

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ

ЧЕРНЯВСЬКА ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА

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

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

03.00.19 – кріобіологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, старший науковий співробітник
Бабійчук Владислав Георгійович,
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
завідувач відділу кріофізіології, м. Харків

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Малова Наталія Георгіївна,
Інститут проблем ендокринної патології імені В. Я. Данилевського НАМН України, завідувач лабораторії фармакології;

кандидат біологічних наук, доцент
Денисова Ольга Миколаївна,
Харківська державна зооветеринарна академія України, доцент кафедри хімії та біохімії імені професора О. В. Чечоткіна.

Захист відбудеться «24» грудня 2019 р. о 13³⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

Автореферат розісланий «22» листопада 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д64.242.01

О. В. Фалько

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. В даний час однією з найбільш актуальних проблем людства є ожиріння. В Європейському регіоні 30–70% населення мають надмірну вагу, а 10–30% ожиріння. При цьому первинне ожиріння аліментарно-конституціональної природи є найбільш поширеним і зустрічається в 70–85% випадків (Гаврилюк В.А., 2012; Greenberg A., 2006). Ожиріння – хронічне поліетіологічне рецидивуюче захворювання, що характеризується надмірним відкладенням жиру в організмі і призводить до зниження якості та зменшення тривалості життя за рахунок виникнення важких супутніх патологічних станів, серед яких лідируюче місце належить серцево-судинним захворюванням (Латышева В.Я., 2010; Contaldo F., 2005). Медикаментозне лікування ожиріння направлене тільки на подавлення апетиту і контроль ваги, не вирішує основну задачу терапії ожиріння як системного захворювання (Hesketh K., 2010; Драпкина О.М., 2013). У зв'язку з цим інтерес представляє пошук нових сучасних методів корекції аліментарно-обмінних порушень в організмі щурів при первинному ожирінні.

Встановлено (Выхованец Ю.Г., 2017), що позитивний вплив загального екстремального охолодження (-120°C) на організм пов'язаний з підвищенням його неспецифічної резистентності, оптимізацією нейрогуморальної регуляції, зниженням інтенсивності обмінних процесів в органах і тканинах, збільшенням їх стійкості до явищ гіпоксії і ішемії (Бочаров М.И., 2015; Альтман Д.Ш., 2012). При цьому ритмічне екстремальне охолодження, яке є модулятором активності власних ендогенних ритмів, підвищує лабільність регуляторних процесів у центральній нервовій і серцево-судинній системах, стимулює їхні прямі та зворотні зв'язки, нормалізує симпато-парасимпатичний баланс вегетативної нервової системи (ВНС) з подальшою оптимізацією механізмів гомеостазу (Бабийчук В.Г., 2010).

Наукові відкриття останніх десятиліть в області біології, фундаментальної та клінічної медицини доводять високу медико-біологічну цінність кордової крові (КК) (Гольцев А.М., 2012; Castellano J.M., 2017;), оскільки вона є важливим джерелом стовбурових клітин (СК), які успішно використовуються при лікуванні різного роду патологічних станів, в тому числі і захворювань серцево-судинної системи, що часто супроводжують аліментарне ожиріння (АО) (Mayani H., 2010; Kumar S., 2017; Thomson A.W., 2016; Goodell M.A., 2015; Hariharan N., 2015).

У зв'язку з цим інтерес представляє можливість корекції порушень гомеостазу організму експериментальних тварин різних вікових груп з АО за допомогою кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (кЯВК КК) людини, ритмічних екстремальних холодових впливів (РЕХВ) і їх поєднаного застосування.

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 самотійного 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 самотійного 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 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 поєданому 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 самотійного 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 самотійного 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 поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК супроводжувалося найбільш вираженим позитивним впливом на стан регуляторних систем експериментальних тварин. *Вперше виявлено*, що самотійне 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 самотійне 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 кардіоміocyтах і ендотеліocyтах 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 архітекtonіку 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 самотійної 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 самотійного 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 самотійним 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.

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 симпозіумі 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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури. У розділі представлено аналіз сучасних літературних даних, які розкривають основні патогенетичні механізми розвитку АО у людини, як хронічного рецидивуючого захворювання, асоційованого з тяжкими патологічними станами. На підставі аналізу наукових публікацій доведено актуальність і перспективність застосування РЕХВ, кЯВК КК та їх поєднання у пацієнтів с АО для підвищення власних адаптаційно-регуляторних можливостей організму, а також з метою профілактики розвитку тяжких захворювань часто асоційованих з АО.

Матеріали й методи дослідження. Експериментальні дослідження були виконані на 310 безпородних білих щурах самцях, з яких 155 молодих 6-місячних і 155 старих 24-місячних (рис.1).

Дослідження проведено на базі наукових підрозділів Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків), відповідно до принципів роботи на тваринах, схвалених Комітетом з біоетики ІПКіК НАН України.

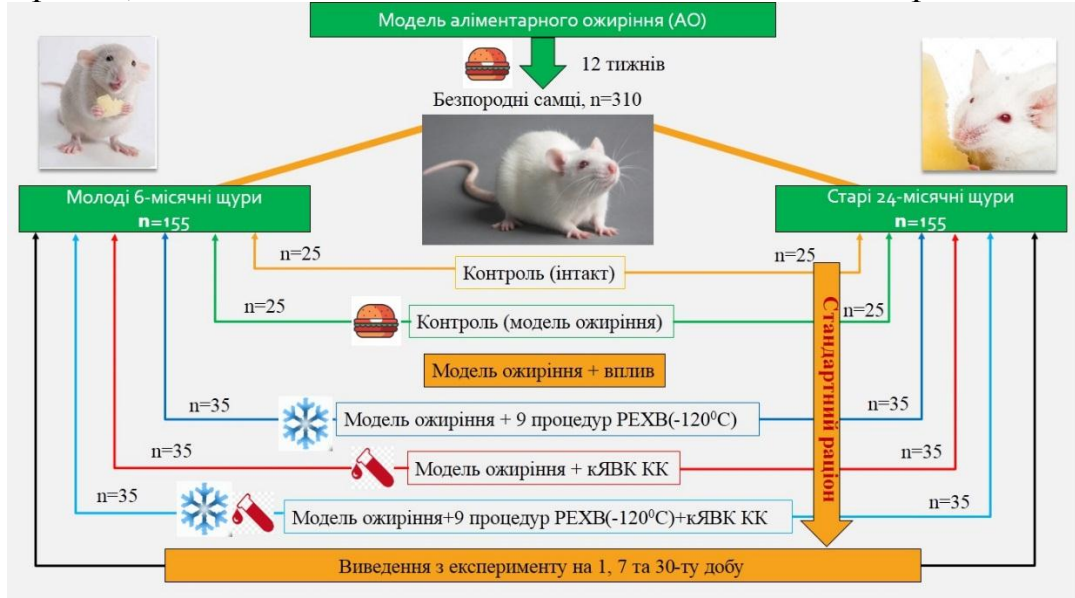


Рис. 1. Схема експерименту.

Ожиріння моделювали на безпородних щурах-самцях двох вікових груп (6- і 24-місячних), які до початку експерименту містилися в стандартних умовах віварію ІПКіК НАН України. Моделювання АО здійснювали за загально прийнятою методикою (Баранов В.Г., 1972), шляхом утримання тварин на гіперкалорійному збалансованому раціоні. Протягом 3 місяців, на додаток до звичайного щоденного раціону, тварини отримували посилене калорійне харчування (45–50% жирів тваринного походження, 35–40% вуглеводів, 10–15% білків). Наявність АО, 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 АО. Підтвердивши наявність АО, тваринам проводили сеанси РЕХВ, вводили кявк КК, а також здійснювали поєднаний вплив, на тлі переходу на стандартний раціон віварію ІПКіК НАН України.

РЕХВ (–120°C) виконували в кріокамері для охолодження експериментальних тварин (Патент України № 40168). Загальний цикл охолодження складався з 9 сеансів протягом 5 днів: 3 сеанси на день із наступною одноденною перервою (Бабійчук В.Г., 2010).

Дослідним тваринам з АО внутрішньочеревно одноразово вводили препарат кявк КК людини, отриманий в кріобанку ІПКіК НАН України (Патенти України № 23499 та 92227). Розморожений препарат кявк КК представляв собою суспензію

кріоконсервованих ЯВК (в тому числі і стовбурових) в аутоплазмі КК з концентрацією стовбурових CD34⁺-клітин $(2-4) \times 10^5$ в 1 мл. Розморожені ЯВК КК вводили в дозі 3×10^5 CD34⁺-клітин в розрахунку на кілограм маси тіла тварини. Препарат доводили до об'єму 1 мл аутоплазмою КК. Контрольним тваринам проводили аналогічні маніпуляції з використанням фізіологічного розчину об'ємом 1 мл. З метою вивчення поєднаного впливу РЕХВ і кЯВК КК препарат вводили щурам після сеансів РЕХВ.

Функціональний стан ВНС оцінювали за допомогою спектрального аналізу ВСР (програма «Полі-Спектр-Ритм» («Нейро-софт», Росія)) в діапазонах частот, рекомендованих для щурів (Kuwahara M., 1994; Hauton D., 2011). Реєстрацію ЕКГ здійснювали протягом 5 хвилин на електрокардіографі «Полі-Спектр» («Нейро-софт», Росія).

Показники ліпідного профілю в сироватці крові щурів визначали за допомогою стандартних комерційних наборів фірми «DAC-SpectoMed» (Молдова) відповідно до методики фірми виробника.

Вміст тироксину (Т₄), трийодтироніну (Т₃), тестостерону (Тс), естрадіолу (Ес) і дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕАС) визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою стандартних комерційних наборів («ХЕМА Со. Ltd.», Росія): «Т₄-ІФА», «Т₃-ІФА», «ТЕСТОСТЕРОН-ІФА», «ЕСТАРДІОЛ-ІФА» й «ДГЕАС-ІФА» відповідно, за методиками виробника.

Морфологічний стан міокарда досліджували за допомогою світлової мікроскопії гістологічних препаратів. Сполучну тканину забарвлювали забарвлювали барвником пікрофуксином за методом Ван Гізона. Забарвлення клітинних ядер проводили залізним гематоксилином Вейгерта. Для виявлення ліпідів проводили фарбування поперечних зрізів шлуночків серця гістохімічним методом з використанням барвника масляного червоного (судан червоний 5В), відповідно до рекомендацій виробника набору «Масляний червоний О» («Bio-Optica Milano SpA», Італія).

Для вивчення ультрамікроскопічних перебудов у кардіоміоцитах та ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда використовували метод трансмісійної електронної мікроскопії. Попередню фіксацію проводили в глютарово-формальдегідному фіксаторі Карновського за методикою (Кравченко С.А., 2011), для остаточної фіксації використовували 1% забуферений розчин (рН 7,2–7,4) тетраоксиду осмію (OsO₄) (Морозова К.Н., 2013).

Під час статистичної обробки результатів перевіряли характер розподілу цифрового матеріалу в вибірках за допомогою W-критерію Шапіро-Уїлка. Порівняння середніх арифметичних значень проводили за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента для незалежних вибірок (Лакин Г.Ф., 1990, Атраментова Л.А., Утевская О.М., 2008). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$ (для рівня ліпідів і гормонів $p \leq 0,05$). Розрахунки здійснювали за допомогою комп'ютерних програм Excel, «НейроСтат», «Past3».

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив РЕХВ (–120°C), кЯВК КК і їх поєднання на стан нейрогуморальної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів з АО. Встановлено, що у молодих тварин з АО (рис. 2, А) мало місце значне зниження показників загальної

потужності спектра нейрогуморальної регуляції (ТР), в порівнянні з контрольною групою щурів без АО (практично у 2 рази).

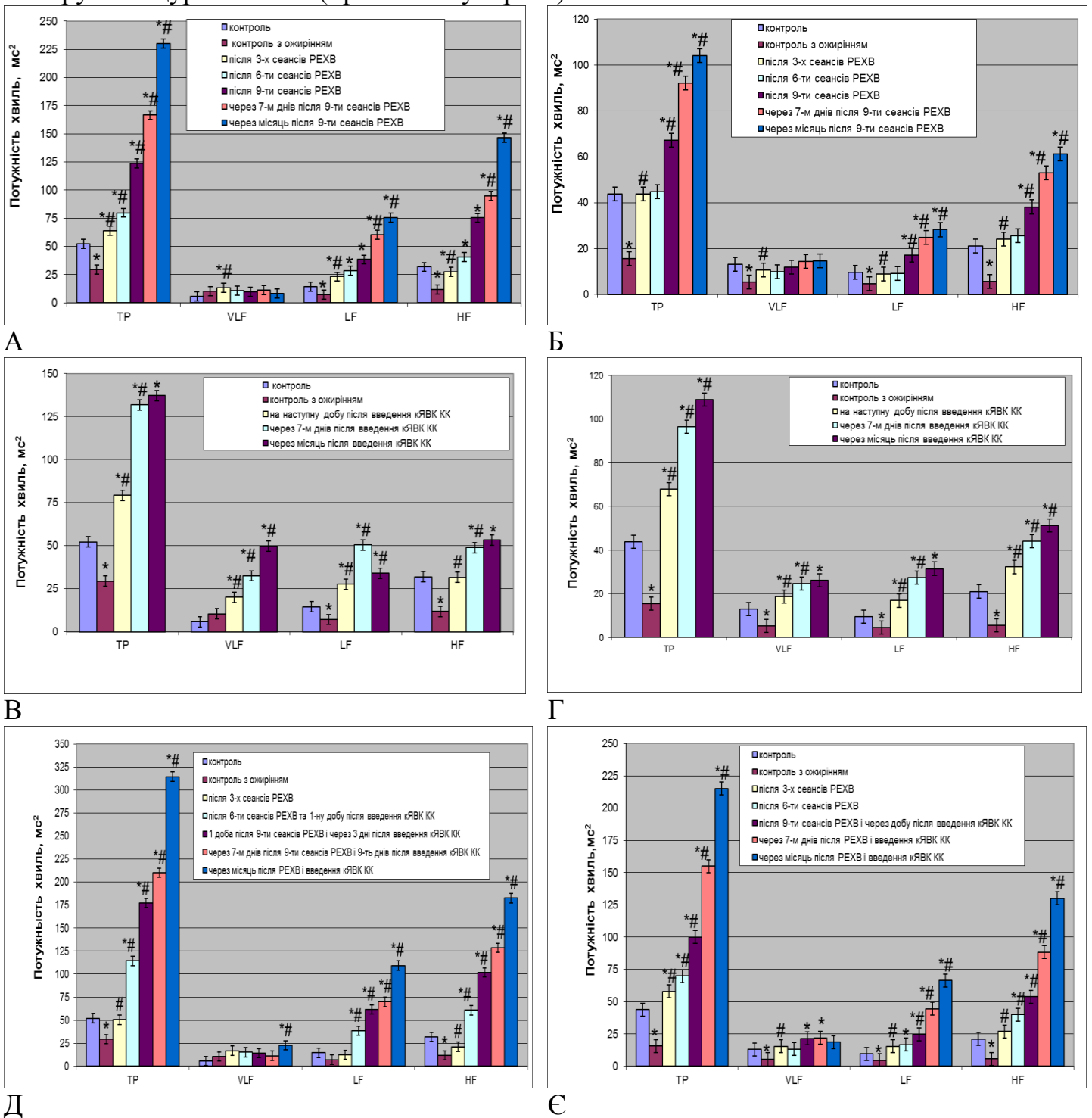


Рис. 2. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих (А, В, Д) і старих щурів з АО (Б, Г, Е) на тлі самостійного (А, Б; В, Г) та поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК (Д, Е). *Примітка:* * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від показників попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Після 3 і 6 сеансів РЕХВ (рис. 2, А) значення ТР зростали по відношенню до групи щурів з АО переважно за рахунок активації ВНС (у 2,24 і 2,7 рази відповідно). Після 9 сеансів, а також через тиждень і місяць після останньої процедури

охолодження відмічався підйом ТР, як щодо контрольних показників (у 3,19 і 4,41 рази), так і тварин з АО (у 5,67 і 7,8 рази) (рис. 2, А). У старих щурів з АО спостерігалось різке зниження ТР (у 2,81 рази) в порівнянні з контролем (рис. 2, Б). Після 3 і 6 сеансів РЕХВ (рис. 2, Б) рівень ТР зростав відносно групи щурів з АО (у 2,8 та 2,87 рази) переважно за рахунок підвищення тону парасимпатичного відділу ВНС. Після 9 сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць (рис. 2, Б) зростання ТР як щодо контрольних показників (у 2,1 і 2,37 рази), так і тварин з АО (у 5,93 і 6,69 рази) було результатом активації діяльності центрів ВНС. На тлі введення кЯВК КК як у молодих, так і у старих щурів відмічався підйом ТР (у 2,7 і 4,36 рази відповідно) по відношенню до тварин з АО (рис. 2 В, Г) за рахунок активації ВНС і гуморальної ланки регуляції.

На тлі поєднаного впливу РЕХВ і кЯВК КК у щурів обох вікових груп спостерігалось значне зростання ТР (рис. 2 Д, Є) у всі терміни експерименту, в більшій мірі завдяки підвищенню тону вегетативних центрів. У молодих щурів по відношенню до контрольних показників і до тварин з АО значення ТР через місяць підвищувались у 6 і 10,7 рази, у старих – у 4,9 та 13,8 рази.

Таким чином, поєднане застосування РЕХВ і кЯВК КК здатне значно підвищувати адаптаційні резерви організму молодих і старих щурів з АО, за рахунок переходу процесу управління серцевим ритмом з повільного гуморально-метаболічного на швидкий вегетативний рівень регуляції.

Оцінка ліпідного профілю сироватки крові і вагових показників молодих і старих щурів з АО до і після РЕХВ (-120°C), введення кЯВК КК та їх поєднання. У молодих і старих щурів розвиток АО призводив до виникнення гіперліпідемії і зміщення ліпідного профілю в сторону атерогенності. На тлі 9 процедур РЕХВ у молодих щурів рівень загального холестерину (ЗХ) в сироватці крові статистично значуще знижувався по відношенню до контролю (у 1,75, 1,3 та 1,4 рази) і тварин з АО в усі терміни експерименту (у 3,4, 2,5 та 1,4 рази відповідно). Також зменшувався вміст холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЩ) і відповідно коефіцієнт атерогенності (КА). На наступну добу, через тиждень і місяць після введення кЯВК КК концентрація ЗХ, ХСЛПНЩ і КА (через тиждень) значуще знижувалася щодо тварин з АО (у 1,95, 2,1 та 3,2 раз відповідно), наближаючись до контрольних показників. У свою чергу рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ) достовірно зменшувався по відношенню до показників тварин з АО в усі терміни спостереження (у 1,9 раз на наступну добу, у 1,7 раз через тиждень і у 2,2 рази через місяць після введення кЯВК КК). Аналогічна динаміка змін ліпідного профілю у молодих тварин мала місце після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК.

В сироватці крові старих контрольних тварин без АО вміст ЗХ, ТГ, ХСЛПНЩ і відповідно КА був вище в порівнянні з молодими (у 1,53, 1,23, 2,17 і 2,75 рази), а ХСЛПВЩ – нижче у 1,3 рази. У старих щурів з АО рівень ЗХ, ХСЛПНЩ значуще підвищувався щодо аналогічних показників контролю (у 1,4 і 1,5 рази відповідно) (табл. 1). Як на тлі РЕХВ, так і після введення кЯВК КК (табл. 1) концентрація ЗХ, ТГ, ХСЛПВЩ і ХСЛПНЩ статистично значуще знижувалася як в порівнянні з тваринами з АО, так і щодо контрольних показників. В результаті зменшення вмісту атерогенних фракцій ліпідів знижувався і КА. Поєднане використання двох методів

в усі терміни експериментальних досліджень надавало найбільш виражений позитивний вплив на показники ліпідогамми сироватки крові старих щурів з АО (табл. 1). На відміну від самостійного застосування даних методів впливу, поряд зі зниженням вмісту ЗХ і ХСЛПНЦ статистично значуще збільшувалася концентрація ХСЛПВЦ.

Отже, самостійне і більшою мірою поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК сприяло 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, ХСЛПНЦ, КА і збільшення вмісту ХСЛПВЦ.

Таблиця 1

Ліпідний профіль старих щурів з АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднання

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 АО ($p \leq 0,05$).

Проаналізувавши вагові показники молодих і старих тварин можна стверджувати, що збалансований гіперкалорійний раціон протягом 3 місяців сприяв розвитку АО. Маса молодих щурів збільшилась у 1,7 разів (на 69% від початкової маси тіла), а старих – в 1,5 рази (на 47,8% від початкової маси тіла). Протягом місяця спостережень встановлено, що 9 сеансів РЕХВ і введення кЯВК КК призводили до зменшення маси тіла, як молодих (на 4% і 6,9%), так і старих щурів (на 5,75% і 8,7%) з АО. При цьому поєднане застосування двох методів є потужним стимулюючим комплексом, який здатний значно підвищувати адаптаційні можливості організму і знижувати масу тіла тварин з АО незалежно від їх віку (на 8,4% у молодих і на 8,7% у старих).

Дія РЕХВ (–120°C), кЯВК КК та їх поєднання на концентрацію тиреоїдних і статевих гормонів сироватки крові молодих і старих щурів з АО. Встановлено, що розвиток АО у молодих і старих щурів за рахунок зменшення секреції тиреоїдних і статевих гормонів супроводжувався зниженням функціональної активності, як щитоподібної (табл. 2), так і статевих залоз.

Рівень тиреоїдних гормонів у молодих і старих щурів з АО до і після РЕХВ, введення кЯВК КК і їх поєднання

Групи тварин	Молоді щури		Старі щури	
	Т ₃ , нмоль/л	Т ₄ , нмоль/л	Т ₃ , нмоль/л	Т ₄ , нмоль/л
Контроль	2,88±0,09	67,40±3,82	2,85±0,05	36,55±1,85
Контроль з АО	1,93±0,64 ¹	51,27±7,36 ¹	1,95±0,62 ¹	26,43±2,07 ¹
АО+9 процедур РЕХВ				
1 день	3,45±0,15 ^{1,2}	24,40±1,20 ^{1,2}	2,40±0,06 ²	27,63±2,21 ¹
7 днів	4,15±0,55 ^{1,2}	50,20±7,30 ¹	2,40±0,30 ²	27,70±1,60 ¹
1 місяць	3,50±0,30 ²	49,45±10,85 ¹	2,43±0,03 ²	26,73±1,27 ¹
АО+кЯВК КК				
1 день	1,73±0,33 ¹	51,53±2,76 ¹	2,80±0,35 ²	34,83±4,10 ²
7 днів	1,30±0,06 ¹	53,37±1,58 ¹	2,88±0,35 ²	38,98±0,40 ²
1 місяць	1,90±0,31 ¹	47,67±2,64 ¹	2,98±0,13 ²	32,83±1,71 ¹
АО+РЕХВ+кЯВК КК				
1 день	3,50±0,21 ^{1,2}	79,77±8,37 ^{1,2}	4,25±0,75 ^{1,2}	54,70±7,40 ^{1,2}
7 днів	3,00±0,36 ^{1,2}	76,47±1,68 ^{1,2}	3,70±0,20 ^{1,2}	53,40±5,90 ^{1,2}
1 місяць	3,10±0,10 ^{1,2}	78,50±0,50 ^{1,2}	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 АО (p≤0,05).

Самостійне і більшою мірою поєднане застосування РЕХВ (–120°C) і кЯВК КК відновлювало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної залози, підвищуючи її функціональну активність, нормалізувало рівень Тс, тим самим збільшуючи адаптаційно-компенсаторний потенціал організму експериментальних тварин з АО незалежно від їх віку (табл. 2).

Так після поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК рівень загального Т₃ і Т₄ збільшувався у 1,2 рази у молодих та в 1,3 рази у старих щурів (табл. 2). Вміст Тс як у молодих, так і у старих тварин значуще підвищувався в порівнянні з контролем на тлі АО в 2,2 і 1,5 рази. При цьому концентрація Ес до і після використання РЕХВ, кЯВК КК достовірно не змінювалася у всі терміни спостереження.

Особливості гістологічного стану міокарда молодих і старих щурів з АО на тлі РЕХВ, введення кЯВК КК та їх поєднання. Морфологічна картина міокарда молодих і старих тварин з АО свідчила про розвиток порушень кровообігу (повнокров'я і тромбоз судин, діapedезні крововиливи, гіпертрофія міокарда, інтерстиціальний і периваскулярний набряки, осередковий кардіосклероз) (рис. 3, А, Б). В ході гістохімічного дослідження про наявність АО у молодих щурів свідчили пілоподібні і дрібні краплиноподібні скупчення ліпідних включень в кардіоміоцитах (рис. 3, В), а у старих великі жирові краплі (рис. 3, Г). На тлі поєднаного використання РЕХВ 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 з АО (рис. 4, Д, Є). В інтерстиціальній сполучній тканині мали місце проліферація фібробластів, дифузне поширення гістіоцитів (рис. 4, Г, Е), що є морфологічною ознакою неоангіогенезу. Позитивний ефект поєднаного впливу двох методів підтверджує виявлене при

фарбуванні масляним червоним зниження ступеня жирової дистрофії серцевого м'яза (рис. 4, Ж, З, И, І).

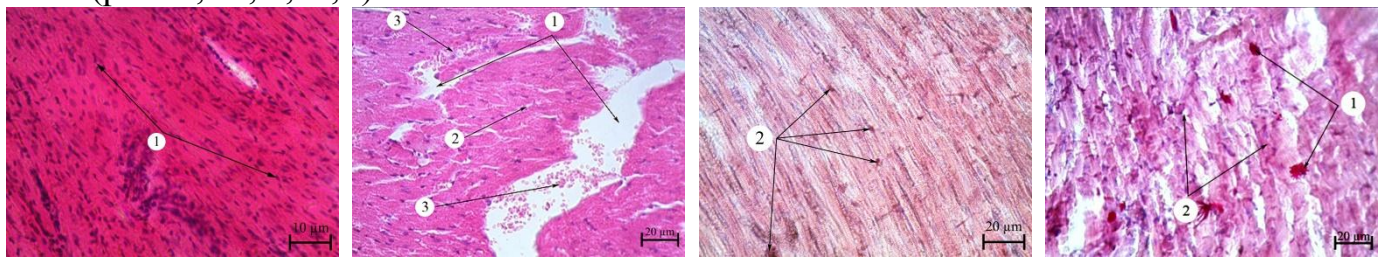


Рис. 3. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих (А,В) і старих (Б, Г) щурів з АО: А – гіпертрофія кардіоміоцитів у глибоких відділах міокарда; Б – розростання жирової клітковини (1) між атрофованими міокардіоцитами (2), крововиливи (3); В – рідкісні дрібні жирові краплі червоного кольору (дрібно-крапельне ожиріння); Г – великі жирові краплі червоного кольору на тлі дрібнодисперсного розподілу жирових крапель в набряклих кардіоміоцитах (крупно-крапельне ожиріння).

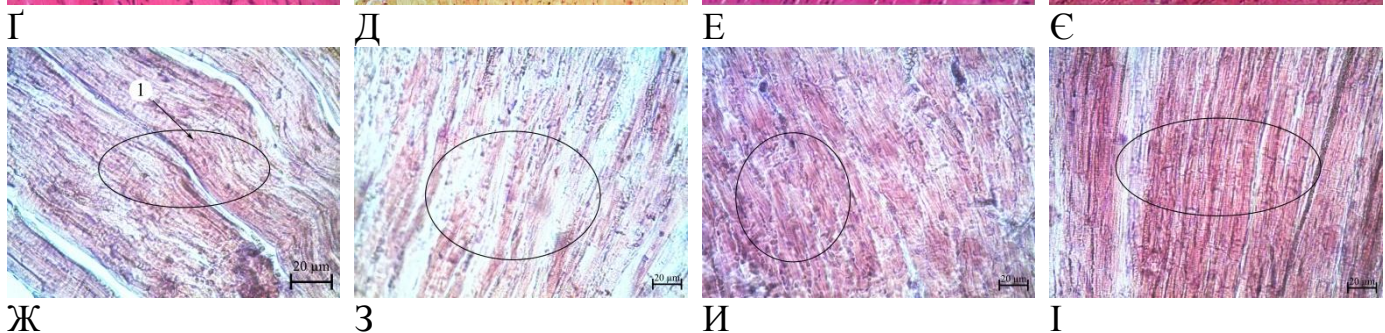
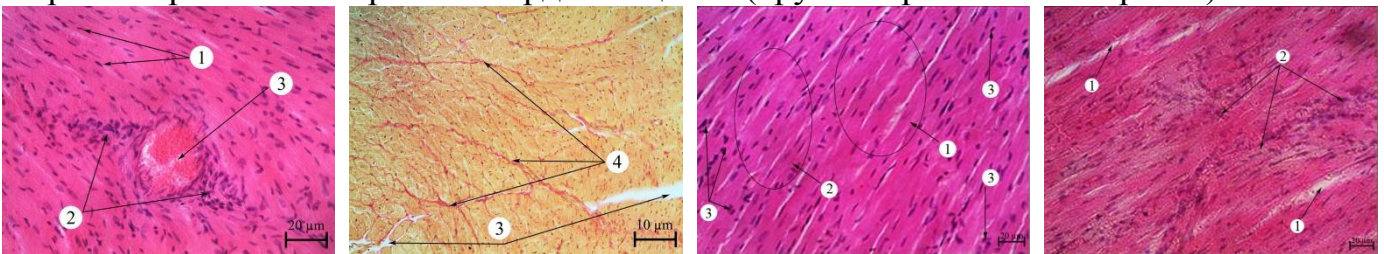


Рис. 4. Ділянки міокарда лівого шлуночка молодих (Г, Д, Ж, З) і старих (Е, Є, И, І) щурів з АО на 7 (Г, Ж, Е, И) та 30 (Д, З, Є, І) добу після поєднаного застосування РЕХВ (-120°C) і кЯВК КК: Г – між пучками кардіоміоцитів фіброblastи (1) і знов сформовані капіляри (2); дрібні судини заповнені кров'ю (3); Д – помірні інтерстиціальний набряк (1) і кардіосклероз (2); Е – помірна гіпертрофія кардіоміоцитів (1), підвищена кількість фіброblastів (2) і дифузне поширення гістіоцитів (3); Є – помірний набряк (1) і порушення кровообігу, численні капіляри заповнені еритроцитами (2); Ж, З, И, І – пиловидне накопичення ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів. *Примітка:* А, Б, Г, Д, Е, Є – забарвлення пікрофуксином по Ван Гізон, $\times 400$; В, Г, Ж, З, И, І – забарвлення масляним червоним, $\times 400$.

Ультраструктурні перебудови тканин і судин міокарда молодих і старих щурів з АО після РЕХВ (-120°C), введення кЯВК КК та їх поєднання. Ультраструктурна організація кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих контрольних щурів свідчила про високу метаболічну активність цих клітин (рис. 5, А). Виявлені при електронно-мікроскопічному дослідженні деструктивно-дистрофічні перебудови мітохондрій старих контрольних

щурів (рис. 5, Б) свідчили про зниження скорочувальної здатності кардіоміоцитів. В ультраструктурній організації кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих щурів з АО були присутні дистрофічні і деструктивні зміни органел. У саркоплазмі кардіоміоцитів виявлялися дрібні і великі включення ліпідів і ліпофусцину (рис. 5, В).

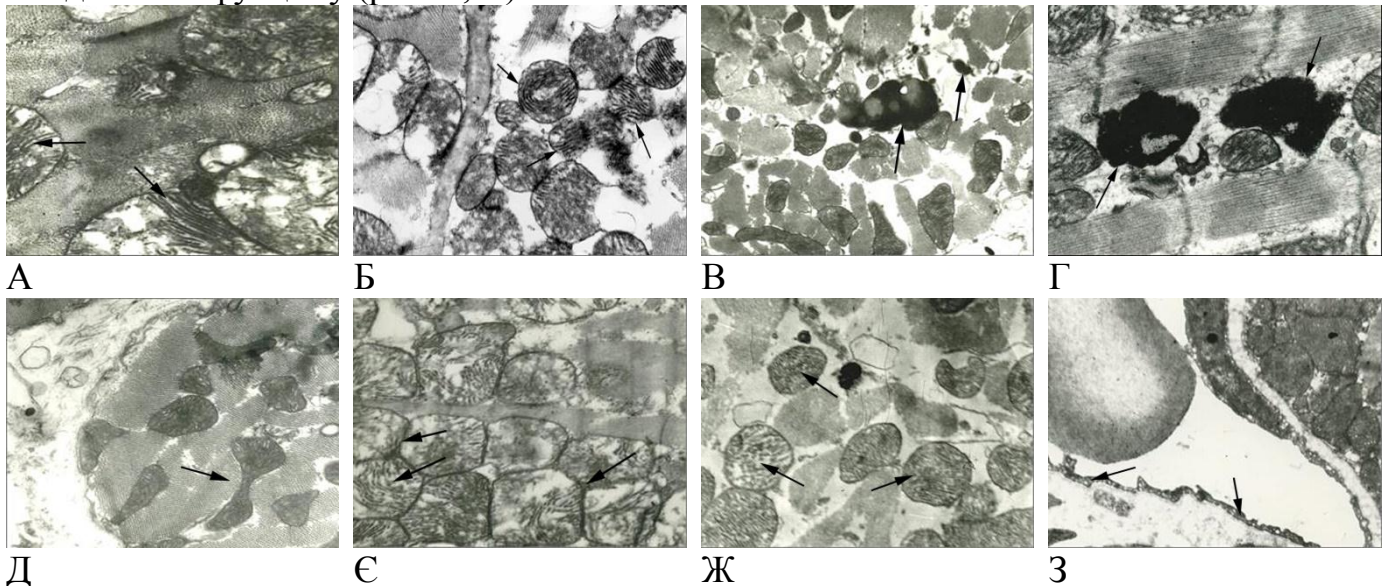


Рис. 5. Ультраструктура кардіоміоцитів (А, Б, В, Д, Є, Ж) та ендотеліоцитів (З) кровоносних капілярів міокарда молодих (А, В, Д, Є) та старих (Б, Г, Ж, З) щурів контрольної групи (А, Б), з АО (В, Г) та на тлі поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК: 7-ма доба (Д, Є), 1 місяць після поєднаного впливу (Ж, З). Контрастовано цитратом свинцю. *Примітка:* А – електронно-щільний матрикс з численними кристами, $\times 40\ 000$; Б – мітохондрії з завихреними кристами, $\times 40\ 000$; В – включення ліпідів в саркоплазмі, $\times 45\ 000$; Г – великі осередки включень ліпідів в саркоплазмі, $\times 31\ 000$; Д – мітохондрії гантелеподібної форми, $\times 36\ 000$; Є – щільно упаковані мітохондрії з укороченими кристами, $\times 34\ 000$; Ж – поодинокі осередки розрихлення і лізису крист мітохондрій, $\times 39\ 000$; З – численні мікропіноцитозні везикули з різною електронною щільністю, $\times 60\ 000$.

Досить часто виявлялися дегенеративно змінені мітохондрії, з гомогенізованим матриксом і тотально зруйнованими кристами. У деяких ендотеліоцитах виявлялися великі осередки лізису ядерної мембрани. В кардіоміоцитах і ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда старих щурів з АО розвивалися більш виражені катаболічні процеси, про що свідчила поява в цитоплазмі великої кількості включень ліпідів, ліпофусцину (рис. 5, Г) і вторинних лізосом. В ході електронно-мікроскопічного дослідження ультраструктури кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда молодих і старих щурів з АО на 7 та 30 добу після поєднаного використання РЕХВ і кЯВК КК, встановлено тенденцію до відновлення типової субмікроскопічної архітекτονіки органел цих клітин. Знижувався ступінь прояву мітохондріальної дисфункції в результаті збільшення кількості крист і появи мітохондрій гантелеподібної форми (рис. 5, Д, Є). Відмічалась нормалізація ліпідного обміну за рахунок зменшення осередків розрихлення внутрішньоклітинних мембран (рис. 5, Ж). В ендотеліоцитах зростала активність трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів, що на

ультраструктурному рівні проявлялося збільшенням числа мікропіноцитозних везикул в цитоплазмі відростків цих клітин (рис. 5, 3).

Отже, застосування РЕХВ, кЯВК КК і їх поєднання, здатне істотно підвищувати адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО незалежно від їх віку, за рахунок збільшення активності, як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції, сприяти зменшенню маси тіла та нормалізації ліпідного профілю сироватки крові, відновлювати гормонсинтезуючу здатність організму, активувати метаболічні та синтетичні процеси на мікроскопічному й субмікроскопічному рівнях.

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-метаболічної 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 поєднаного застосування РЕХВ і кЯВК КК рівень загального Т₃ і Т₄ збільшувався у 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 (діapedезні крововиливи, інтерстиціальний і периваскулярний набряки, осередковий кардіосклероз). Після поєднаного 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).

ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України

1. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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). С. 30–38. *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); розрахунок і введення кЯВК КК; запис ЕКГ, проведення спектрального аналізу ВСР; статистична обробка, аналіз, узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)*

2. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови / **Чернявская Е.А.,** Невзоров В.П., Бабийчук В.Г., Мартынова Ю.В., Кулик В.В. Вісник проблем біології і медицини. 2015. Т. 1, № 4 (124). С. 228–233. *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз електронно-мікроскопічних фотографій клітин міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)*

3. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения криоконсервированного препарата кордовой крови / **Чернявская Е.А.,** Невзоров В.П., Бабийчук В.Г., Мартынова Ю.В., Кулик В.В. Світ медицини та

біології. 2016. № 1 (55). С.167–172. *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз електронно-мікроскопічних фотографій клітин міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)*

4. Особенности ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата кордовой крови / **Чернявская Е.А.**, Невзоров В.П., Бабийчук В.Г., Мартынова Ю.В., Кулик В.В. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2016. Т. 20, № 1 (1). С. 27–31. *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз електронно-мікроскопічних фотографій клітин міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)*

5. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови / **Чернявская Е.А.**, Невзоров В.П., Бабийчук В.Г., Мартынова Ю.В., Кулик В.В. Вісник проблем біології і медицини. 2016. Т. 1, № 1 (126). С. 318–323. *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз електронно-мікроскопічних фотографій клітин міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)*

6. **Чернявская Е.А.**, Бабийчук В.Г. 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). С. 199–204. *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз мікроскопічних фотографій міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)*

7. **Чернявская Е.А.**, Волина В.В., Бабийчук В.Г. 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. Т. 28, № 2. С. 108–119. DOI: 10.15407/cryo28. (Scopus) *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз мікроскопічних фотографій міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)*

Статті в наукових періодичних виданнях інших країн

8. 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 / Руднева Ю.В., Бабийчук В.Г., **Чернявская Е.А.**, Кулик В.В., Бабийчук Л.В. Биофизика живой клетки. 2014. Т.10. С. 171–173. *(Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); розрахунок і введення*

кЯВК КК; запис ЕКГ, проведення спектрального аналізу ВСР; статистична обробка, аналіз, узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

Статті в збірках матеріалів конференцій

9. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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. 239–244. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); запис ЕКГ, проведення спектрального аналізу ВСР; статистична обробка, аналіз, узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

10. **Чернявская Е.А.** 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. 169–174. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; розрахунок і введення кЯВК КК; запис ЕКГ, проведення спектрального аналізу ВСР; статистична обробка, аналіз, узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

11. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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. 63–66. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); запис ЕКГ, проведення спектрального аналізу ВСР; забір тканин, аналіз мікроскопічних фотографій міокарда щурів; статистична обробка, аналіз, узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

12. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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. 349–354. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз електронно-мікроскопічних фотографій клітин міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

13. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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. 846–850. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз електронно-мікроскопічних фотографій клітин міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

14. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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. 167–170. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; розрахунок і введення кЯВК КК; забір тканин, аналіз електронно-мікроскопічних фотографій клітин міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

15. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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. 53–55. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); забір тканин, аналіз мікроскопічних фотографій міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

16. **Чернявская Е.А.** 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. 176–179. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; розрахунок і введення кЯВК КК; запис ЕКГ, проведення спектрального аналізу ВСР; забір тканин, аналіз мікроскопічних фотографій міокарда щурів; статистична обробка, аналіз, узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

17. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. 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. 326–329. (Внесок здобувача: планування експериментів; моделювання АО; проведення РЕХВ (-120°C); забір тканин, аналіз мікроскопічних фотографій міокарда щурів; узагальнення отриманих даних; підготовка матеріалів до друку.)

Тези наукових доповідей конференцій

18. **Чернявская Е.А.,** Бабийчук В.Г. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодовых 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. 292–294.

19. **Чернявская Е.А.** Структура миокарда молодых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных ядродержащих 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. 245–247.
20. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** 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*: мат. IV міжнар. наук. конф. м. Вінниця, Україна, 12–14.04.2016 м. Вінниця, 2016. С. 374–375.
21. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** Ультраструктурная архитектура эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). *Actualscience*. 2015. Т. 1, № 5 (5). С. 12–13.
22. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** 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. 465–468.
23. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** Влияние криоконсервированной кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2016. Т. 26, № 2. С. 171. (Scopus)
24. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** Ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда старых крыс с алиментарным ожирением после ритмических экстремальных холодовых воздействий. *Проблемы старения и долголетия, приложение*. 2016. Т. 25. С. 43–44.
25. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** Структура миокарда старых крыс с моделью алиментарного ожирения после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Гены и клетки. Приложение*. 2017. Т. 12, № 3. С. 263. (Scopus)
26. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** 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. 140–142.
27. **Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г.** 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. С. 115. (Scopus)
28. Martynova Y.V., **Chernyavskaya E.A., Babiychuk V.G.** Cryotherapy combined with cord blood injection improves myocardium structure in obese rats. *CRYO*

2018: the 55th annual meeting of the society for cryobiology. c. Madrid, Spain, 10–13.07.2018 c. Madrid. 2018. P. 112.

Патент України на корисну модель

29. Спосіб корекції вегетативних порушень організму експериментальних тварин з аліментарним ожирінням: пат. 108528 Україна, МПК А61К 35/14, А61F 7/00, А61Р 3/04 / **О.О. Чернявська**, В.В. Мамонтов, В.Г. Бабійчук, Ю.В. Мартинова, В.В. Кулик; заявник та патентовласник ІПКІК НАН України. № u201512626, заяв. 21.12.2015. Опубл. 25.07.2016. Бюл. №14.

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.

Дисертаційна робота присвячена вивченню дії ритмічних екстремальних холодових впливів (РЕХВ), кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (кЯВК КК) людини та їх поєднання на структурно-функціональний стан регуляторних систем організму тварин різних вікових груп з моделлю аліментарного ожиріння (АО).

Встановлено, що застосування РЕХВ, кЯВК КК та їх поєднання, істотно підвищує адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з АО незалежно від їх віку, за рахунок збільшення активності, як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. Показано, що поєднане використання РЕХВ і кЯВК КК сприяє зменшенню маси тіла, нормалізації ліпідного профілю сироватки крові експериментальних тварин з ожирінням незалежно від їх віку, відновленню гормонсинтезуючої здатності щитоподібної і полових залоз, призводить до зникнення дистрофічних і деструктивних змін серцевого м'яза.

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

АННОТАЦИЯ

Чернявская Е. А. Влияние ритмических экстремальных криовоздействий и кордовой крови на состояние регуляторных систем организма крыс при алиментарном ожирении. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 03.00.19 – «Криобиология». – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, 2019.

Диссертационная работа посвящена изучению влияния ритмических экстремальных холодовых воздействий (РЭХВ), кріоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови (кЯСК КК) человека и их комбинации на структурно-функциональное состояние регуляторных систем организма животных разных возрастных групп с моделью алиментарного ожирения (АО).

На основе проведенных исследований обоснована эффективность самостоятельного и совместного применения РЭХВ и кЯСК КК с целью повышения

собственных адаптационно-регуляторных возможностей организма животных с ожирением не зависимо от их возраста.

По данным спектрального анализа установлено, что у молодых и старых крыс с моделью АО наблюдалось статистически значимое снижение всех исследуемых параметров ВСР. Применение РЭХВ, кЯСК КК и их комбинации, существенно повышало адаптационно-компенсаторные возможности организма животных с АО, за счет увеличения активности, как вегетативных центров, так и гуморального звена регуляции.

Показано, что у молодых и старых крыс развитие АО приводило к увеличению массы тела, возникновению гиперлипидемии и смещению липидного профиля в сторону атерогенности. Самостоятельное и в большей степени сочетанное использование РЭХВ и кЯСК КК способствовало уменьшению массы тела, нормализации липидного профиля сыворотки крови крыс с моделью АО, приближая его к показателям контрольных животных без ожирения.

Обнаружено, что у молодых и старых крыс с моделью АО снижалась функциональная активность, как щитовидной, так и половых желез. Самостоятельное и в большей степени сочетанное применение РЭХВ и кЯСК КК восстанавливало гормонсинтезирующую способность щитовидной железы, нормализовало уровень Тс.

При гистологическом и электронно-микроскопическом исследовании кардиомиоцитов и эндотелиоцитов миокарда молодых и старых крыс с моделью АО обнаруживались признаки развития дистрофических и деструктивных изменений мышечных волокон и их органелл. На фоне введения кЯСК КК и сочетанного применения двух методов в кардиомиоцитах наблюдались пролиферация фибробластов, появление вновь сформированных капилляров, уменьшалась степень выраженности жировой дистрофии миокарда. Имела место тенденция к восстановлению типичной субмикроскопической архитектоники органелл кардиомиоцитов и эндотелиоцитов.

Таким образом, полученные в ходе исследований экспериментальные данные расширяют представления о механизмах самостоятельного и сочетанного действия РЭХВ и кЯСК КК на адаптационно-компенсаторные возможности организма животных с моделью АО, доказывают перспективность их использования у молодых и пожилых людей, страдающих ожирением.

Ключевые слова: ритмические экстремальные холодовые воздействия, криоконсервированные ядросодержащие клетки кордовой крови, алиментарное ожирение, миокард, крысы.

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 Science (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 thesis covers the study of the effect of rhythmic extreme whole body cooling (RE WBC), cryopreserved human cord blood nucleated cells (cCBNCs), as well as their

combination on structural and functional state of body regulatory systems of animals of different age groups with alimentary obesity (AO) model.

It was established that the use of RE WBC, cCBNCs and their combination, significantly increased the adaptation and compensatory capacity of the body of animals with AO, regardless of their age, by increasing the activity of both vegetative centers and humoral regulation. It was shown that the combined use of RE WBC and cCBNCs promoted a decrease in body weight, normalization of serum lipid profile of experimental animals with obesity regardless of their age, restoration of the hormone synthesizing ability of thyroid and sex glands, led to disappearance of degenerative and destructive changes in heart muscle.

Keywords: rhythmic extreme whole body cooling cryopreserved cord blood nucleated cells, myocardium, alimentary obesity, rats.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АО – аліментарне ожиріння; **ВНС** – вегетативна нервова система; **ВСР** – варіабельність серцевого ритму; **ЕКГ** – електрокардіограма; **Ес** – естрадіол; **КА** – коефіцієнт атерогенності; **КК** – кордова кров; **кЯВК КК** —кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові; **РЕХВ** – ритмічні екстремальні холодів впливи; **ТГ** – тригліцериди; **Т₃** – трийодтиронін; **Т₄** – тироксин; **Тс** – тестостерон; **ХС** – холестерин; **ХСЛПВЩ** – холестерин ліпопротеїнів високої щільності; **ХСЛПНЩ** – холестерин ліпопротеїнів низької щільності; **ХЛЛПДНЩ** – холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності; **НФ** – потужність високочастотного компонента спектра ВСР; **LF** – потужність низькочастотного компонента спектра ВСР; **ТР** – загальна потужність спектра ВСР; **VLF** – потужність дуже низькочастотного компонента спектра ВСР.