

А.М. ГОЛЬЦЕВ, О.Ф. ДЕМБНОВЕЦЬКИЙ,
В.І. БОЙКО, Т.М. ДУДЧЕНКО, Ф.Н. ПАЦЮК

РОЗВИТОК ДОСЛІДЖЕНЬ З ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ ТА КРІОМЕДИЦИНИ В НАЦІОНАЛЬНІЙ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

У статті стисло висвітлено діяльність Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України — першої в колишньому СРСР і в Україні установи такого профілю, наведено основні відомості про характер дії низьких і знижених температур на біологічні об'єкти різних рівнів організації (субклітинного, клітинного й організменого), подано результати науково-дослідних робіт, які дозволяють зробити висновки про оборотність холодового впливу, можливості його модифікаційної дії на біологічні структури, а також ефективність його використання при різних патологічних процесах.

Низькі температури здавна використовували для подовження терміну зберігання окремих харчових продуктів, зменшення симптомів деяких захворювань тощо. Це пояснювалося зовнішніми проявами впливу холоду на біологічні об'єкти, однак тривалий час не вивчалися механізми його дії на живу матерію. У минулому столітті збільшення масштабів використання людством холоду зумовило появу нової наукової фундаментальної дисципліни — кріобіології і кріомедицини¹.

В Україні дослідження в цьому напрямі було розпочато в 60-х роках ХХ ст. у Фізико-технічному інституті низьких температур ім. Б.І. Веркіна (ФТІНТ) АН УРСР. Особливу увагу було приділено низькотемпературному консервуванню біологічних об'єктів, зокрема еритромаси. За досягнення в цій галузі колективу авторів (Б.І. Веркіну, М.С. Пушкарю, М.І. Шраго та ін.) у 1978 р. було присуджено Державну премію СРСР.

Початком діяльності Інституту в цьому напрямі стало вивчення кріобіологічного впливу на різні органи і тканини організму люди-

ни, визначення принципів будови кріохірургічної апаратури, розроблення методів і кріохірургічної апаратури для стоматології, гінекології, оториноларингології, онкології, дерматології тощо. Було також розроблено системи охолодження харчових продуктів під час транспортування і тривалого зберігання, запропоновано засоби життєзабезпечення підводних робіт за низьких температур.

З часом виникла потреба в поглибленому вивченні фахівцями медико-біологічного профілю біологічних аспектів взаємодії холоду з живою матерією та спрямуванні їхніх зусиль на опрацювання теоретичних підвалин нової науки, а також на вирішення відповідних прикладних завдань біології, медицини тощо.

У Харкові на базі наукових відділів ФТІНТ і Проблемної лабораторії Українського інституту вдосконалення лікарів МОЗ СРСР у 1972 р. було створено перший і єдиний у світі Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (ІПКК НАН України), який очолив член-кореспондент АН УРСР М.С. Пушкар. У 1983 р. директором було обрано академіка АН УРСР В.І. Грищенка, завдяки чималим зусиллям якого Інститут здобув світове визнання, а в 2011 р. — академіка НАН України А.М. Гольцева.

¹ Кріо (від грец. *creos* — холод, мороз, лід) — у складних словах вказує на зв'язок з низькою температурою, льодом.

У 1997 р. при Інституті було створено Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини (згодом він набув статусу Державного підприємства) потрійного підпорядкування (НАН України, АМН України та МОЗ України). З 1998 р. при ІПКК НАН України розпочала роботу Міжнародна кафедра ЮНЕСКО за участю кріобіологів Великої Британії, Канади, США, Чехії, Ізраїлю, Швеції та Японії, що сприяє формуванню творчих зв'язків Інституту з провідними науковими установами світу.

З метою повноцінного довготривалого збереження широкого спектра кріоконсервованих зразків біологічних матеріалів для наукових досліджень, промисловості, сільського господарства, медичної практики тощо в ІПКК НАН України було створено низькотемпературний банк біологічних об'єктів, який пізніше згідно з Постановою Кабінету Міністрів України набув офіційного статусу наукового об'єкта «Національне надбання України». Крім того, при Інституті функціонують ДП «Наукова лабораторія кріочутливості і кріорезистентності біологічних об'єктів при їх зберіганні в тканинному банку» та СКТБ з дослідним виробництвом (держзрахунковий підрозділ для розроблення і впровадження кріобіологічного обладнання в різні галузі народного господарства).

В Інституті видаються науково-теоретичні журнали «Проблеми кріобіології» і «Международный медицинский журнал», які розповсюджуються в Україні й за кордоном.

Така інфраструктура Інституту забезпечила сприятливі умови для співробітництва біологів і медиків з математиками, кібернетиками, фізиками й біофізиками, механіками, хіміками тощо.

Важливість досліджень колективу Інституту підтверджена присудженням Державних премій СРСР і України.

Президія НАН України ухвалила для Інституту такі наукові напрями:

- дослідження механізмів кріоушкоджень, кріозахисту, природної стійкості біологічних об'єктів до холоду та її репарації після дії холоду;

- створення ефективних засобів штучного кріозахисту біологічних систем різного рівня організації та розроблення на їх основі технологій кріоконсервування біологічних об'єктів і технічних засобів їх реалізації;

- застосування гіпотермії, кріотерапії та кріоконсервованих біологічних об'єктів для лікування різних захворювань;

- клітинна і тканинна терапія.

Після організації ІПКК НАН України було модернізовано методологічну базу кріобіологічних досліджень. Зокрема, отримано дані щодо молекулярних механізмів взаємодії кріопротекторів з біологічно важливими катіонами і білковими молекулами; з'ясовано закономірності впливу низьких температур на конформацію каталітичних та інших білків і структурно-функціональний стан біологічних мембран; виявлено зміни гуморальних регуляторних систем під час охолодження тканин, а також особливості розвитку клітинного імунітету при застосуванні кріоконсервованих тканин; фізико-математичними методами було досліджено процеси, що відбуваються під час кріоконсервування клітинних суспензій (температурний шок, дегідратація, поза- і внутрішньоклітинна кристалізація тощо).

Проведено важливі роботи з одержання ефективних низькотоксичних кріопротекторів широкого діапазону дії — було синтезовано пентаеритрити та поліетиленоксиди, які не потребують видалення перед клінічним використанням (кісткового мозку, еритроцитів, лейкоцитів, лімфоцитів, шкіри, рогівки тощо) або кріоконсервування інших біооб'єктів. На цій основі розроблено ефективні програми й методи кріоконсервування клітин і тканин з високою збереженістю їхніх морфологічних і функціональних властивостей. Такі дослідження тривають і далі, оскільки перелік біооб'єктів і проблем під час їх проведення постійно збільшується.

Оновлена методологічна база істотно сприяла розгортанню в межах зазначених напрямів важливих фундаментальних і прикладних досліджень механізмів, що відбуваються в біологічних середовищах, клітинах, тканинах, органах, організмах під впливом

різних режимів охолодження, а також досліджень, спрямованих на виявлення кріолабільних і кріостабільних структур для з'ясування механізмів кріоушкоджень і кріопротекції біооб'єктів на молекулярному, субклітинному й органотканинному рівнях. Крім того, вивчаються біологічні властивості й антигенна перебудова тканин, консервованих за низьких температур, з метою пошуку їх спрямованої мінливості для подолання тканинної несумісності та зниження вторинних імунологічних реакцій; ведеться пошук ефективних кріопротекторів для розроблення досконаліших технологій і методів кріоконсервування різних біооб'єктів.

Особливого успіху вчені досягли в опрацюванні наукового напрямку «клітинна і тканинна терапія». Колектив Інституту вперше в Україні створив імунобіологічні препарати, що мають сертифікати МОЗ України на їх одержання та застосування (попередні висновки підтверджують їхні високі лікувальні властивості при різних захворюваннях людини).

В останні роки набуває розвитку ще один перспективний напрям досліджень — кріобіологія відновлення, спрямований на вивчення механізмів репарації біологічних структур та їхніх функцій за допомогою низьких температур.

Не мають аналогів дослідження з вивчення впливу факторів кріоконсервування на стан геному клітин, особливостей експресії генів самопідтримання, проліферації й диференціювання стовбурових² кровотворних і стромальних елементів, імункомпетентних клітин із різних джерел і стовбурових ракових клітин, а також на генетичний апарат імункомпетентних клітин після застосування фетального матеріалу в умовах «інтактного» організму і при окремих патологіях.

Під час опрацювання цих наукових напрямів було отримано важливі результати як фундаментального, так і прикладного спрямування³. Розроблено фізико-матема-

тичні підходи до вивчення процесів, що відбуваються в багатокомпонентних середовищах, які моделюють кріобіологічні системи. Вперше сформульовано й фізично обґрунтовано нову базову математичну модель ендцитозу; визначено граничні розміри діаметра молекул, за яких проникнення крізь мембрани не обмежується розмірами їхніх каналів; встановлено співвідношення між транспортними характеристиками клітинних мембран (коефіцієнти фільтрації та проникності) і коефіцієнтами тертя між окремими компонентами для рухомої мембрани довільної форми.

Встановлено зв'язок між ступенем кріозахисту і токсичністю вживаних хімічних сполук залежно від характеру досліджуваних функціональних груп.

Розроблено і науково обґрунтовано принципи комплексного оцінювання нативних і кріоконсервованих ембріонів за морфологічними характеристиками, здатністю до поновлення мітозів, швидкістю морфогенетичних процесів з урахуванням преімплантаційної генетичної діагностики (їх можна використати як прогностичні критерії ймовірності розвитку повноцінних ембріонів у разі їх застосування в допоміжних репродуктивних технологіях); уперше в Україні вдалося досягти народження дітей із заморожених ембріонів. Запропоновано оригінальний метод штучного запліднення жінок кріоконсервованою спермою донора.

Проведено порівняльний аналіз впливу ритмічної гіпотермії на процеси природного й індукованого старіння мозку (експериментальна модель) щурів, при цьому виявлено підвищення спрямованості вегетативних реакцій і посилення центральних механізмів регуляції (на цій основі розроблено нові методи програмного охолодження організму, які активізують його регуляторні системи, механізми саногенезу при різних патологіях). З'ясовано, що організм реагує на охолодження не лише системою терморегуляції, а й усіма можливими механізмами адаптації, активуються гіпоталамо-гіпофізарно-адrenalова, імунна, ендокринна та інші системи.

² Неспецифічні й недиференційовані клітини ембріонів і органів дорослих організмів тварин і людини.

³ Далі наведено окремі приклади досліджень, зафіксованих в офіційних звітах НАН України.

Показано, що позитивна дія лікувальних режимів охолодження зумовлена підвищенням лабільності регуляторних процесів у центральній нервовій і серцево-судинній системах та стимуляцією прямих і зворотних зв'язків між ними (активація нейротрансмітерних механізмів гематоенцефалічного бар'єру), «розхитуванням» симпато-парасимпатичних переключень з подальшою оптимізацією центральної та периферійної дії первинних, вторинних і ретроградних месенджерів, відновленням порушених функцій, властивостей біоритмів мозку й організму.

Встановлено, що екстремальні кріовпливи приводять до періодичної зміни структурно-функціональної активності гематоенцефалічного бар'єру, довгострокової активації синаптичного апарату нейронів гіпоталамуса, оптимізації дії ретроградних месенджерів на рівні компартментів цитоплазми, ендотеліоцитів та їх нейрогліального оточення. Усе це забезпечує значну активізацію фізіологічних резервів організму і може бути використане для лікування патологій різного походження.

Розроблено біотехнології, що дають можливість тривалий час зберігати різні біооб'єкти (компоненти крові, клітини кісткового мозку, клітини й тканини фетоплацентарного походження, репродуктивний біоматеріал, зразки рослинного походження, сперму риб і птахів, мікроорганізми та ін.), а також технологію отримання препаратів нейрональних фетальних клітин з високою життєздатністю і показано терапевтичний ефект їх застосування при експериментальній гіпоксичній ішемії новонароджених тварин.

Виявлено стимуляційну дію перфторану на рухливість сперміїв у людини при гіпотермії (додавання його до суспензії сперміїв продовжує термін їх збереження до 96 годин).

Розроблено прогресивний спосіб зберігання і транспортування інфікованих біоматеріалів, мікробних ізолятів від хворих, біоптатів, проб крові (порівняно з аналогами його використання дає змогу запобігти інфікуванню персоналу і забрудненню довкілля в разі розгерметизації чи порушення цілості контейнерів під час зберігання та відігрівання).

Обґрунтовано нові підходи для спрямованої модифікації певного структурно-функціонального стану клітин перед кріоконсервуванням для підвищення їхньої стійкості до заморожування-відігрівання і на основі принципу «холодової» стабілізації запропоновано унікальний метод кріоконсервування еритроцитів без відмивання під захистом непронижного кріопротектора ПЕО-1500, який підвищує стійкість клітин до заморожування-відігрівання і максимально зберігає їхні структурно-функціональні показники.

Показано високу ефективність розробленого сахарозовмісного розчину для гіпотермічного зберігання фетальних нервових клітин людини.

Установлено, що застосування кріоконсервованих мезенхімально-мезодермальних клітин із м'яких тканин ембріона при лікуванні опіків значно прискорює темпи репараційно-регенеративних процесів у тварин.

Під час вивчення впливу кріоконсервування на імунобіологічну активність кісткового мозку вперше було показано, що співтрансплантація клітин фетальної печінки з алогенним кістковим мозком зумовлює істотне зниження індукованої ним реакції «трансплантат проти хазяїна». Крім того, було виявлено, що використання цих клітин у щурів прискорює регенерацію печінки, стимулює гемопоетичну функцію, нормалізує стан ферментативної антиоксидантної системи печінки і крові, активує репаративні процеси, що супроводжуються нормалізацією біохімічних і біоенергетичних показників. При застосуванні на моделі тварин з генетично детермінованим раком мишей лінії СЗН «превентивної» терапії клітин фетальної печінки було виявлено імунорегуляційний ефект і одночасне зниження частоти розвитку пухлин.

Встановлено корелятивні зв'язки між морфологічними характеристиками і хромосомним статусом нативних і кріоконсервованих ембріонів людини. З'ясовано, що ембріони з високим ступенем фрагментації цитоплазматичних ділянок характеризуються значним рівнем анеуплоїдій, а після кріоконсервування достовірно зростає кількість ембріонів з такими аномаліями, як поліплоїдія.

Показано, що введення аlogenної кріоконсервованої плаценти на фоні експериментального атеросклерозу сприяло швидкій нормалізації ліпідного спектра сироватки крові й відновленню структурно-функціональної цілісності ендотелію, що свідчить про гіполіпідемічний і ангиотрофічний ефекти цієї тканини.

Досліджено можливість застосування препарату клітин хоріона для терапії експериментальних термічних опіків і встановлено, що використання цих клітин сприяє ранозагоювальним і протизапальним ефектам (зменшення площі опіку, нормалізація вмісту лейкоцитів у крові, відновлення структури шкіри вже на 20-ту добу).

Створено фізико-математичну модель електропорації клітин, яка, на відміну від наявних, враховує внесок у цей процес вільної енергії ізотропного розтягу і зсуву клітинної мембрани й пояснює особливості цього явища (малу швидкість заліковування мембранних пор після дії електричного поля та існування так званого пробою клітини).

Вперше показано, що швидкість охолодження селективно впливає на збереженість і субпопуляційний склад суспензій клітин надниркових залоз і сім'яників, у результаті чого створено базу для розроблення способів отримання зі стероїдопродукувальних залоз клітинних суспензій потрібного складу.

Доведено, що введення екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят або селезінки свиней у черевну порожнину щурів змінює пептидний склад екстракту нормальної шкіри, пришвидшує та нормалізує процес загоєння холодкових травм шкіри у щурів у більш ранні строки.

Встановлено можливість отримання фібробластів із експлантатів після зберігання в умовах гіпотермії в сироватці крові протягом 14 діб. Показано можливість гіпотермічного зберігання суспензії фібробластів у ростовому середовищі впродовж 72 годин.

Виявлено високу антигемолітичну активність хлорпромазину в умовах гіпертермічного гемолізу еритроцитів людини, коня, бика і кроля (при цьому діапазони ефектив-

них концентрацій хлорпромазину для різних видів тварин неоднакові).

Для потреб експериментальної медицини запропоновано способи оцінювання безпеки застосування фетальних клітин, визначення імуногенності еритроцитів, подовження функціонування ендокринних ксеноматеріалів тощо.

Отримано систему диференціальних рівнянь, що описує процеси пасивного масоперенесення електронейтральної речовини крізь біологічні мембрани і за її допомогою визначено основні параметри, що характеризують проникність плазматичних мембран низки клітин, побудовано фізико-математичну модель стану поза- і внутрішньоклітинних розчинів у суспензії клітин у процесі її кристалізації, яка дає змогу визначити режими охолодження цієї суспензії.

Створено експериментальні моделі патологічних станів (антифосфоліпідного синдрому, плацентарної недостатності й атеросклерозу), за допомогою яких можна визначити ефективність біологічної дії вищезазначених біооб'єктів.

Винайдено кріозахисні середовища і створено найбільш ефективну програму кріоконсервування для збереження структури та життєздатності біооб'єктів плацентарного походження. Проведено оцінювання ефективності застосування кріоконсервованих продуктів фетоплацентарного комплексу в терапії аутоімунних захворювань. Розроблено спосіб кріоконсервування суспензій клітин сім'яників для потреб практичної медицини.

Знайдено ефективне рішення одного з основних питань кріобіології — усунення ефекту «упакування» під час заморожування еритроцитів (високий гематокрит) завдяки розробленню комбінованих кріоконсервантів з непроникними і проникними кріопротекторами.

Запропоновано методи кількісного оцінювання адгезійної здатності клітин, які дають можливість керувати нею, модифікуючи хімічні характеристики підкладки та поверхні клітинних мембран.

Результати глибоких фундаментальних досліджень учених Інституту з вивчення

властивостей стовбурових клітин і клітин-попередників дали змогу створити на їхній основі високоефективні тканинні й клітинні препарати. Ці клітини мають унікальну здатність відтворювати вихідні ознаки за необмеженої кількості поділів і високого проліферативного потенціалу. Тому вивчення їх диференціювання в соматичні клітини та спрямованого транспортування до ушкоджених органів і тканин, розроблення для них оптимальних режимів заморожування зі збереженням життєздатності та функціональної активності є одним із найважливіших напрямів сучасної кріобіології і кріомедицини.

Фактично дослідження Інституту в цій галузі є альтернативою генетичній корекції, оскільки формують вагомий науковий потенціал для синтезу субстанцій з біомодуляційною і морфогенетичною здатністю. Зокрема, отримано експериментальні дані, які свідчать про здатність деяких режимів кріоконсервування ембріонального мозку змінювати субпопуляційний склад у бік переважання *nestin*-клітин, що належать до стовбурових елементів нервової тканини; на моделі експериментального алергійного енцефаломієліту показано, що вони мають високий терапевтичний ефект при лікуванні нейродегенеративних захворювань аутоімунної природи.

В експерименті з кісткового мозку дорослих тварин одержано стовбурові клітини, які під впливом спеціальних ростових факторів було модифіковано в нейроподібні клітини, а також клітини підшлункової залози, які виробляють інсулін (ці клітини можна ефективно використовувати як аутоматериал при деяких неврологічних захворюваннях, зокрема при епілепсії).

Розроблено також методи ізолювання мезенхімальних стовбурових клітин та клітин-попередників і стромально-васкулярної фракції клітин з жирової тканини дорослої людини.

На моделі CCl_4 -індукованого цирозу щурів встановлено, що у віддалені строки після трансплантації дія стовбурових клітин і клітин-попередників, ізолюваних з фетальної печінки людини, спрямована на підтримання функції і стимуляцію репаративних

процесів у печінці, а також на відновлення прооксидантно-антиоксидантного балансу.

В експериментальній моделі ад'ювантного артриту АА на мишах крім загальновизнаних характеристик встановлено факт «специфічного» поведження кровотворної системи в разі патології – змінюється вміст стовбурових $CD34+CD38$ клітин кісткового мозку.

З'ясовано істотні відмінності функціональних характеристик стовбурових кровотворних та мезенхімальних клітин кісткового мозку здорових тварин і тварин з експериментальним ад'ювантним артритом, а також чутливості цих клітин до факторів кріоконсервування.

Розроблено метод кріоконсервування клітин хоріона, що дає можливість одержувати препарат з високим показником життєздатності й цілістю стовбурових клітин. Вивчено вплив біологічно активних речовин та умов культивування на проліферативні властивості стовбурових клітин і клітин-попередників із тканин дорослої людини.

Встановлено, що клітини фетальної печінки пізніх термінів гестації після кріоконсервування набувають високого ступеня експресії генів проліферації й диференціації клітин стовбурового компартменту, що може підвищувати їхню терапевтичну ефективність завдяки стимуляції гемопоєзу реципієнтів і пулу Т-регуляторних клітин для зниження прояву хвороби «трансплантат проти хазяїна».

На моделі гострої реакції «трансплантат проти хазяїна» виявлено зниження в реципієнтів вмісту стовбурових кровотворних і мезенхімальних клітин, а також зниження кількості Т-регуляторних клітин і корегувальну дію щодо цих показників клітин фетальної печінки.

Вивчено стан компартменту стовбурових і клітин Т-регуляторної ланки імунітету на молекулярно-генетичному рівні в реципієнтів з аутоімунними захворюваннями і з'ясовано механізми корегувального впливу кріоконсервованих продуктів фетоплацентарного комплексу при лікуванні патологій аутоімунної генези.

Розширено уявлення про механізми розвитку аутоімунних конфліктів на клітинному й

молекулярному рівнях і обґрунтовано доцільність спрямованого підвищення ефективності лікування хвороби «трансплантат проти хазяїна» котрансплантацією гістонесумісного кісткового мозку і клітин фетальної печінки.

Досліджено проліферативні властивості стовбурових клітин і клітин-попередників людини та створено інформативний і відновлювальний метод оцінювання проліферації клітин людини *in vitro* для визначення життєздатності свіжоізольованих і кріоконсервованих клітин.

Вперше продемонстровано можливість взаємодії наночастинок ортованадату з пухлинними клітинами (АКЕ) з метою таргетного маркування і запропоновано відповідні методичні рекомендації.

Вивчено механізми впливу нанокompatитних покриттів на основі оксидних нанокристалічних шарів з різною мікроархітектонікою на регуляцію функціонального статусу мезенхімальних стовбурових клітин (МСК). Встановлено здатність деяких оксидних покриттів селективно збагачувати культури кісткового мозку клітинами, що експресують маркери МСК, а також підвищувати ступінь експресії в них гена *ido*, що дає можливість подальшого їх застосування в біомедицині. Доведено можливість використання зазначених клітин зі зміненими властивостями під впливом нанопокриття Al_2O_3 для лікування хвороби «трансплантат проти хазяїна».

У результаті експериментальних досліджень учені Інституту встановили важливий факт, що альтернативним джерелом гемопоетичних стовбурових клітин може бути кордова кров, оскільки вона має велику кількість еритроцитів стовбурових клітин і різних біологічно активних речовин. Це збільшує ресурсний потенціал для отримання стовбурових клітин та їх попередників і розширює діапазон лікувальних можливостей кріомедицини.

На базі набутого досвіду створення методів кріоконсервування біооб'єктів без відмивання розроблено і захищено патентами України ефективні методи виділення і кріоконсервування ядровмісних клітин кордової

крові зі збереженням їхнього кількісного складу та структурно-функціональної повноцінності. Зокрема, запропоновано спосіб кріоконсервування цільної кордової крові, який забезпечує схоронність усіх компонентів, у тому числі стовбурових гемопоетичних клітин (зі збереженням до 85% CD45+ клітин і до 98% CD34+ клітин), і структурних властивостей ядровмісних клітин кордової крові на високому рівні, необхідному для проведення відповідних наукових досліджень і практичного клінічного застосування. Крім того, виявлено повне збереження у препараті цільної кордової крові біологічно активних речовин її плазми після кріоконсервування.

В експериментах на білих мишах і морських свинках показано відсутність аномальної токсичності кріоконсервованої сироватки кордової крові людини (встановлено, що вона не чинить токсичної дії на морфофункціональні показники різних клітин і тканин кролів в експериментах *in vivo*).

Визначено найприйнятніші строки гіпотермічного зберігання ядерних клітин кордової крові й показано, що оптимальним кріопротектором для цих клітин є димексид у 7% концентрації, а оптимальним кріоконсервантом — білковий розчин.

Виявлено ранозагоювальну дію сироватки кордової крові завдяки прискоренню загоєння опікових ран і нормалізації рівня загального білка крові, концентрації гемоглобіну та кількості еритроцитів. Вперше в плазмі та лейкомасі кордової крові було визначено білкові фракції з протівірусною активністю.

З'ясовано, що поєднане використання екстремальних кріовпливів і препаратів кордової крові у щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією сприяє вирівнюванню вегетативних складових у регуляції артеріального тиску й корекції мікроциркуляції, порушеної лейкоцитарною адгезією дрібних судин.

Особливого значення набувають дослідження, спрямовані на створення першого в Україні кріобанку донорської пуповинної крові й обґрунтування можливостей застосування її як генетичного аутоматеріалу (на

думку зарубіжних фахівців, це є альтернативою трансплантації кісткового мозку).

Крім досліджень у галузі медицини вчені Інституту приділяють належну увагу й іншим аспектам. Так, упродовж останніх років проведено фундаментальні та прикладні дослідження з вивчення дії низьких температур і різних класів сполук на рослини в період активної життєдіяльності з метою підвищення їхньої стійкості до екстремальних природних факторів (заморозки, посуха тощо). Це дало змогу обґрунтувати доцільність використання на практиці розроблених кріопротекторів з низькою токсичністю (вони є фармакопейними препаратами в Україні, США, Німеччині та Японії). Зокрема, створено комплексні синтетичні препарати Дорсай, Марс та Юпітер з унікальними властивостями кріопротектора, регулятора росту, протруйника, адаптогену, фунгіциду. Препарати належать до IV класу безпеки, екологічно безпечні, нешкідливі для людини, тварин і ґрунту; аналогів їх у світі немає, а конкурентна перевага порівняно з наявними адаптогенами або регуляторами росту та протруйниками полягає в комплексній дії, значно вищій ефективності, нетоксичності та меншій вартості.

Запропоновано спосіб кріоконсервування методом вітрифікації меристем часнику сорту Мерф'янський білий з використанням попереднього спеціального загартування і повільного охолодження в комбінованих кріозахисних середовищах. Цей спосіб має певні переваги перед традиційним — він потребує менших матеріальних та енергетичних витрат і є основою для розроблення згідно зі світовими стандартами технологій зберігання генетичних колекцій інших рослин, що розмножуються вегетативно.

В інтересах рибицтва розроблено простий метод виявлення геномних кріоушкоджень риб. Уперше в Україні кріоконсервовано сперму осетрових і коропових із застосуванням кріосумішей та отримано молодь окуневих риб після запліднення кріоконсервованою спермою.

Дослідження механізмів холодової адаптації у прісноводних риб показало, що в стані зимового спокою в карасів *Carassius caras-*

sus знижується активність ферменту лактатдегідрогенази в червоних і білих м'язах, а також у тканині мозку, що свідчить про переважання анаеробного шляху метаболізму.

Під час вивчення якості сперми коропів, отриманої до і після гормональної стимуляції, було встановлено часткове ушкодження мембран у бік збільшення проникності мембран спермій, що має велике значення для розуміння механізмів їх кріоушкоджень і відповідного вдосконалення методів кріоконсервування сперми коропів та поліпшення технологій отримання мальків.

Уперше в Україні розроблено методи кріоконсервування прісноводних видів риб — об'єктів аквакультури (лина та сома європейського) і морського виду трюхперки чорноголової, яка занесена до Червоної книги України.

Крім вищевикладених тривають дослідження і в інших актуальних, важливих напрямках теоретичної і практичної кріобіології та кріомедицини. Науковці Інституту і в подальшому зосереджуватимуть свої зусилля на глибокому вивченні стовбурових клітин, їхніх попередників, компонентів кордової крові, молекулярно-генетичних механізмів регулювання підтримання і збереження їхніх властивостей (зокрема, самооновлення, здатність до диференціювання в різних напрямках), удосконаленні надійних методів їх тривалого зберігання, а також отриманні на їх основі лікарських засобів і розширенні переліку захворювань, які можна лікувати з використанням таких клітин.

Більшість досліджень здійснюються на світовому рівні і спрямовані на істотне оздоровлення населення, підвищення фізичної та розумової працездатності людей, а також уповільнення процесів старіння організму. Досягнення кріобіологів посіли гідне місце у світовій науці і здобули широке визнання вітчизняних та зарубіжних учених.

Нині Інститут кріобіології і кріомедицини НАН України є одним із провідних наукових центрів світу з фундаментальних і прикладних проблем кріобіології та кріомедицини.