

# Влияние повторных циклов ритмических экстремальных холодовых воздействий ( $-120^{\circ}\text{C}$ ) на структурное состояние миокарда в динамике старения крыс

Ю.В. Мартынова, В.Г. Бабийчук

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## Influence of Repeated Cycles of Rhythmic Extreme Whole-Body Cooling ( $-120^{\circ}\text{C}$ ) on Myocardium Structure in Dynamics of Rats' Aging

Yu.V. Martynova, V.G. Babijchuk

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine  
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine*

Проблема старения населения имеет глобальный характер, при этом сердечно-сосудистая патология лидирует среди причин смерти в пожилом возрасте [Hariharan N., Sussman M.A., 2015]. В настоящее время общая криотерапия широко используется в практическом здравоохранении и спортивной медицине с целью улучшения функционального состояния организма [Miller E. *et al.*, 2016], в том числе и для модуляции активности сердца [Louis J. *et al.*, 2015].

Ранее нами показано, что применение ритмических экстремальных холодовых воздействий (РЭХВ;  $-120^{\circ}\text{C}$ , 2 мин), начиная с молодого возраста, улучшает состояние внутриклеточных органелл клеток миокарда в более поздние возрастные периоды [Martynova Yu.V. *et al.*, 2015], однако картина морфологических преобразований на тканевом уровне остается нераскрытой.

Цель исследования – изучение влияния повторных циклов РЭХВ ( $-120^{\circ}\text{C}$ ) на структурное состояние миокарда в динамике старения крыс.

Исследования проводили на 40 нелинейных белых крысах-самцах в процессе естественного старения, начиная с молодого возраста (6 месяцев) до 24-х месяцев, с контрольными сроками в 12 и 18 месяцев. Животные были разделены на группы: 1 – интактные крысы ( $n=20$ ); 2 – крысы, которым в процессе естественного старения применяли РЭХВ каждые 6 месяцев ( $n=20$ ). Всего цикл охлаждения состоял из 9 процедур ( $-120^{\circ}\text{C}$ ): три в день по 2 мин с 5-минутными интервалами. На 3-и и 5-е сутки сеансы РЭХВ повторяли. Объектом исследования было структурное состояние миокарда, которое оценивали с помощью основных морфометрических показателей (количество ядер кардиомиоцитов на  $\text{мм}^2$ , площадь поперечного сечения ядер  $\text{мкм}^2$ , количество капилляров на  $\text{мм}^2$ ) на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином.

При естественном старении у крыс отмечалось постепенное уменьшение количества ядер кардиомиоцитов с  $6900 \pm 720$  (в начале эксперимента) до  $6600 \pm 120$  (к 24 месяцам) на  $\text{мм}^2$ , площади ядер с  $(16,2 \pm 0,8)$  до  $(13,5 \pm 1,5)$   $\text{мкм}^2$ . При этом количество капилляров значимо по срокам эксперимента не изменялось. В ходе естественного старения на фоне применения РЭХВ количество ядер на единицу площади также уменьшалось с  $7100 \pm 510$  до  $6100 \pm 710$  на  $1 \text{ мм}^2$ , однако сопровождалось значимым увеличением размеров ядер с  $(12,4 \pm 1,1)$  в срок 18 месяцев до  $(16 \pm 1,2)$   $\text{мкм}^2$  к 24 месяцам. При этом количество капилляров на  $1 \text{ мм}^2$  также не изменялось.

Таким образом, РЭХВ ( $-120^{\circ}\text{C}$ ) компенсируют возрастные изменения в миокарде у крыс за счет увеличения площади ядер кардиомиоцитов, не влияя на его трофику. Установлено, что применение РЭХВ способно повышать компенсаторные возможности миокарда в 24-месячном возрасте: структура миокарда соответствовала состоянию молодых животных.

Population aging is a global problem and cardiovascular diseases lead among the lethal causes in elderly people [Hariharan N., Sussman M.A., 2015]. Nowadays, whole-body cryotherapy is widely used to improve an individual's health in general and sport medicine [Miller E. *et al.*, 2016], including heart rate modulation [Louis J. *et al.*, 2015].

We have previously shown that the use of the rhythmic extreme whole-body cooling (RE WBC, at  $-120^{\circ}\text{C}$  for 2 min), starting from a young age, improves the myocardium ultrastructure in later age periods [Martynova Yu.V. *et al.*, 2015], but the morphological features of the tissues have remained undiscovered.

The goal of the investigation was to study the influence of repeated cycles of RE WBC ( $-120^{\circ}\text{C}$ ) on myocardium structure in dynamics of rats' aging.

The study was performed in 40 white male rats during their natural aging, starting from young age (6 months) up to 24-month-age with the control points at 12 and 18 months. The animals were divided into 2 groups: 1 – the intact one ( $n=20$ ) and 2 – the rats, treated with RE WBC every 6 months during their natural aging ( $n=20$ ). The whole cooling cycle included 9 procedures ( $-120^{\circ}\text{C}$ ): 3 times a day with 2 min duration and 5 min rest. To the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> days the RE WBC series were repeated. The object of the study was the myocardium structure, evaluated by the main morphometric parameters (number of nuclei per square millimeter of cardiomyocytes, cross-sectional area of nuclei in square micrometer and number of capillaries per square millimeter) in histological specimens stained with hematoxylin and eosin.

Natural aging in rats was accompanied with a gradual decrease of the number of cardiomyocyte nuclei from  $6,900 \pm 720$  (at the beginning of the experiment) down to  $6,600 \pm 120$  (at 24-month-age) per  $\text{мм}^2$  and the nuclei area from  $16.2 \pm 0.8$  down to  $13.5 \pm 1.5 \text{ }\mu\text{m}^2$ . The number of capillaries did not change significantly during the experiment. Using the RE WBC in animals during natural aging resulted in a decrease in the number of nuclei per unit area from  $7,100 \pm 510$  down to  $6,100 \pm 710 \text{ }\mu\text{m}^2$ , however, there was a significant increase in the nuclei size from  $12.4 \pm 1.1$  (in 18-month-age) up to  $16 \pm 1.2 \text{ }\mu\text{m}^2$  (at 24-month-age). The number of capillaries per  $1 \text{ мм}^2$  did not change as well.

Thus, the application of RE WBC compensated the age-related changes in the rat's myocardium in terms of the increase in the cross-sectional area of cardiomyocyte nuclei, without affecting the myocardium trophism. It has been found that the use of RE WBC could enhance the myocardium compensatory capabilities in 24 month-old animals: the myocardium structure did not differ from the young animals.

