попов ВВ, Фрицше ЛП. Вариабельность сердечного ритма: возможности применения в физиологии и клинической медицине. *Украинский медицинский журнал*. 2006; (2): 1–8.
292. Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev*. 2013; 93(1): 359–404. doi:0.1152/physrev.00033.2011.
293. Saul JP. Beat-to-beat variations of heart rate reflect modulation of cardiac autonomic outflow. *News Physiol. Sci*. 1990; (5): 32–7.
294. Chen SW. A new algorithm developed bases on amixture of spectral and nonlinear techniques for the analisis of heart rate variability. *J. Med. Eng. Technol*. 2007; 31(3): 210–9.
295. Dobrek L, Skowron B, Baranowska A, Thor PJ. Spectral heart rate variability analysis in experimental obstructive and chemical overactive bladder models. *Adv. Clin. Exp. Med*. 2013; 22(3): 337–46.
296. Chizh NA. Parameters of Spectral Analysis of Heart Rate Variability in Rats. *Probl. Cryobiol. Cryomed*. 2015; 25(3): 235–45. doi.org/10.15407/cryo25.03.235
297. Yukinaka M, Nomura M, Saijyo T et al. Evaluation of autonomic nervous function in patients with essential hypertension complicated with peptic ulcer. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2000; 15(1): 40–4.
298. Королев ИБ, Котельников ВН, Осипов ИО. Сравнительная оценка состояния симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной

системы при повышенном уровне артериального давления у крыс. Наука и мир. Междунар. науч. журнал. 2014; 7(3): 122–7.

299. Markova P, Iliev B, Popov D, Girchev R. Heart rate variability during nNOS inhibition in spontaneously hypertensive rats. *Trakia Journal of Sciences*. 2010; 8(2): 114–18.

300. Хаютин ВМ, Лукошкова ЕВ. Колебания частоты сердцебиений: спектральный анализ (обзор литературы). *Вестник аритмологии*. 2002; (26): 10–21.

301. Carnevali L, Sgoifo A. Vagal modulation of resting heart rate in rats: the role of stress, psychosocial factors, and physical exercise. *Front. Physiol*. 2014; 24(5): 1–10.

302. Cheng Y, Cohen B, Orea V et al. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton. Neurosci*. 2004; 111(2): 80–8.

303. Kumaе T. Assessment of training effects on autonomic modulation of the cardiovascular system in mature rats using power spectral analysis of heart rate variability. *Environ. Health. Prev. Med*. 2012; 17(5): 415–22.

304. Marocolo M, Maior A, Katayama P et al. Anabolic steroid treatment induces cardiac autonomic dysfunction in rats: timecourse of heart rate variability. *Am. J. Biomed. Engineer*. 2013; 3(3): 54–62.

305. Pereira-Junior PP, Marocolo M, Rodrigues FP et al. Noninvasive method for electrocardiogram recording in conscious rats: feasibility for heart rate variability analysis. *An. Acad. Bras. Cienc*. 2010; 82(2): 431–7.

306. Sabharwal R, Coote JH, Johns EJ, Egginton S. Effect of hypothermia on baroreflex control of heart rate and renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats. *J. Physiol*. 2004; (557): 247–59.

307. Silveira LCR, Tezini GC, Schujmann SD et al. Comparison of the effects of aerobic and resistance training on cardiac autonomic adaptations in ovariectomized rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*. 2011; (162): 35–41.

308. Красноруцкая ОН, Петрова ТН, Зуйкова АА. Прогнозирование патологии щитовидной железы методом временного и спектрального анализа

вариабельности ритма сердца. Вестник новых медицинских технологий. 2010; 17(2): 122–4.

309. Невзорова ВА, Абрамов ЕА, Власенко АН. Особенности липидного спектра, вариабельности артериального давления и сердечного ритма у больных с клиническими проявлениями метаболического синдрома. Вестник аритмологии. 2004; (36): 27–30.

310. Wagner JE, Gluckman E. Umbilical cord blood transplantation: the first 20 years. *Semin. Hematol.* 2010; 47(1): 3–12.

311. Ingram DK, Jucker M. Developing mouse models of aging: a consideration of strain differences in age-related behavioral and neural parameters. *Neurobiol. Aging.* 1999; (20): 137–45.

312. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности сочетанного влияния ритмического экстремального охлаждения (-120°C) и кордовой крови на показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением. Вестник Луганского национального университета имени Тараса Шевченка. Часть 1: Биологические науки. 2014; 2(295): 30–38.

313. Руднева ЮВ, Бабийчук ВГ, Чернявская ЕА, Кулик ВВ, Бабийчук ЛВ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечным ритмом у животных различных возрастных групп в норме и при алиментарном ожирении. Кримоконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участ. (г. Пущино, 28–30 окт. 2014 г.). Биофизика живой клетки. 2014; (10): 171–3.

314. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности состояния вегетативной регуляции сердечным ритмом у крыс с алиментарным ожирением на фоне ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы V междунар. науч.-практ. конф. (г. Челябинск, 2–3 окт. 2014 г.). Челябинск. 2014. с. 239–44.

315. Чернявская ЕА. Особенности состояния вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением на фоне введения кордовой крови. Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты: материалы Всероссийской заочн. науч.-практ. конф. (г. Чебоксары, 1 ноября 2014 г.). Чебоксары. 2014. с. 169–74.

316. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности влияния ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) на состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Специфические и неспецифические механизмы адаптации во время стресса и физической нагрузки: материалы II Республиканской науч.-практ. интернет-конференции с международным участием (г. Гомель, 30 ноября 2016 г.). Гомель. 2016. с. 63–66.

317. Чернявская ЕА. Особенности влияния криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. (м. Люблін, Республіка Польща, 28–29 квітня 2017 р.). Люблін. 2017. с. 176–9.

318. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Влияние криоконсервированной кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением. Холод в біології та медицині – 2016: Актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології: матеріали 40-ої щорічн. конф. молодих учених (м. Харків, 23–24 травня 2016 р.). Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; 26(2): 171.

319. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на структурно-функциональное состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології»,

(Сімнадцяті Данилевські читання): матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю (м. Харків, 1–2 березня 2018 р.). Харків. 2018. с.140–2.

320. Чернявська ОО, Мамонтов ВВ, Бабійчук ВГ, Мартинова ЮВ, Кулик ВВ. Спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з аліментарним ожирінням: пат. 108528 Україна, МПК А61К 35/14, А61F 7/00, А61Р 3/04. Заявник та патентовласник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. № u201512626; заяв. 21.12.2015. Опубл. 25.07.2016. Бюл. №14.

321. Franssen R, Monajemi H, Stroes E, Kastelein J. Obesity and dyslipidemia. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* 2008; (37): 623–33.

322. Yamamoto Y, Hirose H, Saito I et al. Correlation of the adipocytederived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin. Science.* 2002; (103): 137–42.

323. Климов АН, Никульчева НГ. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. СПб.: Питер Ком. 1999. 152с.

324. Ворошилова МП. ожирение как физиологическая адаптация человека к старению. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион.* 2008; (2): 53–9.

325. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ, Сиротенко ЛА. Показатели липидного профиля сыворотки крови молодых и старых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения экстремального охлаждения и ядросодержащих клеток кордовой крови. *Украинский журнал медицины, биологии и спорта.* 2019; 4(6): 356–61. DOI: 10.26693/jmbs04.06.356

326. Кулик ВВ, Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ, Бабийчук АВ. Влияние ритмического экстремального охлаждения на состояние липидного профиля сыворотки крови старых крыс в норме и при алиментарном ожирении. *Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 136–40.*

327. Кабак ЯМ. Практикум по эндокринологии. Основные методики экспериментально-эндокринологических исследований. М.: Издательство Московского университета. 1968. 276 с.

328. Журавлева ЛВ, Моисеенко ТА. Тиреоидный статус у больных ожирением разной степени. *Эндокринология*. 2016; 21(1): 26–32.

329. Solanki A, Bansal S, Jindal S, Saxena V, Shukla US. Relationship of serum thyroid stimulating hormone with body mass index in healthy adults. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 2013; (17): 167–69.

330. Яглова НВ, Яглов ВВ. Новые аспекты исследования гистогенеза жировых тканей. *КЭМ*. 2015; 3(15): 68–71.

331. Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH. Beige Adipocytes are a Distinct Type of Thermogenic Fat Cell in Mouse and Human. *Cell*. 2012; 150(2): 366–76. doi:10.1016/j.cell.2012.05.01.

332. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine*. 2013; (19): 1252–63. doi:10.1038/nm.3361.

333. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- κ B signaling through cAMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000; (102): 1296–301.

334. Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, Kim JI, Kim JB. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Frontiers in Endocrinology*. 2016; 7(30). <http://doi.org/10.3389/fendo.2016.00030>.

335. Ross MH, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology (7th Edition)*. Wolters Kluwer Health. Print book. 2016. 645p.

336. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2006; (6): 772–83. doi:10.1038/nri1937.

337. Divella R, De Luca R, Abbate I, Naglieri E, Daniele A. Obesity and cancer: the role of adipose tissue and adipo-cytokines-induced chronic inflammation. *Journal of Cancer*. 2016; 7(15): 2346–59. doi:10.7150/jca.16884.
338. Mancuso P. The role of adipokines in chronic inflammation. *ImmunoTargets and Therapy*. 2016; (5): 47–56. doi:10.2147/ITT.S73223.
339. Нельсон Д, Кокс М. Основы биохимии Ленинджера в трех томах. Том 2. Биоэнергетика и метаболизм. М.: Бином. Лаборатория знаний. 2014. 636с.
340. Galofé J, Frühbeck G, Salvador J. Obesity and thyroid function: pathophysiological and therapeutic implications. *Hot Thyroidol*. 2010; (6): 2075–202.
341. Bastemir M, Akin F, Alkis E. et al. Obesity is associated with increased serum TSH level, independent of thyroid function. *Swiss. Med. Wkly*. 2007; (137): 29–30.
342. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB et al. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *J. Clin. Endocr. Met*. 2005; (90): 4019–24.
343. Manji N, Boelaert K, Sheppard MC et al. Lack of association between serum TSH or free T4 and body mass index in euthyroid subjects. *Clin. Endocrinol*. 2006; (64): 125–8.
344. Michalaki MA, Vagenakis AG, Leonardou A.S. et al. Thyroid function in humans with morbid obesity. *Thyroid*. 2006; (16): 73–8.
345. Pontikides N, Krassas GE. Basic endocrine products of adipose tissue in states of thyroid dysfunction. *Thyroid*. 2007; (17): 421–31.
346. Reinehr T. Obesity and thyroid function. *Mol. Cell. Endocr*. 2010; (316): 165–71.
347. Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol. Rev*. 2001; (81): 1097–142.
348. Zimmermann-Belsing T, Brabant G, Holst JJ et al. Circulating leptin and thyroid dysfunction. *Eur. J. Endocrinol*. 2003; (149): 257–71.

349. Konieczna J, Palou M, Sánchez J et al. Leptin intake in suckling rats restores altered T3 levels and markers of adipose tissue sympathetic drive and function caused by gestational calorie restriction. 2015; 39(6): 959–66.

350. Мустафина СВ, Рымар ОД, Симонова ГИ, Щербакова ЛВ. Тиреоидный статус у лиц с ожирением. Клиническая и экспериментальная тиреоидология. 2011; 7(2): 57–62.

351. Отто НЮ, Сагитова ГР, Никулина НЮ, Ледяев МЯ. Частота метаболического синдрома и других осложнений ожирения в практике детского эндокринолога. Вестник ВолгГМУ. 2018; 3(67): 93–8.

352. Симаненков ВИ, Тихонов СВ, Ильяшевич ИГ, Ледовая АВ, Макиенко ВВ, Федорова НВ. Эпидемиология, социальные аспекты и патогенез ожирения (обзор). Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2017; 9(1): 21–7.

353. Guzzardi MA. Maternal adiposity and infancy growth predict later telomere length: a longitudinal cohort study. J Obes. 2016; 40(7): 1063–69.

354. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y et al. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. Clin Sci (Lond). 2016; 130(12): 943–86.

355. Hodson L. Adipose tissue oxygenation: Effects on metabolic function. Adipocyte. 2014; 3(1): 75–80.

356. Kulecka M, Paziawska A, Zeber-Lubecka N et al. Prolonged transfer of feces from the lean mice modulates gut microbiota in obese mice. Nutr Metab (Lond). 2016; 13(1): 57–63.

357. Бржезинская ЛБ, Самсонова ЛН, Латышев ОЮ, Окминян ГФ, Киселева ЕВ, Касаткина ЭП. Клинико-гормональная характеристика конституциональной задержки полового развития у мальчиков с ожирением. Журнал для непрерывного медицинского образования врачей. 2017; (3): 79–84.

358. Mihalca R, Fica S. The impact of obesity on the male reproductive axis. J. Med. Life. 2014; 7(2): 296–300.

359. Burt Solorzano CM, McCartney CR. Obesity and the pubertal transition in girls and boys. *Hum. Reprod.* 2010; 140(3): 399–410.
360. Xu X, Sun M, Ye J, Luo D et al. The effect of aromatase on the reproductive function of obese males. *Horm. Metab. Res. J.* 2017; 49(8): 572–9.
361. Sermondade N, Faure C. Obesity and increased risk for oligozoospermia and azoospermia. *Arch. Intern. Med.* 2012; (172): 440–2.
362. MacDonald AA, Herbison GP. The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. *Hum. Reprod.* 2010; (16): 293–311.
363. Малинин МЛ. Половые различия по биохимическим показателям крови у разных видов лабораторных животных. *Известия Саратовского университета.* 2008; 8(1): 51–4.
364. Bates GW, Whitworth NS. Effect of body weight reduction on plasma androgens in obese, infertile women. *Ferltil. Steni.* 2009; 38: 406.
365. Григорян ОР, Андреева ЕН. Ожирение и репродуктивная система. *Трудный пациент.* 2011; 9(8–9): 21–4.
366. Гончаров НП, Кацья ГВ. Дегидроэпиандростерон: биосинтез, метаболизм, биологическое действие и клиническое применение (аналитический обзор). *Андрология и генитальная хирургия.* 2015; (1): 13–22. DOI: 10.17650/2070-9781-2015-1-13-22.
367. Ruiz-Cortés ZT. Gonadal Sex Steroids: Production, Action and Interactions in Mammals. *From Physiology to Clinical Medicine: Chapter 1*/ed. by Sergej M. Ostojic. 2012; 3–44. DOI: 10.5772/52994.
368. Neunzig J, Bernhardt R. Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) stimulates the first step in the biosynthesis of steroid hormones. *PLoS ONE: Electronic source.* 2014; 9(2): 7 p.: e89727. DOI: 10.1371/journal.pone.
369. Лукаш ЕЕ, Джамал Х. Ожирение и репродуктивное здоровье женщины. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.* 2017; 4(2): 84–7. DOI <http://dx.doi.org/10.18821/2313-8726-2017-4-2-84-87>.

370. Goncharov NP, Katsiya GV, Dzhokua AA et al. Effect of neurosteroid dehydroepiandrosterone on the higher nervous activity of old non-human primates. *Hum Physiol.* 2014; 40(2): 149–55.

371. Labrie F, Bélanger A, Simard J et al. DHEA and peripheral androgen and estrogen formation: intracrinology. *Ann NY Acad Sci.* 1995; (774): 16–28.

372. Kimonides VG, Spillantini MG, Sofroniew MV et al. Dehydroepiandrosterone antagonizes the neurotoxic effects of corticosterone and translocation of stress-activated protein kinase 3 in hippocampal primary cultures. *Neuroscience.* 1999; (2): 429–36.

373. Longcope C. Dehydroepiandrosterone metabolism. *J. Endocrinol.* 1996; 150(3): 125–7. DOI: 10.1677/joe.0.150S125.

374. Pluchino N, Drakopoulos P, Bianchi-Demicheli F et al. Neurobiology of DHEA and effects on sexuality, mood and cognition. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.* 2015; (145): 273–80. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2014.04.012.

375. Чернявская ЕА. Содержание тиреоидных и половых гормонов в сыворотке крови молодых и старых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения экстремального охлаждения и ядросодержащих клеток кордовой крови. *Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 147–50.*

376. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. Пер.с англ. под ред. В.В. Португалова. М.: Изд. «Мир». 1969. 645с.

377. Буданцев АЮ. Основы гистохимии: Учебное пособие (Электронная версия). Пушино: Пушинский гос. ун-т. 2008. <http://window.edu.ru/resource/159/59159>.

378. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovascular Research.* 2005; (66): 286–94. DOI: 10.1016/j.cardiores.2004.12.027.

379. Campia U, Tesauro M, Cardillo C. Human obesity and endothelium dependent responsiveness. *Br. J. Pharmacol.* 2012; 165(3): 561–73.

380. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности структурной организации миокарда старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Украинский журнал медицины, биологии и спорта. 2017; 4(6): 199–204.

381. Чернявская ЕА, Волина ВВ, Бабийчук ВГ. Структура миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодových воздействий и криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2018; 28(2): 108–19.

382. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Структурная организация миокарда молодых и старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток пуповинной крови. Актуальные вопросы регенеративной медицины, инновации в репродуктологии: материалы Всероссийской науч.-практ. конф. с международным участием (г. Самара, 23–24 августа 2018 г.) Гены и клетки. Приложение. 2018; (1): 115.

383. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Структурная организация миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Актуальні питання біології та медицини: матеріали Всеукраїнської наук. конф. з дистанційною участю (м. Суми, 16–17 листопада 2017 р.). Суми. 2017. с. 53–5.

384. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности структурной организации миокарда молодых и старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Современные проблемы адаптации (Жученковские чтения IV). Часть II: сборник научных трудов международной науч.-практ. конф. (г. Белгород, 24–26 сентября 2018 г.). Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ». 2018. с. 326–9.

385. Чернявская ЕА. Структура миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології:

матеріали 4-ї міжнародної наук. конф. (м. Дніпро, 5–6 жовтня 2017 р.). Дніпро, 2017. с. 245–7.

386. Чернявская ЕА. Структура миокарда старых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. III Национальный конгресса по регенеративной медицине: материалы Всероссийской науч.-практ. конф. с международным участием (г. Москва, 15–18 ноября 2017 г.). Гены и клетки. 2017; 12(3): 263.

387. Martynova YV, Chernyavskaya EA, Babiychuk VG. Cryotherapy combined with cord blood injection improves myocardium structure in obese rats. CRYO2018: the 55th annual meeting of the society for cryobiology (Madrid, July 10-13, 2018). Madrid. 2018. p. 112.

388. Чернявская ЕА, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C) и кордовой крови. Вісник проблем біології і медицини. 2015; 1(124): 228–33.

389. Чернявская ЕА, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения криоконсервированного препарата кордовой крови. Світ медицини та біології. 2016; 1(55): 167–72.

390. Чернявская ЕА, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Особенности ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата кордовой крови. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2016; 20(1): 27–31.

391. Чернявская ЕА, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических

экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Вісник проблем біології і медицини. 2016; 1(126): 318–23.

392. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Біологічні дослідження – 2016: зб. наук. праць наук.-практ. конф. для молодих учених і студентів (м. Житомир, 10–11 березня 2016 р.). Житомир, 2016. с.292–4.

393. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы VI междунар. науч.-практ. конф. (г. Челябинск, 8–9 ноября 2016 г.). Челябинск. 2016. с. 349–54.

394. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: материалы II Международной (72 Всероссийской) науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов (г. Екатеринбург, 12–14 апреля, 2017 г.). Екатеринбург. 2017. с. 846–50.

395. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурной архитектоники эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: материалы VII Всероссийского симпозиума с международным участием (г. Астрахань, 27–28 апреля, 2017 г.). Астрахань. 2017. с. 167–70.

396. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс с алиментарным

ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології: матеріали IV міжнар. наук. конф. студентів, аспірантів і молодих вчених (м. Вінниця, 12–14 квітня 2016 р.). Вінниця: ДРУК. 2016. с. 374–5.

397. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная архитектоника эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). *Advances in Science and Technology*: материалы II междунар. науч.-практ. телеконф. (г. Пенза, 25 декабря 2015 г.). *Actualscience*. 2015; 1(5): 12–3.

398. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата кордовой крови. Актуальні питання розвитку біології та екології: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. (м. Вінниця, 3–7 жовтня 2016 р.). Вінниця, ТОВ «Нілан-ЛТД», 2016. с. 465–8.

399. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда старых крыс с алиментарным ожирением после ритмических экстремальных холодовых воздействий. VI національний конгрес геронтологів і геріатрів України: матеріали науч.-практ. конф. (м. Київ 19–21 жовтня 2016 р.). *Проблемы старения и долголетия, приложение*. 2016; (25): 43–4.

ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації**1. Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:***Статті у наукових фахових виданнях України*

1. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности сочетанного влияния ритмического экстремального охлаждения (-120°C) и кордовой крови на показатели спектрального анализа вариабельности сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением. Вестник Луганского национального университета имени Тараса Шевченка. Часть 1: Биологические науки. 2014; 2(295): 30–8.

2. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C) и кордовой крови. Вісник проблем біології і медицини. 2015; 4(124): 228–33.

3. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения криоконсервированного препарата кордовой крови. Світ медицини та біології. 2016; 1(55): 167–72.

4. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Особенности ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата кордовой крови. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2016; 1(1): 27–31.

5. **Чернявская ЕА**, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Мартынова ЮВ, Кулик ВВ. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения

ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Вісник проблем біології і медицини. 2016; 1(126): 318–23.

6. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности структурной организации миокарда старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Украинский журнал медицины, биологии и спорта. 2017; 4(6): 199–204.

7. **Чернявская ЕА**, Волина ВВ, Бабийчук ВГ. Структура миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий и криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2018; (2): 108–19. (Scopus)

8. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ, Сиротенко ЛА. Показатели липидного профиля сыворотки крови молодых и старых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения экстремального охлаждения и ядродержащих клеток кордовой крови. Украинский журнал медицины, биологии и спорта. 2019; 6(22): 356–61.

Статті в наукових періодичних виданнях інших країн

9. Руднева ЮВ, Бабийчук ВГ, **Чернявская ЕА**, Кулик ВВ, Бабийчук ЛВ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечным ритмом у животных различных возрастных групп в норме и при алиментарном ожирении. Биофизика живой клетки. 20144 (10): 171–3.

2. Наукові праці, які засвічують апробацію матеріалів дисертації:

Статті в збірках матеріалів конференцій

10. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности состояния вегетативной регуляции сердечным ритмом у крыс с алиментарным ожирением на фоне ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: мат. V межд. науч.-практ. конф. г. Челябинск, РФ, 2–3.10.2014 г. Челябинск, 2014. с. 239–44.

11. **Чернявская ЕА.** Особенности состояния вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением на фоне введения кордовой крови. Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты: мат. Всероссийской заочн. науч.-практ. конф. г. Чебоксары, РФ, 1.11. 2014 г. Чебоксары, 2014. с. 169–74.

12. **Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ.** Особенности влияния ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) на состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Специфические и неспецифические механизмы адаптации во время стресса и физической нагрузки: мат. II Республиканской науч.-практ. инт.-конф. с межд. уч. г. Гомель, Беларусь, 30.11.2016 г. Гомель, 2016. с. 63–6.

13. **Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ.** Особенности ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: мат. VI межд. науч.-практ. конф. г. Челябинск, РФ, 8–9.10.2016 г. Челябинск, 2016. с. 349–54.

14. **Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ.** Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови. Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: мат. II межд. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов. г. Екатеринбург, РФ, 12–14.04.2017 г. Екатеринбург, 2017. с. 846–50.

15. **Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ.** Особенности ультраструктурной архитектоники эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. Актуальные вопросы тканевой и

клеточной трансплантологии: мат. VII Всероссийского симп. с межд. уч. г. Астрахань, РФ, 27–28.04.2017 г. Астрахань, 2017. с. 167–70.

16. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Структурная организация миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Актуальні питання біології та медицини: мат. Всеукр. наук. конф. з дист. уч. м. Суми, Україна, 16–17.11.2017 м. Суми, 2017. с. 53–5.

17. **Чернявская ЕА**. Особенности влияния криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України: мат. міжнар. наук.-практ. конф. г. Люблін, Республіка Польща, 28–29.04.2017 г. Люблін, 2017. с. 176–9.

18. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности структурной организации миокарда молодых и старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Современные проблемы адаптации (Жученковские чтения IV). Часть II: мат. межд. науч.-практ. конф. г. Белгород, РФ, 24–26.09.2018 г. Белгород, 2018. с. 326–9.

19. Кулик ВВ, **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ, Бабийчук АВ. Влияние ритмического экстремального охлаждения на состояние липидного профиля сыворотки крови старых крыс в норме и при алиментарном ожирении. Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 136–40.

20. **Чернявская ЕА**. Содержание тиреоидных и половых гормонов в сыворотке крови молодых и старых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения экстремального охлаждения и ядродержащих клеток кордовой крови. Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат.

міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 147–150.

Тези конференцій

21. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Біологічні дослідження – 2016: тези наук.-практ. конф. для молодих учених і студентів. м. Житомир, Україна, 10–11.03.2016 г. Житомир. 2016. с. 292–4.

22. **Чернявская ЕА**. Структура миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови. Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології: мат. 4-ї міжнар. наук. конф. м. Дніпро, Україна, 5–6.10.2017 м. Дніпро, 2017. с. 245–7.

23. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології: мат. IV міжнар. наук. конф. м. Вінниця, Україна, 12–14.04.2016 м. Вінниця, 2016. с. 374–5.

24. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная архитектура эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Actualscience. 2015; 5(5): 12–3.

25. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата кордовой крови. Актуальні питання розвитку біології та екології: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Вінниця, Україна, 3–7.10.2016 м. Вінниця, 2016. с. 465–8.

26. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Влияние криоконсервированной кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс с

алиментарным ожирением. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; (2): 171. (Scopus)

27. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда старых крыс с алиментарным ожирением после ритмических экстремальных холодových воздействий. Проблемы старения и долголетия, приложение. 2016; (25): 43–4.

28. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Структура миокарда старых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови. Гены и клетки. Приложение. 2017; (3): 263. (Scopus)

29. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Влияние ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C) и криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови на структурно-функциональное состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології. Сімнадцяті Данилевські читання: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. уч. м. Харків, Україна, 1–2.03.2018 м. Харків, 2018. с. 140–2.

30. **Чернявская ЕА**, Бабийчук ВГ. Структурная организация миокарда молодых и старых крыс с моделью алиментарного ожирения на фоне введения криоконсервированных ядросодержащих клеток пуповинной крови. Гены и клетки. Приложение. 2018; (1): 115. (Scopus)

31. Martynova YV, **Chernyavskaya EA**, Babiychuk VG. Cryotherapy combined with cord blood injection improves myocardium structure in obese rats. CRYO 2018: the 55th annual meeting of the society for cryobiology. с. Madrid, Spain, 10–13.07.2018 с. Madrid. 2018. p. 112.

Патент України на корисну модель

32. Патент №108528, Україна, МПК А61К 35/14, А61F 7/00, А61Р 3/04. Заявл. 21.12.2015, з.н. u201512626. Спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з аліментарним ожирінням. Публ.

25.07.2016. Бюл. №14. Заявник О.О. Чернявська, В.В. Мамонтов, В.Г. Бабійчук,
Ю.В. Мартинова, В.В. Кулик.

ДОДАТОК Б

Апробація матеріалів дисертації

Апробація результатів дисертації. Результати роботи були представлені на наступних наукових конференціях:

– «Криоконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы», міжнародна науково-практична конференція (2014 р., Пушино, РФ);

– «Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты» Всеросійська заочна науково-практична конференція (1.11.2014 р., Чебоксари, РФ);

– «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» V міжнародна науково-практична конференція (2–3.10.2014 р., Челябінськ, РФ);

– «Актуальні питання біології і медицини» XII міжрегіональна наукова конференція с очно-заочною участю (2014 р., Луганськ, Україна);

– «Advances in Science and Technology» II міжнародній науково-практичній телеконференції (2015 р., Пенза, РФ);

– «Біологічні дослідження – 2016» науково-практична конференція для молодих вчених та студентів (10–11.03.2016 р., Житомир, Україна);

– «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології» міжнародна науково-практична конференція студентів, аспірантів и молодих вчених, (12–14.04.2016 р., Вінниця, Україна);

– «Холод в біології та медицині – 2016. Актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології» 40-й щорічна конференція молодих вчених (2016 р., Україна, Харків);

– VI національний конгрес геронтологів і геріатрів України (2016 р., Україна, Київ);

– «Актуальні питання розвитку біології та екології» міжнародна науково-практична конференція (3–7.10.2016 р., Україна, Вінниця);

- «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» VI міжнародна науково-практична конференція (8–9.10.2016 р., Челябінськ, РФ);
- «Специфические и неспецифические механизмы адаптации во время стресса и физической нагрузки» II Республіканській науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю (30.11.2016 р., Гомель, Республіка Білорусь);
- «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» VII Всеросійський симпозиум з міжнародною участю (27–28.04.2017 р., Астрахань, РФ);
- «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» II міжнародна (72 Всеросійська) науково-практична конференція молодих вчених і студентів (12–14.04.2017 р., Єкатеринбург, РФ);
- III Национальном конгрессе по регенеративной медицине, (2017 р., Москва, РФ);
- «Актуальні питання біології та медицини» Всеукраїнська наукова конференція с дистанційною участю (16–17.11.2017 р., Суми, Україна);
- «Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України» міжнародна науково-практична конференція (28–29.04.2017 р., Республіка Польща, Люблін);
- «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології» 4-та міжнародна наукова конференція (5–6.10.2017 р., Україна, Дніпро);
- «Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических и спортивных наук» II міжнародна заочна науково-практична конференція (2017 р., Україна, Миколаїв);
- «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології, (Сімнадцяті Данилевські читання)» науково-практична конференція з міжнародною участю (1–2.03.2018 р., Україна, Харків);
- «Актуальные вопросы регенеративной медицины, инновации в репродуктологии» Всеросійська науково-практична конференція з міжнародною участю (2018 р., РФ, Самара);

- «Современные проблемы адаптации (Жученковские чтения IV)» міжнародна науково-практична конференція (24–26.09.2018 р., РФ, Білгород);
- «CRYO 2018» 55-те щорічне зібрання товариства кріобіологів (10–13.07.2018 р., Іспанія, Мадрид);
- «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук» IV Міжнародна науково-практична конференція, (17–18.10.2019 р., Миколаїв, Україна);
- «Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС» міжнародна науково-практична конференція (27–28.09.2019 р., Влоцлавек, Республіка Польща).



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **108528** (13) **U**

(51) МПК (2016.01)

A61K 35/14 (2015.01)**A61F 7/00****A61P 3/04** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ(21) Номер заявки: **u 2015 12626**(22) Дата подання заявки: **21.12.2015**(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.07.2016**(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.07.2016, Бюл.№ 14**

(72) Винахідник(и):

**Чернявська Олена Олександрівна (UA),
Мамонтов Вячеслав Володимирович
(UA),****Бабійчук Владислав Георгійович (UA),
Мартінова Юлія Вікторівна (UA),
Кулик Володимир Володимирович (UA)**

(73) Власник(и):

**ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І
КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015
(UA)****(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ВЕГЕТАТИВНИХ ПОРУШЕНЬ ОРГАНІЗМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН З АЛІМЕНТАРНИМ ОЖИРІННЯМ**

(57) Реферат:

Спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з аліментарним ожирінням передбачає проведення сеансів ритмічних екстремальних холодкових впливів на тварин при -120°C . Після закінчення сеансів охолодження вводять препарат кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові людини в аутоплазмі.

UA 108528 U

UA 108528 U

UA 108528 U

Корисна модель належить до галузі експериментальної медицини.

Відомим аналогом є спосіб корекції вегетативних порушень при аліментарному ожирінні з використанням біологічно активних препаратів тваринного походження, таких як цитаміни [1].

Недоліком аналога є те, що при використанні таких препаратів можливі непередбачені ускладнення, оскільки їх дія на організм тварин ще недостатньо вивчена.

Найближчим аналогом до способів корекції вегетативних дисфункцій організму тварин з аліментарним ожирінням шляхом ритмічних екстремальних холодових впливів (РЕХВ) при температурі -120°C [2].

Недоліком найближчого аналога є те, що він не забезпечує довготривалого ефекту. Ефект триває лише протягом одного місяця.

В основу корисної моделі поставлена задача створити такий спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин, в якому би, шляхом використання клітинного препарату, забезпечувалася можливість одержувати більш тривалий ефект.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з аліментарним ожирінням передбачає проведення сеансів РЕХВ при -120°C , згідно з корисною моделлю, після закінчення сеансів охолодження вводять препарат кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (ЯВК КК) людини.

Препарат являє собою суспензію кріоконсервованих ЯВК КК людини в аутоплазмі з концентрацією стовбурових клітин $2-4 \times 10^5 \text{ CD } 34^+$ в 1 мл. Використання цього препарату забезпечує активацію симпатичного та парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи (ВНС) тварин, що дає можливість продовжити тривалість одержаного ефекту до 6 місяців.

Корисну модель виконують наступним чином.

В експерименті використовували білих безпородних щурів самців, віком 24 місяців, вагою 300-350 гр. Моделювання аліментарного ожиріння здійснювали за методикою В.Г. Баранова [3] шляхом утримання тварин на гіперкалорійному раціоні. Після розвитку аліментарного ожиріння проводили РЕХВ при температурі -120°C в кріокамері для експериментальних тварин [4].

Спочатку в кріокамері тварини знаходились протягом 2 хв., потім їх виймали та витримували 5 хв. при кімнатній температурі ($22-24^{\circ}\text{C}$) поза камерою. Далі сеанс охолодження повторювали ще двічі. Таким чином тварини отримували три сеанси на добу. На 3-ю і 5-ту добу сеанси РЕХВ повторювали. Всього тварин охолоджували 9 разів по 2 хв. при температурі -120°C .

Після 9 сеансів охолодження тваринам вводили розморожений препарат ЯВК КК людини внутрішньочеревно, одноразово в дозі $3 \times 10^5 \text{ CD } 34^+$ клітин на кілограм ваги тварин. Після введення препарату проводили спектральний аналіз варіабельності серцевого ритму (ВСР) та досліджували показники загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції (ТР), активність симпатичного відділу ВНС (LF), активність парасимпатичного відділу ВНС (HF), активність гуморальної ланки регуляції (VLF). В Таблиці наведені показники спектрального аналізу ВСР через 6 місяців після охолодження та введення ЯВК КК.

З Таблиці видно, що після 6 місяців спостереження істотно зростали показники ТР, що є результатом активації ВНС (збільшення питомої ваги LF та HF хвиль), в той час як рівень гуморальної регуляції змінювався незначно і, більшою мірою, переважав тонус парасимпатичного відділу ВНС.

Таблиця

Показники спектрального аналізу ВСР у тварин

Показники загальної спектральної потужності, $\text{мс}^2/\text{Гц} \cdot 1000$	Група тварин			
	Без ожиріння (контроль)	З аліментарним ожирінням	Після охолодження	Після охолодження та введення ЯВК КК
ТР	43,78±2,17	15,56±2,20	64,09±3,14	215,16±2,48
LF	9,59±1,14	4,62±0,75	23,25±4,84	66,37±6,42
HF	21,09±4,72	5,59±1,71	27,36±1,91	130,16±6,22
VLF	13,10±4,19	5,35±0,84	13,48±3,21	18,63±10,25

45 Джерело інформації:

1. Филипова М.А. Применение цитаминов в восстановительной коррекции метаболических нарушений при алиментарном ожирении (экспериментально-клинические исследования) -

UA 108528 U

Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - Москва. - 2003. - 26 С.

5 2. Кузбеков Р.С Влияние экстремальной криотерапии и функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у крыс с моделью алиментарного ожирения// Проблемы криобиологии. - 2005. - Т15, № 3, - С. 483-486.

3. Баранов В.Г. та ін. Чутливість до інсуліну, толерантність до глюкози і інсулінова активність крові у щурів з алиментарним ожирінням// Проблеми ендокринології. - 1972 - Т. 6 - С. 52-58.

10 4. Патент України 40168, МПК А61В 18/00. Опубл. 25.03.2009 Кріокамера для експериментального охолодження лабораторних тварин.

10 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з алиментарним ожирінням, що передбачає проведення сеансів ритмічних екстремальних холодових впливів на тварин при -120°C , який **відрізняється** тим, що після закінчення сеансів охолодження вводять препарат кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові людини в аутоплазмі.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601