

УДК 612.67:616.03.127:611.018:616-089.843

*О.С. Прокопюк, В.В. Чижевський, В.Ю. Прокопюк*

*Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, м. Харків*

## **ВПЛИВ ІМПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ХОРІАЛЬНОЇ ТКАНИНИ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МІОКАРДА СТАРИХ ЩУРІВ**

Досліджено вплив імплантації кріоконсервованої хоріальної тканини на морфофункціональний стан міокарда старих щурів. Аналізували електрофізіологічні показники та морфологічну структуру міокарда після навантаження. Продемонстровано, що імплантація кріоконсервованої хоріальної тканини підвищує функціональні та адаптаційні можливості міокарда після навантаження, що пояснюється відновленням структури міокардіоцитів та компонентів сполучної тканини міокарда.

**Ключові слова:** хоріальна тканина, імплантація, кріоконсервування, міокард, геронтологія.

З віком адаптаційні можливості міокарда обмежуються, що пов'язано зі структурно-функціональними змінами як у міокарді, судинах, так і в системах регуляції діяльності серцево-судинної системи [1–3]. Сьогодні, коли населення прогресує старіє, відновлення стану серцево-судинної системи в похилому віці є актуальною медичною і соціальною проблемою. Препарати, що застосовуються в геріатричній практиці, відносяться до різних фармакологічних груп, однак лише деякі з них мають доведені геропротекторні властивості [4–6]. Одними з таких препаратів є препарати тканин раннього онтогенезу [7]. Однак більшість геропротекторів тканинного походження, що застосовувалися, мали в складі лише поліпептидні складові в невеликій кількості. Підвищення кількості активних сполук та строку дії препаратів можливо завдяки імплантації фрагментів тканини, отриманої в найбільш активний період її функціонування із застосуванням кріотехнологій. Предметом даного дослідження стала хоріальна тканина (ХТ) ранніх строків гестації. Хоріон, що є попередником плаценти, активно синтезує і секретує біологічні сполуки, завдяки яким відбудовуються і розвиваються всі органи і клітини внутрішньоутробного плоду, в тому числі структури серцево-судинної системи. Імплантація фрагментів хоріона пацієнтам похилого віку, на нашу думку, повинна відновлювати адаптаційні можливості серцево-судинної системи.

Метою роботи було визначення впливу імплантації кріоконсервованої хоріальної тканини на морфофункціональний стан міокарда старих щурів.

**Матеріал і методи.** ХТ вилучали у ранньовагітних (10 днів вагітності) щурів лінії Wistar гострим шляхом. Фрагменти ХТ розмірів 0,3×0,3×0,3 см відмивали, заморожували під захистом 7 % ДМСО по двохетапній програмі: на першому етапі — із швидкістю 1 °С/хв до –20 °С, на наступному етапі — шляхом занурення у рідкий азот до –196 °С, розморожували при 40 °С на водяній бані.

Деконсервовану ХТ імплантували під місцевою інфільтраційною анестезією 0,5 % розчином новокаїну паравертебрально під шкіру самцям щурів лінії Wistar віком 21 місяць. Тварин розподілили на три групи (по 10 в кожній): 1-ша — інтактні; 2-га — хібнооперовані; 3-тя (основна) — з імплантацією ХТ. Функційні навантаження проводили шляхом нагріву експериментальних тварин у термостаті при 40 °С 30 хв 1 раз у тиждень. Усім тваринам проводили ЕКГ до імплантації, після неї, в динаміці функційних нагрузок протягом 6 тижнів. ЕКГ реєстрували на кардіографі ЕКНТМ «Малиш» із застосуванням голкових електродів. Через 6 тижнів тварин виводили з експерименту, проводили гістологічне дослідження міокарда після приготування парафінових зрізів, забарвлених гематоксиліном та еозином.

Експерименти на тваринах проводились згідно з «Загальними принципами експери-

© О.С. Прокопюк, В.В. Чижевський, В.Ю. Прокопюк, 2011

ментів на тваринах», що затверджені III Національним конгресом з біоетики (Київ, 2007) та узгоджені з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

**Результати та їх обговорення.** На початкових етапах дослідження (до проведення гіпертермічних навантажень) у щурів реєструвалася стабільна ЕКГ без істотних ознак патології. Виключення складали одиничні порушення серцевого ритму, що виявлялися у вигляді тахікардії, а так само в зміні амплітуди окремих зубців ЕКГ. Ці порушення були нерегулярні, виникали у тварин з початку проведення реєстрації та, ймовірно, були наслідком стресу тварини на часткову іммобілізацію, а також підшкірне введення електродів, що реєструють. Зміни в картині ЕКГ здобували чітку спрямованість після того, як тварини були піддані впливу гіпертермії. У більшості тварин усіх експериментальних груп спостерігалось загальне зниження вольтажу компонентів ЕКГ. Однак дані порушення були більш характерні для інтактних та хібнооперованих тварин, криві ЕКГ у деяких з них мали виражений сплюснений вид. У середньому амплітуда R зубця в ЕКГ цих тварин була на 20–30 % нижче, ніж у щурів, яким імплантувалася ХТ. Електрокардіограми щурів 1-ї і 2-ї груп відрізнялися так само амплітудою зубця Т. Подібні зміни свідчать про зниження швидкості і рівня реполяризації міокарда в старості. В деяких тварин 1-ї і 2-ї групи відмічалися ознаки перевантаження правих відділів серця. Реєструвалася розширення комплексу QRS.

Також серед порушень ЕКГ у щурів цих груп слід зазначити ефект електричної альтернації — чергування мінімуму і максимуму амплітуди зубця R, що може вказувати на нестабільність коронарного кровообігу. Динаміка (відновлення) показників ЕКГ у щурів 3-ї (основної) групи істотно відрізнялася від такої у щурів інших груп. Показники ЕКГ у тварин з імплантацією ХТ нормалізувалися протягом 10–40 хв, тоді як у хібнооперованих й інтактних тварин — зберігалися зміненими і через годину після функціонального навантаження (рис. 1).

Зазначена нормалізація електрофізіологічних процесів у міокарді старих тварин знаходить своє відображення в нормалізації морфологічної картини міокарда, досліджуваних тканин лабораторних тварин, котра мала ряд закономірностей.

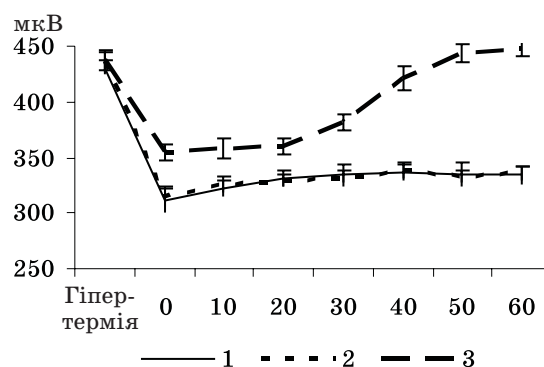


Рис. 1. Динаміка вольтажу зубця R ЕКГ підслідних тварин після гіпертермії: 1 — інтактні тварини; 2 — хібнооперовані тварини; 3 — щурі основної групи (після імплантації ХТ)

У старих тварин 1-ї і 2-ї груп міокард мав пухкий вигляд, м'язові волокна здебільшого були стоншені, хоча виявлялися і стовщені волокна. Відповідно, ядра більшості мікардіоцитів різко гіперхромні, витягнутої форми, унаслідок чого діаметр таких ядер був істотно зменшеним —  $(2,10 \pm 0,01)$  мкм. Мікардіоцити з діаметром  $(4,10 \pm 0,02)$  мкм зустрічалися рідко. Цитоплазма місцями здобувала відтінок базofilії, поперечна посмугованість здебільшого відсутня. Ендомізій також був представлений фіброцитами з гіперхромними ядрами. У різних відділах міокарда спостерігалися невеликі ділянки м'язових волокон з фрагментацією (некротичні і паранекротичні явища). Міграція макрофагів до ділянок некрозу була слабовиражена (рис. 2).

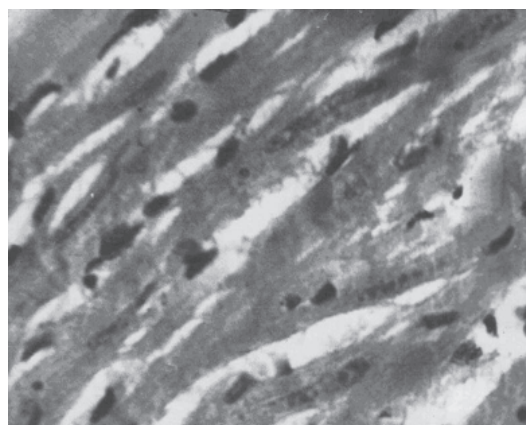


Рис. 2. Міокард щурів 1-ї групи. Забарвлення гематоксилином та еозином,  $\times 400$

Наслідками імплантації кріоконсервованої ХТ (у тварин 3-ї, основної, групи) визначено морфофункціональну активізацію частини ядер мікардіоцитів, раніш гіперхром-

них, міокардіоцитів з пікнотичними ядрами, з великими, овальної форми, еухромними ядрами: діаметр —  $(4,40 \pm 0,02)$  мкм. Крім того, всі ділянки ушкодження міокардіоцитів були оточені макрофагами. Базофілія цитоплазми не спостерігалася (рис. 3).

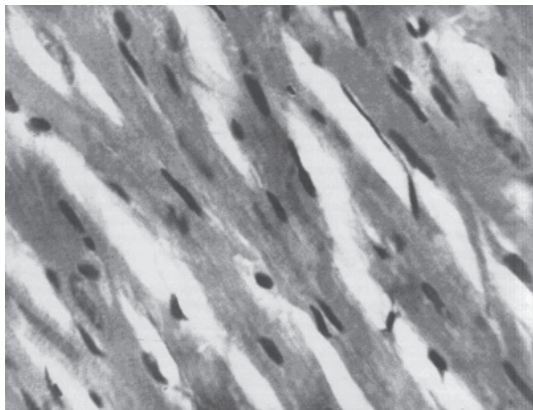


Рис. 3. Міокард щурів 3-ї (основної) групи. Забарвлення гематоксиліном та еозином,  $\times 400$

В деяких зразках міокарда тварин після імплантації ХТ спостерігались волокна серцевого м'яза, утвореного окремими міокардіоцитами, що виглядали розгалуженими чи анастомозуючими з добре помітною поперечно-смугастою посмугованістю. Кожен

міокардіоцит мав, звичайно, одне ядро середнього ступеня гетерохромності, розташоване приблизно в центрі клітини. Щільнопоподібний простір між анастомозуючими волокнами містив ендомізій, у якому проходили капіляри і лімфатичні судини. Слід зазначити, що така структура міокарда характерна для тварин молодого і середнього віку.

У тварин 1-ї і 2-ї груп таких змін не виявлено.

Таким чином, підшкірна імплантація ХТ старій тварині зумовлює збільшення ступеня еухромності ядер міокардіоцитів, що можна вважати проявом посилення процесу синтезу в ядрі інформаційної РНК, наслідком чого є відновлення білків цитоплазми, у першу чергу, міофібрил. Отже, відбувається «омолодження» міокардіоцитів, здатних, як відомо, тільки до внутрішньоклітинної регенерації. Крім того, спостерігається посилення макрофагальної функції, що може бути результатом активізації неспецифічного імунітету.

Таким чином, імплантація кріоконсервованої ХТ підвищує функціональні та адаптаційні можливості міокарда в похилому віці після навантаження, що пояснюється відновленням структури міокардіоцитів та компонентів сполучної тканини міокарда.

#### Список літератури

1. Pfister O. Heart failure in the elderly O. Pfister, P. Buser, H. Brunner-La Rocca // *Ther. Umsch.* — 2011. — V. 68, № 2. — P. 107–112.
2. Ахаладзе Н. Г. Артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца и биологический возраст / Н. Г. Ахаладзе // *Проблемы старения и долголетия.* — 2010. — Т. 19, № 3. — С. 262–263.
3. Fleg J. L. Cardiovascular drug therapy in the elderly: benefits and challenges / J. L. Fleg, W. S. Aronow, W. H. Frishman // *Nat. Rev. Cardiol.* — 2011. — V. 8, № 1. — P. 13–28.
4. Анисимов В. Н. Средства профилактики ускоренного старения (геропротекторы) / В. Н. Анисимов // *Успехи геронтологии.* — 2000. — Вып. 4. — С. 55–74.
5. Купраш Л. П. Взаимодействие лекарств и пищи в гериатрической практике / Л. П. Купраш // *Проблемы старения и долголетия.* — 2011. — Т. 20, № 2. — С. 197–202.
6. Uhrhan T. The effect of medications on the risk of falling in elderly patients / T. Uhrhan, M. Gervercin, M. Schaefer // *Med. Monatsschr. Pharm.* — 2010. — V. 33, № 11. — P. 418–426.
7. Хавинсон В. Х. Избранные лекции по геронтологии / В. Х. Хавинсон, С. С. Коновалов. — М. : Прайм-Еврознак, 2009. — 976 с.

**О.С. Прокопюк, В.В. Чижевский, В.Ю. Прокопюк**

#### ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ХОРИАЛЬНОЙ ТКАНИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИОКАРДА СТАРЫХ КРЫС

Исследовали влияние имплантации кріоконсервированной хоріальної ткани на морфофункціональне стан міокарда старих крыс. Аналізували електрофізіологічні показателі та морфологічну структуру міокарда після навантаження. Продемонстровано, що імплантація кріоконсервированной хоріальної ткани підвищує функціональні та адаптаційні можливості міокарда після навантаження, що пояснюється відновленням структури міокардіоцитів та компонентів з'єднаної тканини міокарда.

**Ключевые слова:** хоріальна тканина, імплантація, кріоконсервирование, міокард, геронтологія.

---

*O.S. Prokopjuk, V.V. Chizhevsky, V.Y. Prokopjuk*

**EFFECTS OF CRYOPRESERVED CHORIONIC TISSUE IMPLANTATION ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF MYOCARDIUM OF OLD RATS**

The effects of cryopreserved chorionic tissue implantation on the morphofunctional state of the myocardium of old rats were studied. The electrophysiological parameters and morphological structure of infarction even after exercise were investigated. Demonstrated, that implantation cryopreserved chorionic tissue enhances the functionality and adaptive capabilities of myocardium after exercise, due to restoration of the structure of myocytes and connective tissue components.

**Key words:** *chorionic tissue, implantation, cryopreservation, myocardium, gerontology.*